



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية الحراش – الجزائر

Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach – Alger

## Thèse

En vue de l'obtention du doctorat en Sciences Agronomiques

## Thème

Composition chimique et activité biologique d'extraits  
du myrte (*Myrtus communis* L.), de la carotte sauvage  
(*Daucus carota* L. subsp. *carota*) et de la menthe à  
feuilles rondes (*Mentha rotundifolia* L.)

Présentée par : M<sup>elle</sup> IAZZOURENE Ghania

Soutenue publiquement le : 12 Mars 2015

Le Jury :

Présidente : M<sup>me</sup> DOUMANDJI B.

Professeur (ENSA)

Promoteur : M<sup>me</sup> MOUHOUCHE F.

Professeur (ENSA)

Co-promoteur : M<sup>r</sup> HAZZIT M.

Maître de conférences classe A (ENSA)

Examineurs : M<sup>me</sup> YAHI GUENAFDI N.

Professeur (USTHB)

M<sup>r</sup> FERHAT M.A. Maître de conférences classe A (ENS)

M<sup>me</sup> MILLA A.

Maître de conférences classe A (ENSV)

---

## ☞ Remerciement ☜

Je voudrais adresser mes sincères remerciements et ma gratitude la plus profonde à *M<sup>me</sup> Mouhouché F.*, ma directrice de thèse, que je remercie pour son aide et ses conseils éclairés. Je tiens particulièrement à souligner la qualité remarquable de son encadrement.

Je souhaite également exprimer ma sincère gratitude à *Mr. HAZZIT M*, Maître de conférences à l'ENSA, pour avoir partagé ses compétences scientifiques et techniques et de répondre à mes interrogations.

Je remercie tous ceux qui vont lire cette thèse, à commencer par les membres du jury qui ont accepté sans hésitation d'évaluer et de critiquer ce travail:

*M<sup>me</sup> DOUMANDJI B.* Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique pour l'honneur qu'elle m'a fait de présider le jury.

Je remercie également *M<sup>me</sup> YAHJ GUENAFDI N.* Professeur à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumadiene, *M<sup>r</sup> FERHAT M.A* Maître de conférences à l'ENS & *M<sup>me</sup> MILLA A.* Maître de conférences à l'ENSV d'avoir accepté de faire partie du jury.

Je remercie le Professeur *ABDELKRIM H.* chef du département de botanique de l'ENSA pour sa collaboration et sa disponibilité.

Je tiens à remercier *Mr BEN CHABANE A.* Chef du département de la Technologie Alimentaire et Nutrition Humaine de l'ENSA.

Mes remerciements distingués à *Mr DOUMANDJI* Chef du département de zoologie de l'ENSA

Je souhaite également exprimer ma sincère gratitude à tout le personnel du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques pour leur précieuse aide pour tout ce qui a concerné la GC/MS.

J'ai eu également la chance de travailler au CRD. Je remercie l'ensemble du personnel du laboratoire de la microbiologie parmi les *Yasmína, Somaya & Nadía*, de m'avoir aidé à réaliser la partie antimicrobienne.

Merci à ma famille, mes amis et mon cœur appartient encore et toujours à ma mère.



## Dédicaces



*A mes très chers parents, mes sœurs et frères.*

*A la mémoire de ma grand-mère « Rahma » que Dieu lui accorde sa miséricorde.*

*A tous mes amis et collègues qui ont su chacun, m'apporter leur amitié notamment Samia MESSAOUDI, NAZIHA, Nacera, Nora, Borhane, Rokaya, Imène, Nadia et SAFI Rokaya.*

*A Mme BOUHAMLA S.*

*A Mr. Etsouri, professeur à l'ENSA sans oublier Elaarbi, Hamza et Samia.*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ma formation.  
Je dédie ce modeste travail spécialement à la famille GHRIB.*



*Ghania*



giazzourene@gmail.com.

---

# Sommaire

---

## Sommaire

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des symboles & abréviations.....	IV
Introduction générale.....	1
Partie 01 : Partie bibliographique	
Chapitre I : Matières actives : Huiles essentielles et composés phénoliques.....	4
1. Huiles Essentielles.....	4
1.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	4
1.3. Composition chimique.....	5
1.4. Les facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles.....	6
1.5. Préparation des huiles essentielles.....	7
1.5.1. Hydodistillation.....	7
1.5.2. Distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.....	8
1.5.3. Expression ou pressage à froid.....	8
1.5.4. Enfleurage.....	8
1.6. Techniques d'extraction des composés organiques volatils.....	9
1.7. Activité biologique des huiles essentielles .....	11
1.8. Utilisation des huiles essentielles.....	11
1.9. Analyse des huiles essentielles.....	12
2. Les composés phénoliques.....	14
2.1. Généralités, structures et classification.....	14
2.1.1. Les acides phénoliques.....	16
2.1.2. Les stilbènes.....	17
2.1.3. Les Flavonoïdes.....	17
2.1.4. Les lignanes .....	18
2.2. Propriétés chimiques, et mécanismes d'action contre les radicaux libres. ....	18
2.2.1. Propriétés chimiques majeures des polyphénols .....	18
2.2.2. Mécanismes d'action contre les radicaux libres .....	19
2.3. Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques.....	19
2.4. Applications industrielles des polyphénols.....	20
Chapitre II : Activité biologique des plantes aromatiques.....	21
1. Activité antioxydante.....	21
1.1. Les antioxydants.....	21

# Sommaire

---

1.2.	Les radicaux libres dans les systèmes biologiques.....	22
1.3	Les stress oxydant.....	22
1.4.	Classification des antioxydants.....	23
1.5.	Essais de l'activité antioxydante dans les aliments.....	25
1.6	Méthodes de dosage de l'activité antioxydante et antiradicalaire.....	26
1.6.1.	Piégeage du radical DPPH.....	28
1.6.2.	Réduction du fer.....	29
1.6.3.	Piégeage du ABTS.....	29
2.	Activité antimicrobienne.....	29
2.1.	Les principes actifs antibactériens.....	30
2.2.	Détermination de l'activité antimicrobienne.....	33
3.	Conservation des denrées alimentaires et activité insecticide des extraits végétaux.....	35
3.1.	Conservation des denrées alimentaires .....	35
3.2.	Activité insecticide des extraits végétaux.....	35
3.2.1.	Aperçu historique.....	36
3.2.2.	Activité insecticide des plantes aromatiques méditerranéennes.....	36
3.2.3.	Principaux composés des plantes aromatiques à effet insecticide et leur mode d'action.....	36
3.2.4.	Actions insecticides des composés des huiles essentielles.....	37
3.2.5	Niveau d'actions des huiles essentielles et les extraits phénoliques sur l'insecte.....	38
3.2.6	Résistance et métabolisation des matières actives toxiques.....	39
Chapitre III : Monographie des espèces étudiées.....		40
1.	Espèces végétales.....	40
1.1.	Aperçu sur la famille des <i>Myrtaceae</i> et le genre <i>Myrtus</i> .....	40
1.1.1	Les <i>Myrtaceae</i> .....	40
1.2	Le genre <i>Myrtus</i> et l'espèce <i>M. communis</i> L.....	40
1.1.3	Composition chimique d'huile essentielle du <i>M.communis</i> L.....	44
1.2.	Aperçu sur la famille des <i>Lamiaceae</i> et le genre <i>Mentha</i> .....	45
1.2.1.	Les Labiées ( <i>Lamiaceae</i> ).....	45
1.2.2	Le genre <i>Mentha</i> et l'espèce <i>M. rotundifolia</i> L.....	46
1.2.3	Composition chimique d'huile essentielle du <i>M.rotundifolia</i> L.....	47
1.3.	Aperçu sur la famille des Apiacées et le genre <i>Daucus</i> .....	47
1.3.1.	Les Apiacées.....	47
1.3.2.	Le genre <i>Daucus</i> et l'espèce <i>D.carota</i> Lsubsp. <i>carota</i> .....	49
1.3.3.	Composition chimique d'huile essentielle du <i>D.carota</i> ssp. <i>Carota</i> L.....	50
2.	Espèces animales.....	51

# Sommaire

2.1. Aperçu biologique sur <i>Sitophilus oryzae</i> (L) et <i>Tribolium confusum</i> (Duv.).....	51
2.1.1. Le charançon du riz <i>Sitophilus oryzae</i> .....	51
2.1.2. <i>Tribolium confusum</i> (Duval).....	52
3. Souches microbiennes.....	54
3.1. Souches bactériennes .....	54
3.2 Souches fongiques .....	55
Partie 02 : Partie expérimentale	
Chapitre I: Matériel & Méthodes.....	57
1.1. Matériel végétal.....	57
1.2. Matériel entomologique.....	60
1.3. Matériel microbiologique.....	60
2. Méthodes.....	61
2.1 Extraction des huiles essentielles.....	61
2.1.1 Extraction par hydrodistillation.....	61
2.1.2 Rendement de l'extraction.....	62
2.1.3. Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par GC et GC/MS.....	62
2.2. Elaboration des extraits végétaux.....	64
2.2.1. Extraction au Soxhlet .....	64
2.3. Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus.....	64
2.3.1 Dosage des phénols totaux.....	64
2.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	65
2.4 Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits obtenus.....	66
2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	70
2.5.1. Etude qualitative de l'effet antimicrobien.....	70
2.6. Evaluation de l'activité insecticide.....	72
2.6.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles et de l'extrait méthanolique par contact.....	72
2.6.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation.....	73
1.7. Tests statistiques.....	73
Chapitre II: Résultats & Discussions .....	74
1. Rendement de l'extraction en huile essentielle et en extrait méthanolique.....	74
2. Composition chimique des huiles essentielles .....	74
2.1 <i>M.communis</i> L.....	74
2.2. <i>D.carota</i> L.ssp. <i>carota</i> .....	80
2.3. <i>Mentha rotundifolia</i> L.....	85

# Sommaire

---

3. Estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.....	89
4. Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits végétaux.....	90
5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE.....	99
5.1 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne et levuricide des H.E.....	99
5.2. Etude quantitative de l'activité antimicrobienne .....	101
6. Evaluation de l'activité insecticide des extraits étudiées.....	102
6.1.Evaluation de l'effet insecticide des EM par effet contact sur <i>S. oryzae</i> et <i>T.confusum</i> .....	103
6.2. Evaluation de l'effet insecticide des HE par effet contact sur <i>S. oryzae</i> et <i>T. confusum</i> .....	106
6.3. Evaluation de l'effet insecticide des HE par effet inhalation sur <i>S. oryzae</i> et <i>T.confusum</i> .....	110
Conclusion générale.....	114
Références bibliographiques.....	118
Annexes.....	133

## Liste des tableaux

### Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Principales classes des composés phénoliques.....	16
<b>Tableau 2</b> : description de quelques tests antioxydants in vitro chimique.....	27
<b>Tableau 3</b> : Description de quelques tests in vitro biologique.....	28
<b>Tableau 4</b> : Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées.....	61
<b>Tableau 5</b> : Rendement de l'extraction en HE et en EM des plantes testées.....	74
<b>Tableau 6</b> : Composés (%) identifiés dans les échantillons du Myrte de trois régions différentes .....	75
<b>Tableau 7</b> : Composés majoritaires des HE de <i>M.communis</i> L de différentes origines.....	80
<b>Tableau 8</b> : Composition (%) de l'huile essentielle du <i>Daucus carota</i> L.ssp. <i>carota</i> .....	81
<b>Tableau 9</b> : Principaux composés de quelques échantillons de la carotte sauvage de différentes origines.....	84
<b>Tableau 10</b> : Composition (%) de l'huile essentielle de la menthe à feuilles rondes ( <i>M.rotundifolia</i> )..	85
<b>Tableau 11</b> : Principaux composés de la menthe à feuilles rondes de différentes origines.....	88
<b>Tableau 12</b> :Teneurs (%) en composés phénoliques et en flavonoïdes.....	89
<b>Tableau 13</b> :Diamètres des zones d'inhibitions des H.E. sur les germes pathogènes étudiés. ....	99
<b>Tableau 14</b> : Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) des HE des plantes étudiées.....	101
<b>Tableau 15</b> :Efficacité des extraits méthanoliques par effet contact vis à vis du <i>S. oryzae</i> .....	103
<b>Tableau 16</b> : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le <i>S.oryzae</i> en fonction du temps....	104
<b>Tableau 17</b> : Efficacité des extraits méthanoliques par effet contact vis à vis du <i>T.confusum</i> .....	104
<b>Tableau 18</b> : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le <i>T.confusum</i> en fonction du temps.	105
<b>Tableau 19</b> : Evaluation de la DL <sub>50</sub> et de la DL <sub>90</sub> des extraits méthanoliques par effet contact sur <i>T.confusum</i> et <i>S.oryzae</i> .....	105
<b>Tableau 20</b> :Efficacité des HE du myrte et de la carotte sauvage par effet contact vis à vis du <i>S. oryzae</i> .....	106
<b>Tableau 21</b> : efficacité d'HE de la menthe à feuilles rondes par effet contact vis à vis du <i>S. oryzae</i>	107
<b>Tableau 22</b> : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le <i>S.oryzae</i> en fonction du temps...	107
<b>Tableau 23</b> : Efficacité des HE par effet contact vis à vis du <i>T.confusum</i> .....	108
<b>Tableau 24</b> : Efficacité d'HE de la menthe à feuilles rondes par effet contact vis à vis du <i>S. oryzae</i> .	108
<b>Tableau 25</b> : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le <i>T.confusum</i> en fonction du temps.	109
<b>Tableau 26</b> : Evaluation de la LD <sub>50</sub> et LD <sub>90</sub> des HE de l'effet contact sur <i>T. confusum</i> et <i>S.oryzae</i> .	109
<b>Tableau 27</b> : Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation sur <i>S.oryzae</i> .....	110
<b>Tableau 28</b> : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le <i>S.oryzae</i> en fonction du temps.....	111
<b>Tableau 29</b> : Efficacité par inhalation des HE des plantes étudiées sur <i>T.confusum</i> .....	111
<b>Tableau 30</b> : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le <i>T.confusum</i> en fonction du temps	112
<b>Tableau 31</b> : Evaluation du TL <sub>50</sub> de l'effet d'inhalation des HE des plantes étudiées.....	112



## Liste des figures

---

### Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Numérotation du squelette de base des flavonoïdes.....	15
<b>Figure 2 :</b> Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques.....	23
<b>Figure 3 :</b> structures chimiques des antioxydants naturels.....	24
<b>Figure 4 :</b> Structure chimique du Trolox.....	26
<b>Figure 5 :</b> Structures de la membrane et de la paroi de peptidoglycane chez les bactéries Gram+/Gram- .....	32
<b>Figure 6 :</b> Technique de micro-atmosphère.....	34
<b>Figure 7 :</b> Distribution du genre <i>Myrtus</i> .....	41
<b>Figure 8 :</b> Caractéristiques botaniques de <i>Myrtus communis</i> .....	43
<b>Figure 9 :</b> Répartition géographique mondiale des Apiaceae.....	48
<b>Figure 10 :</b> <i>Myrtus communis</i> L.....	58
<b>Figure 11 :</b> <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>carota</i> .....	59
<b>Figure 12 :</b> <i>Mentha rotundifolia</i> L.....	59
<b>Figure 13 :</b> <i>Tribolium confusum</i> (Duv.).....	60
<b>Figure 14 :</b> <i>Sitophilus oryzae</i> (L.).....	60
<b>Figure 15 :</b> Acide gallique:.....	65
<b>Figure 16 :</b> Quercétine.....	65
<b>Figure 17 :</b> Inhibition du radical DPPH par un antioxydant AH.....	66
<b>Figure 18 :</b> Réaction du radical ABTS <sup>•+</sup> en présence d'un antioxydant.....	68
<b>Figure 19 :</b> Schéma du protocole expérimental de l'évaluation du pouvoir réducteur.....	69
<b>Figure 20 :</b> Principe de la méthode de diffusion des disques sur gélose.....	70
<b>Figure 21 :</b> Chromatogramme total (GC/MS) de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> de TO.....	78
<b>Figure 22 :</b> Chromatogramme partiel (GC/MS) agrandi de l'HE de <i>M. communis</i> de TO.....	79
<b>Figure 23 :</b> composés majoritaires de la carotte sauvage <i>D. carota</i> ssp. <i>carota</i> étudiée.....	82
<b>Figure 24 :</b> Chromatogramme GC/MS de l'huile essentielle de <i>Daucus carota</i> .....	83
<b>Figure 25 :</b> Chromatogramme GC-MS de la menthe à feuilles rondes.....	86
<b>Figure 26 :</b> Spectre de masse et formule chimique de la cis-Piperitone oxide.....	87
<b>Figure 27 :</b> Spectre de masse et formule chimique de la Piperitenone oxide.....	87

## *Liste des figures*

---

<b>Figure 28 :</b> Activité de piégeage du radical DPPH <sup>•</sup> par le BHT et les HE des différents échantillons.....	91
<b>Figure 29 :</b> Activité de piégeage du radical DPPH <sup>•</sup> par les EM des plantes étudiées.....	92
<b>Figure 30 :</b> Valeurs des IC <sub>50</sub> (mg/l) des extraits du <i>M.communis</i> , <i>M. rotundifolia</i> et du BHT.....	93
<b>Figure 31 :</b> Pouvoir réducteur des différents HE des espèces étudiées, du BHT et de l'Acide Ascorbique.....	94
<b>Figure 32:</b> Pouvoir réducteur des différents EM des espèces étudiées et du BHT.....	95
<b>Figure 33 :</b> Activité de piégeage du radical ABTS par les HE des plantes étudiées et du Trolox.....	96
<b>Figure 34 :</b> Activité de piégeage du radical ABTS par les extraits méthanoliques des plantes étudiées et du Trolox.....	97
<b>Figure 35 :</b> Valeurs d'IC <sub>50</sub> (mg/l) des EM des <i>M.communis</i> de <i>Mentha. rotundifolia</i> et du Trolox.....	98
<b>Figure 36 :</b> Structure chimique de l'ion phenoxyde.....	98
<b>Figure 37 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercetine.....	139
<b>Figure 38 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	139

# Liste des symboles et abréviations

---

## Liste des symboles et abréviations

- **ABTS** : 2,2- azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)
- **AChE** : Acétylcholinestérase
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **ATCC** : American Type Collection Culture
- **BHA** : Butyl-Hydroxy-Anisole
- **BHT** : Butyl-Hydroxy-Toluène
- **cfu/ml** : unités de colonies formés / millilitre
- **CG/SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
- **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- **CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone
- **COV** : Composé Organique Volatil
- **CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse
- **CRAPC** : Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques
- **CRD** : Centre de Recherche et du Développement
- **DMSO**: Diméthyl sulfoxide
- **DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
- **EM** : Extrait methanolique
- **ENSA** : Ecole Nationale Supérieure Agronomique
- **ERO** : Espèces réactives de l'oxygène
- **Et** : Etalon
- **FAO** : Food and Agriculture Organization
- **FID** : Détecteur à Ionisation de Flamme
- **GABA** : Acide gamma aminobutyrique
- **GAE** : Equivalent d'Acide Gallique
- **H3PMO12O4**: Acide phosphomolybdique
- **H3PW12O40** : Acide phosphotungestique
- **HE** : Huile Essentielle
- **HM** : Hamam Melouane
- **I(%)** : Pourcentage d'inhibition ou activité antioxydante
- **IC50** : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux
- **IR** : Indice de Rétention
- **min** : Minute
- **MO<sub>8</sub>O<sub>3</sub>**: Molybdène
- **MV** : Masse de la matière Végétale

## *Liste des symboles et abréviations*

---

- **OMS** : Organisation mondiale de la Santé
- **ONIPPAM**: Office National Interprofessionnel des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales
- **PG** : gallate de propyle
- **pH** : Potentiel d'hydrogène
- **ppm** : Partie Par Million
- **QE** : Equivalent de quercétine
- **Rd** : Rendement en huile essentielle
- **RMN** : Résonance magnétique nucléaire
- **SDE** : Extraction distillations simultanées
- **SM** : Spectrométrie de Masse
- **TB** : Tablat
- **TBA** : Acide thiobarbiturique
- **TBHQ** : Ter-Butyl-Hydroxy-Quinone (hydroquinone de butyle tertiaire).
- **TC** : Température critique
- **TO** : Tizi Ouzou
- **TR** : Temps de rétention
- **W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>**: Tungstène



*Partie I :*  
*Partie bibliographique*

*Introduction générale*



*« Le commencement de toutes les sciences, c'est l'étonnement de ce que les choses sont ce qu'elles sont. »*

*- Aristote -*

# *Introduction Générale*

---

## **Introduction générale**

Les plantes sont des usines biologiques naturelles. Elles produisent des substances biochimiques actives : huiles essentielles (HE), phénols,...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 aromatiques et 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**).

## *Introduction Générale*

---

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.

Avec la révolution dans le domaine agro-alimentaire, l'espèce humaine doit maximiser sa production alimentaire afin d'assurer une alimentation adéquate de la population mondiale. Pour se faire elle doit réduire l'abondance des espèces qui sont en compétition alimentaire avec elle. Parmi ces animaux, les invertébrés dont les insectes représentent le groupe le plus diversifié et le plus riche en nombre d'espèces.

Les insectes des denrées stockées peuvent causer des pertes importantes en réduisant la qualité et/ou la quantité des produits stockés. D'après la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture), les pertes dues aux insectes nuisibles correspondent à 35% de la production agricole mondiale.

En raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cible telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants. Ces dangers ont conduit l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques, d'autres vont être prohibés dans un futur proche.

Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche de molécules nouvelles en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui retient l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales.

Les plantes sont extrêmement complexes du point de vue de leur composition chimique. On estime qu'elles sont formées de plusieurs milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement (ou parfois un seul) sont (ou est) responsable(s) de l'effet thérapeutique ou de l'effet toxique. Il est donc indispensable de connaître les principes actifs des plantes médicinales afin d'étudier leur efficacité, leur mode d'action et bien entendu leurs effets secondaires sur la santé humaine.

Dans le bassin méditerranéen, on rencontre un très grand nombre de plante aromatique. Son climat riche en luminosité et en chaleur, qu'accompagnent des saisons marquées, exige de la

## ***Introduction Générale***

---

part des plantes des efforts adaptatifs favorable à une richesse moléculaire évolutive leur conférant de multiples propriétés.

L'Algérie de par son climat (méditerranéen, aride) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existe à l'état spontané. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier certaines plantes, poussant à l'état spontané dans le nord algérien.

Au cours de ce travail, notre choix s'est porté sur l'étude de trois plantes aromatiques. Il s'agit de *Myrtus communis* L de la famille des myrtacées utilisées depuis longtemps et considérée comme interchangeable thérapeutique, les échantillons de cette espèce sont récoltés de trois régions différentes du nord algérien (Tablat, Hamame Melouane et Tizi Ouzou). La deuxième espèce s'agit de *Mentha rotundifolia* L de la famille des labiées qui conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Enfin, *Daucus carota* ssp.*carota* L de la famille des ombellifères, c'est une grande famille de plantes à fleurs herbacées, comprenant de nombreux aromates et plantes comestibles.

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'étude de la composition chimique de leurs huiles essentielles ainsi qu'à l'évaluation de leurs activités biologiques : antioxydante, antimicrobienne et insecticide dont certaines d'entre elles n'ont pas encore fait l'objet de travaux antérieurs.





*Chapitre I :*  
*Matières actives : Huiles*  
*essentiels et composés*  
*phénoliques*



*«Si vous possédez une bibliothèque et un jardin, vous avez tout ce qu'il vous faut»  
- Cicéron. -*

### **Chapitre I : Substances actives : Huiles essentielles et composés phénoliques**

#### **I- Huiles essentielles**

##### **1.1. Historique et définition**

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur.

Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques (**Möller, 2008**). A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée (**Berthier, 1980 ; Möller, 2008**).

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**).

##### **1.2. Propriétés physico-chimiques des HE**

Selon **Bernard et al. (1988)** et **Bruneton (1995)** on peut résumer les propriétés physicochimiques 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 ;

## Partie Bibliographique

---

-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.

### 1.3. 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

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 ( $C_{10} H_{16}$ ) et sesquiterpéniques ( $C_{15} H_{24}$ ) et plus rarement diterpéniques ( $C_{20}$ ). 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**).

### 1.4. Les facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories :

#### ☞ Les facteurs intrinsèques

En 1977, **Ashraf** ont étudié l'huile de graines de carotte de 3 espèces différentes : noir, rouge et jaune. Ils ont montré que ces 3 espèces donnent des huiles différentes au niveau de leur composition, même si elles présentent toutes les 3 une prédominance du Carotol.

En 1992, Ramanoelina et al. ont réussi à différencier deux chémotypes pour *Melaleuca quinquenervia* en raison de la différence de composition d'huiles essentielles : l'un à 1, 8 Cinéole majoritaire, l'autre à Viridiflorol dominant. Ces mêmes auteurs ont, en 1994, pu identifier 4 types de chémotypes. L'existence de chémotypes distincts pour cette espèce végétale a été confirmée par les travaux de **Moudachirou** en 1996.

Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. En 1987, les travaux de **Maffei** et **Sacco** ont montré des différences de composition des huiles essentielles en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et de sous-espèces différentes (peppermint nothomorphs *pallescens* Camus et *rubescens* Camus).

**Nykänen** et **Nykänen**, en 1987, ont comparé les huiles essentielles d'*Origanum majorana* d'Egypte, obtenues à partir de plantes fraîches ou de plantes sèches. Une fois encore les compositions sont différentes.

En 1991, **Cioni** a effectué la même comparaison à partir de Romarin frais et sec. En 1992, **Jean** a montré l'influence de la saison de récolte. Les huiles essentielles d'*Origanum majorana* ont été extraites avec des plants récoltés en automne pour les uns et au printemps pour les autres. Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plants de *Lavandula angustifolia* obtenus par clonage. En 1989, **Edmongor** et **Chweya** ont comparé la composition des huiles essentielles de camomille obtenues à partir de fleurs récoltées à différents temps après leur repiquage initial (entre 78 et 176 jours). Ils ont pu observer, par exemple, une nette diminution du pourcentage en Chamazulène avec le temps ou une augmentation de l'Oxyde de bisabol de type B.

## **Partie Bibliographique**

---

En 1979, Ashraf ont comparé les compositions des huiles essentielles obtenues à partir des graines d'une même espèce, la carotte rouge, issues les unes d'une culture agricole et les autres de plantes sauvages. Les deux huiles essentielles présentent une prédominance du Carotol, mais à une concentration plus élevée dans le cas des plants cultivés (62, 80%) que des plants sauvages (36, 34%).

D'autres travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première. Verzele, en 1981, ont constaté une composition différente des huiles essentielles de Jasmin, selon l'origine de la matière première (France, Italie et Algérie). En 1995, Bayrak sont arrivés à une conclusion similaire dans le cas de Romarin, récolté dans 3 régions distinctes de la Turquie.

### **☞ Les facteurs extrinsèques**

Huang et al. en (1987), ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles obtenues dans le cas de 4 méthodes appliquées au bergamote de Chine ; la composition est relativement variable, malgré une présence majoritaire de limonène.

Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Fantino a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition.

Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. Les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur fabrication, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître.

## **1.5. Préparation des huiles essentielles**

### **1.5.1. Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est la méthode la plus couramment employée pour l'extraction d'une huile essentielle (Meyer-Warnod, 1984) ; dans son principe, elle correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau ; l'ensemble est ensuite porté à ébullition, à pression atmosphérique. Sous l'effet de la chaleur, les molécules odorantes contenues dans les glandes sécrétrices des végétaux sont libérées sous forme d'un mélange azéotropique. Bien que la plupart des constituants aient des températures d'ébullition supérieures à 100°C, ils sont entraînés mécaniquement avec la vapeur d'eau. Le refroidissement par condensation conduit à la séparation du mélange eau-huile essentielle par décantation. Le système « Clevenger », préconisé par la pharmacopée

européenne (**Pharmacopée Européenne, 1997**), permet le recyclage de la phase aqueuse du distillat dans le bouilleur par cohobage (**Clevenger, 1928**).

Ainsi, l'eau et les molécules volatiles sont séparées, par leurs différences de densité, dans l'essencier en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique surnageante (huile essentielle). La durée d'hydrodistillation, de trois à six heures en fonction de la matière végétale à traiter, peut avoir une influence sur le rendement en huile essentielle et sur sa composition chimique.

### **1.5.2. Distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion**

Le principe de la distillation à vapeur saturée est analogue à l'hydrodistillation. Toutefois, le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau ; il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau qui traverse le végétal ; ils sont ensuite séparés par décantation du distillat refroidi.

L'hydrodiffusion consiste à faire passer un flux généralement descendant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale. Ces techniques sont usuellement employées par les industriels pour la production d'huiles essentielles et d'hydrolats à grande échelle. Les compositions chimiques des produits peuvent être sensiblement différentes en fonction des méthodes utilisées (**ICS – UNIDO, 2008**).

### **1.5.3. Expression ou pressage à froid**

Le procédé est utilisé uniquement pour l'obtention des huiles essentielles contenues dans les zestes d'agrumes (**Dugo et Di Giacomo, 2002**). Il s'agit d'un processus physique dans lequel les glandes à huile essentielle de la peau du fruit sont percées, broyées ou concassées mécaniquement afin de libérer l'essence. Cette méthode est économiquement plus rentable que l'hydrodistillation et permet d'éviter d'éventuelles dégradations thermiques.

### **1.5.4. Enfleurage**

Cette méthode est réservée aux huiles essentielles à forte valeur ajoutée ; elle est notamment utilisée avec les fleurs telles le jasmin ou la tubéreuse qui continuent à produire des métabolites secondaires après la cueillette. Le procédé à froid consiste à absorber le parfum de ces fleurs en utilisant un corps gras à haut pouvoir d'absorption. Pendant la période de récolte (qui dure plusieurs semaines), les pétales de fleurs fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse et remplacés toutes les 24 heures par les pétales de fleurs nouvellement cueillies. Le corps gras, non renouvelé au cours du processus, est saturé en essence florale et l'huile essentielle est ensuite extraite de la graisse par de l'éthanol (**Clarke, 2008**).

### 1.6. Techniques d'extraction des composés organiques volatils (COV)

Facilement automatisables, simples, les techniques de l'espace de tête ou Headspace ne requièrent pas de grandes quantités d'échantillon (**Kolb, 1999**). La possibilité d'avoir des artefacts et de contaminations est très faible si on manipule avec soin. La méthode consiste à extraire les composés organiques volatils émis par un échantillon liquide ou solide (**Pillonel et al., 2002; Pawliszyn, 2003**). Pour cela, une petite quantité de l'échantillon est placée dans un flacon hermétiquement clos par un septum en PTFE/silicone. Un équilibre entre l'échantillon et la phase gazeuse est nécessaire, une partie de cette dernière est prélevée pour être analysée, le plus souvent par Chromatographie en phase gazeuse (CPG). Pour les matrices peu odorantes, un chauffage léger peut être appliqué pour atteindre plus rapidement l'équilibre. Ces techniques sont complémentaires des méthodes d'extraction aux solvants organiques. Cependant, la concentration relative des composés dans l'espace de tête ne reflète pas leur concentration réelle dans l'échantillon (**Matich et al., 1999**).

#### ☞ Espace de tête statique (atmosphère confinée)

Dans la technique de l'espace de tête statique ou Static HeadSpace (SHS), la phase gazeuse en équilibre avec l'échantillon est prélevée à l'aide d'une seringue à gaz ou d'une boucle d'injection et injectée directement dans un chromatographe. Cette technique est parfaitement automatisée, reproductible et très utile pour un criblage rapide de nombreux échantillons (**Kolb, 1999**). L'inconvénient majeur de cette méthode est la discrimination des composés selon leur volatilité, les composés les plus volatils saturant très rapidement l'espace de tête. L'espace de tête statique est généralement utilisé pour extraire et quantifier des composés très volatils de matrices alimentaires (**Fleming Jones et al., 2003**).

#### ☞ Espace de tête dynamique

La méthode de l'espace de tête dynamique ou Dynamic Headspace (DHS) (**Da Costa et al., 2005**) consiste à entraîner les composés volatils d'un échantillon à l'aide d'un gaz vecteur inerte (azote ou hélium) et de les piéger dans un tube en verre désactivé ou en acier inoxydable rempli de carbone ou d'un polymère organique poreux. Les polymères utilisés (Porapak™, Carboxen™, Tenax™, Chromosorb™) ont une grande surface spécifique et possèdent tous la propriété de retenir faiblement les composés polaires de masse molaire peu élevée. Le Tenax™ est le polymère le plus employé ; très stable thermiquement et hydrophobe, il est peu sélectif ce qui en fait un piège de choix pour extraire les COVs, puis les analyser par CPG (**Pillonel et al., 2002**). Pour faciliter la saturation de l'espace de tête, les échantillons sont fréquemment chauffés et/ou agités pendant l'extraction. Les composés

organiques retenus par le piège sont ainsi concentrés. Cependant, il est possible de dépasser la capacité du piège, ce qui peut conduire à la perte de nombreux composés lors de l'extraction.

### ☞ Espace de tête pseudo-dynamique

Les techniques d'adsorption ou désorption sont très utilisées pour l'analyse des Composés Organiques Volatils (COV). Elles permettent l'extraction et la concentration des composés volatils sans solvant. Elles sont basées sur la partition des composés organiques entre une phase aqueuse ou gazeuse et un film polymérique de faible épaisseur. Dans ce groupe, on peut distinguer trois grandes techniques : la microextraction en phase solide (SPME), l'extraction par adsorption en espace de tête (Headspace Sorptive Extraction, HSSE) et l'extraction dynamique en phase solide (Solid Phase Dynamic Extraction, SPDE).

- *Microextraction en phase solide (SPME)*

Cette méthode d'extraction présente l'avantage de regrouper toutes les étapes de la préparation d'un échantillon (extraction, concentration, dérivation et transfert au chromatographe) en un seul procédé. En particulier, elle peut se révéler une meilleure méthode pour les analyses qui requièrent des extractions longues et coûteuses et nécessitent une grande consommation de solvants. Elle utilise une fibre de silice (1 à 2 cm de long) recouverte d'un film polymérique pour extraire les composés organiques d'un échantillon (Burgot et al., 2003). La SPME est une technique d'extraction sans solvant très simple et rapide qui est maintenant parfaitement automatisée. Les fibres peuvent être réutilisées une cinquantaine de fois, ce qui en fait une technique peu onéreuse. Cependant, l'optimisation des conditions d'extraction peut se révéler assez longue.

En effet, il est nécessaire de déterminer la fibre la plus efficace, les temps et les températures d'incubation et d'échantillonnage, pour chaque échantillon. De plus, une fois ces conditions obtenues, il peut s'avérer difficile d'obtenir des résultats répétitifs et reproductifs ce qui pourrait être dû à un manque d'homogénéité entre certains lots de fibres. De par sa simplicité et son coût modéré, la SPME est une bonne technique pour l'identification et la comparaison rapide et efficace d'arômes (Schmitt et al., 2005); elle est utilisée pour l'analyse de nombreuses matrices alimentaires comme les produits laitiers (Lubbers et al., 2004), les fruits et légumes (Wang et al., 2000).

En effet, la quantité du composé cible adsorbée dépend fortement des conditions d'extraction : température, temps d'incubation et d'extraction, agitation, volumes de l'échantillon et de la phase gazeuse. Elle dépend également de la nature, de l'usure de la



phase d'extraction (perte de sa capacité d'adsorption ou de sorption au cours du temps) et de la nature des autres constituants caractérisant le mélange.

### **1.7. Activités biologiques des huiles essentielles**

Les composés chimiques retrouvés dans les huiles essentielles responsables de l'odeur de celles-ci sont des substances actives dotées de propriétés antibactériennes, fongicides et insecticides (**Poitou, 1996 ; Ngamo et al., 2001 ; et Jirovetz et al., 2000** ). Les plantes ont toujours été utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques. Ces propriétés leur étant conférées par leurs diverses composantes parmi lesquelles les huiles essentielles (**Baba Moussa et al., 1997**). Ces huiles essentielles, grâce à leur composition chimique riche en terpènes, alcools, aldéhydes ont été reconnues comme dotées de pouvoirs antiseptiques.

Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés « généralement reconnus comme sains », ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration (**Sipailiene A. et al., 2006**).

### **1.8. Utilisation des huiles essentielles**

Suite au recensement agricole de 2000, l'ONIPPAM a pu déterminer que 2/3 des productions cultivées de plantes à parfum, aromatiques et médicinales sont destinées à l'extraction des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont, principalement, utilisées en raison de leurs propriétés odorantes d'une part, et de leurs propriétés médicinales.

#### **✍ Utilisation pour leurs propriétés odorantes**

Les huiles essentielles sont employées dans le secteur de la cosmétique, notamment pour la fabrication des parfums ; dans les compositions parfumantes des détergents et des produits de parfumerie fonctionnelle ; mais aussi dans le domaine alimentaire. L'utilisation des huiles essentielles pour l'élaboration des parfums est évidente. Dans le secteur de la parfumerie fonctionnelle, les huiles essentielles sont sélectionnées pour renforcer l'impression de propreté ; de même, dans le domaine alimentaire, les huiles essentielles ont pour objectif de développer les arômes, le plus souvent dans des plats préparés.

#### **✍ Utilisation pour leurs propriétés médicinales**

L'utilisation historique des plantes en raison de leurs propriétés thérapeutiques, a, avec les avancées techniques et scientifiques, mené à l'isolation de principes actifs. Il faut alors

## **Partie Bibliographique**

---

distinguer phytothérapie et aromathérapie : la phytothérapie est la médecine par les plantes, utilisés en partie ou en totalité, sous différentes formes (teintures mères, extraits fluides ou secs, poudres, infusions, décoctions, ...) ; l'aromathérapie n'utilise que les principes actifs d'une partie de la plante, où ils sont extrêmement concentrés. D'après, ces deux types de médecines sont complémentaires. Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie pour les cas aigus, alors que la phytothérapie est plus adaptée aux cas chroniques.

### **1.9. Analyse des huiles essentielles**

Selon la Pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants (**Pibiri, 2006**).

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés.

#### **☞ Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

La chromatographie est une puissante technique de séparation qui trouve de nombreuses applications dans tous les domaines de la science (**Skoog et al., 2003**).

La CPG s'est montrée une méthode appropriée pour la séparation et l'identification des composants d'une HE, elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative (**Paris et Godon, 1979**).

#### **Principe**

En CPG, l'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. La CPG est basée sur le partage de l'analyte entre une phase gazeuse mobile et une phase (liquide ou solide) immobilisée sur la surface d'un support inerte (**Skoog et al., 2003**).

Les constituants des mélanges appelés généralement « solutés » sont inégalement retenus par la phase stationnaire lors du transit dans la colonne. De ce phénomène appelé « rétention », les solutés injectés se déplacent avec une vitesse inégale entre eux et inférieure à celle de la phase mobile, ceci les conduit à sortir de la colonne les uns après les autres. On enregistre d'abord un signal dit ligne de base en présence du gaz vecteur seul, puis un pic au passage de chaque soluté séparé (**Tranchant et al., 1995**).

### ☞ Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse est sans doute, parmi toutes les techniques analytiques, celle dont le domaine d'application est le plus étendu. En effet, elle peut fournir des informations concernant la composition élémentaire d'un échantillon ; la structure de molécules inorganiques, organiques et biologiques ; la composition qualitative et quantitative de mélanges complexes, ... etc.

Vu sa capacité à identifier un très grand nombre de composés présents dans le mélange à analyser, elle représente le couplage le plus utilisé dans divers secteurs notamment avec la chromatographie phase gazeuse (**Tranchant, 1982; Rouessac, 1995**).

### ☞ Le couplage CG/SM

La complexité des mélanges à analyser dans des domaines très différents a conduit au développement de techniques de plus en plus sélectives pour permettre la caractérisation de composés souvent présents à l'état de traces. Au cours des vingt dernières années, les avancées obtenues dans ces domaines d'analyse tiennent principalement à deux raisons : dans le domaine de la séparation chromatographique et, en particulier, de la CPG, au développement de colonnes chromatographiques capillaires à très haute résolution ; dans le domaine de la détection, au développement en routine des techniques de couplages, de séparations chromatographiques avec la détection par SM.

La totale maîtrise du couplage chromatographique avec la spectrométrie de masse depuis le début des années 80 et la mise au point de spectromètres de masse tandems commerciaux a permis l'utilisation des propriétés de sélectivité de ces deux techniques pour pousser plus en avant les potentialités analytiques attendues de la combinaison de celles ci, laissant au couplage CG-SM toute la latitude pour affirmer sa sélectivité pour l'analyse de mélanges complexes (**AFNOR, 2000**).

### Principe

Lorsqu'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on déclenche un processus à plusieurs étapes (**Pradeau et Cohen, 1992**) :

**-Ionisation** : les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et de la haute température (200°C), il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de départ.

**-Accélération** : les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leurs énergies cinétiques.

**-Séparation** : les ions seront distribués suivant leur rapport masse /charge.

**-Détection :** après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.

**-Traitement du signal :** le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports : masse / charge. L'appareillage CG/SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondants à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG.

### ☞ Résonance magnétique nucléaire (RMN)

L'utilisation de la RMN pour l'identification de molécules connues présentes dans une huile essentielle a été non seulement suggérée mais fortement conseillée. La RMN permettait de contrôler la présence d'un composé préalablement identifié ou suspecté par une autre technique (CPG/SM par exemple). L'informatisation de la recherche des structures à partir de bibliothèques de spectres a permis d'en faire une véritable méthode d'analyse appliquée à différentes familles de composés naturels.

La RMN étant une technique non destructive, l'échantillon peut être récupéré pour être éventuellement soumis à d'autres analyses

**(Cavalli, 2005).**

C'est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules. Dans cette optique les données de la littérature constituent une base intéressante permettant la comparaison avec les valeurs des déplacements chimiques du carbone <sup>13</sup> des composés absents de nos bibliothèques de données, mais aussi elles proposent les valeurs de déplacements chimiques de molécules « modèles » à partir desquelles des reconstitutions de spectres sont possibles.

## II- Les composés phénoliques

### 2.1. Généralités, structures et classification

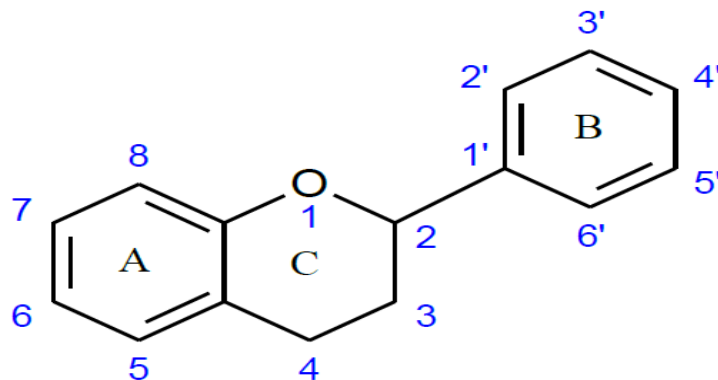
Les composés phénoliques, ou polyphénols, constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. On les retrouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits, et ils font donc partie intégrante de notre alimentation. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres végétaux et les animaux. Ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction. Le terme phénolique est utilisé

## Partie Bibliographique

pour définir des substances qui possèdent au moins un groupement hydroxyle (OH) substitué sur un cycle aromatique. Ce nom provient du composé parent le plus simple : le phénol.

Les polyphénols naturels peuvent donc être des molécules simples comme les acides phénoliques, mais aussi des composés hautement polymérisés comme les tanins (**Bravo, 1998**).

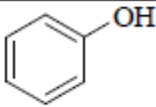
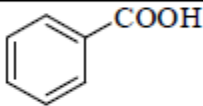
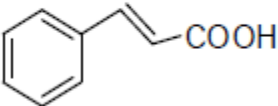
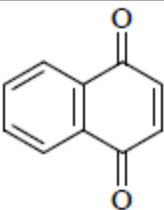
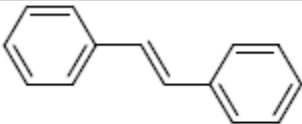
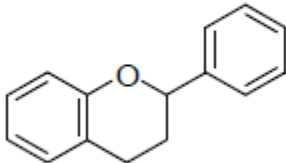
La large variété de polyphénols peut être divisée en une dizaine de classes dont la structure chimique peut être répartie en deux grands groupes, les flavonoïdes et les autres. Les flavonoïdes, qui représentent la classe la plus abondante et la plus étudiée de cette classification, comptent plus de 4000 composés découverts à ce jour (tableau 1). Les composés de chaque sous-classe des flavonoïdes se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles ou autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et en position 3 sur l'hétérocycle central (Figure1). C'est d'abord la structure de ce dernier et son degré d'oxydation qui permettent de distinguer les différentes classes de flavonoïdes (**El Gharras, 2009**).



**Figure 1** : Numérotation du squelette de base des flavonoïdes (**Mabry et al., 1975**)

## Partie Bibliographique

Tableau 1: Principales classes des composés phénoliques (El Gharras, 2009)

Squelette carboné	Classe	Structures de base
$C_6$	Phénols simples	
$C_6-C_1$	Acides hydroxybenzoïques	
$C_6-C_3$	Acides hydroxycinnamique coumarines	
$C_6-C_4$	Naphtoquinones	
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes	
$(C_6-C_3)_2$	Lignanés	
$(C_6-C_3)_n$	Lignines	
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés	

### 2.1.1. Les acides phénoliques

On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique. Les acides hydroxybenzoïques sont à la base de structures complexes comme les tanins hydrolysables présents dans les mangues, et les fruits rouges comme les fraises, les framboises ou encore les mûres (Manach et al., 2004). Les acides hydroxycinnamiques sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils sont principalement composés d'acide p-coumarique, caféique, férulique et sinapique. L'acide caféique se combine avec l'acide quinine pour former l'acide chlorogénique, que l'on retrouve dans de très nombreux fruits et à forte concentration dans le café (El Gharras, 2009).

### 2.1.2. Les stilbènes

Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Le plus connu d'entre eux est le resvératrol qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales (**El Gharras, 2009**).

### 2.1.3. Les flavonoïdes

#### ✍ Les flavonols

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempferol et la quercétine. Cette dernière est connue pour posséder un très fort pouvoir antioxydant en raison de sa structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres. A des concentrations de l'ordre de 15 à 30 mg/kg de matière fraîche, on les rencontre dans l'oignon, les brocolis, les poireaux et les myrtilles. La glycosylation avec un glucose ou un rhamnose est très fréquente (**Manach et al., 2004**).

#### ✍ Les flavones

De tous les flavonoïdes, cette sous-classe est la moins abondante dans les fruits et légumes. Ils sont essentiellement constitués de lutéoline et apigénine glycosylés.

Les seules denrées comestibles connues à ce jour qui en possèdent sont le persil et le céleri (**Manach et al., 2004**).

#### ✍ Les flavanones

Dans l'alimentation, les flavanones se retrouvent dans les tomates, certaines plantes comme la menthe, et sont présents des quantités importantes dans le citron. Les principaux aglycones sont la naringénine dans le pamplemousse, l'héspéridine dans l'orange et l'ériodictyol dans le citron. La position 7 est le siège de la glycosylation.

#### ✍ Les isoflavones

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones dans l'alimentation, qui peuvent être glycosylées ou non. On les rencontre aussi dans les légumineuses.

#### ✍ Les flavanols

Les flavanols existent sous forme de monomères, dont l'unité la plus simple est la catéchine, et sous forme polymérique appelés les proanthocyanidines. La catéchine est présente dans de nombreux fruits comme la pomme, mais le chocolat et le thé sont les principales sources de ce composé (**El Gharras, 2009**).

#### ✍ Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires. Leur aptitude à se solubiliser facilement dans les milieux aqueux offre des possibilités très larges dans le domaine industriel. Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baies, raisin). Une caractéristique importante de ces composés réside dans leur aptitude antioxydante, et de nombreuses études sur leurs activités biologiques peuvent en témoigner (**Castaneda-Ovando et al., 2009**).

### ✍ Les proanthocyanidines

Connus sous le nom de tanins condensés, ils peuvent être des dimères, des oligomères et polymères de catéchine qui sont liés entre eux en position C4, C8 ou encore C6 (**Tarascou et al., 2011**). Ils entrent en grande partie dans la composition des raisins où ils sont localisés dans les graines et la peau. Le degré de polymérisation de ces composés varie en fonction de l'organe végétal : entre 1 et 20 pour la graine et en moyenne 30 pour la peau. L'aptitude de ces composés à s'associer avec les protéines salivaires leur confère la propriété d'astringence que l'on retrouve chez certains fruits (raisin, pomme, poire) et certaines boissons (thé, vin, bière) (**Prieur et al., 1994; El Gharras, 2009**).

### 2.1.4. Les lignanes

Ils sont constitués de deux unités de phénylpropane. Bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins (**El Gharras, 2009**).

## 2.2. Propriétés chimiques, et mécanismes d'action contre les radicaux libres.

### 2.2.1 Propriétés chimiques majeures des polyphénols

Une propriété importante des groupements hydroxyles des phénols est leur acidité due à la labilité des protons acides, qui entraîne la formation d'anion phénoxydes stabilisés par résonance. Cet anion, a la possibilité de perdre un électron pour former un radical (**Sartori-Thiel, 2003**); l'électron, lui, pouvant être récupéré par un radical libre. La structure aromatique du radical phénoxyde ainsi formé lui confère une certaine stabilité, donc une réactivité plus faible, en raison de la délocalisation du radical (**Leopoldini et al., 2011**). Il peut, ensuite, réagir avec un autre radical libre (**Korkina et al., 2012**).

Les substitutions les plus rencontrées sur les phénols des végétaux sont principalement la méthylation et la conjugaison avec des esters et des glycosides, lesquels peuvent être acylés. Les polyphénols sont généralement glycosylés dans leur état naturel (**Sartori-Thiel, 2003**).



Par conséquent, l'aptitude de certains polyphénols à être naturellement présents sous forme glycosidique dans l'aliment leur octroie une biodisponibilité toute relative. En effet, il a été montré que la glycosylation, la conjugaison et la polymérisation tendaient à diminuer leur absorption intestinale (**Manach et al., 2004**).

### 2.2.2 Mécanismes d'action contre les radicaux libres

La grande capacité des composés phénoliques à contrecarrer les radicaux libres, et à chélater les ions métaux de transitions est directement reliée à leurs caractéristiques structurales. Il est prouvé que cette activité est due aux nombres de groupements hydroxyles présents sur les cycles benzoïques, et aussi à la proximité des groupes alkyls. Ainsi, des différentes familles connues des polyphénols, les flavonoïdes sont-ils ceux qui, en particulier, réunissent toutes ces caractéristiques (**Rice-Evans et al., 1996**).

### 2.3. Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques

En plus de leur capacité antioxydante, les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines industriels.

#### ☞ Activité antioxydante

Cette activité est, sans nul doute, celle qui caractérise le mieux, et avec la plus grande fréquence, les polyphénols, et, en particulier, les flavonoïdes. En effet, de nombreuses revues leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène ( $O_2\cdot$ ,  $HO\cdot$ ,  $NO\cdot$ ,  $H_2O_2$ ,  $1O_2$ ,  $HOCl$ ,  $RO\cdot$  et  $ROO\cdot$ ) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN). Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (**Quideau et al., 2011**).

#### ☞ Activités antibactérienne, antifongique et antivirale

Les plantes ont une capacité intrinsèque à synthétiser des métabolites secondaires dont certains sont des composés aromatiques de types phénols. Ces composés jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al., 2011**).

Il a été reporté que les raisins *Vitis vinifera* possèdent des propriétés pharmacologiques importantes, et en particulier des activités antimicrobiennes grâce à la présence de nombreux

## **Partie Bibliographique**

---

polyphénols, notamment d'acide gallique, d'acide hydroxycinnamique, de flavanols, de flavonols, et de tanins (**Nassiri-Asl et Hosseinzadeh, 2009**).

Les composés, appartenant aux acides phénoliques, les plus représentatifs de ces effets sont les acides cinnamiques et caféïques. On les retrouve présents dans le thym et la téragone. Ces composés sont particulièrement efficaces contre de nombreuses souches de bactéries, de champignons et de virus (**Cheng et al., 2008**).

La capacité des tanins à créer des complexes avec les protéines par des liaisons hydrogènes, des liaisons hydrophobes ou des liaisons covalentes, leur permet alors de désactiver les adhésions microbiennes, enzymatiques et les enveloppes cellulaires transportant les protéines des microorganismes (**Cowan, 1999**).

### **✍ Activité anti-inflammatoire**

Les études sur les flavonoïdes issus de plantes utilisées traditionnellement restent encore très répandues car, bien que l'inflammation soit un phénomène normal d'autodéfense de l'organisme contre des blessures, elle est parfois incontrôlée dans les maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde) ou lorsqu'elle est liée aux réponses allergiques (asthme)

(**Benavente-Garcia et Castillo, 2008; Conforti et al., 2008**).

### **2.4 Applications industrielles des polyphénols**

De telles propriétés ont donc été exploitées, et trouvent des applications dans de nombreux domaines industriels : en agroalimentaire, en cosmétique et dans l'industrie pharmaceutique. Grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins, il est désormais possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques (**Daglia, 2012**).

La capacité antioxydante de composés comme les polyphénols est utilisée dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires. Ils sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés (comme le jus de betterave), d'arômes alimentaires, et rentrent dans la composition de produits pharmaceutiques pour des utilisations par voie orale et des cosmétiques pour des applications locales (**Moure et al., 2001**).

Enfin, l'effet de certains flavonoïdes en médecine humaine est de plus en plus étudié dans le traitement de certaines maladies, et particulièrement pour le contrôle du virus de l'immunodéficience, principal responsable du SIDA (**Sartori-Thiel, 2003**).



*Chapitre II :*  
*Activité biologique des plantes*  
*aromatiques*



*«Une seule rose peut être mon jardin... un seul ami, mon univers.»*  
- Leo Buscaglia -

### **Chapitre II : Activité biologique des plantes aromatiques**

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniène et al., 2000**). Les huiles essentielles quant à elles, ainsi que les extraits aromatiques ont été utilisées pour leurs propriétés antiseptiques. Dans l'Égypte ancienne, les techniques de l'embaumement utilisant les résines aromatiques, ainsi que l'HE, produisaient une inhibition puis une destruction de tous les microorganismes présents, en assurant une conservation pratiquement infinie du corps. Dans les vieux ouvrages de médecine, les résines aromatiques ou l'HE étaient les principes actifs qu'on peut retrouver dans les différentes drogues végétales ayant des propriétés antiseptiques significatives. Dans les ouvrages les plus récents, l'utilisation des huiles essentielles dans l'aromathérapie laisse entrevoir une perspective d'alternative aux médicaments de synthèse. Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités suivantes : insecticide, nématicide, bactériostatique, fongistatique, herbicide et antioxydante (**Bandoniène et al. 2000**).

#### **1. Activité antioxydante**

##### **1.1. Les antioxydants**

L'oxydation est une des plus importantes manifestations à l'origine du vieillissement des produits alimentaires et cosmétiques. Les dégradations oxydatives des constituants de nos aliments affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur par des implications toxicologiques. Elles sont également mises en cause dans le vieillissement des tissus biologiques et des organismes ainsi que dans de nombreuses pathologies (**Berset., 2005**).

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses antioxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (**Shahidi, 1997**). Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme.

### **1.2. Les radicaux libres dans les systèmes biologiques**

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se produire dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.

Par définition, les radicaux libres sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (**Bartosz , 2003**) mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides (**Pourrut, 2008**), des acides nucléiques (**Favier, 2003**) en entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, l'artériosclérose.

Par définition, les radicaux libres sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (**Bartosz, 2003**) mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides (**Pourrut, 2008**), des acides nucléiques (**Favier, 2003**) en entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, l'artériosclérose.

Des systèmes de défense permettent de prévenir la formation radicalaire ou de limiter les lésions d'oxydation résultantes. Ces systèmes peuvent être endogènes ou exogènes, d'origine nutritionnelle.

### **1.3. Le stress oxydant**

Le stress oxydatif est un état au cours duquel des substances oxydantes interviennent sur la capacité de défense antioxydative de la cellule (**Morelle, 2003**). Conséquemment il peut s'ensuivre un déséquilibre induit non seulement par une production excessive de radicaux libres mais aussi par une diminution des défenses antioxydantes; on parle alors de stress oxydant à l'origine bien souvent d'altérations moléculaires source d'une physiopathologie incluant l'athérosclérose, l'inflammation, la fibrose, la dégénérescence neuronale (**Baudin, 2006**). Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des dérivés de l'oxygène hautement réactifs et instables induisant un vieillissement des protéines, une peroxydation lipidique et un endommagement de l'ADN (**Baudin, 2006 ; Morelle, 2003**).

### 1.4. Classification des antioxydants

#### ☞ Division des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

☞ **Groupe I.** Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe par exemple, antioxydants primaires, chain-breaking, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire (Frankel et al., 2000).

☞ **Groupe II.** Les composés de ce groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Le groupe II inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydantes et destructeurs des hydroperoxydes.

Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller et al., 1996).

#### ☞ Division des antioxydants suivant la nature chimique (naturelle et synthétique)

Dans l'alimentation, les antioxydants les plus utilisés sont des composés phénoliques (chainbreaking). Plusieurs antioxydants synthétiques (BHT, BHA), hydroquinone de butyle tertiaire (TBHQ) et gallate de propyle (PG) (figure 2 :1, 2, 3, 4) et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) (figure 3:5, 6, 7) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation.

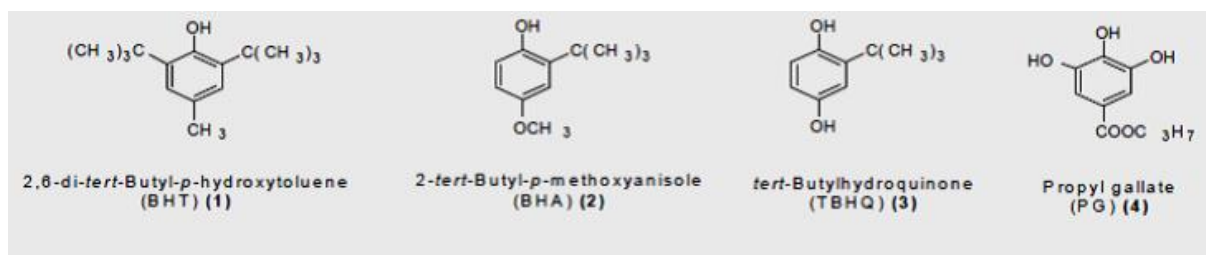


Figure 2 : Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques (El Kalamouni, 2010).

## Partie Bibliographique

Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger (Barlow, 1990; Evans et al., 1992). La recherche de nouveaux antioxydants naturels est l'objectif de nombreux industriels et scientifiques. Quelques produits naturels sont déjà exploités dans le marché (Schuller, 1990). Par exemple l'acide ascorbique, le tocophérol, l'huile de sésame, l'huile d'olive (Pratt, 1980; Taga et al., 1984; Altarejos et al., 2005; Perez-Bonilla et al., 2006).

Des recherches intensives sur plusieurs plantes ont été entreprises, plusieurs composés actifs ont été isolés et évalués comme étant des antioxydants. Dans la majorité des cas le composé actif est un composé phénolique.

La propriété antioxydante des composés phénoliques est déterminée par sa richesse en électrons libres, ce qui implique une libération facile de cet électron suivie de la déprotonation de son groupe hydroxyle (Frankel et al., 2000).

L'utilisation des extraits de plantes ou de fractions enrichies est devenue aujourd'hui une façon très attractive pour préserver les aliments. De plus, il a été démontré que plusieurs produits naturels (antioxydants) avaient des propriétés médicinales, par exemple : anti-cancérogène, anti-inflammatoire (Madhavi et al., 1995).

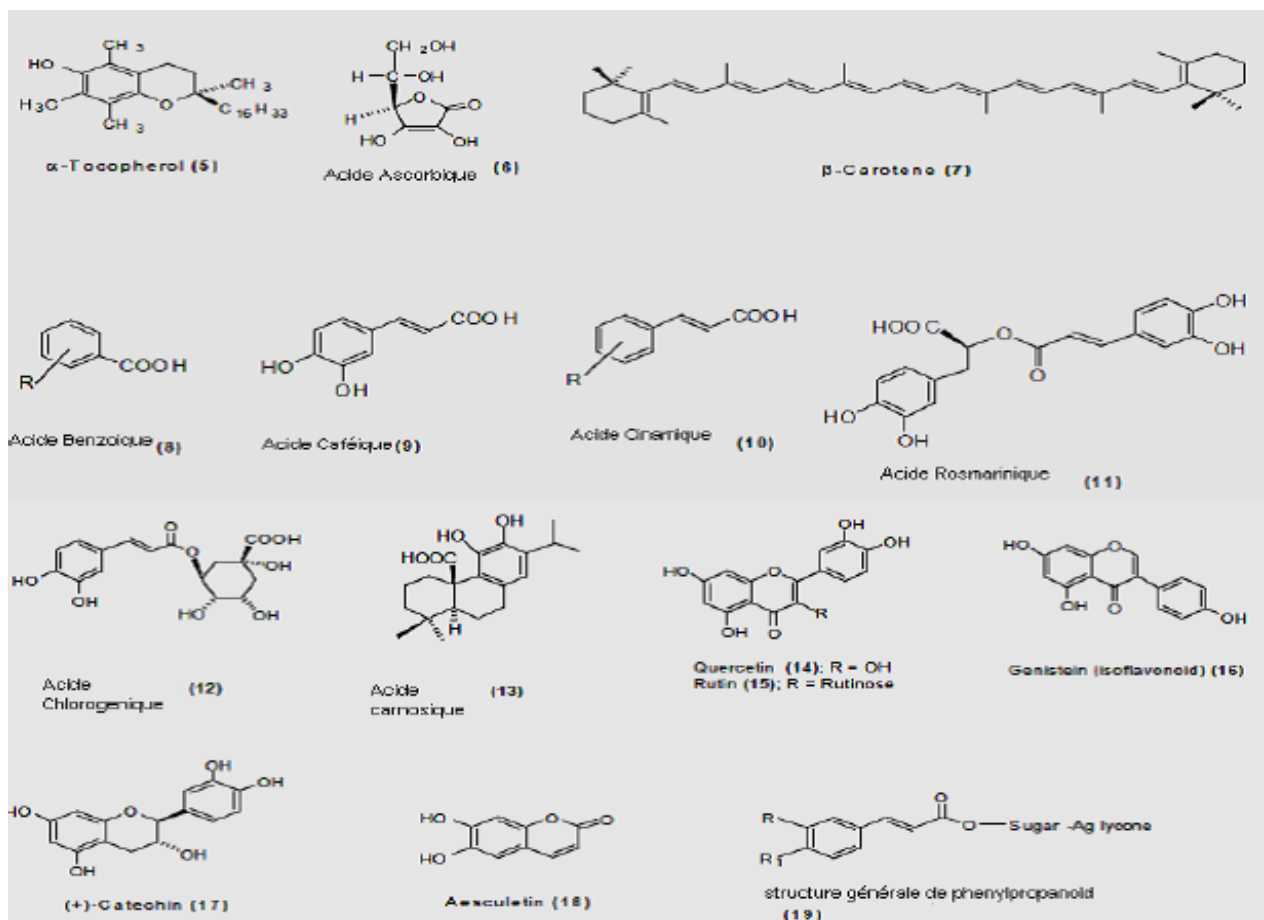


Figure 3: structures chimiques des antioxydants naturels (El Kalamouni, 2010).

Cependant il faut contrôler le fait que le produit « naturel » soit inoffensif. Par exemple, on a démontré *in vitro* que quelques flavonoïdes peuvent être mutagènes (**Sahu et al., 1993**).

Tout organisme vivant possède un système d'antioxydants et d'enzymes qui agissent ensemble pour empêcher l'endommagement des composants des cellules comme l'ADN, les lipides et les protéines. Par exemple, notre organisme est capable de produire, à partir de l'acide aminé cystéine, un antioxydant puissant, l'acide alpha-lipoïque, conduisant aux sels encore appelés lipoates.

Les fruits et les légumes sont bien connus pour être riches en antioxydants. Les fruits notamment ceux dits rouges, tels les ailles, du fait de la présence conjuguée de vitamine C et de polyphénols, et pour les légumes ayant la plus forte concentration en antioxydants ; on trouve la tomate, le cresson, l'ail, le chou vert, l'épinard, la betterave... Il faut savoir que lors de la cuisson de ces aliments, certains antioxydants tels que la vitamine C sont inactivés, alors que d'autres se transforment pour devenir plus actifs ou plus facilement absorbables par le système digestif.

### 1.5. Essais de l'activité antioxydante dans les aliments

Quelques récentes publications ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques (**Hussain and al, 2010 ; Hussain and al. 2008**). Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (**Hussain, 2009**). Des études de l'équipe du Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation. Des chercheurs ont étudié les activités antioxydantes de combinaison des extraits de plantes de thym, origan, marjolaine et sauge avec l'acide citrique en saindoux stockés à 75°C. Ils ont trouvé une efficacité synergique de l'acide citrique avec les extraits de thym (**Caillet et Lacroix, 2007 ; Kulevanova et Panovska, 2001**).

L'huile essentielle a montré une activité antioxydante forte en interdisant l'augmentation des paramètres oxydants (**Raza and al., 2009**). Récemment, une autre étude a été réalisée pour essayer la formulation des margarines de table additionnées d'huiles essentielles de *Citrus limon*, en vue de les exploiter et de les substituer à un additif synthétique : le Tocoblend. L'évaluation de la stabilité oxydative est réalisée par les tests de Rancimat et Schaal, les



résultats obtenus ont montré que les margarines à huiles essentielles de *Citrus limon* étaient plus résistantes que celle au Tocoblend vis-à-vis de l'oxydation forcée (Himed, 2011).

### 1.6. Méthodes de dosage de l'activité antioxydante et antiradicalaire

Diverses méthodes de dosage de l'activité antioxydante *in vitro* induisent la mesure de l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines. Celles-ci ne seront pas abordées, ni celles mesurant le pouvoir antioxydant *in vivo* sur le modèle animal ou chez l'Homme. Cette étude se focalisera sur les méthodes témoignant de l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à piéger des radicaux libres par transfert d'électron et/ou de proton issus de phénomènes d'oxydations (Prior et al., 2005). On parlera alors d'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante. Seules les méthodes les plus utilisées, en particulier pour les tests *in vitro* chimiques, seront représentées ici, en mettant en avant les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de la méthode (tableau 2).

Les tests antioxydants *in vitro* biologiques sont difficilement accessibles en raison de leur caractère commercial (brevets). Néanmoins, la littérature mentionne quelques tests qui sont présentés dans le tableau 3.

Les résultats d'activité antioxydante sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant de forte propriété antioxydante connue sous le nom de Trolox qui est un analogue hydrosoluble de la vitamine E (Figure 4):

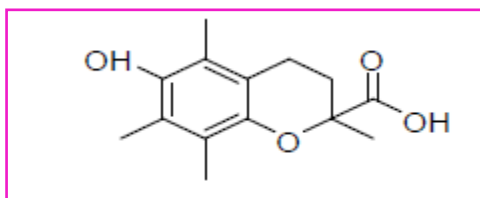


Figure 4: Structure chimique du Trolox (Prior et al. 2005)

## Partie Bibliographique

**Tableau 2** : description de quelques tests antioxydants in vitro chimique (Prior et al.2005).

Tests	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
<b>Mécanisme réactionnels</b>	• Transfert d'électron majoritaire	• Transfert d'électron et de proton	• Transfert d'électron	• Transfert de proton
<b>Nature des molécules testées</b>	• Hydrophiles et lipophiles	• Hydrophiles et lipophiles	• Hydrophiles	• Hydrophiles et lipophiles
<b>Expression des résultats</b>	• $CI_{50}$ et/ou en mg ou $\mu$ mol équivalent Trolox ®	• $CI_{50}$ et/ou en mg ou $\mu$ mol équivalent Trolox ®	• En mg ou $\mu$ mol $Fe^{2-}$	• $CI_{50}$ et/ou en mg ou $\mu$ mol équivalent Trolox ®
<b>Avantages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Très facile à mettre en œuvre</li> <li>• Peu coûteux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Très facile à mettre en œuvre</li> <li>• Cinétique de réaction très rapide</li> <li>• Peu coûteux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Très facile à mettre en œuvre</li> <li>• Peu coûteux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Facile à mettre en œuvre</li> <li>• Coûteux (nécessité d'un fluorimètre)</li> <li>• Utilisation d'un générateur de radicaux (<math>ROO^{\cdot}</math>)</li> </ul>
<b>Inconvénients</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires</li> <li>• Interférence possibles à 515 nm</li> <li>• Forte dépendance au pH et au solvant</li> <li>• Radical inexistant <i>in vivo</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Produits de dégradation antioxydants</li> <li>• Radical inexistant <i>in vivo</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ph utilisé non physiologique</li> <li>• Interférences possible à 595nm</li> <li>• Interférences avec composés possédant <math>E^{\circ} &lt; 0,77V</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécanismes de génération des <math>ROO^{\cdot}</math> non physiologique</li> <li>• Interférences possibles des protéines</li> </ul>
<b>Références</b>	(Brand-Willians et al., 1995 ; Pinelo et al., 2004)	(Awika et al., 2003 ; Arts et al., 2004 ; Osman et al., 2006)	(Benzie et Strain, 1996 ; Ou et al., 2002)	(Ou et al., 2001 ; Lopez et al., 2003)

## Partie Bibliographique

**Tableau 3** : Description de quelques tests in vitro biologique.

Tests	KRL	CAP-e	ROS-PMN
<b>Substrat ou réactif utilisé</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erythrocytes</li> <li>• Sang total</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erythrocytes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• leucocytes</li> </ul>
<b>Mécanismes réactionnels</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécanismes enzymatiques et chimiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aptitude des AO a pénétrer et piéger les radicaux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aptitude des AO a pénétrer et piéger les radicaux</li> <li>• Inhiber la formation des EOR par les leucocytes polynucléaires (mécanisme anti-inflammatoire)</li> <li>• Effet pro-inflammatoire</li> </ul>
<b>Nature des molécules testées</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydrophiles et lipophiles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydrophiles et lipophiles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydrophiles et lipophiles</li> </ul>
<b>Expression des résultats</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• % du temps de demi-hémolyse</li> <li>• En mg ou <math>\mu\text{mol}</math> équivalent Trolox<sup>®</sup>, acide gallique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En mg ou <math>\mu\text{mol}</math> équivalent Trolox<sup>®</sup>, acide gallique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentration en extrait</li> </ul>
<b>Avantages</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limitation des solvants</li> <li>• Utilisation d'un générateur de radicaux</li> <li>• Attaque radicalaire continue et progressive</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Limitation des solvants</li> <li>• Utilisation d'un générateur de radicaux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Très similaire au test CAP-e avec en plus des effets anti-inflammatoires</li> </ul>
<b>Inconvénients</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Accès difficile au brevet</li> <li>• couteux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• attaque radicalaire uniquement initiale</li> <li>• accès difficile au brevet</li> <li>• étude uniquement qualitative</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• utilisation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></li> <li>• accès difficile au brevet</li> <li>• 3 mécanismes d'action</li> </ul>
<b>Références</b>	(Prost, 1989 ; Blache et prost, 1992) (Honzel et al., 2008 ; Kang et al., 2010)		

**1.6.1. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)** Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al, 1995). La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits (Molyneuxs, 2004).

### 1.6.2. Réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

C'est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide, reproductible, et facile à exécuter. Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (**Karagozler et al, 2008**).

### 1.6.3. Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical  $ABTS^{+\cdot}$ , obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox® (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation en présence de  $H_2O_2$  ou d'un oxydant (dioxyde de manganèse) (**Benavente-Garcia, 2000 ; Miller et al, 1996**) ou persulfate de potassium (**Re et al, 1999**). Le radical  $ABTS^{+\cdot}$ , en contact avec un donneur de H conduit à l' $ABTS^+$  et à la décoloration à 734 nm de la solution (**Lien et al, 1999**).

D'autres auteurs utilisent l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ou  $ABTS^{\cdot-}$ , à la place de son sel d'ammonium et analysent l'inhibition du radical  $ABTS^{\cdot-}$ , produit par un initiateur de radicaux thermolabiles, l'ABAP (2,2'-azobis-(2-amidinopropane)HCl) (**Van Den Berg et al, 2000**). La cinétique de réaction de l'antioxydant étudié doit être examinée préalablement pour déterminer la fin de réaction.

La capacité antioxydante en équivalent Trolox® (TEAC) correspond à la concentration (mmole/l ou mg/l) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester, jus de fruit par exemple (**Miller et Rice-Evans, 1997**).

## 2. Activité antimicrobienne

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction d'extrait obtenu à partir des plantes. Depuis ce dernier siècle, l'utilisation des extraits s'est développée jusqu'à devenir, une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques dans les pathologies infectieuses. Cette médecine dite alternative n'a pas été le seul domaine d'application puisque divers procédés industriels ont mis aussi en application ces propriétés. Il s'agit par exemple, d'une utilisation pour la conservation des produits alimentaires ou encore le traitement de l'air ambiant à l'intérieur des bâtiments (**Pibiri, 2005**).

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique.

Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.

### 2.1. Les principes actifs antibactériens

Les phénols sont les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre: thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa*. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées. L'essence de thym (**Zambonelli , 2004**) est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives(**Bourrel, 1993**) ; **Agnihotri, 2003**) Son composé majoritaire, le carvacrol, possède également une forte activité antimicrobienne (**Caccionni, 1998**).

Les alcools avec 10 atomes de carbone (ou monoterpénols) viennent immédiatement après les phénols, en terme d'activité, avec le géranol, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol pour les plus connus. Molécules à large spectre, elles sont utiles dans de nombreuses infections bactériennes.

Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisés sont les citrals, le citronnellal et le cuminal. Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces mais ils doivent être utilisés sur de plus longues périodes. Des études fondamentales ont également montré que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique. De nombreuses familles de molécules ont montré in vitro une activité antivirale et, parmi elles, les monoterpénols et les monoterpénals. Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques et

## Partie Bibliographique

---

de nombreuses pathologies virales sévères montrent des améliorations importantes avec leur utilisation.

Il est donc admis que l'activité antibactérienne des HE se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires

**(Franchomme, 1981; Lec, 1971).**

### ✍ Le mode d'action des huiles essentielles

Il dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémoosmotique et une fuite d'ions ( $K^+$ ) **(Souza, 2006).**

Des conclusions similaires sont obtenues par d'autres auteurs **(Chami, 2005)**. Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP **(Pavel, 2009)**.

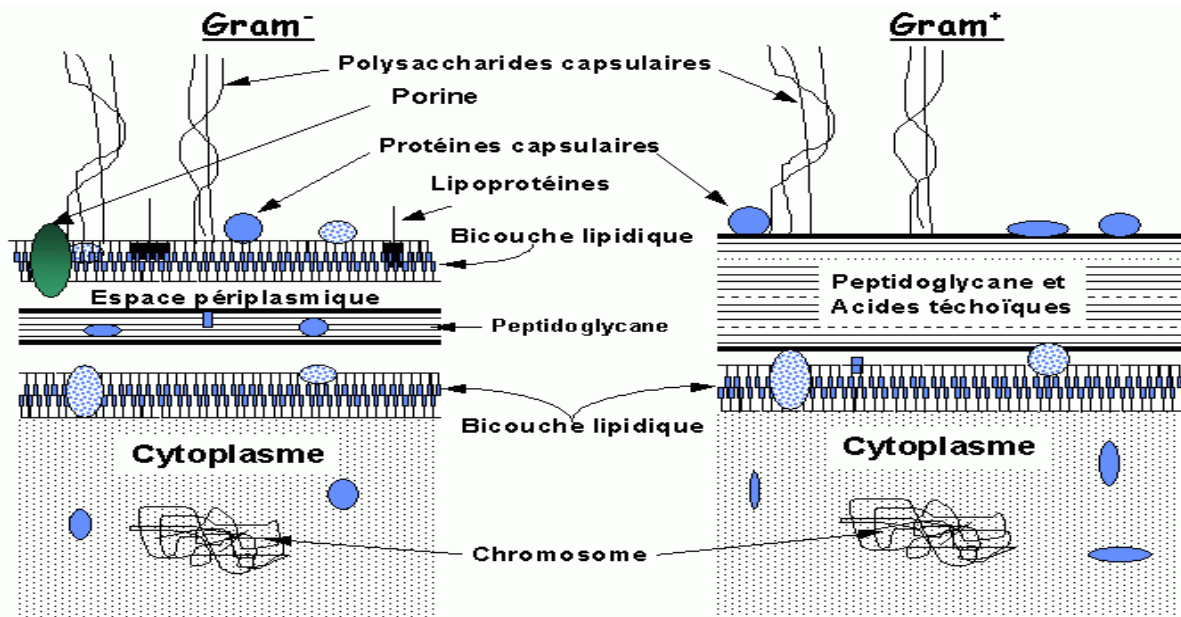
Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée **(Wendakoon, 1995)**. Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, de RNA, des protéines et des polysaccharides **(Malecky, 2007)**.

D'autres auteurs pensaient que l'activité inhibitrice de ces composés serait due à leur affinité avec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire **(Rhayour, 2002)**.

### ✍ Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis des huiles essentielles. Les bactéries peuvent être différenciées par l'application d'une coloration appelée Gram. Les bactéries colorées sont nommées Gram<sup>+</sup> et possèdent une couche épaisse de peptidoglycane située au-dessus de leur membrane sélective (Figure 5) **(Bisognano, 2000)**. Au contraire, les bactéries Gram<sup>-</sup>, qui ne sont pas ou peu colorées, possèdent une mince couche de peptidoglycane entourée par une membrane interne et une externe rendue perméable par la présence de porines. Ce sont des différences dans la taille et les propriétés du peptidoglycane qui permettent de différencier ces deux types bactériens (Gram<sup>-</sup>/Gram<sup>+</sup>) par la coloration. Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries, les bactéries Gram sont plus

résistantes que les Gram<sup>+</sup> vis-à-vis des huiles essentielles (Cox, 2000) grâce à la structure de leur membrane externe.



**Figure 5:** Structures de la membrane et de la paroi de peptidoglycane chez les bactéries Gram<sup>+</sup>/Gram<sup>-</sup> (Bisognano, 2000)

Ainsi, la membrane extérieure des Gram<sup>-</sup> est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram<sup>+</sup> qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries (Malecky, 2007).

Plusieurs travaux notamment ceux de Ouattara et al. (1997) ; Hammer et al. (1999); Moreira et al. (2005); Souza et al. (2006); Ahmad et al. (2006); Ağaoğlu et al. (2007); Bouguerra et Zeghou (2009) ; Derwich et al. (2010) ; et Bari et al. (2010), ont confirmé la grande sensibilité des bactéries Gram<sup>+</sup> par rapport aux Gram<sup>-</sup>.

### ✍ Matrice biologique

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont différentes en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les bactéries de l'action des huiles essentielles. Ainsi les huiles essentielles diluées dans la phase lipidique des aliments seront moins efficaces sur des bactéries de la phase aqueuse (Mejlholm, 2002). Généralement les concentrations des huiles essentielles et leurs composés nécessaires pour empêcher la croissance microbienne sont plus élevées dans les aliments que dans des milieux de culture. Ce serait dû aux interactions entre les composés phénoliques et la matrice de l'aliment (Karatzas, 2001). Le repartitionnement des composants antibactériens hydrophobes d'huile essentielle dans les

composés gras de la nourriture peut les empêcher d'entrer en contact avec les bactéries dans les régions hydrophiles dans les aliments (Gill, 2002).

### 2.2. Détermination de l'activité antimicrobienne

#### ✍ Grandeurs de mesure 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).

#### ☞ Techniques par contact direct

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

#### ☞ Technique d'aromatogramme

«L'aromatogramme est à la Phytothérapie ce que l'antibiogramme décrit par la Pharmacopée française des antibiotiques est à la médecine ». Cette transposition est décrite dans le tome III du Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie (Belaiche, 1979).

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Cette méthode utilisée par certains auteurs (Dorman et Deans, 2000; Zaika, 1988; Lis-Balchin et Hart, 2000).



### ☞ Méthodes de dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2. En milieu liquide, l'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique et où aucune croissance n'est visible.

### ☞ Méthode des puits

La méthode consiste à découper un trou circulaire vertical dans la gélose et à y verser une solution d'extrait ou l'huile essentielle de concentration connue. La solution d'extrait ou l'huile essentielle diffusant radialement créait une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne.

### ☞ Technique de micro-atmosphère

Le protocole des micro-atmosphères (Figure 6) est techniquement proche de celle des aromagrammes. 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. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé (Dorman et Deans, 2000)

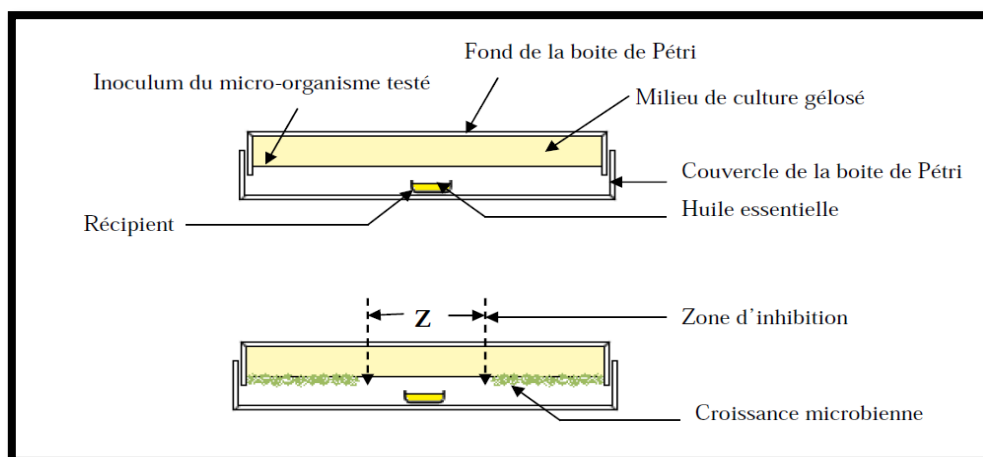


Figure 6: Technique de micro-atmosphère (Dorman et Deans, 2000)

### **3. Conservation des denrées alimentaires et activité insecticide des extraits végétaux**

#### **3.1. Conservation des denrées alimentaires**

Depuis que l'homme a découvert l'agriculture, il a pensé à protéger ses denrées stockées. Empirique au départ, cette protection a connu d'énormes progrès au cours du siècle dernier, et s'est améliorée considérablement avec la découverte et l'utilisation des pesticides organiques de synthèse. Ces derniers ont rendu d'énormes services à l'humanité dans la lutte contre les ravageurs mais leur utilisation anarchique pendant plus d'un demi siècle a engendré depuis quelques années des effets néfastes considérables incitant les scientifiques à rechercher des alternatives de lutte pour remplacer les pesticides organiques de synthèse par des biopesticides végétaux biodégradables et respectueux de l'environnement.

En effet, un des attributs de la lutte biologique, est la mise en œuvre de moyens dits spécifiques capables de limiter les populations d'insectes en causes, sans provoquer de perturbation importantes parmi les autres éléments de la biocénose, où se produit l'intervention.

Cependant l'introduction de ses agents de la lutte biologique dans l'écosystème ne peut que souiller un peu plus la denrée stockée (**Delattre et al., 2000**).

L'utilisation traditionnelle des plantes dans la lutte contre les ravageurs des denrées stockées et en tant que répulsives des insectes volants dans les maisons a fait preuve de son efficacité, c'est ce qui a été à la base des recherches actuelles qui démontrés l'effet entomotoxique de certaines substances isolées à partir de graines de légumineuses tels que le pois (**Bodnaryk et al., 1999**) et le pois chiche (**Mouhouche et Fleurat-Lessard., 2003**). Certains constituants d'huiles essentielles, tels que thymol et le carvacrol toxique vis-à-vis des insectes des stocks (**Regnault-Roger et al., 1995 ; Tapondjon et al., 2002**).

#### **3.2. Activité insecticide des extraits végétaux**

Les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques sont considérées comme des fumigants naturels. Elles présentent une forte toxicité chez les insectes qui sont des invertébrés (**Negahban M. et al. 2007**) alors qu'elles sont surtout connues comme présentant une faible toxicité vis-à-vis des vertébrés par US Food and Drug Administration. Cette différence de toxicité chez les vertébrés et les invertébrés est liée à la structure de leurs récepteurs octopaminergiques qui constituent les voies d'entrée des HE dans l'organisme (**Enan, 2001**).

### 3.2.1. Aperçu historique

De nombreuses molécules qui présentent une action défensive du végétal contre les ravageurs ont été identifiées depuis longtemps. Ainsi plus de 2000 espèces végétales dotées de propriété insecticides ont été répertoriées. C'est donc à partir d'observation empiriques, constatant que certaines plantes se protégeaient mieux que d'autres contre des prédateurs qui importuné aussi les hommes, que se sont développés les premiers usages phytosanitaires des végétaux **(Regnault-Roger, 2008)**. Dès l'Antiquité, les Chinois, les Grecs et les Romains utilisent des plantes ou extraits de plantes avec du soufre et de l'arsenic comme insecticides. Celles-ci ont également joué un rôle important pour la préservation des denrées stockées dans les greniers traditionnels en Afrique. Les biologistes et les grands naturalistes d'aujourd'hui, ont fondé de nouvelles approches de lutte contre les ravageurs des denrées entreposées, sur les bases de leurs connaissances scientifiques dans le domaine de biopesticides développées à partir des utilisations ancestrales des plantes aromatiques en profitant notamment des améliorations des techniques d'analyses **(Philogène et al., 2008)**.

### 3.2.2. Activité insecticide des plantes aromatiques méditerranéennes

Plusieurs observations ont été notées sur les propriétés insecticides des plantes aromatiques méditerranéennes, particulièrement ces plantes exercent un effet protecteur à double niveau : en provoquant la mort de l'insecte et en inhibant sa reproduction. Cet effet est prouvé chez de nombreuses espèces végétales appartenant à différentes familles botaniques : *Myrtaceae*, *Poaceae*, *Umbelliferae*, *Lauraceae*, *Myristicaceae*,...etc. Celles qui sont le plus actives appartiennent aux Lamiaceae (labiées), parmi lesquelles on distingue l'efficacité du thym et du serpolet (*Thymus vulgaris* et *T. serpyllum*), du romarin (*Rosmarinus officinalis*), de l'origan (*Origanum vulgare*), **(Regnault-Roger et Hamraoui, 1993)**.

Toutefois, la menthe et le laurier utilisés par certains paysans développent une action plus marquée sur le cycle reproductif. Ce résultat montre que les agriculteurs ont sélectionné de façon empirique des plantes freinant la reproduction de l'insecte dans les sacs de grains **(Philogene B. J.R. et al. 2008)**.

### 3.2.3. Principaux composés des plantes aromatiques à effet insecticide et leur mode d'action

Certaines huiles essentielles ont une action neurotoxique **(Huignard et al., 2008 in Nyamador , 2009)** et/ou inhibitrice du système enzymatique **(Keto et al., 2008)** alors que d'autres sont métabolisées par des enzymes de détoxification **(Southwell et al., 2002)**.

Des études scientifiques ont montré que les propriétés insecticides des plantes aromatiques ne sont pas le fait d'un seul composé en comparant l'effet de l'extrait à l'effet induit par leurs composés pris seuls. C'est l'effet synergique.

### 3.2.4. Actions insecticides des composés des huiles essentielles

De part la diversité de leurs composés terpéniques, les huiles essentielles qui agissent par fumigation, présentent différents modes d'action. En effet, leurs actions peuvent se faire sur les estérases, les synapses inhibitrices, les récepteurs octopaminergiques ou sur l'activité électrique neuronale (Nyamador, 2009).

#### ☞ Action sur les estérases

Les monoterpènes contenus dans les huiles essentielles sont des neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique. Le terpinène-4-ol et le 1,8-cineole contenus dans l'huile essentielle extraite des feuilles de thé provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérases (Mills et al. 2004 ; Huignard et al. 2008). Ces neurotoxiques sont utilisés dans la lutte contre les poux dans le traitement de la pédiculose.

Selon Ryan et Byrne (1988), cinq monoterpènes (*citral*, *pulegone*, *linalol*, *bornyl acétate* et *cinéole*) représentant chacun un groupement fonctionnel donné (aldéhyde, cétone, alcool, ester et éther) sont des inhibiteurs réversibles compétitifs occupant le centre du site actif hydrophobique de l'AChE. D'autres composés terpéniques ont également montré une efficacité dans l'inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) in vitro. Ce sont entre autres, le linarin (acacétin-7-O- $\beta$ -D-rutinoside) extrait des fleurs de *Mentha arvensis* (Oinonen et al., 2006) ; le 3-carène et le  $\beta$ -pinène contenus dans les huiles essentielles de *Salvia fructicosa* et de *Salvia officinalis* var. *purpurea* (Savelev et al., 2004).

#### ☞ Action sur les synapses inhibitrices

En dehors de leur effet inhibiteur sur l'AChE, les composés terpéniques ont d'autres sites d'action. Le thymol perturbe le fonctionnement des synapses inhibitrices où le neurotransmetteur est l'acide gamma aminobutyrique (GABA). Il se fixe sur les récepteurs GABA associés aux canaux chlore situés sur la membrane des neurones post-synaptiques et perturbe ainsi l'activité régulatrice de ces cellules (Huignard et al., 2008).

Des études récentes ont révélé qu'en plus du thymol la pulégone et l'eugénol sont des composés neurotoxiques à effet aigu qui interfèrent avec le neurotransmetteur octopamine, qui est unique aux arthropodes.

### ☞ Action sur les récepteurs octopaminergiques

Selon **Enan, (2005)**, l'eugénol aurait, un effet spécifique sur les récepteurs de l'octopamine qui est un neuromodulateur et une neurohormone chez les invertébrés (**Roeder, 1999 in Nyamador, 2009**). Cette action de l'eugénol se fait soit à plus faibles doses ( $10^{-6}$  M) en augmentant l'activité de l'adénylcyclase des cellules du système nerveux de l'insecte (*Periplaneta americana*) ; soit à plus fortes doses ( $10^{-5}$  M) en réduisant la production d'AMP cyclique (AMPc) (**Enan, 2001**). De plus, un mélange d'eugénol, de  $\alpha$ -terpineol et d'alcool cinnaminique ( $10^{-3}$  M) inhibe l'accroissement du taux de AMPc provoqué par l'octopamine. Sur des cultures de cellules de cerveau de *P. americana* et de *Drosophila melanogaster*, l'eugénol, à plus fortes doses ( $2,5 \times 10^{-5}$  M) minimise l'action de l'octopamine et provoque une augmentation du taux de calcium intracellulaire (**Enan, 2005**).

### ☞ Action sur l'activité électrique neuronale

Pour **Price et Berry (2006)**, l'effet de l'eugénol est tout autre. Ce monoterpène provoque plutôt une inhibition presque complète de l'activité électrique neuronale. Par contre le citral et le géraniol provoquent sur ces neurones un effet biphasique en fonction de la dose utilisée. A faible dose, ces deux monoterpènes induisent une augmentation de l'activité électrique spontanée, puis une diminution à forte dose (**Price et Berry, 2006 ; Nyamador, 2009**).

Le linalool et l'estragol induisait au niveau du système nerveux central de *P. americana*, une diminution de l'amplitude du potentiel d'action de près de 50%, associée à une réduction à la fois de la phase de post-hyperpolarisation et de la fréquence de décharge des potentiels d'action. En somme, son effet aboutit à une inhibition totale de l'activité électrique neuronale.

### 3.2.5. Niveau d'actions des huiles essentielles et les extraits phénoliques sur l'insecte

L'activité biologique des huiles essentielles sur les insectes s'exerce à plusieurs niveaux et limite le renouvellement des générations. Ainsi, il a été constaté que les huiles essentielles se révèlent insecticides ou inhibent le cycle de reproduction (**Weaver et al. 1991 ; Tapondjou et al., 2003 in : Philogene et al., 2008**). La toxicité des huiles essentielles, ainsi que celles des extraits des plantes, sont testées sur divers modèles entomologiques et on constate qu'outre les huiles essentielles, certains extraits de plantes manifestent toujours une action toxique sur le coléoptère : le thym, le serpolet, le romarin, la sarriette (*Satureja hortensis*) et l'origan (**Regnault-Roger et Hamraoui, 1995**).

### ☞ Sur les stades développement des insectes

Pour assurer un contrôle efficace des effectifs du ravageur, les traitements doivent être actifs non seulement sur les adultes, mais également sur les œufs déposés à la surface des graines ainsi que les larves ou des nymphes se développant à l'intérieur des graines.

Les études sur l'efficacité des fractions des plantes aromatiques démontrent qu'il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces pour une même huile essentielle (**Shaaya et al. 1991**) ou pour un même composé. De même il a été observé qu'une même molécule allélochimique n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle reproductif d'un insecte, c'est-à-dire que la sensibilité d'un insecte peut évoluer en fonction de son développement physiologique (**Regnault-Roger, 2008**). En conséquence, sélectivité et spécificité permettent aux molécules allélochimiques végétales d'agir à des moments déterminés sur les espèces ciblées.

### ☞ Modes de pénétration des huiles essentielles dans l'insecte

#### ➤ Par contact

Plus récemment, il a été démontré que de nombreux constituants terpénoïdes d'huiles essentielles végétales sont toxiques au contact pour un large éventail d'insectes et peuvent être utilisés comme insecticides

#### ➤ Par inhalation

Certains Monoterpènes entraînent une toxicité inhalatoire chez certains insectes, tel que le carvacrol, linalool, eugénol, thymol, terpinéol, cuminaldéhyde,  $\rho$ -cymène, anéthole, cinnamaldéhyde,

#### ➤ Par ingestion

L'ingestion de certains composés des huiles essentielles entraîne des signes d'intoxication chez l'insecte (neurotoxicité, effet anti-appétant,...).

### 3.2.6 Résistance et métabolisation des matières actives toxiques

Les molécules allélochimiques végétales, en augmentant le nombre de composés utilisés dans la lutte phytosanitaire et, de ce fait, en variant les structures chimiques, contribuent à la diversification des cibles moléculaires et biochimiques chez l'insecte. Cependant, comme les antibiotiques, un insecticide phytochimique peut générer des cas de résistance si des applications de ce composé sont faites de manière systématique, répétée et sans discernement. Il faut donc limiter les fréquences d'épandages et surtout varier les formulations en associant plusieurs composés de modes d'action différents, ou mieux, mettre en œuvre une approche intégrée impliquant différentes méthodes de lutte (**Regnault-Roger, 2008**).

---

## *Chapitre III :*

# *Monographie des espèces étudiées*



*« C'est une triste chose de penser que la nature parle et que le genre humain  
n'écoute pas. »  
- Victor Hugo -*

### Chapitre III : Monographie des espèces étudiées

#### 1. Espèces végétales

##### 1.1. Aperçu sur la famille des *Myrtaceae* et le genre *Myrtus*

###### 1.1.1. Les *Myrtaceae*

La famille des *Myrtaceae* est la huitième plus grande famille de plantes à fleurs, en comptant plus de 140 genres et environ 5 600 espèces (Kew Gardens check-list). La classification APGIII (2009) et les travaux récents de **Soltis et al. (2011)** classent la famille des *Myrtaceae* au sein des clades suivants : les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtales.

###### ✍ L'intérêt de la famille

Au sein des *Myrtaceae*, on trouve des arbres et des arbustes très fréquemment producteurs d'huiles aromatiques (*Eucalyptus*, *Melaleuca*, *Myrtus*...) à usage thérapeutique ou pour la parfumerie, avec également production de fruits (*Eugenia* ou *Psidium* dont fait partie le goyavier) ou d'épices (*Syzygium* dont le giroflier).

Ecologiquement très importante, cette famille a son centre de diversité en zone tropicale, notamment en Amérique du Sud, en Australie et en Asie tropicale. Plusieurs travaux de révision phylogénétique ont été et sont encore menés sur les plus grandes tribus de cette famille (**Wilson et al. 2001**).

Enfin, les *Myrtaceae* sont économiquement de première importance pour les industries pharmaceutiques, agroalimentaires ou cosmétiques, sans compter les nombreux composés potentiellement bioactifs qu'il reste à analyser et valoriser.

L'origine australasienne de la famille des *Myrtaceae* remonterait à 87 Ma, d'après les travaux de **Sytsma et al. (2004)** et de **Biffin et al. (2010)**, avec une estimation de l'âge des *Eucalyptus* atteignant la transition Crétacé-Paléocène (**Ladiges et al. 2011**). Quant au plus ancien fossile de Myrteae, il remonte à 56 Ma, à partir des fruits fossiles de *Paleomyrtinaea* découverts en Amérique du Nord (**Pigg et al. 1993**).

###### 1.1.2. Le genre *Myrtus* et l'espèce *M. communis* L

Le genre *Myrtus* est à la fois le type botanique d'une grande famille végétale, mais aussi son seul genre qui soit indigène en Méditerranée et au Sahara (figure 7). Au sein de cette famille d'affinité tropicale, *Myrtus communis* L. a une distribution circum-méditerranéenne, puisqu'il s'étend en Macaronésie (Açores et Madère), mais aussi en zone irano-touranienne (montagnes de l'Alborz, du Zagros et région de Kerman en Iran), et même, peut-être, en Asie



## Partie Bibliographique

(en Afghanistan voire au Pakistan) (Rechinger, 1966 ; Meusel et al. , 1978 , de Bòlos & Vigo, 1984 ; Browicz, 1984 , Güner et al., 2000; Strid, 1996).



■ Distribution de *M. communis*

■ Distribution de *M. nivellei*

Figure 7 : Distribution du genre Myrtus (Migliore ; 2011).

Selon Grêté (1965), la systématique de cette espèce est comme suit

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Eucaryotae*

Embranchement : *Spermaphytæ*

Sous-embranchement : *Angiospermae*

Classe : *Dicotylédonae*

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Myrtaceae*

Genre : *Myrtus*

Espèce : *communis* L.

Le myrte commun est un phanérophyste sempervirent, en général de 1 à 3 m de hauteur, mais qui peut former un véritable arbre dans des conditions favorables de sol profond à humidité quasi-permanente et dont la longévité pourrait dépasser les 300 ans (Rameau et al. 2008). Les rameaux sont quadrangulaires et à légère pubescence les deux premières années, ils présentent une écorce de couleur cannelle, lisse, se détachant en lambeaux (Figure 8).

## **Partie Bibliographique**

---

Le myrte se caractérise par des feuilles opposées, munies d'un pétiole très court. Mesurant 20-24 × 4-11 mm (forte variation en fonction de l'exposition), les feuilles sont entières, ovales et à extrémités aiguës-pointues, et un peu convexes. Les feuilles ont une consistance ferme, en étant lisses, coriaces, et d'un vert foncé brillant (quelques petits poils transparents les parsèment). Élément important dans la valorisation du myrte, les feuilles renferment de nombreuses petites glandes translucides à huiles essentielles qui les rendent très aromatiques au froissement.

Sous les sépales, existent souvent des pièces surnuméraires brunes, qui forment un calicule (**Vignes et Vignes, 2007**). Le pistil est constitué de deux ou trois carpelles soudés, et l'ovaire est surmonté d'un très long style, qui traverse un disque nectarifère blanc et pentagonal. La pollinisation est effectuée par les insectes (abeilles, par exemple).

Le fruit est une baie ovale (7-10 × 6-8 mm), au sommet d'un pédoncule ténu, couronnée par le calice, et de couleur noir-bleuâtre, quelquefois blanche (Figure 8). Sous la peau bleu foncé, la chair blanche est plus ou moins épaisse, parfois presque entièrement résorbée, de saveur âpre, résineuse et astringente. Devenus bleus, eux aussi, les lobes libres des sépales se sont rabattus vers l'intérieur.



**Figure 8:** Caractéristiques botaniques de *Myrtus communis* à partir de dessins [1-3], de photographies [4-9] et d'images au microscope électronique à balayage réalisées avec l'aide de Régine Verlaque et Alain Tonetto (Université de Provence) [10-15] (Migliore, 2011).

Les graines sont nombreuses avec des irrégularités de formes et de tailles.

La floraison peut débuter à partir de mai-juin et s'étale jusqu'en août sous la forme de fleurs odorantes, aux pétales d'un blanc éclatant ou taché de rose (Figure 8). Les fleurs sont

solitaires, jusqu'à 3 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles et portées par de longs pédoncules. Elles sont régulières, de type 5, et abritent un bouquet d'étamines proéminentes. Il a aussi été reporté l'ingestion de fruits par des mammifères carnivores (renardset martres) (**Aronne et Russo, 1997 ; Traveset et al., 2001**), dont le rôle en Méditerranée est loin d'être négligeable (**Rosalino et al., 2010**).

### 1.1.3. Composition chimique d'huile essentielle du *M. communis* L.

La composition en volatils de *Myrtus communis* L a fait l'objet de nombreuses études ; la grande majorité de celles-ci concernent l'analyse des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des feuilles. En 1976, **Lawrence (1976)** a établi, pour la première fois, une composition riche en monoterpènes avec l' $\alpha$ -pinène et le 1,8-cinéole comme composés majoritaires. Les travaux successifs ont mis en évidence une variabilité de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de l'origine géographique du myrte commun. La quasi-totalité des huiles essentielles présente une abondance élevée en 1,8-cinéole (19-45%) ; cependant, deux principaux chimiotypes ont été distingués sur la base de la présence ou non d'acétate de myrtényle :

- le premier groupe, caractérisé par des teneurs importantes en  $\alpha$ -pinène (8-36%) et en acétate de myrtényle (9-36%), comprend les huiles essentielles du Maroc (**Gautier et al., 1988 ; Boelens et Jimenez, 1991 ; Garry et Chalchat, 1992**), du Portugal (**Boelens et Jimenez, 1991**), de France continentale (**Gautier et coll., 1988**), d'Albanie (**Boelens et Jimenez, 1991**), de Yougoslavie (**Garry et Chalchat, 1992**), d'Espagne (**Boelens et Jimenez, 1991, 1992**) et de Grèce (**Gardeli et coll., 2008**).

- le second groupe, marqué par de fortes abondances en 1,8-cinéole (20-40%) et en  $\alpha$ -pinène (20-45%), rassemble les huiles essentielles d'Iran (**Weyerstahl et coll., 1994**) et du Liban (**Garry et Chalchat, 1992**). Au sein de ce groupe, nous trouvons également les huiles essentielles de Tunisie (**Garry et Chalchat, 1992; Wannes et coll., 2010**), de Sardaigne (**Tateo et Picci, 1982**) et de Corse (**Bradesi et coll., 1997**) qui se caractérisent par des taux élevés en  $\alpha$ -pinène (50-60%) et des teneurs plus faibles en 1,8-cinéole (20-30%). Cependant, il convient d'être plus nuancé. Certaines huiles essentielles du Maroc (**Gautier et coll., 1988**) et de France (**Gautier et coll., 1988**) rattachées au premier groupe présentent des taux élevés en terpinèn-4-ol (8-10%). De façon analogue, certaines huiles essentielles d'Espagne (**Boelens et Jimenez, 1992**) montrent une abondance particulièrement marquée en acétate de myrtényle (35%) et une proportion relativement faible en  $\alpha$ -pinène (8%). Enfin, les huiles essentielles de Grèce (**Garry et Chalchat, 1992**) se singularisent de celles d'autres provenances par une quantité appréciable en linalol (10%) et limonène (15%). S'agissant plus

spécifiquement de la composition de l'huile essentielle de Corse (**Bradesi et al. 1997**), elle est constituée de 18 composés dont les majoritaires sont l' $\alpha$ - pinène (54,3%), le 1,8-cinéole (24,7%), le limonène (5,3%), l'acétate de géranyle (1,5%) et l' $\alpha$ -terpinéol (1,3%). En outre, la composition chimique s'est révélée relativement stable au cours du cycle végétatif de juin à novembre.

### 1.2. Aperçu sur la famille des *Lamiaceae* et le genre *Mentha*

#### 1.2.1. Les Labiées (*Lamiaceae*)

Les menthes font parties de la famille des Labiées (*Lamiaceae*) qui forment, avec près de 7000 espèces et 8 sous-familles (*Ajugoideae*, *Chloranthoideae*, *Lamioideae*, *Nepetoideae*, *Pogostemonoideae*, *Scutellarioideae*, *Teucroideae* et *Viticoideae*), une vaste et importante famille très typique du monde végétal. Près de la moitié (47 %) des *Lamiaceae* sont regroupées dans la sous-famille des *Nepetoideae*. Cette famille regroupe des plantes herbacées, répandues dans le monde entier (à l'exception de l'Antarctique), mais particulièrement présentes dans les régions tempérées et surtout méditerranéennes. Elles sont pour la plupart aromatiques (basilic, lavande, marjolaine, mélisse, menthe, origan, romarin, sarriette, sauge, serpolet, thym, ...), partiellement ligneuses et forment des arbustes et très rarement des arbres. Leurs caractéristiques communes sont les suivantes : les fleurs sont hermaphrodites, le calice persistant est formé de 5 sépales diversement soudés et présente souvent deux lèvres.

Selon **Judd et al. (2002)**, la distribution géographique des lamiacées est cosmopolite. Les Lamiacées sont rencontrées sous tous les climats, à toutes les altitudes. Certains des 200 genres que compte la famille sont quasiment cosmopolites, d'autres ont une distribution plus restreinte. Rare dans le milieu forestier tropical, les Lamiacées se concentrent dans la région méditerranéenne (**Bruneton, 2001**). Les Lamiacées comprennent environ 2 500 espèces dont l'aire de répartition est extrêmement étendue, elles sont particulièrement abondantes dans la région méditerranéenne (**Crété, 1965**).

Les Lamiacées sont surtout des plantes méditerranéennes qui, au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptica* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues et en particulier, les deux premières espèces (**Ozenda, 2004**).

### ☞ L'intérêt de la famille

Les menthes étaient utilisées à des fins thérapeutiques au 16<sup>ème</sup> et 17<sup>ème</sup> siècle, actuellement elles sont employées dans plusieurs domaines. En thérapeutique, la menthe s'utilise contre la fièvre, la faiblesse, la toux, les nausées, les maux de l'estomac, la mélancolie, les maladies de poitrines, l'hystérie, les troubles de la vue, elle présente aussi des propriétés médicales, on cite à titre d'exemple : stimulante du système nerveux, tonique, stomachique, antiseptique, analgésique, vermifuge. On l'utilise aussi contre les parasites, les tiges et les fleurs de la menthe sont brûlés pour chasser les puces des matelas et des animaux domestiques, on peut aussi placer les sachets de menthe auprès des sacs de grains et de fromage pour chasser les rongeurs. Dans le domaine alimentaire, on peut citer les besoins d'arômes, les crèmes, les chocolats, les bonbons, les pâtes à mâcher, les desserts, etc (**Benayad, 2013**)

### 1.2.2. Le genre *Mentha* et l'espèce *M. rotundifolia* L

Au sein de la famille des *Nepetoideae*, le genre *Mentha* est représenté par 18 espèces et environ 11 hybrides. L'hybridation intra spécifique est relativement aisée et rend la taxonomie particulièrement délicate. La menthe est une plante herbacée vivace, dicotylédone et gamétopétale, susceptible de se reproduire par des rhizomes, par marcottage ou par bouturage.

Elle apprécie les situations fraîches, moyennement éclairées, des sols riches en éléments nutritifs, affectionnant un pH plutôt neutre (**Bruneton, 1993**)

Selon **Grété (1965)**, la systématique de cette espèce est comme suit :

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Eucaryotae*

Embranchement : *Spermaphytae*

Sous-embranchement : *Angiospermae*

Classe : *Dicotylédonae*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Mentha*

Espèce : *rotundifolia* L.

La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents.

En Algérie, il existe de nombreuses espèces de menthe dont certaines, telles *M. pulegium* et *M. rotundifolia*, poussent spontanément. *Mentha rotundifolia*, dont le nom vernaculaire est

« *timarssat* » en langue arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* (Kokkini et Papageorgiou, 1988; Lorenzo et al., 2002).

### 1.2.3. Composition chimique d'huile essentielle du *M.rotundifolia* L

La composition chimique des huiles essentielles de *M. rotundifolia* poussant dans diverses parties du monde (Kokkini, Papageorgiou, 1988 ; El Arch et al., 2003) a fait l'objet de nombreux travaux et différents chémotypes ont été définis. L'un d'eux est particulièrement riche en oxyde de pipériténone. Ce monoterpène oxygéné possède des effets biologiques très intéressants. Il présente des effets cardiovasculaires (activité hypotensive, vasodilatateur, bradycardie), une activité sur les centres nerveux sympathiques (relaxant, stimulant, dépressant), des propriétés antibactériennes et antifongiques, et agit aussi comme agent retardant la reproduction du vecteur de malaria *Anopheles stephensis* (Damien et al., 2003 ; Tripathi et al., 2004). L'oxyde de pipériténone est également intéressant pour la synthèse des hétérocycles, de pyrazoles, de pyrazolines et d'alcools allyliques (Ghoulami et al., 2001).

### 1.3. Aperçu sur la famille des Apiacées et le genre *Daucus*

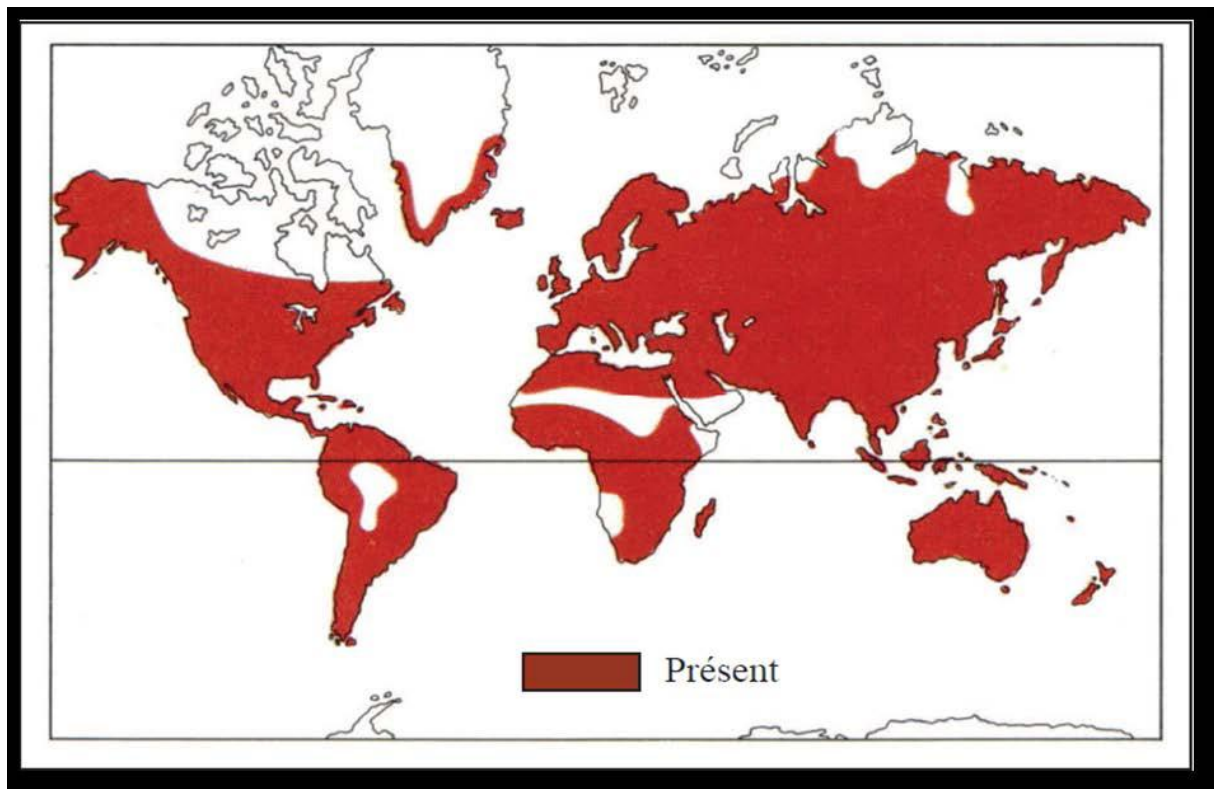
#### 1.3.1. Les Apiacées

Autrefois appelées Ombellifères, les Apiacées comptent environ 3.000 espèces réparties en 420 genres, pour la plupart des herbacées. Les Apiacées sont faciles à reconnaître mais sont pourtant difficiles à distinguer entre elles (exemple parmi d'autres de la cigüe (*Conium maculatum* L.) avec la carotte sauvage (*D. carota* L.) (Jensch et al., 2008).

Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces. Elles sont à quelques exceptions près, toutes herbacées, rarement ligneuses et arbustives, à plan floral fixe, à fleurs hermaphrodites, rarement dioïques ou polygames, disposées en ombelles, souvent munies à la base d'un verticille de bractées (involucre) ou composées de plusieurs ombelles simples (ombellules) presque toujours pourvues de bractéoles (involucelle) (Bach et al., 1979).

La famille est répartie sur la majeure partie du globe (Figure 9), plus commune dans les régions montagneuses tempérées et relativement rare en zone tropicale (Heywood, 1996).

Les genres se répartissent entre les divers continents, avec une prédominance pour le continent asiatique



**Figure 9:** Répartition géographique mondiale des Apiaceae (Pimenov et al.1993).

La famille des Apiaceae occupe une place importante dans la flore Algérienne où elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Quezel et Santa, 1963).

Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économiques et médicaux, comportant des coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques, ainsi qu'une grande richesse en huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques.

### ☞ L'intérêt de la famille des Apiacées

Certaines plantes de la famille des Apiacées peuvent être utilisées comme aliments.

Les racines de la carotte (*D. carota* L.), du panais (*Pastinaca sativa* L.), du maceron (*Smyrniium olusatrum* L.) et du céleri (*Apium graveolens* L.) peuvent être consommées ainsi que les feuilles de persil (*Petroselinum crispum* L.) et de céleri. Le cerfeuil (*Anthriscus cerefolium* L.) est utilisé en tant que condiment. Les souches et le pétiole d'angélique (*Angelica archangelica* L.) sont utilisés en confiserie (sous forme confite) car riches en glucides (Botineau, 2010).



## Partie Bibliographique

---

Plusieurs enquêtes sur la composition chimique de l'huile essentielle de *D. carota*, ont été réalisées. En particulier, la composition de l'huile de graine de la carotte, qui a diverses applications dans la formulation de certaines boissons alcoolisées, et les parfums

**(Lanfranchi and al., 2010).**

### 1.3.2. Le genre *Daucus* et l'espèce *D.carota* L subsp.*carota*

La classification du genre *Daucus* dans la famille des Apiacées selon **Botineau (2010)**.

Empire : *Eukaryota*

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Viridiaeplantae*

Embranchement : *Tracheophyta*

Sous-embranchement : *Euphyllophytina*

Infra-embranchement : *Radiatopses*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Cornidae*

Superordre : *Aralianae*

Ordre : *Araliales*

Famille : *Apiaceae*

Sous famille : *Apioideae*

Tribu : *Caucalideae*

Genre : *Daucus*

Il est un genre de plantes herbacées de la famille des Apiacées (Ombellifères) dont l'espèce la plus connue est la carotte cultivée. Il est largement distribué à travers le monde. Il semble avoir son centre de dispersion dans la région méditerranéenne, particulièrement en Afrique du Nord, où la spéciation intense a eu lieu.

En Algérie, le genre *Daucus* est représenté par des espèces vivantes dans les zones arides et incultes très répandues le long de la côte ouest Algérienne (**Mazzoni, 1999**).

Ce genre est caractérisé par une tige solitaire dressée, ramifiée, hispide gantée en arrière. Feuilles basales pétiolées, réduites devenant sessiles vers le haut. Ombelles terminales et axillaires, peu composées; bractées nombreuses, pennées, rarement entières, généralement réfléchies; bractéoles nombreuses, dentées ou entières; ombellules fortement fleuries, fleurs centrales généralement stériles avec des pétales pourprés élargis. Pédicelles inégaux. Calice à dents obsolètes à remarquables. Pétales blancs ou jaunes, obcordés, avec un apex infléchi, pétales extérieurs en fleurs extérieures d'une ombellule élargie et radieuse. Stylopode conique; styles courts. Fruit ellipsoïde, dorsalement comprimé ; nervures principales filiformes, poilues; nervures secondaires ailées, ailes avec épines. Aspect de graine superficiellement concave à presque plat. Carpophore entier ou bifide à l'apex

**(Meng-lan, 2005).**

Plusieurs enquêtes sur la composition chimique de l'huile essentielle de *D. carota*, ont été réalisées. En particulier, la composition de l'huile de graine de la carotte, qui a diverses applications dans la formulation de certaines boissons alcoolisées, et les parfums

**(Lanfranchi et al., 2010).**

Seules quelques études ont été réalisées sur l'activité biologique des huiles essentielles de l'espèce de *Daucus*. Les huiles essentielles des fruits de *D. carota* subsp *carota* (sauvages), présentent une activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus b-hemolyticus* avec des valeurs de CMI (concentration minimale inhibitrice) de 0.12 à 0.90 mg/ml(**Lawrence, 1999**).

### **1.3.3. Composition chimique d'huile essentielle du *D.carota* subsp.*carota***

Plusieurs enquêtes sur la composition chimique de l'huile essentielle de *D. carota*, ont été réalisées. En particulier, la composition de l'huile de graine de la carotte, qui a diverses applications dans la formulation de certaines boissons alcoolisées, et les parfums **(Lanfranchi et al. 2010)**. Diverses compositions ont été signalées, caractérisé par un élément principal,  $\alpha$ -pinène (jusqu'à 55%), sabinène (jusqu'à 60%), géraniol (jusqu'à 50%) ou de ses esters (jusqu'à 81%), et carotol (jusqu'à 77%). la recherche bibliographique a également révélé quelques compositions inhabituelles pour l'huile de la carotte, contenant principalement du  $\gamma$ -bisabolène (jusqu'à 87%) ou le  $\beta$ -caryophyllène (jusqu'à 29%) comme composant principal **(Djarri and al.,2006 ; Casanova and al., 2009)**.

L'huile des ombelles en fleur de *D. carota* subsp. *carotade* Pologne était composée principalement de monoterpènes hydrocarbonés (84%), et les principales composantes se sont avérées  $\alpha$ -pinène (41%) et sabinène (18%) **(Staniszewska and Kula, 2001)**. La composition de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes, comparé à trois stades de développement, (stade végétatif, en pleine floraison, et ombelles mûrs) montre que toutes les huiles ont été dominées par des monoterpènes hydrocarbonés avec  $\alpha$ -pinène (16-43%), sabinène (21-45%) et le mycènes (4-13%) comme les principaux composants**(Bauer and al., 1990)**. Cependant les huiles essentielles des feuille, tige, et ombelle de *D. carota* de Corse recueillies avant la floraison et au stade de pleine floraison contenait essentiellement des monoterpènes, à savoir  $\alpha$ -pinène (28-39%) et le sabinène (7-20%). Inversement, l'échantillon d'huile isolé des ombelles au stade de floraison a été largement dominé par (E)-méthylisoeugenol (41%) suivit par  $\alpha$ -pinène (19%) et le sabinène (10%) **(Lawrence, 1994)**.

### 2. Espèces animales

#### 2.1. Aperçu biologique sur *Sitophilus oryzae* (L) et *Tribolium confusum* (Duv.)

Les grains et graines entreposés subissent de multiples agressions de la part d'insectes appartenant à l'ordre des coléoptères lors du stockage et de la conservation. Ces coléoptères peuvent être répartis en deux groupes (**Bekon et Fleurat-Lessart, 1989**).

1. Les ravageurs primaires s'attaquent à des grains intacts dont *Sitophilus oryzae* (L.)
2. Les ravageurs secondaires capables de s'attaquer les grains qu'à partir des ouvertures causés par les ravageurs primaires servant de voies d'accès, dans ce cas de ravageurs secondaires on retrouve le *Tribolium confusum* (Duv.)

##### 2.1.1. Le charançon du riz *Sitophilus oryzae*

Le genre *Sitophilus* appartient à la famille des Curculionidae ; c'est la plus grande famille de Coléoptères (environ 50 000 espèces), et même la plus grande famille d'insectes (**Perrin, 1991**). Ce genre a été particulièrement étudié au laboratoire. *Sitophilus oryzae* et *Sitophilus zeamais* sont rencontrés sous toutes les latitudes, l'espèce *Sitophilus granarius* est par contre plus septentrionale. Actuellement ces insectes sont cosmopolites et leur répartition dans le monde entier à cause des échanges internationaux.

La Position systématique de *Sitophilus oryzae* Selon **Lepesme (1944)** :

Embranchement: *Arthropoda*.

Classe: *Insecta*.

Ordre: *Coleoptera*.

Sous ordre: *Heterogastra*.

Famille: *Curculionidae*.

Sous famille: *Calandrinae*.

Genre: *Sitophilus*

Espèce: *Sitophilus oryzae* (**Linné, 1763**).

#### ☛ La biologie de l'insecte

Les femelles pondent leurs œufs à l'intérieur des grains de blé dans un trou perforé par le rostre. Ce trou est ensuite rebouché par une sécrétion mucilagineuse de l'oviducte qui durcit rapidement à l'air (**Nardon, 1963**). Le développement de la larve (quatre stades larvaires et un stade nymphal) jusqu'au stade adulte, se déroule à l'intérieur du grain en 31 jours environ à 27,5°C. Le grain de céréale apporte à l'insecte à la fois sa nourriture et sa protection. Après la mue imaginale, l'adulte reste un à deux jours dans le grain avant l'émergence.

## Partie Bibliographique

---

*S.oryzae* est charançon aux mœurs essentiellement nocturne, se montre plus actifs la nuit que le jour. Ils peuvent vivre en permanence dans l'obscurité complète, ces déplacements sont relativement rapides, il peut voler, d'où leur rapide dissémination dans un entrepôt (Steffan in Scotti, 1978).

Les observations, montrent que les femelles choisissent les grains avant de pondre. Elles sont capables de déceler la présence d'un œuf ou d'une larve déjà en place dans un grain. Elles ne pondent jamais dans un grain déjà occupé. La femelle de *Sitophilus oryzae* (L.) taraude le grain et y dépose un oeuf dans chaque trou, par la suite elle bouche le trou de ponte avec du mucus sécrété par l'oviducte. Au cours de sa vie, la femelle pond 300 oeufs en moyenne avec un maximum, dépassant 500 œufs (Paulian, 1988).

Dans les conditions favorables, l'insecte passe par trois stades larvaires en une durée d'un mois. La larve du dernier stade aménage une sorte de chambre de nymphose où elle passe d'abord par un stade prénympheal qui dure de 20 à 50 heures avant de se transformer en nymphe.

### ☛ Importance économique et dégâts

Les charançons du riz représentent des ravageurs de premier plan pour les céréales emmagasinées sur lesquelles ils provoquent des pertes pondérales, une détérioration de la qualité et permettent l'installation d'infections cryptogamiques (Appert, 1985). Leur aliment de prédilection est constitué par les grains de blé, d'orge, de maïs et de riz. Parfois même ils fréquentent le millet, les châtaignes, les patates séchées, les figes sèches, le tabac en feuilles ou manufacturé. Les dégâts de *S. oryzae* sont surtout causés par les larves. Durant leur vie, elles consomment la moitié ou le tiers de l'endosperme d'un grain de blé (Balochowsky, 1963). *S. oryzae*'alimente régulièrement et consomme par semaine un poids de blé égal à son propre poids (Ratcliffe, 1941).

### 2.1.2. *Tribolium confusum* (Duval)

Les Tenebrionidae sont des coléoptères de taille comprise entre 2 mm. et 80 mm, de forme très varié, à téguments le plus souvent rigides, épais, noir mat ou luisant, de teinte sombre, coloré ou «métallique» par interférence, avec des yeux généralement grands, ovales ou ronds chez certaines sous-familles. Antennes de 11 articles, plus rarement 10. aptères ou ailées, avec nervation alaire du type primitif, 5 sternites abdominaux, pattes longs ou tout au contraire, contractées, souvent fouisseuses (Balachowsky, 1962).

## Partie Bibliographique

---

Un certain nombre de Tenebrionidae ont été signalées comme nuisibles sur les plantes cultivées et autres s'attaquent aux denrées alimentaires stockées ou emmagasinées. Parmi ces dernières le genre *Tribolium* comprend deux espèces principales cosmopolites et nuisibles:

*T. castaneum* Herbst. et *T. confusum* Duv.

Selon **Lepesme (1944)**, la position systématique de *Tribolium confusum* est comme suit

Embranchement: Arthropoda.

Classe: Insecta.

Ordre: Coleoptera.

Sous Ordre: Polyphaga.

Famille: Tenebrionidae.

Sous Famille: Ulominae.

Genre: *Tribolium*.

Espèce: *Tribolium confusum* (**Duval, 1868**).

Le *Tribolium* est d'origine Indo-Australienne (**Smith et Whitman, 1992**) et est trouvé dans des secteurs tempérés, mais survivra l'hiver dans les endroits protégés, particulièrement où il y a de la chaleur centrale (**Tripathi et al., 2001**). En Afrique le *Tribolium* a une distribution différente en ce que se produit dans le monde entier dans les climats les plus frais (**Smith et Whitman, 1992**).

### ☛ La biologie de l'insecte

Le premier accouplement a lieu environ 2 jours après l'émergence des imagos et dure de 3 à 15 minutes. Chez *Tribolium confusum* (Duv.) l'échelonnement des pontes est conditionné par plusieurs copulations. Les oeufs sont pondus en vrac sur les marchandises et ils sont difficiles à déceler. Au cours de sa vie, la femelle pond entre 500 et 1000 oeufs.

Les jeunes larves, passent par 5 à 12 stades larvaires selon des conditions de température et d'humidité. La larve, circule librement dans la denrée infestée ou elle nymphose. L'émergence de l'adulte a lieu six jours après la nymphose à 32,5°C et une humidité relative de 70 %, la durée du cycle est de 24 à 26 jours, *Tribolium confusum* (Duval.) est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32°C et 35 ° C, son développement s'arrête au-dessous de 22°C. Il résiste aux basses hygrométries.

En absence d'alimentation, *Tribolium confusum* exerce le cannibalisme, dévore les oeufs et les larves de leur congénère (**Steffan in Scotti, 1978**).

### ☞ Importance économique et dégâts

Le *Tribolium* recherche surtout les denrées amylacées pulvérulentes comme la farine, le son, ... etc. (Lepesme, 1944). Les adultes sécrètent une substance nauséabonde, riche en quinones qui communique au lot infesté une odeur particulièrement désagréable. D'après Steffan in Scotti (1978), ils sont très polyphages, ce sont des cléthrophages secondaires, car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures, elles attaquent les grains endommagés, escortent souvent les charançons ou parachèvent leurs dégâts.

### 3. Souches microbiennes

#### 3.1. Souches bactériennes

##### ☞ *Escherichia coli*

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6  $\mu\text{m}$ , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5  $\mu\text{m}$ , elle représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (Percival, 2004).

##### ☞ *Staphylococcus aureus*

Ce sont des cocci Gram positifs avec un diamètre de 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$ , de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives. Le *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aiguë, intoxication alimentaire (Dworkin, 2006).

##### ☞ *Pseudomonas aeruginosa*

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies, mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles, ce type de bactérie synthétise deux types principaux de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine : jaune vert, il s'agit de bactéries résistantes pour plusieurs antibiotiques (Percival, 2004).

##### ☞ *Bacillus subtilis*

C'est une bactérie à gram +. Sa longueur varie de 2 à 4  $\mu\text{m}$  et sa largeur de 0,5 à 2  $\mu\text{m}$ . Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. *B. subtilis* n'est pas considéré comme pathogène pour l'Homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire (Bridier, 2011).

### 3.2. Souches fongiques

Les mycoses sont des maladies provoquées par les champignons microscopiques appelés micromycètes. Pour la dénomination de ces mycoses, le nom de l'infection fongique dérive habituellement du genre du champignon, en lui ajoutant le suffixe ose. Ainsi la pathologie à candida s'appelle candidose, à aspergillus aspergillose.

Un champignon appelé aussi mycète est un micro-organisme eucaryote, uni ou pluricellulaire. Sa structure est constituée d'un thalle ou mycélium. Il se nourrit par absorption (et non par phagocytose comme les composants du règne animal). Sa paroi est riche en chitine, ce qui lui assure une certaine résistance aux contraintes du milieu externe (**Chabasse, 1999**).

Les mycètes se subdivisent principalement en deux formes (**Moulinier, 2003**):

- La forme moisissure : filaments longs, fins et ramifiés à structure cellulaire appelée hyphe formant un mycélium, souvent visibles à l'oeil nu.

- La forme levure: champignons microscopiques unicellulaires possédant un seul noyau et se reproduisant soit de façon asexuée par bourgeonnement ou scissiparité, soit par reproduction sexuée par formation de spores. Les Candidoses sont les plus fréquentes des levures ; elles provoquent des affections cosmopolites atteignant la peau, les ongles, les cavités naturelles (**Moulinier, 2003**).

#### ☞ *Candida albicans*

C'est un champignon ovale, bourgeonnant ressemblant aux levures, qui produit un pseudo mycélium dans les cultures. Actuellement, le genre *Candida* comprend 81 espèces de champignons levuriformes. *C. albicans* est la plus souvent à l'origine de la plupart des manifestations pathologiques chez l'homme. On la rencontre habituellement, à l'état saprophytique, dans le tube digestif de l'homme et, par contiguïté, elle peut être retrouvée au niveau de la muqueuse vulvo-vaginal, (ou de la bouche). Mais on ne retrouve qu'exceptionnellement *C. albicans* au niveau de la peau. Cette espèce est responsable de plus de 80 % des infections connues sous le terme de candidose, comme les infections superficielles cutanées, infections superficielles muco- cutanées (**Delorme, 1997**).

## **Partie Bibliographique**

---

### **☞ *Saccharomyces cerevisiae***

La levure *Saccharomyces cerevisiae* occupe une place privilégiée dans les activités industrielles. Elle est utilisée par l'homme depuis des millénaires pour la production de boissons et produits fermentés (vin, bière, pain) et joue un rôle très important dans l'industrie agroalimentaire comme agent de fermentation et pour l'élaboration de produits dérivés.

De nos jours, la levure est également largement utilisée comme usine cellulaire pour la production de molécules d'intérêt. Dans le domaine pharmaceutique et médical, elle est utilisée pour la production de vaccins, de probiotiques ou de protéines comme l'insuline **(Roberts and Oliver, 2010)**.





*Partie II :*  
*Partie expérimentale*  
*Chapitre I :*  
*Matériel & Méthodes*



*« La vérité de demain se nourrit de l'erreur d'hier. »*  
*- Antoine de Saint-Exupéry -*

### Chapitre I : Matériel et méthodes

Ce chapitre porte sur une description du matériel utilisé, la démarche expérimentale et les méthodes employées pour :

- L'extraction des huiles essentielles et des extraits méthanoliques non volatils ainsi que les méthodes d'identification pour les HE de différents échantillons.
- La quantification des polyphénols totaux des différents extraits par spectrophotométrie.
- L'évaluation de l'activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide des extraits végétaux.

#### 1.1. Matériel végétal


##### Provenance du matériel végétal et identification


Les extraits étudiés ont été obtenus à partir de la partie aérienne de trois plantes de trois familles différentes à savoir :

 *Les Myrtacées* : parmi les espèces de cette famille on s'est intéressé au *M. communis*

L. provenant de trois régions différentes à savoir :

Timizart (Tizi-Ouzou), Hamame Melouane (Blida) et Tablat (Médéa).

 *Les Ombellifères (Apiaceae)*: parmi les espèces de cette famille on a choisi la carotte sauvage *D. carota* L. subsp. *carota* de la région de Timizart de la willaya de Tizi Ouzou.

 *Les Labiées (Labiaceae)*: parmi toutes les labiées, on a choisi la menthe à feuilles rondes *M. rotundifolia* L. de la région de Timizart de la willaya de Tizi Ouzou. L'identification de ces plantes a été faite par le Professeur *H. Abdelkrim* du département de botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (El Harrach- Alger).

##### Les paramètres géographiques des régions de la cueillette des espèces étudiées.

###### ➤ Hamame Mélouane (Blida)

Latitude : 36°31'22'' Nord.

Longitude : 3°04'25'' Est.

Altitude par rapport à la mer : 320 m.

###### ➤ Tablat (Médéa)

Latitude : 36°24'20'' Nord.

Longitude : 3°19'18'' Est.

Altitude par rapport à la mer : 420 m.

## Partie Expérimentale

---

### ➤ Timizart (Tizi Ouzou)

\**M. communis* L

Latitude : 36°48'04'' Nord.

Longitude : 4°15'53'' Est.

Altitude par rapport à la mer : 340 m.

\**M. rotundifolia* L

Latitude : 36°49'25'' Nord.

Longitude : 4°13'34'' Est.

Altitude par rapport à la mer : 580 m

\**D. carota* subsp. *carota*

Latitude : 36°50'02'' Nord.

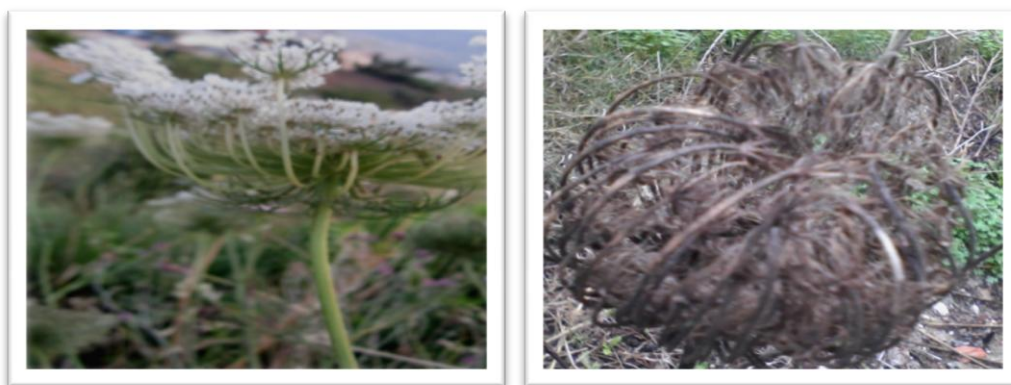
Longitude : 4°12'59'' Est.

Altitude par rapport à la mer : 780 m



**Figure 10:** *Myrtus communis* L. (Myrte commun).

Le myrte commun (Figure 10) est un arbuste à feuilles entières, opposées, 2 à 3 fois plus longues que larges, à nervation pennée. Il est appelé encore «*Rihan*» «*Mersin* ». Pour ce travail nous l'avons cueilli en Mars 2012 (avant la floraison), et ses tiges feuilletées nous ont servi pour l'extraction des HE et les extraits non volatils.



a) : Ombelle en plein floraison

b) : Ombelle mûre

**Figure 11** : *Daucus carota* L. subsp. *carota* (Carotte sauvage).

*Daucus carota* (Figure 11) est une plante herbacée, très variable, à feuilles en général très divisées. Inflorescences ombelliformes (ombelle en nid), le fruit est plus que 2 fois long que large. Dans ce travail, nous sommes intéressés aux ombelles mûres que nous avons récoltées à la fin Août 2012 (fin du cycle végétatif).



**Figure12:** *Mentha rotundifolia* L. (menthe à feuilles rondes).

La menthe à feuilles rondes (Figure 12) est une plante vivace, odorante. Elle ne pose pas de problème de détermination en raison de la forme de ses feuilles rondes, épaisses et ridées, qui sont moins de 2 fois plus longues que larges. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce au toucher. Pour cette étude, la menthe est récoltée en Mai 2013 (avant la floraison) dans un endroit discret et humide. Les tiges feuilletées sont les parties employées pour l'extraction de l'HE et les extraits méthanoliques.

## Partie Expérimentale

### 1.2. Matériel entomologique

Les espèces d'insecte étudiées « *Sitophilus oryzae* » (Figure 14) et « *Tribolium confusum* Duv.» (Figure 13) ont été acquises et identifiées dans le laboratoire de Zoologie de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Leur multiplication est conduite au même lieu, par un élevage dans des bocaux en verre contenant chacun 250gde farine commerciale plus 5%de levure boulangère concernant *T. confusum* et la même quantité de blé tendre concernant l'élevage de *S.oryzae* Chaque bocal est bien mélangé puis infesté par 50 insectesadultes à fin d'assurer une reproduction rapide, l'ensemble des bocaux sont placés dans une étuve obscure réglée à une température de  $30 \pm 1$  °C, et une humidité relative de  $70 \pm 5\%$ , de telles conditions son favorable pour une bonne multiplication et au développement de ces espèces.



**Figure 13:** *Tribolium confusum* (Duv.)

**Figure 14:** *Sitophilus oryzae* (L)

### 1.3 Matériel microbiologique

Nous avons testé l'effet antimicrobien des HE obtenues vis-à-vis des souches bactériennes à Gram négatif, à Gram positif et deux souches fongiques.

Les souches testées proviennent du Centre de Recherche et de Développement de Saidal d'Alger. Elles sont représentées dans le tableau ci-dessous (tableau 4).

**Tableau 4:** Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées.

Nom de la souche	N°ATCC	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	4157	-	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-	Pseudomonadaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+	Micrococcaceae
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	+	Bacillaceae
<i>Candida albicans</i>	24433		Cryptococcaceae
<i>Saccharomyces cereviceae</i>	2601		Saccharomycetaceae

## 2. Méthodes

### 2.1. Extraction des huiles essentielles

#### 2.1.1. Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus couramment employée pour l'extraction d'une huile essentielle (Meyer-Warnod, 1984) ; dans son principe, elle correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau ; l'ensemble est ensuite porté à ébullition, à pression atmosphérique. Sous l'effet de la chaleur, les molécules odorantes contenues dans les glandes sécrétrices des végétaux sont libérées sous forme d'un mélange. Bien que la plupart des constituants aient des températures d'ébullition supérieures à 100°C, ils sont entraînés mécaniquement avec la vapeur d'eau.

Le refroidissement par condensation conduit à la séparation du mélange eau-huile essentielle par décantation. L'appareil de Clevenger, préconisé par la pharmacopée européenne (Pharmacopée Européenne, 1997), permet le recyclage de la phase aqueuse du distillat dans le bouilleur par cohobage (Clevenger, 1928).

Ainsi, l'eau et les molécules volatiles sont séparées, par leurs différences de densité, dans l'essencier en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique surnageante (huile essentielle). La durée d'hydrodistillation, de trois à six heures en fonction de la matière végétale à traiter, peut avoir une influence sur le rendement en huile essentielle et sur sa composition chimique.

En effet, après avoir pesé 100 g de matière végétale séchée à l'ombre et à la température ambiante, constituée des parties aériennes (feuilles pour *M. communis* et *Mentha rotundifolia* et ombelles pour *Daucus carota*) des espèces étudiées, nous les avons introduits dans un

## Partie Expérimentale

ballon de 2 litres rempli d'eau aux 2/3 de son volume et soumis la plante à un chauffage pendant 3 heures. Les huiles recueillies sont séchées avec du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre et conservées dans des flacons bruns à une température de 4°C jusqu'à leur utilisation.

### 2.1.2. Rendement de l'extraction

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile récupérée à la masse de la matière végétale séchée à l'air libre, exprimées dans la même unité de masse.

Dans notre étude nous avons exprimé les rendements en millilitre pour 100g de matière végétale fraîche comme suit :

$$R \% = V_{HE} / 100 \text{ grammes de la matière végétale sèche}$$

Avec:

**R%**: Rendement en HE en pourcentage ou en ml/100g de MF ;

**V<sub>HE</sub>**: Volume de l'H.E. récupérée (en ml).

### 2.1.3. Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par GC et GC/MS

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

#### **✎ Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (GC)**

L'analyse des huiles essentielles des différents échantillons a été effectuée au laboratoire d'analyse instrumentale du département de technologie alimentaire à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique sur appareil de type CP. Chrompack 9002, selon les conditions opératoires suivantes : Colonne capillaire : HP 5MS de phase stationnaire (5% Phenyl methyl siloxane) de longueur : 30 m ; et de diamètre interne : 0.25 mm ; épaisseur du film de la phase 0,25 µm. Températures de l'injecteur et du détecteur (FID), 250 et 320°C, respectivement. Programmation de la température : 60°C pendant 8 min puis augmentation de la température à raison de 2 °C/min jusqu'à 280 °C ; maintenue en isotherme pendant 15 min. Gaz vecteur : Azote. Débit du gaz vecteur : 1 ml/min. Volume injecté : 0,2 µl dans le mode d'injection split avec un rapport de division de 1/20.

Les concentrations relatives des constituants des huiles sont obtenues à partir des aires des pics obtenus par GC-FID.

### ☞ Analyse qualitative des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

Cette analyse a été effectuée au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) sur un appareil du type HP6890 N (*HP Agilent technologies*) couplé à un spectromètre de masse 3973 A (*HP Agilent technologies*), selon les conditions opératoires suivantes : Colonne capillaire: HP5MS (5% Phenyl methyl siloxane) ; longueur : 30 mètres ; diamètre interne: 0,25 mm ; épaisseur du film de la phase: 0,25 µm ; température d'injection : 250 °c ; gaz vecteur: hélium ; débit du gaz vecteur: 5 ml/ min ; volume injecté: 0,2 µl dans le mode split avec un rapport de division de 1/20. La programmation de température du four est identique à celle décrite ci-dessus dans la section : analyse par CPG. Le potentiel d'ionisation est de 70 eV. Le mode de détection est Scan dans la gamme 30-550 unités de masse atomique.

### ☞ Identification des constituants des huiles essentielles

L'identification des constituants des huiles essentielles est basée sur la comparaison des indices de rétention (IR) déterminés par rapport à une série de *n*-alcane (C<sub>7</sub>-C<sub>21</sub>) injectés dans les mêmes conditions que les huiles essentielles par rapport à ceux de certains composés purs disponibles dans le laboratoire (étalons : Et) ainsi qu'à ceux disponibles dans la littérature (**Babushock et al., 2011**). En parallèle nous avons comparé les spectres de masse des pics à ceux stockés dans les banques de données informatiques (Wiley 7N et NIST 2005) reliées à l'appareil GC-MS et par comparaison aussi des spectres à ceux de la bibliographie (**Adams, 2007**). Les indices de rétention IR sont calculés selon la formule suivante :

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

Avec:

- **TR<sub>c</sub>**: Temps de rétention du composé étudié (**mn**);
- **TR<sub>z</sub>**: Temps de rétention de l'alcane à **z** atomes de carbone qui précède le composé étudié (**mn**);
- **TR<sub>z+n</sub>**: Temps de rétention de l'alcane à **z+n** atomes de carbone qui suit le composé (**mn**);
- **n**: Différence des nombres d'atomes de carbone (n est généralement égal à 1).



### 2.2. Elaboration des extraits méthanoliques

#### 2.2.1. Extraction au Soxhlet

L'appareillage Soxhlet permet l'extraction aux solvants en continu d'espèces chimiques contenues dans une matrice solide. L'échantillon, placé dans une cartouche poreuse à l'intérieur de l'extracteur, est traversé par les vapeurs de solvant. Celles-ci passent du ballon chauffé au tube adducteur puis se condensent dans le réfrigérant. Le condensat s'accumule dans le corps de l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du siphon, entraînant alors le retour du liquide dans le ballon. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon. Par comparaison avec les macérations classiques, cette technique permet de réduire le temps d'extraction, d'une part, et requiert nettement moins de solvant et d'échantillon pour une efficacité d'extraction supérieure, d'autre part.

**(Luque de Castro et Priego-Capote, 2010; Bimakr et al., 2011).**

Dans notre étude, une extraction solide-liquide par Soxhlet a été réalisée au laboratoire de chimie de l'ENSA. 40g de poudre des feuilles ont été placées dans une cartouche et soumises à une extraction avec 200 ml de méthanol 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 n'étant pas totalement sec nous l'avons soumis à une lyophilisation pour obtenir un extrait en poudre. L'échantillon a été conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

Le taux d'extraction est calculé comme suit :

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

$P_0$  : poids du ballon vide (g).

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

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

### 2.3. Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus

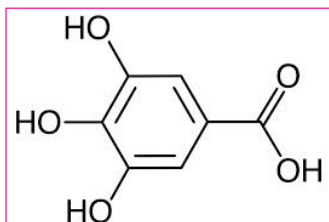
#### 2.3.1. Dosage des phénols totaux

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.

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 ( $W_8O_{23}$ ) et de

## Partie Expérimentale

molybdène ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Le polyphénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique dont la formule chimique est la suivante :



**Figure 15:** Acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque)

### Mode opératoire

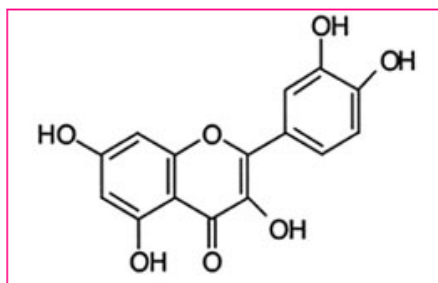
Un volume de 0,25ml d'extrait dissout dans de l'éthanol est mélangé à 1,25 ml de réactif de Folin-ciocalteu. Après 3 minutes de temps de réaction du mélange, 1ml de la solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à une concentration de 75g/l est ajouté. Après 30 minutes d'incubation à 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 mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g extrait).

### 2.3.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) modifiée (**Lamaison et Carnet, 1990 ; Huanget al., 2004**) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits étudiés. 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 16:** Quercetine (flavonoïde)

### ☞ Mode opératoire

1ml d'extrait dilué 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 mg équivalent de quercétine par g d'extrait (mg EQ/g extrait).

### 2.4. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits obtenus

Dans la littérature, plusieurs méthodes et techniques ont été trouvées pour évaluer l'activité antioxydante. A cause de la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mises en place pour évaluer l'efficacité de l'antioxydant à piéger les radicaux libres parmi les : DPPH, pouvoir réducteur et ABTS.

#### ☞ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

L'activité antioxydante a été évaluée in vitro par trois méthodes de référence citées dans la littérature : l'activité d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> ou (2-2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) activité de réduction du radical cation ABTS<sup>•+</sup> ou (2,2'-azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) et le pouvoir réducteur du fer ferrique en fer ferreux. Chacun des précédents tests a été comparé par rapport à un antioxydant de synthèse.

#### ☞ Activité de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> (2-2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)

##### 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 alcoolique (méthanol ou éthanol) contenant le radical libre DPPH<sup>•</sup> comme l'illustre la figure suivante où AH est un antioxydant (Figure 17).

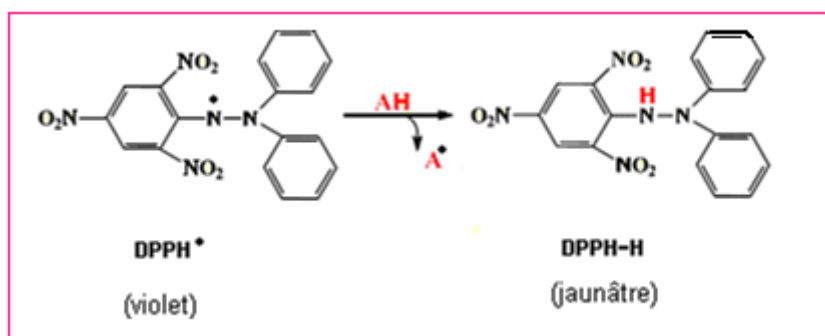


Figure 17 : Inhibition du radical DPPH par un antioxydant AH.

### Mode opératoire

Le test du radical DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)** et **Hazzit et al. (2009)**, où 25 µl de chacune des dilutions des extraits testés (huiles essentielles ou extraits non volatils) et du ou des témoins positifs utilisés (BHT : Butyl hydroxytoluène) sont mélangés mètre avec 975µl d'une solution méthanolique de DPPH (60 µM). Après une période d'incubation de 30 mn 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 expériences indépendantes pour chaque concentration et pour chaque échantillon. Le BHT (Butyl hydroxytoluène) a été utilisé comme témoin positif.

L'activité antioxydante (A%) est calculée selon la formule suivante :

$$A (\%) = (1 - A_{\text{échantillon}} / A_{\text{blanc}}) \cdot 100$$

**Avec :**

- $A_{\text{blanc}}$  : Représente l'absorbance du **DPPH** au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (huile essentielle ou extrait non volatil ou témoin) à une concentration donnée ;
- $A_{\text{éch}}$  : Absorbance de l'échantillon testé (échantillon + DPPH) après 30min.
- ✚ **Concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC<sub>50</sub>)**

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (huile essentielle ou toute autre substance utilisée comme antioxydant) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. En d'autres termes, c'est la concentration nécessaire pour obtenir une activité en % égale à 50. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant. La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC<sub>50</sub> est petite.

### 👉 Inhibition du radical positif ABTS<sup>•+</sup> ou 2,2 -Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)

La méthode est basée sur l'évaluation du degré de la réduction du radical cation d'ABTS (vert) obtenu par oxydation avec du persulfate de potassium pendant 12-16 h à 4° C à l'abri de la lumière comme l'illustre la figure 18.

L'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> est effectuée selon la méthode décrite par **Sacan et Yanardag(2010)**. La solution préparée est 7.4 mM ABTS et 2.6 mM persulfate de

## Partie Expérimentale

potassiums. Cette solution est préparée en mélangeant les deux réactifs en quantités égales et en les laissant réagir pendant 12 heures à température ambiante à l'abri de la lumière. La solution sera ensuite diluée en mélangeant 1 ml ABTS avec 60 ml de méthanol de manière à obtenir une absorbance au spectrophotomètre de  $1,1 \pm 0,02$  unités à 734 nm. Une solution ABTS fraîche doit être préparée au moment de l'expérience. Un mélange de 1 ml ABTS et 25  $\mu$ l de la dilution de l'échantillon à tester est laissé incubé pendant 7 min à température ambiante avant de mesurer son absorbance à 734 nm. L'expérience est répétée 3 fois et le TROLOX

(acide 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) qui est l'équivalent synthétique de la vitamine E a été utilisé comme témoin positif.

L'activité d'inhibition du radical ABTS est calculée selon la formule suivante :

$$A(\%) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

Avec:

$A_0$ : Absorbance de l'ABTS (seul)

$A_1$  Absorbance de l'ABTS + échantillon à tester.

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux ABTS ( $IC_{50}$ ) est calculée de la même manière que celle effectuée pour le radical DPPH.

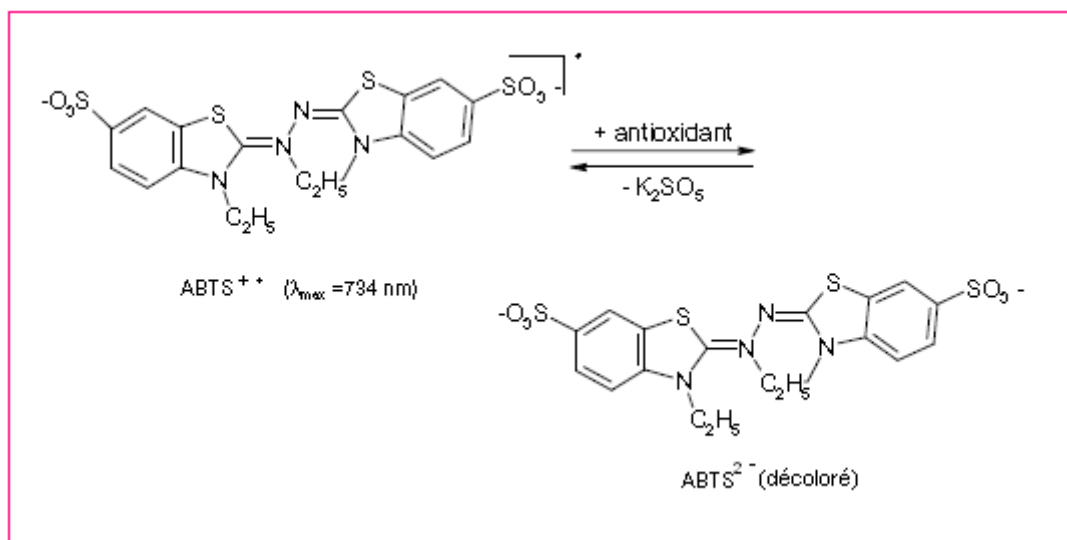
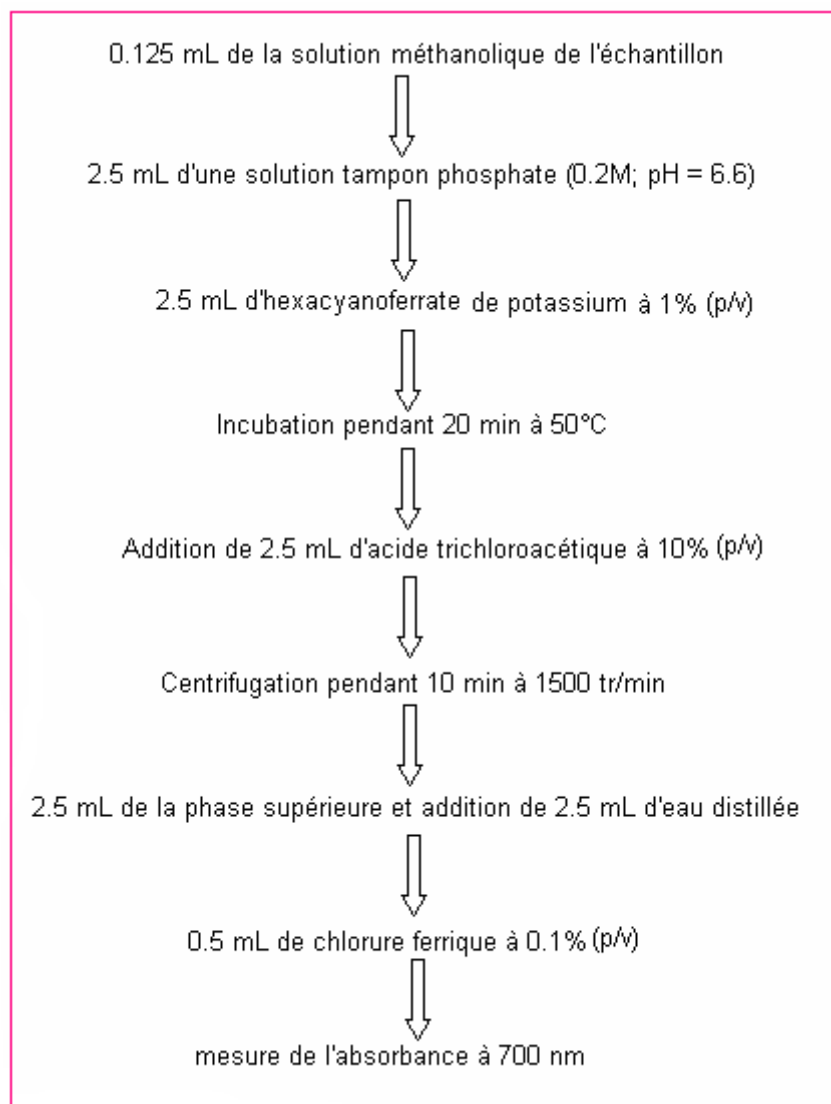


Figure 18: Réaction du radical  $ABTS^{\bullet+}$  en présence d'un antioxydant (Scalzo, 2005)

### Mesure du pouvoir réducteur

L'aptitude des huiles essentielles et de certains composés à réduire le fer ferrique est évaluée par la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

L'estimation du pouvoir réducteur des échantillons étudiés (huiles essentielles, extraits et BHT) est obtenue selon le protocole expérimental de la figure 19. 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. Le BHT a été utilisé comme témoin positif.



**Figure 19:** Schéma du protocole expérimental de l'évaluation du pouvoir réducteur (Oyaizu, 1986).

### 2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

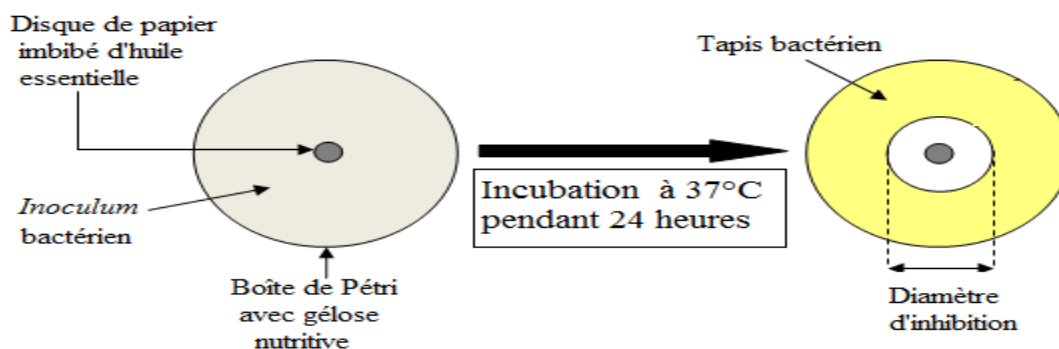
Cette partie consiste à mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de nos échantillons d'huiles essentielles par deux méthodes : qualitative et quantitative réalisées au niveau du CRD-SAIDAL(El Harrach, Alger).

#### 2.5.1. Etude qualitative de l'effet antimicrobien

##### ☞ Méthode de diffusion des disques sur gélose

##### 🔗 Principe

La méthode de diffusion des disques sur gélose standard était utilisée, pour évaluer le spectre d'inhibition de l'huile essentielle contre les micro-organismes analysés. Les inoculums bactériens étaient ensemencés sur gélose Mueller-Hinton solidifiés dans des boîtes de Pétri, de manière à produire une croissance uniforme dans toute la boîte. Une fois que les boîtes étaient préparées, des disques de papier filtre de diamètre 6 mm imbibés de l'huile essentielle non diluée, étaient posés légèrement sur la surface de l'agar (Figure 20) (Rotan, 2004)



**Figure 20 :** Principe de la méthode de diffusion des disques sur gélose

##### 🔗 Protocole expérimental

##### 🔗 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

## Partie Expérimentale

---

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.

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

### Préparation de la première couche du milieu de culture

-Fondre le milieu Mueller–Hinton (pour bactéries) et Sabouraud (pour levures) dans un bain marie  $95^{\circ}\text{C}$  ;

-Versez aseptiquement une première couche de ces milieux dans les boîtes de Pétri identifiées à raison de 15ml par boîte ;

-Laissez les milieux se refroidir et se solidifier sur la paillasse.

### Préparation de la deuxième couche

On fait fondre le milieu gélosé Muller-Hinton et le Sabouraud dans un bain marie à  $95^{\circ}\text{C}$  puis on baisse la température jusqu'à  $45^{\circ}\text{C}$  et on les remplit dans des flacons de 50 ml. On en sème les milieux avec 200  $\mu\text{l}$  de chaque suspension et on agite manuellement ; puis on transvase rapidement 4 ml de chaque milieu inoculé sur la surface de la première couche 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'imbibé de l'HE à tester en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale du disque qu'on dépose sur la surface de la gélose, puis on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h pour les bactéries et  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 48h pour les levures.

### 2.5.2. 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.

### Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

#### Principe

Cette méthode a comme principe d'effectuer des dilutions de l'huile essentielle 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.



### ☞ Protocole expérimental

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 testés.
- Liquéfaction de 200 ml du milieu à  $95^{\circ}\text{C}$  dans un bain marie ; en lui additionnant 1ml de Tween 80.
- Préparation d'une dilution de 2% de l'HE en diluant 1 ml de notre HE dans 49 ml du milieu, (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures).
- Bien homogénéiser le 1<sup>er</sup> 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 micro-seringue de  $3\mu\text{l}$  de suspensions microbienne de la dilution  $10^{-4}$  germes/ml, on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24h pour les bactéries et  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 48h pour les levures.

On parlera de CMI là 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.

### 2.6. Evaluation de l'activité insecticide

#### 2.6.1. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles et de l'extrait méthanolique par contact

L'imprégnation des papiers filtres est la méthode utilisée pour déterminer la toxicité des extraits végétaux, en mettant directement l'insecte en contact avec ces substances actives.

Plusieurs tests préliminaires ont été réalisés afin de choisir les doses à utilisées.

Ainsi les doses 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 et  $32\mu\text{l/ml}$  ont été retenues pour les HE et 5, 10, 20 et 40 mg/ml ont été retenues pour les extraits méthanoliques. Après l'homogénéisation du mélange (solvant + H.E ou/et extrait méthanolique), on prélève 01 ml de chaque solution et on le répartit uniformément sur un disque de papier filtre de 9 cm de diamètre, placé dans le fond de la boîte de pétri en verre (9cm de diamètre).

## Partie Expérimentale

---

Après traitement du papier filtre, ce dernier est laissé pendant 10 min à la température ambiante pour une évaporation totale du solvant.

Les papiers filtres des boîtes témoins sont traités uniquement par un ml d'acétone.

Après séchage du papier filtre, 20 adultes d'âges et sexes différents de *T.confusum* et d'âge connu (14 jours) concernant le *S.oryzae* sont déposés sur la surface traitée.

Les boîtes sont fermées aussitôt. Le comptage des insectes morts est effectué sous une loupe, chaque 24 heures. Pour chaque concentration, les tests ont été répétés 4 fois.

Il existe souvent dans les lots d'insectes traités, une mortalité naturelle inévitable qui vient s'ajouter à la mortalité issue de l'intoxication proprement dite de l'insecte.

Pour cela **Abbott (1925)** attribut une formule de correction des pourcentages de mortalités comme suit :

$$Mc \% = \frac{Mo - Me}{100 - Me} \times 100$$

Où : **Mo** : mortalité enregistrée dans les lots traités (%)

**Me** : mortalité enregistrée chez le témoin (%)

**Mc** : mortalité corrigée (%)

Les  $DL_{50}$ ,  $DL_{90}$ , définies comme les doses létales de 50 et 90% de la population expérimentale ont été déterminées, par la méthode des log-Probit (**Finney, 1971**).

Ces différentes concentrations sont obtenues à la suite de la résolution de l'équation :  $Y = ax + b$  Y étant le taux de mortalité exprimé en valeur probit dont la fonction correspondante est  $Y = f[\log(\text{dose})]$ .

### 2.6.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation

Dans ce test la dose est fixée et elle est de 2 $\mu$ l, mais le temps reste variable ;

Afin de saturer l'ambiance interne, on garde les petits pots cylindriques (69cm<sup>3</sup>) contenant du coton imprégnés d'HE, fermés pendant 10mn, en suite on ouvre rapidement pour mettre 20 insectes. Les tests ont été répétés 4 fois, et des petits pots dans les quelles ont été déposée uniquement du coton exempt d'extrait végétal ont servi de référence.

Ainsi,  $TL_{50}$  est obtenu à la suite de la résolution de l'équation  $Y = ax + b$ .

Y étant le taux de mortalité exprimé en valeur probit dont la fonction correspondante est  $Y = f[\log(\text{temps})]$ .

### 2.7. Tests statistiques

## ***Partie Expérimentale***

---

L'analyse statistique a été effectuée dans le but de vérifier s'il y a une différence significative de l'activité biologique en fonction de la région de récolte au sein du genre *Myrtus* à un intervalle de confiance de 95%.

Les analyses de la variance ont été réalisées par le logiciel statistique XLStat 2014.



## *Chapitre II :*

# *Résultats & Discussions*



*« La distillation n'est rien d'autre que l'art de séparer le subtil de l'épais et l'épais du subtil, de rendre le fragile ou destructible indestructible, la matière immatérielle, la physique spirituel, le laid plus beau. »*

*-Hieronymus Brunschwig-*

### Chapitre II. Résultats et Discussion.

#### 1. Rendement de l'extraction en huile essentielle et en extrait méthanolique

Les rendements de l'extraction en huile essentielle et en extrait méthanolique des plantes étudiées sont mentionnés dans le tableau 5.

**Tableau 5** : Rendement de l'extraction en huiles essentielles (HE) et en extrait méthanolique (EM) des plantes testées.

Echantillons	Myrte de TO	Myrte de HM	Myrte de TB	Carotte sauvage	Menthe à feuilles rondes
HE	0.33	0.35	0.41	1	0.7
EM	17.34	15.8	16.47	7.12	11.23

\*TO :Tizi Ouzou.\*HM :Hamam Melouane.\*TB :Tablat.

Nous remarquons que le rendement d'extraction en HE du genre *Myrtus* est faible quelque soit la région de récolte : 0.33, 0.35 et 0.41% pour le myrte provenant de Tizi Ouzou, H.melouane et Tablat, respectivement. Par contre la carotte sauvage et la menthe à feuilles rondes sont plus riches en huile essentielle avec des rendements de 1et 0.7 %, respectivement. Cependant, le rendement en extrait méthanolique au sein du genre *Myrtus* est légèrement différent en fonction de la région de récolte et il présente des valeurs du rendement plus grandes que celui de la menthe (11.23%) et de la carotte sauvage (7.12%).

#### 2. Compositions chimiques des huiles essentielles

Malgré les progrès considérables réalisés ces dernières années dans le domaine de la chimie analytique, la caractérisation des huiles essentielles demeure un challenge.

L'analyse des huiles essentielles se déroule en trois étapes : extraction des composés volatiles de la plante étudiée, l'analyse de l'extrait et le traitement des résultats pour identifier et/ou quantifier les huiles essentielles. Notre démarche a consisté, tout d'abord, en un échantillonnage de la plante ; nous avons ensuite procédé à des extractions par la méthode de l'hydrodistillation ; après avoir prélevé les huiles essentielles, celles-ci ont été séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>anhydre, puis conservées dans un réfrigérateur à 4°C. Finalement, une analyse des huiles essentielles obtenues a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse seule (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

##### 2.1 *M.communis* L.

L'analyse chromatographique par GC/MS et sa quantification par CPG-FID de l'huile essentielle extraite à partir des tiges feuilletées de *Myrtus communis* nous a permis l'identification de 82 composés qui sont regroupés dans le tableau 6 et nous représentons dans

## Partie Expérimentale

la figure 21 le chromatogramme total (GC/MS) de l'huile essentielle de *Myrtus communis* de Tizi-Ouzou .

**Tableau6** : Composés (%) identifiés dans les échantillons du Myrte de trois régions différentes (TO : Tizi-Ouzou, TB : Tablat et HM : Hammam Mélouane)

N°	Composés	IR <sub>cal.</sub>	<sup>(a)</sup> IR <sub>lit.</sub>	TO	TB	HM	Identification*
1	Hexanal	799	800	t	-	-	IR, GC-MS
2	(E)-2-Hexenal	853	853	t	t	-	IR, GC-MS
3	3-Hexenol	856	857	t	-	-	IR, GC-MS
4	Hexanol	870	870	t	-	-	IR, GC-MS
5	Isobutyl isobutyrate	912	914	0.1	0.1	0.1	IR, GC-MS
6	α-Thujene.	928	927	0.1	0.2	0.2	IR, GC-MS
7	<b>α-Pinene</b>	<b>937</b>	<b>936</b>	<b>39.8</b>	<b>31.5</b>	<b>37.9</b>	IR, GC-MS, Et.
8	Camphene	948	951	0.1	0.1	0.1	IR, GC-MS, Et.
9	Verbenene	964	964	t	t	t	IR, GC-MS
10	Sabinene	970	973	t	t	t	IR, GC-MS, Et.
11	β-Pinene	979	978	0.6	0.5	0.6	IR, GC-MS, Et.
12	6-Methyl-5-hepten-2-one	986	986	t	t	-	IR, GC-MS
13	β-Myrcene	991	990	0.1	0.2	0.2	IR, GC-MS
14	α-Phellandrene	1005	1005	0.2	0.5	0.5	IR, GC-MS
15	δ-3-Carene	1011	1011	0.4	0.7	0.6	IR, GC-MS, Et.
16	α-Terpinene	1017	1018	0.1	0.2	0.2	IR, GC-MS, Et.
17	p-Cymene	1026	1025	0.3	0.3	0.2	IR, GC-MS
18	<b>Limonene</b>	<b>1029</b>	<b>1030</b>	<b>20.3</b>	<b>19.7</b>	<b>20.1</b>	IR, GC-MS, Et.
19	<b>1,8-Cineole</b>	<b>1032</b>	<b>1032</b>	<b>4.6</b>	<b>2.9</b>	<b>2.5</b>	IR, GC-MS, Et.
20	cis- β-Ocimene	1038	1038	t	t	t	IR, GC-MS
21	trans- β-Ocimene	1047	1048	0.2	0.2	0.4	IR, GC-MS
22	γ-Terpinene	1060	1060	0.4	1.1	0.6	IR, GC-MS, Et.
23	α-Terpinolene	1089	1087	0.3	1.2	0.7	IR, GC-MS, Et.
24	α-Pinene oxide	1097	1097	t	-	t	IR, GC-MS
25	<b>Linalool</b>	1099	1099	<b>1.0</b>	<b>4.4</b>	<b>2.0</b>	IR, GC-MS, Et.
26	2-Methylbutyl 2-methylbutyrate	1103	1102	-	0.2	0.6	IR, GC-MS
27	Fenchyl alcohol	1115	1115	0.1	0.1	t	IR, GC-MS

## Partie Expérimentale

<b>28</b>	$\alpha$ -Campholene aldehyde	1127	1124	0.1	t	0.1	IR, GC-MS
<b>29</b>	trans-Pinocarveol	1139	1140	0.4	0.1	0.1	IR, GC-MS
<b>30</b>	Verbenol	1147	1145	0.1	0.1	0.2	IR, GC-MS
<b>31</b>	Pinocamphone	1160	1160	t	-	-	IR, GC-MS
<b>32</b>	Pinocarvone	1162	1161	0.1	-	t	IR, GC-MS
<b>33</b>	Borneol	1167	1167	0.1	0.1	t	IR, GC-MS, Et.
<b>34</b>	4-Terpineol	1179	1177	0.3	0.1	0.1	IR, GC-MS, Et.
<b>35</b>	p-Cymen-8-ol	1184	1184	0.1	-	0.1	IR, GC-MS
<b>36</b>	$\alpha$ -Terpineol	1190	1190	1.8	2.4	0.9	IR, GC-MS, Et.
<b>37</b>	Myrtenal	1192	1192	t	-	-	IR, GC-MS
<b>38</b>	Estragol	1195	1193	0.7	0.6	0.6	IR, GC-MS
<b>40</b>	Verbenone	1204	1205	t	t	t	IR, GC-MS
<b>41</b>	trans-Carveol	1220	1218	0.2	0.1	0.1	IR, GC-MS
<b>42</b>	Pulegone	1231	1235	0.2	-	-	IR, GC-MS
<b>43</b>	Carvone	1246	1242	0.1	-	t	IR, GC-MS
<b>44</b>	Geraniol	1253	1255	0.8	0.9	0.7	IR, GC-MS, Et.
<b>45</b>	Geranial	1274	1271	t	t	t	IR, GC-MS
<b>46</b>	Bornyl acetate	1285	1284	0.1	0.1	0.1	IR, GC-MS, Et.
<b>47</b>	Thymol	1290	1291	t	0.7	0.9	IR, GC-MS, Et.
<b>48</b>	Carvacrol	1301	1301	1.8	3.0	0.2	IR, GC-MS, Et.
<b>49</b>	Methyl geranate	1305	1302	0.2	0.2	0.2	IR, GC-MS
<b>50</b>	trans-Carvyl acetate	1324	1322	0.1	-	0.1	IR, GC-MS
<b>51</b>	$\alpha$ -Terpinyl acetate	1336	1333	-	0.4	0.2	IR, GC-MS
<b>52</b>	Eugenol	1341	1340	-	-	0.1	IR, GC-MS, Et.
<b>53</b>	Neryl acetate	1365	1363	0.2	0.1	0.2	IR, GC-MS
<b>54</b>	$\alpha$ -Copaene	1378	1377	0.1	0.1	0.1	IR, GC-MS
<b>55</b>	<b>Geranyl acetate</b>	1384	1380	-	<b>5.3</b>	<b>4.9</b>	IR, GC-MS, Et.
<b>56</b>	<b>Methyleugenol</b>	<b>1407</b>	<b>1402</b>	<b>4.8</b>	<b>5.6</b>	<b>1.9</b>	IR, GC-MS
<b>57</b>	$\beta$ -Caryophyllene	1424	1420	0.9	2.1	2.7	IR, GC-MS
<b>58</b>	$\alpha$ -Humulene	1448	1449	0.1	0.6	2.2	IR, GC-MS
<b>59</b>	$\gamma$ -Elemene	1452	1450	-	0.2	0.3	IR, GC-MS
<b>60</b>	allo-Aromadendrene	1461	1460	0.1	0.1	0.1	IR, GC-MS

## Partie Expérimentale

61	$\beta$ -Selinene	1488	1487	0.5	0.4	0.4	IR, GC-MS
62	$\alpha$ -Selinene	1495	1494	0.1	0.3	0.3	IR, GC-MS
63	$\beta$ -Himachalene	1502	1501	0.4	-	-	IR, GC-MS
64	$\beta$ -Bisabolene	1510	1509	0.5	-	-	IR, GC-MS
65	$\gamma$ -Cadinene	1517	1514	0.1	-	t	IR, GC-MS
66	cis- $\gamma$ - Bisabolene	1514	1515	t	t	-	IR, GC-MS
67	Elemol	1546	1548	-	-	0.1	IR, GC-MS
68	Germacrene B	1557	1551	0.1	0.4	1.1	IR, GC-MS
69	(E)-Nerolidol	1562	1561		0.1	0.3	IR, GC-MS, Et.
70	Spathulenol	1576	1577	0.2	0.1	0.2	IR, GC-MS
71	Caryophyllene oxide	1579	1581	0.2	0.1	0.2	IR, GC-MS
72	Viridiflorol	1592	1591	-	t	0.2	IR, GC-MS
73	Caryophylla-4(12).8(13)-dien- 5. $\alpha$ -ol	1644	1640	0.3	0.1	0.2	IR, GC-MS
74	$\alpha$ -Cadinol	1652	1652	1.3	0.2	-	IR, GC-MS
75	Selin-11-en-4- $\alpha$ -ol	1657	1655	0.2	0.3	0.2	IR, GC-MS
76	(6Z,2E)-Farnesol	1715	1716	0.1	-	0.2	IR, GC-MS
77	Benzyl benzoate	1759	1759	0.1	-	-	IR, GC-MS
78	Myristic acid	1763	1760	0.1	-	-	IR, GC-MS
79	(2E,6E)-Farnesyl acetate	1839	1842	T	0.1	0.1	IR, GC-MS
80	Hexahydrofarnesyl acetone	1846	1845	T	t	t	IR, GC-MS
81	Palmitic acid	1996	1968	0.2	0.1	0.1	IR, GC-MS, Et.
82	Phytol	2020	2021	-	0.1	0.1	IR, GC-MS
<b>Total %</b>				<b>86.6</b>	<b>89.3</b>	<b>88.3</b>	
Monoterpenes				<b>62.9</b>	<b>56.4</b>	<b>62.3</b>	
Monoterpenes oxygénés				<b>13.1</b>	<b>16.5</b>	<b>10</b>	
Sesquiterpènes				<b>7.7</b>	<b>15.1</b>	<b>14</b>	
Sesquiterpènes oxygénés				<b>2.6</b>	<b>1.1</b>	<b>1.8</b>	
Autres				<b>0.3</b>	<b>0.2</b>	<b>0.2</b>	

\*Identification ; IR= comparaison de l'indice de rétention calculé par rapport à ceux de la bibliographie ; GC-MS = comparaison du spectre des masse par rapport à ceux de la littérature et à ceux des banques de données informatisées ; Et : Comparaison de l'indice de rétention à ceux d'étalons purs.

t=trace (<0.05%). <sup>(a)</sup> Babushok, Linstrom and Zenkevich ; 2011.



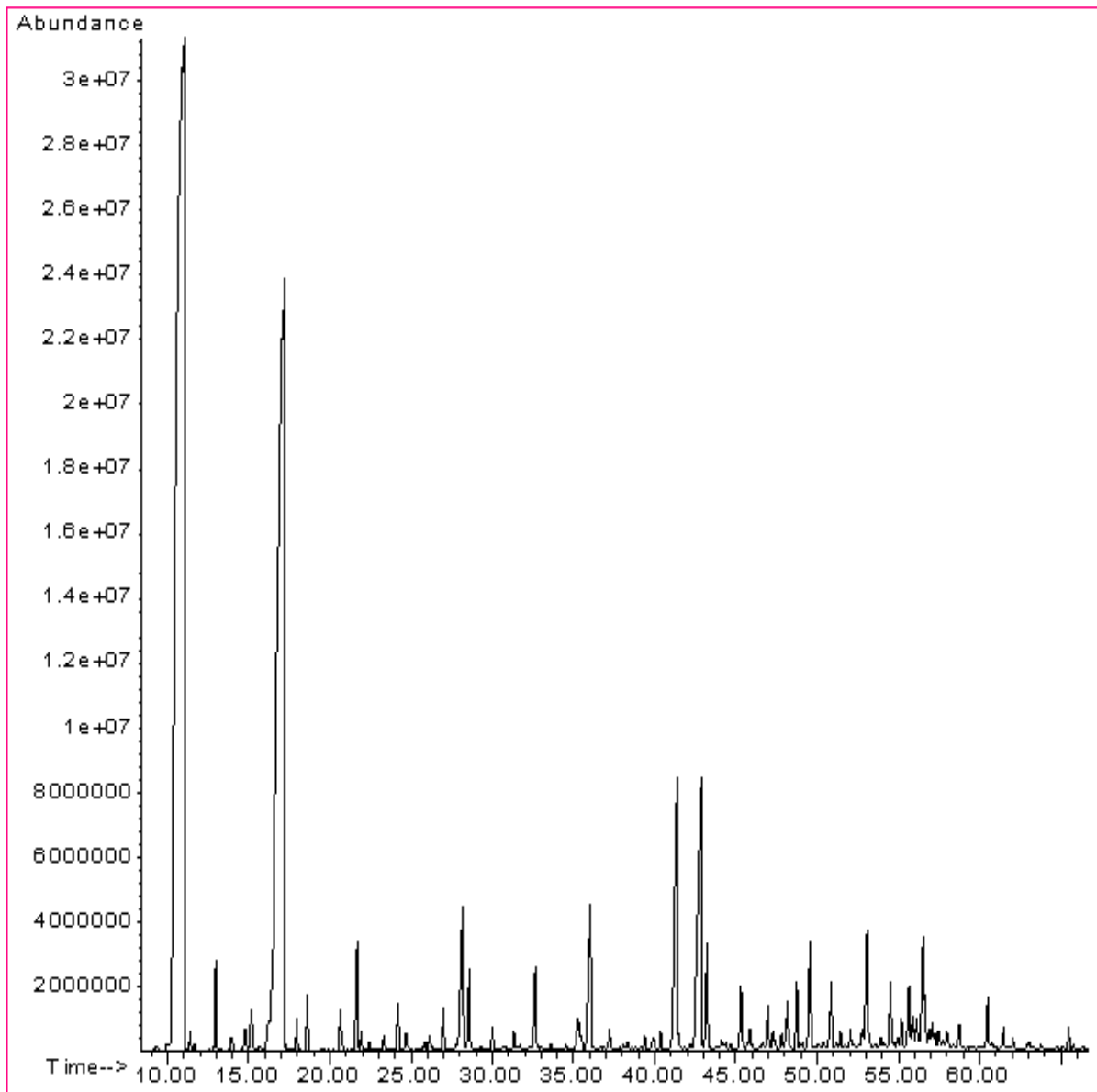
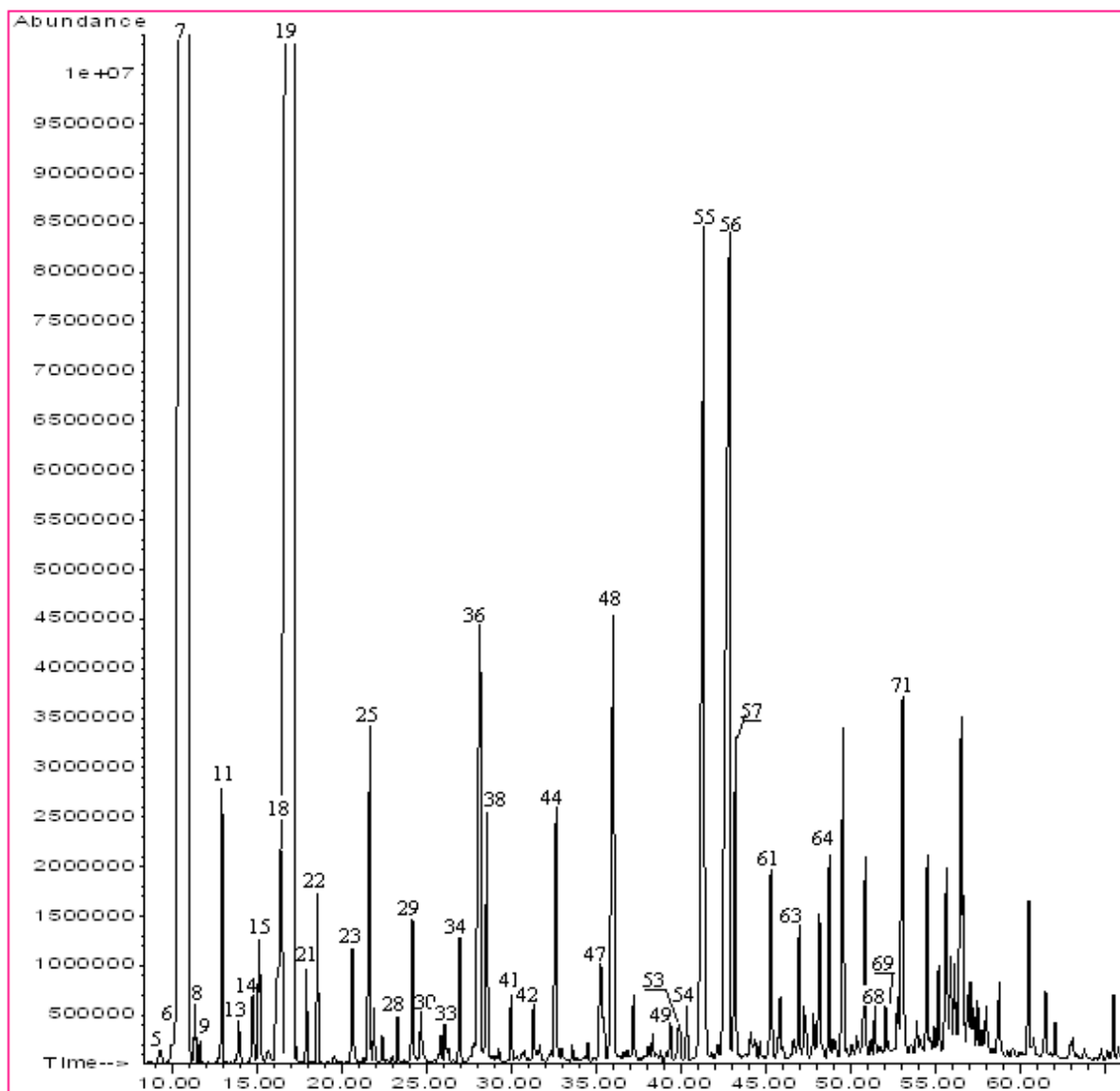


Figure 21: Chromatogramme total (GC/MS) de l'huile essentielle de *Myutus communis* de Tizi-Ouzou



**Figure 22:** Chromatogramme partiel (GC/MS) agrandi de l'huile essentielle de *Myrtus communis* de Tizi-Ouzou. Les nombres sur les pics correspondent à ceux des numéros d'ordre des composés dans le tableau de la composition chimique.

La composition en composés volatils de *Myrtus communis* L. a fait l'objet de nombreuses études ; la grande majorité de celles-ci concernent l'analyse des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des feuilles. En 1976, Lawrence a établi, pour la première fois, une composition riche en monoterpènes avec l' $\alpha$ -pinène et le 1,8-cinéole comme composés majoritaires. Les travaux successifs ont mis en évidence une variabilité de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de l'origine géographique du myrte commun.

L'analyse chromatographique par GC et GC/MS des HE étudiées a montré que la teneur en monoterpènes (62.9 ; 56.4 et 62.3%) est la plus importante pour tous les échantillons de myrte provenant de Tizi- Ouzou, Tablat et H.Melouane, respectivement, suivie par les teneurs

## Partie Expérimentale

en monoterpènes oxygénés et sesquiterpènes. Cependant, la teneur en sesquiterpènes oxygénés est la moins représentée. D'une façon générale, toutes les huiles sont caractérisées par la prédominance de deux composés à savoir l' $\alpha$ -pinène et le limonène pour la classe des monoterpènes et 1,8-cineole, linalool, géranyl acetate et méthyleugenol pour la classe des monoterpènes oxygénés. D'après les résultats que nous avons obtenus, nous remarquons une légère variabilité dans la composition chimique de l'H.E. (qualitative et quantitative) au sein du genre « *Myrtus* », qui est peut être due principalement aux facteurs pédoclimatiques (sol, région géographique, température, durée d'ensoleillement), nutrition végétale et âge de la plante. Ces composés majoritaires ont été comparés à ceux trouvés par d'autres auteurs (tableau 7), on remarque une grande variabilité de la composition chimique de cette espèce, et nos échantillons sont modérément riches en  $\alpha$ -pinène. C'est un composé qui présente plusieurs activités biologiques: il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, aromatisant (Duke, 1998). De même, nous remarquons que la teneur en limonène est considérable par rapport aux résultats obtenus pour la même espèce dans les autres pays.

**Tableau 7:** Composés majoritaires des HE de *M. communis* L de différentes origines.

Composés majoritaires	Ce travail						
	TO	TB	HM	Grèce <sup>1</sup>	Tunisie <sup>2</sup>	Iran <sup>3</sup>	Italie <sup>4</sup>
$\alpha$ -Pinene	39.8	31.5	37.9	10.9	58.05	36.21	51.8
Limonene	20.3	19.7	20.1	t	0.11	-	7.6
1,8-Cineole	4.6	2.9	2.5	13.5	21.67	24.86	-
Linalool	1.0	4.4	2.0	7.7	2.45	12.5	1.8
Geranyl acetate	-	5.3	4.9	1.8	1.35	2.26	1.5
Méthyleugenol	4.8	5.6	1.9	-	0.38	0.18	-
Carvacrol	1.8	3.0	0.2	-	-	-	-
$\alpha$ -Terpineol	1.8	2.4	0.9	1.6	0.82	6.95	0.8

\*1: Gardeli et al; 2008.

\*2: Wissem et al; 2010.

\*3: Mehdi et al; 2013.

\*4: Alessandra et al 2011.

### 2.2. *D. carota* L. subsp. *carota*

L'analyse des huiles essentielles des ombelles mûres du *D. carota* L. subsp. *carota* récoltées dans la région de Timizart (Tizi ouzou) nous a permis l'identification de 61 composés représentant 91.4 % de la composition chimique globale. Leurs indices de rétention et leurs pourcentages relatifs déterminés à partir des aires des pics obtenus en GC-FID sont présentés

## Partie Expérimentale

dans le tableau 8, le Chromatogramme GC/MS relatif à l'huile essentielle est illustré dans la figure 24.

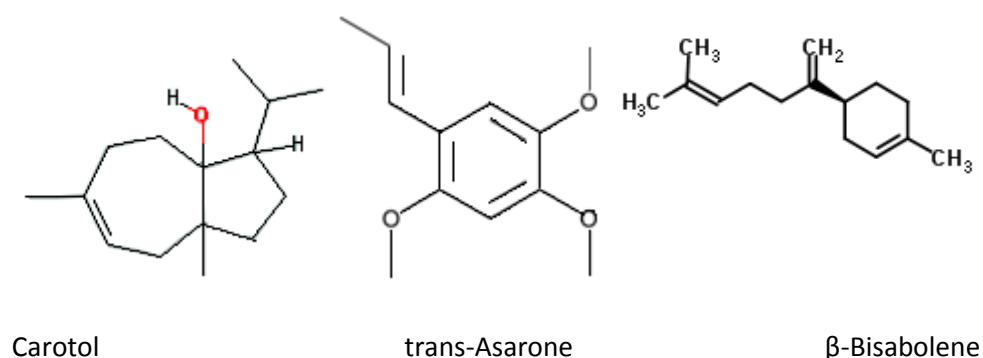
**Tableau 8:** Composition (%) de l'huile essentielle du *Daucus carota* L.subsp.*carota*

N°	Composés	IR <sub>cal</sub>	<sup>(a)</sup> IR <sub>lit</sub>	%	Identification*
1	Tricyclene	921	923	t	IR, GC-MS
2	α-Thujene	925	927	t	IR, GC-MS
3	α-Pinene	937	936	1.0	IR, GC-MS, Et.
4	Camphene	951	950	0.1	IR, GC-MS, Et.
5	Verbenene	961	963	t	IR, GC-MS
6	Sabinene	975	973	0.6	IR, GC-MS, Et.
7	β-Pinene	977	978	0.2	IR, GC-MS, Et.
8	1-Octen-3-ol	981	980	t	IR, GC-MS
9	β-Myrcene	991	989	0.1	IR, GC-MS, Et.
10	α-Phellandrene	1004	1004	t	IR, GC-MS, Et.
11	3-Carene	1014	1011	t	IR, GC-MS, Et.
12	α-Terpinene	1017	1017	t	IR, GC-MS, Et.
13	p-Cymene	1023	1024	0.3	IR, GC-MS
14	Limonene	1028	1029	0.2	IR, GC-MS, Et.
15	1,8-Cineole	1034	1032	0.2	IR, GC-MS, Et.
16	cis- β-Ocimene	1041	1038	t	IR, GC-MS
17	trans- β-Ocimene	1051	1048	t	IR, GC-MS
18	γ-Terpinene	1068	1060	0.1	IR, GC-MS, Et.
19	Terpinolene	1085	1087	0.2	IR, GC-MS, Et.
20	p-Cymenene	1090	1088	t	IR, GC-MS
21	Linalool	1097	1099	0.3	IR, GC-MS, Et.
22	Undecane	1100	1100	t	IR, GC-MS, Et.
23	6-Methyl 3,5-Heptadien-2-one	1103	1102	t	IR, GC-MS
24	α-Campholene aldehyde	1109	1107	t	IR, GC-MS
25	4-Acethyl-1-methylcyclohexene	1127	1124	t	IR, GC-MS
26	trans-Pinocarveol	1139	1140	t	IR, GC-MS
27	trans-Verbenol	1146	1144	0.1	IR, GC-MS
28	4-Terpineol	1179	1177	0.1	IR, GC-MS, Et.
29	p-Cymen-8-ol	1183	1184	t	IR, GC-MS
30	α-Terpineol	1190	1190	t	IR, GC-MS, Et.
31	Myrtenal	1193	1192	t	IR, GC-MS
32	Myrtenol	1196	1194	t	IR, GC-MS
33	Thymol methyl ether	1235	1234	t	IR, GC-MS
34	Piperitone	1253	1254	t	IR, GC-MS
35	Geraniol	1257	1255	0.1	IR, GC-MS
36	Bornyl acetate	1284	1283	0.1	IR, GC-MS, Et.
37	Thymol	1291	1290	1.0	IR, GC-MS, Et.
38	Carvacrol	1301	1300	0.1	IR, GC-MS, Et.
39	α-Longipinene	1351	1352	3.5	IR, GC-MS
40	α-Ylangene	1368	1370	0.1	IR, GC-MS
41	α-Copaene	1375	1376	t	IR, GC-MS
42	α-Longicyclene	1377	1377	t	IR, GC-MS
43	Geranyl acetate	1382	1380	0.3	IR, GC-MS, Et.

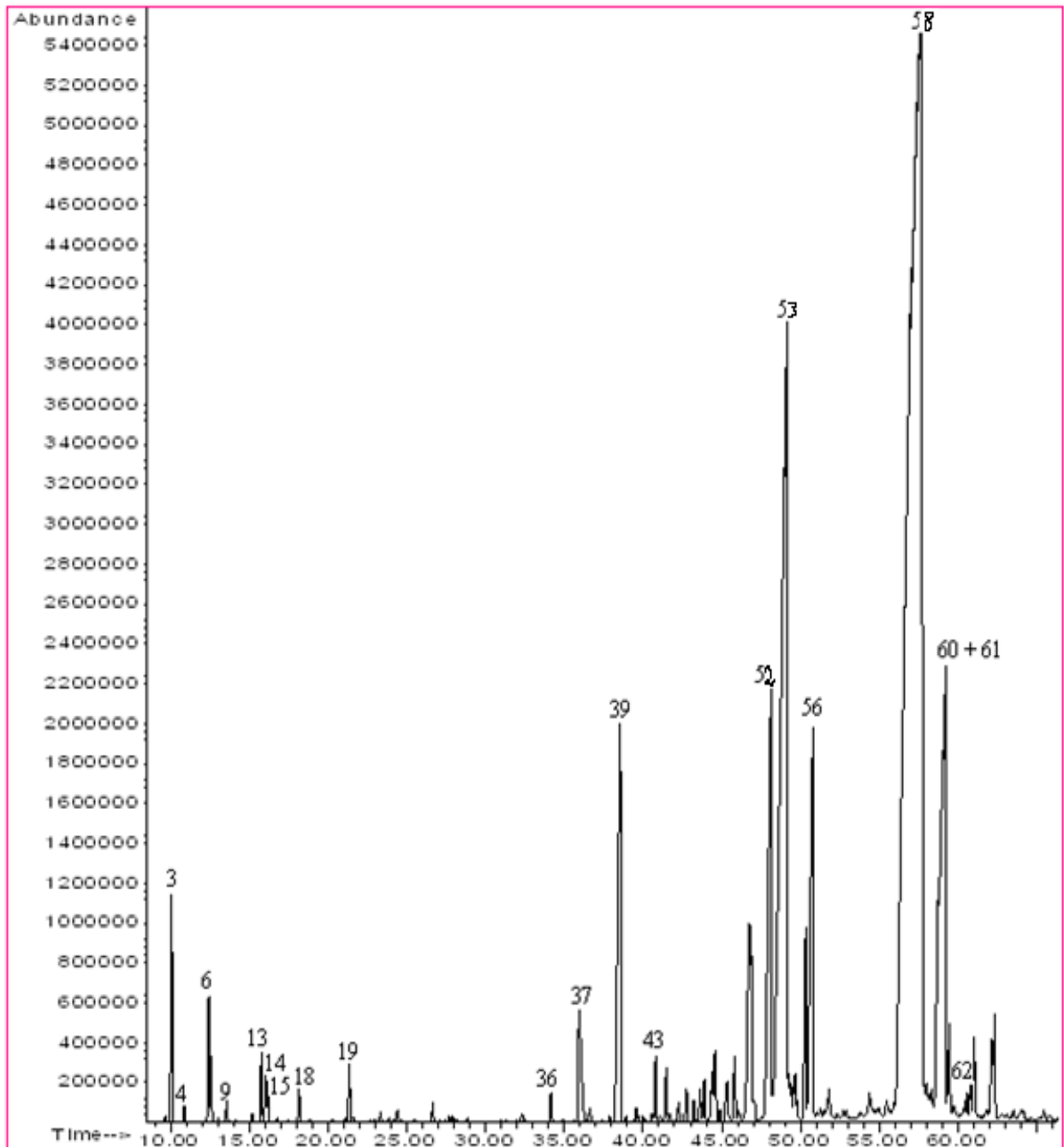
## Partie Expérimentale

<b>44</b>	trans- $\alpha$ -Bergamotene	1435	1434	t	<b>IR, GC-MS</b>
<b>45</b>	$\alpha$ -Cedrene	1413	1412	0.2	<b>IR, GC-MS</b>
<b>46</b>	$\beta$ -Cedrene	1420	1422	0.2	<b>IR, GC-MS</b>
<b>47</b>	Aromadendrene	1438	1441	0.3	<b>IR, GC-MS</b>
<b>48</b>	$\alpha$ -Himachalene	1447	1445	0.3	<b>IR, GC-MS</b>
<b>49</b>	$\alpha$ -Humulene	1452	1453	0.1	<b>IR, GC-MS</b>
<b>50</b>	trans- $\beta$ -Farnesene	1456	1456	0.3	<b>IR, GC-MS</b>
<b>51</b>	Allo-Aromadendrene	1461	1460	0.7	<b>IR, GC-MS</b>
<b>52</b>	$\beta$ -Himachalene	1502	1501	4.2	<b>IR, GC-MS</b>
<b>53</b>	<b><math>\beta</math>-Bisabolene</b>	1509	1508	<b>15.6</b>	<b>IR, GC-MS</b>
<b>54</b>	$\beta$ -Sesquiphellandrene	1525	1523	0.1	<b>IR, GC-MS</b>
<b>55</b>	trans- $\alpha$ -Bisabolene	1539	1540	3.7	<b>IR, GC-MS</b>
<b>56</b>	Germacrene B	1553	1551	0.1	<b>IR, GC-MS</b>
<b>57</b>	Caryophyllene oxide	1579	1581	0.1	<b>IR, GC-MS</b>
<b>58</b>	<b>Carotol</b>	1594	1595	<b>48.4</b>	<b>IR, GC-MS</b>
<b>59</b>	cis-Asarone	1616	1618	1.7	<b>IR, GC-MS</b>
<b>60</b>	<b>trans-Asarone</b>	1678	1679	<b>6.5</b>	<b>IR, GC-MS</b>
<b>61</b>	Hexahydrofarnesylacetone	1845	1844	0.1	<b>IR, GC-MS</b>
	Total (%)			<b>91.4</b>	
	Monoterpènes			<b>2.8</b>	
	Monoterpenes oxygénés			<b>1.8</b>	
	Sesquiterpènes			<b>25.</b>	
	Sesquiterpènes oxygénés			<b>56.8</b>	
	<b>Autres</b>			<b>4.2</b>	

\*Identification ; IR= comparaison de l'indice de rétention calculé par rapport à ceux de la bibliographie ; GC-MS = comparaison du spectre des masse par rapport à ceux de la littérature et à ceux des banques de données informatisées ; Et : Comparaison de l'indice de rétention à ceux d'étalons purs. t=trace (<0.05%). <sup>(a)</sup> Babushok, Linstrom, and Zenkevich (2011); Adams, (2007).



**Figure 23** : composés majoritaires de la carotte sauvage *D.carota* L subsp. *carota* étudiée.



**Figure 24:** Chromatogramme GC/MS de l'huile essentielle de *Daucus carota*. Les nombres sur les pics correspondent à ceux des numéros d'ordre des composés du tableau de la composition chimique.

L'huile est principalement constituée de sesquiterpènes (25.8%) et de sesquiterpènes oxygénés (57.8%) dont les principaux composés sont le carotol (Figure 22) qui est un alcool sesquiterpénique, la trans-asarone qui est une cétone sesquiterpénique et le  $\beta$ -bisabolène qui est un hydrocarbure sesquiterpénique.

## Partie Expérimentale

La comparaison des résultats obtenus à ceux trouvés pour la même espèce d'autres régions du monde (tableau 9) révèle une grande variabilité chimique d'ordre qualitatif et quantitatif. La recherche bibliographique a également révélé quelques compositions inhabituelles pour l'huile de la carotte sauvage, contenant principalement du  $\gamma$ -bisabolène (jusqu'à 87%) ou le  $\beta$ -caryophyllène (jusqu'à 29%) comme composant principal (Djarri et al., 2006 ; Jabrane A. et al., 2009).

Selon Maxia et al 2009, les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et par extraction au CO<sub>2</sub> supercritique de *D. carota L. ssp carota* qui poussent spontanément en Italie (Sardaigne) et au Portugal (Cantanhede) ont été étudiées. L'huile des ombelles matures avec des graines provenant de Sardaigne est essentiellement composée d'hydrocarbures sesquiterpéniques (61,6 %) et de phénylpropanoïdes (15,2 %). Le  $\beta$ -bisabolène (17.6-51,0 %), le carotol (2.4-25,1 %), le (E) méthylisoeugénol (1.3-10,0 %) et le 11  $\alpha$ -himachal- 4-ène-1- $\beta$ -ol (9.0-21.6 %), sont les principaux composés. (Maxia et al., 2009)

**Tableau 9:** Principaux composés de quelques échantillons de la carotte sauvage (*D.carota ssp.carota*) de différentes origines.

Principaux composés	Ce travail	Portugal <sup>1</sup> (S. P. de Moel)	Portugal <sup>2</sup> (Cantanhede)	Italie <sup>2</sup>	Vienna <sup>3</sup>	Inde <sup>4</sup>
$\beta$ -Bisabolene	15.6	0.1	51.0	17.6	-	-
Carotol	48.4	11	1.4	2.4	-	33.7
trans-Asarone	6.5	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Pinene	1	30.9	13	1.5	23.5	31.17
Thymol	1	-	-	-	-	-
Carvacrol	0.1	-	-	-	-	-
$\alpha$ -Longipinene	3.5	-	-	3.1	-	-
$\beta$ -Himachalene	4.2	-	-	1.3	-	-
trans- $\alpha$ -Bisabolene	3.7	-	-	-	-	-
cis-Asarone	1.7	-	-	-	-	-
Sabinène	0.6	3.8	0.6	0.5	-	0.2
limonène	0.2	5.8	1.2	0.7	2.4	8.4

\*1 : Valente et al., 2014.

\*2: Maxia et al., 2009.

\*3: Remigius Chizzola , 2010

\*4: Ram et al., 2014.

## Partie Expérimentale

### 3.3. *M. rotundifolia* L.

Le tableau ci-dessous donne les composés identifiés et leurs proportions dans l'HE de *M. rotundifolia* L obtenu par GC/MS et la figure 25 illustre le chromatogramme GC-MS relatif à l'huile essentielle de la menthe à feuilles rondes

**Tableau 10 :** Composition (%) de l'huile essentielle de la menthe à feuilles rondes

(*Mentha rotundifolia* L)

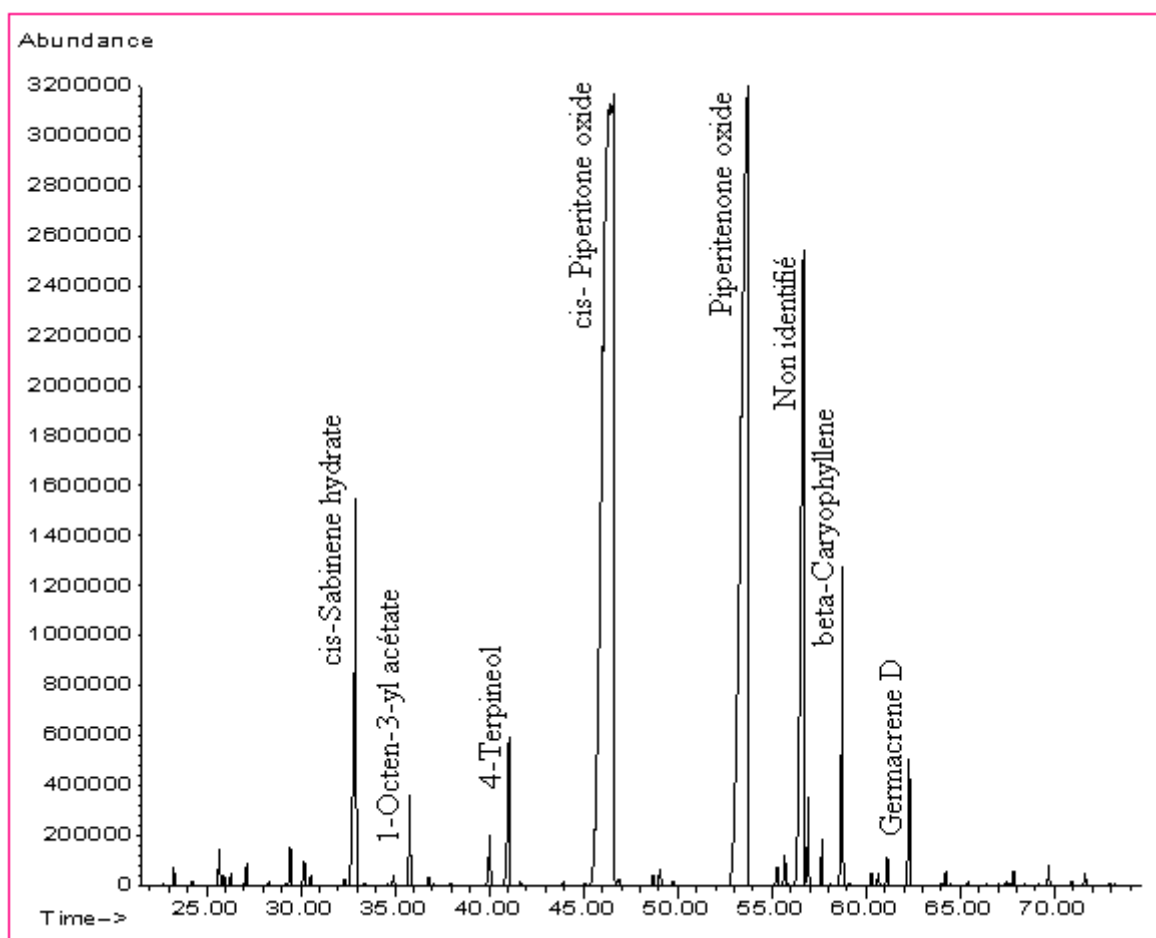
N°	Composés	IR <sub>cal.</sub>	<sup>(a)</sup> IR <sub>lit.</sub>	%	Identification*
1	α-Pinene	936	936	0.2	IR, GC-MS, Et.
2	Camphene	951	950	t	IR, GC-MS, Et.
3	Sabinene	973	973	0.1	IR, GC-MS, Et.
4	β-Pinene	978.2	977	0.1	IR, GC-MS, Et.
5	1-Octen-3-ol	979	980	0.3	IR, GC-MS
6	β-Myrcene	989	989	0.2	IR, GC-MS
7	3-Octanol	994	993	t	IR, GC-MS
8	Limonene	1029	1029	0.2	IR, GC-MS, Et.
9	1,8-Cineole	1030	1032	t	IR, GC-MS, Et.
10	o-Cymene	1042	1041	0.3	IR, GC-MS
11	cis-β-Ocimene	1048	1047	0.1	IR, GC-MS
12	γ-Terpinene	1061	1059	0.1	IR, GC-MS, Et.
13	Borneol	1066	1066	0.5	IR, GC-MS, Et.
14	<b>cis-Sabinene hydrate</b>	1067	1066.5	<b>4.8</b>	IR, GC-MS
15	trans-Sabinene hydrate	1099	1098	0.1	IR, GC-MS
16	1-Octen-3-yl acétate	1110	1110	0.7	IR, GC-MS
17	4-Terpineol	1176	1177	1.5	IR, GC-MS, Et.
18	α-Terpineol	1189	1190	t	IR, GC-MS, Et.
19	<b>cis-Piperitone oxide</b>	1255	1253	<b>46.8</b>	IR, GC-MS
20	Bornyl acetate	1282	1283	0.1	IR, GC-MS, Et.
21	Thymol	1291	1290	0.2	IR, GC-MS, Et.
22	Carvacrol	1300	1300	t	IR, GC-MS, Et.
23	<b>Piperitenone oxide</b>	1366	1367	<b>28.4</b>	IR, GC-MS
24	cis-Jasmone	1396	1394	0.2	IR, GC-MS
25	<b>Non identifié</b>	1398	-	<b>9.7</b>	IR, GC-MS
26	β-Caryophyllene	1406	1406	2.5	IR, GC-MS
27	α-Humulene	1453	1453	0.1	IR, GC-MS
28	trans-β-Farnesene	1454	1455	0.1	IR, GC-MS
29	Bicyclosésquiphellandrene	1479	1480	0.2	IR, GC-MS
30	Germacrene D	1480	1481	0.9	IR, GC-MS
31	cis-Calamenene	1521	1522	0.1	IR, GC-MS
32	α-Cadinene	1534	1533	t	IR, GC-MS
33	Caryophyllene oxide	1580	1580	t	IR, GC-MS



## Partie Expérimentale

<b>34</b>	$\alpha$ -Cadinol	1653	1652	0.1	IR, GC-MS
Total identifié				<b>88.9</b>	
Monotrpènes				1.3	
Sesquiterpènes				3.9	
Cétones				<b>75.4</b>	
Alcools				2.6	
Autres				5.7	

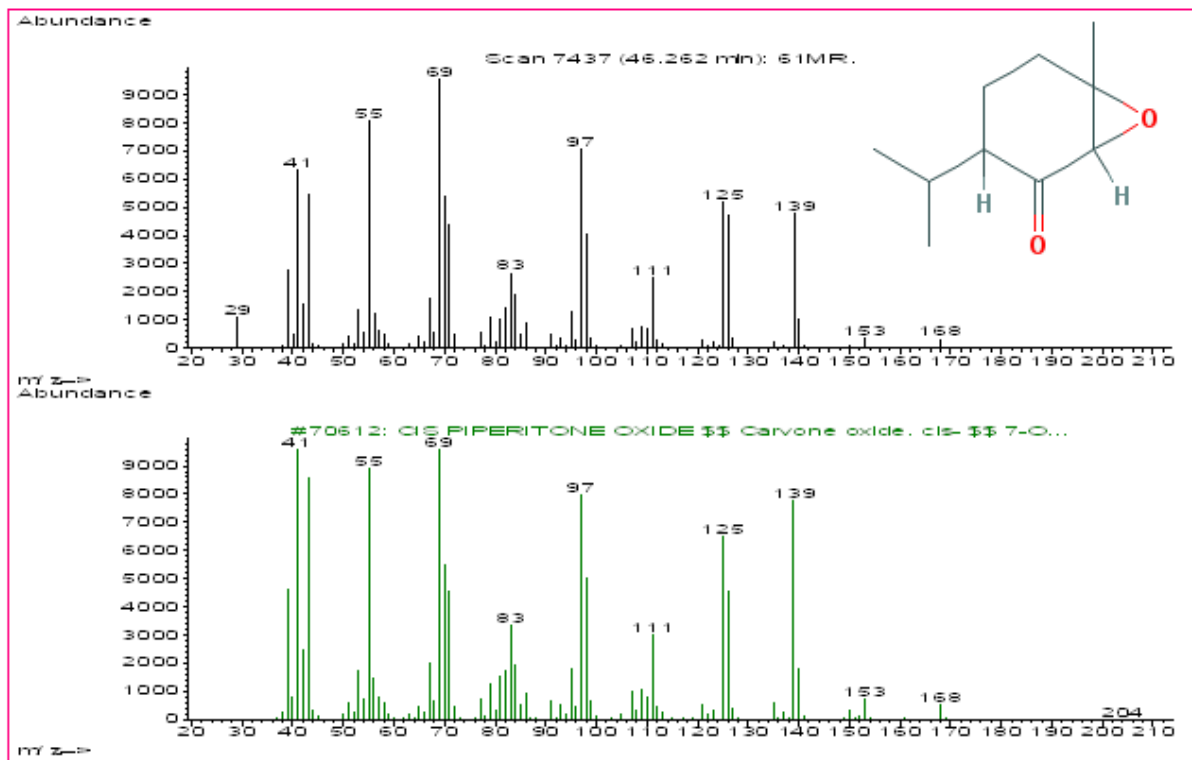
\*Identification ; IR= comparaison de l'indice de rétention calculé par rapport à ceux de la bibliographie ; GC-MS = comparaison du spectre des masse par rapport à ceux de la littérature et à ceux des banques de données informatisées ; Et : Comparaison de l'indice de rétention à ceux d'étalons purs. t = trace (<0.05%). <sup>(a)</sup>Babushok, Linstrom, and Zenkevich, 2011.



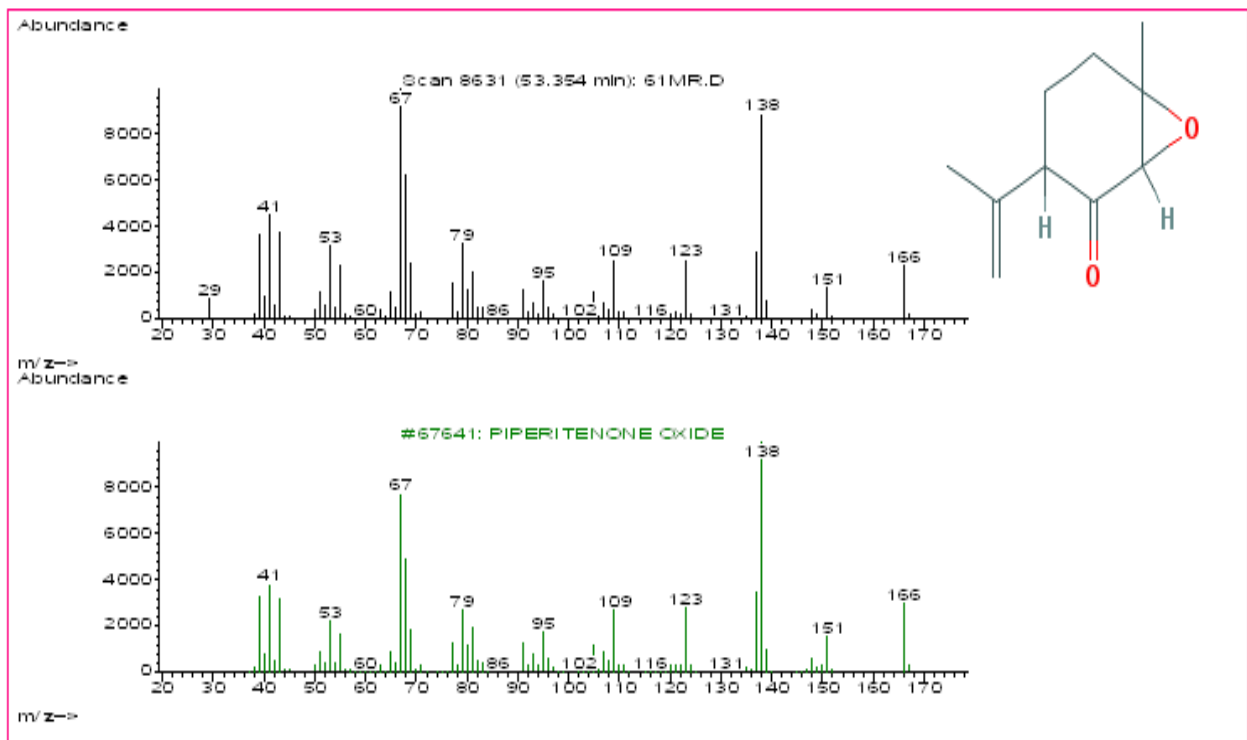
**Figure 25:** Chromatogramme GC-MS de la menthe à feuilles rondes

## Partie Expérimentale

Les figures 26 et 27 illustrent les spectres de masse et formule chimique des composés majoritaires qui caractérisent l'huile essentielle de la menthe à feuilles rondes.



**Figure 26 :** Spectre de masse et formule chimique de la **cis-Piperitone oxide** (en haut : spectre de masse relatif au pic ; en bas : spectre de masse de la molécule de référence)



**Figure 27:** Spectre de masse et formule chimique de la **Piperitenone oxide** (en haut : spectre de masse relatif au pic ; en bas : spectre de masse de la molécule de référence)

## Partie Expérimentale

Les 34 composés identifiés correspondent à une teneur de 88,9% de l'ensemble de l'HE injectée. Nous remarquons une nette dominance des composés cétoniques (75.4%)

C'est une huile qui est très riche en cis-piperitone oxide et en piperitenone oxide avec des teneurs de 46.8%,28.4 %,respectivement. Les résultats trouvés, ont été comparés à ceux cités par d'autres auteurs qui ont travaillé sur la même espèce. Le tableau 11 regroupe les principaux composés de la menthe à feuilles rondes de différentes origines.

**Tableau 11:** Principaux composés de la menthe à feuilles rondes de différentes origines.

Principaux composés	Ce travail	Maroc <sup>1</sup>	Tunisie <sup>2</sup> (Bizerte)	Tunisie <sup>2</sup> (Beja)	Uruguay <sup>3</sup>	Algérie <sup>4</sup> (Rouina)	Algérie <sup>4</sup> (Miliana)	Algérie <sup>4</sup> (Chlef)
Menthone	-	5,0	-	-	12.9	-	-	-
cis-Sabinene Hydrate	4,8	-	-	-	-	0.9	2.3	0.3
Menthol	-	40,50	-	-	0.6	-	-	-
Carveol	-	-	-	7.4	-	-	-	-
Borneol	-	-	-	-	-	6.4	5.7	-
5-Acetyl Thiazole	-	-	11.3	0.3	-	-	-	-
Pulegone	-	-	-	-	73.4	-	-	-
cis-Piperitone oxide	46,8	3,2	-	-	0.1	19.7	31.4	0.1
Piperitenone	-	-	-	-	-	0.3	2.6	54.9
Piperitenone oxide	28,4	-	17.3	3.4	0.9	29.4	27.8	17.6
Non identifié	9,7	-	-	-	-	3.5	0.2	5.8
$\beta$ -Caryophyllene	2.5	-	3.2	26.7	0.1	4.0	6.2	1.5
Germacrene D	0.9	-	6.8	12.3	-	2.6	4.3	0.6

\*1 : Elhoussine et al., 2010.

\*2 : Leila et al., 2013.

\*3 : Daniel et al., 2002.

\*4 : Moussa et al., 2007.

Le tableau 11 montre la très grande variabilité de la composition chimique de cette espèce. En effet, sur les 8 échantillons présentés on remarque une grande variabilité tant quantitative que qualitative entre les différents échantillons. Cependant, notre échantillon est plus ou moins similaire à ceux de Rouina et Miliana (Algérie).

### 3. Estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

Les polyphénols produits par les végétaux en tant que métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules chimiques, dont la nature chimique et la teneur sont extrêmement variables d'une espèce à une autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols totaux.

L'analyse par le réactif de Folin–Ciocalteu est la plus utilisée (**Portes , 2008**). La teneur en phénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sec (mgEAG/g d'extrait).

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Les complexes produits, de couleur jaune, absorbent dans le visible entre 415 et 420 nm. (**Alyafi , 2007**)

Le tableau 12 résume les résultats du dosage des phénols totaux et flavonoïdes présents dans chaque échantillon étudié.

**Tableau 12:** Teneurs (%) en composés phénoliques et en flavonoïdes.

Espèce	Provenance	Teneur en phénols totaux <sup>(a)</sup>	Teneur en flavonoïdes <sup>(b)</sup>
<i>M. communis</i>	Timizart (Tizi Ouzou)	78.79±2.95	21.61±0.23
<i>M. communis</i>	Tablat (Medéa)	83.03±1.89	17.72±1.49
<i>M. communis</i>	H.melouane (Blida)	75.12±2.97	16.81±0.99
<i>D. carota</i>	Timizart (Tizi Ouzou)	9.96±0.32	8.5±0.13
<i>M.rotundifolia</i>	Timizart (Tizi Ouzou)	87.12±2.74	16.21±0.41

Les valeurs exprimées sont des moyennes ± de trois mesures parallèles.

(a) mg d'équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

(b) mg d'équivalent en quercétine par g d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

Pour les trois échantillons de la plante étudiée de *M. communis* nous avons remarqué une légère variabilité des teneurs en phénols totaux. La teneur la plus élevée est constatée dans le myrte provenant de Tablat (83.03±1.89 mg GAE/g MS), suivi du myrte provenant de Tizi ouzou et H.Melouane (78.79±2.95 et 75.12±2.97 mg GAE/g MS), respectivement. D'une façon générale, ces teneurs restent relativement faibles en les comparant à celles obtenues par **Kanoun , 2011** qui est de l'ordre de 119,23 ± 0,77 mg GAE/g qui a travaillé sur le myrte de Tlemcen récolté en Décembre et par **Gardeli , 2007** qui a trouvé une teneur de 307 en étudiant le myrte d'origine grecque récolté en Février.

De même, la teneur en phénols totaux de la partie aérienne de la menthe à feuilles rondes est de 87,12 mg EAG/g d'extrait végétal. Selon **Ferdjioui (2014)**, cette teneur est de  $168.642 \pm 1.642$  EAG/g d'extrait de la menthe à feuilles rondes originaire de Sétif.

D'après les résultats que nous avons obtenus, la carotte sauvage enregistre la teneur la plus faible parmi les espèces étudiées (9.96 mg EAG/g d'extrait végétal).

Les variations des teneurs en composés phénoliques sont souvent considérables d'une espèce à l'autre et à l'intérieur même d'une même espèce, selon les écotypes. 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  $17.72 \pm 1.49$ ,  $21.61 \pm 0.23$  et  $16.81 \pm 0.99$  mg QE/g d'extrait respectivement pour les extraits du myrte récolté à Tablat, Tizi ouzou et H.Melouane. Cette teneur est de  $16.21 \pm 0.41$  mg QE/g pour l'extrait méthanolique de la menthe qui représente approximativement la moitié de celle trouvée par **Ferdjioui, 2014** qui est de  $33.045 \pm 0.76$  mg EQ/g d'extrait. Cependant la teneur en flavonoïdes de la carotte sauvage est la plus faible parmi les plantes étudiées ( $8.5 \pm 0.13$  mg QE/g d'extrait). 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.

#### 4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'intérêt croissant des effets bénéfiques de l'antioxydant sur la santé a mené au développement d'un grand nombre de tests pour déterminer les capacités antioxydantes des extraits naturels. Dans cette optique, l'étude de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques et des huiles essentielles des plantes étudiées a été réalisée à l'aide de trois méthodes différentes : le test du DPPH, la mesure du pouvoir réducteur et le test ABTS.

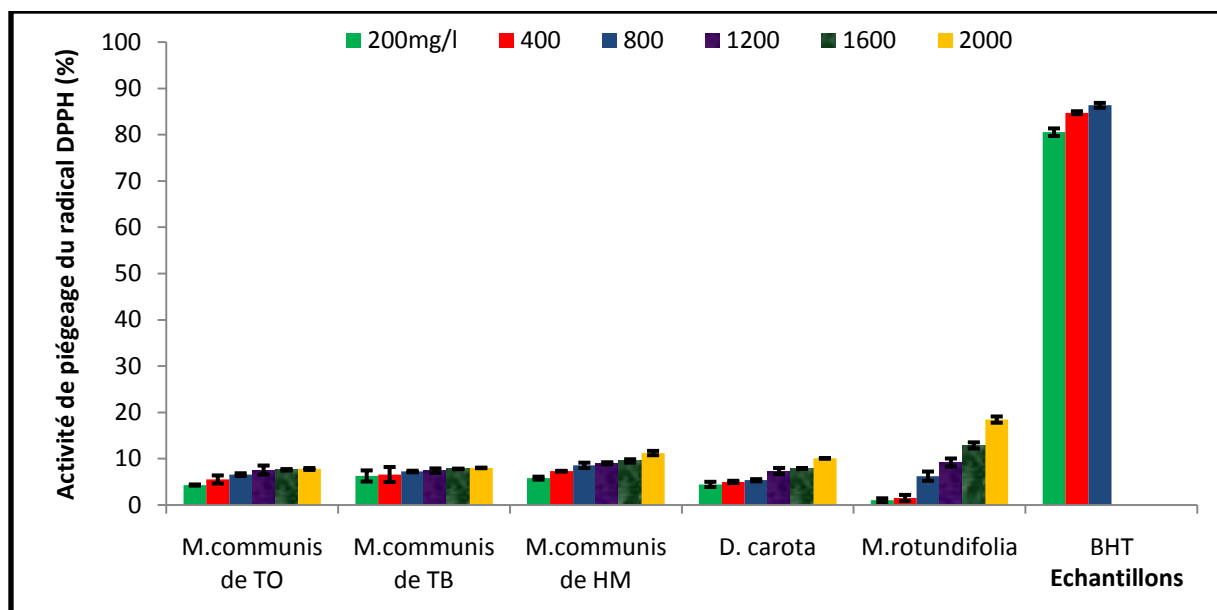
##### ☞ **Activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH<sup>•</sup>).**

La réduction du DPPH<sup>•</sup> est contrôlée en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde caractéristique (517 nm). Cependant l'habilité des H.E. et des Extraits phénoliques de céder des protons hydrogènes est mesurée par la méthode de spectrophotométrie après disparition de la couleur violette de la solution méthanolique contenant le radical DPPH<sup>•</sup> (*2,2-diphényl-1-1-picrylhydrazyl*). La forme réduite de ce dernier, confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance antiradicalaire (antioxydante). (**Koleva et al., 2002**)

## Partie Expérimentale

### ✚ Cas des HE

Les différentes activités de piégeage obtenues pour les HE des plantes étudiées comparées à celles du BHT sont reportées dans la figure 28.



**Figure 28:** Activité de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> par le BHT et les HE des différents échantillons étudiés pour des concentrations de 200-2000mg/l.

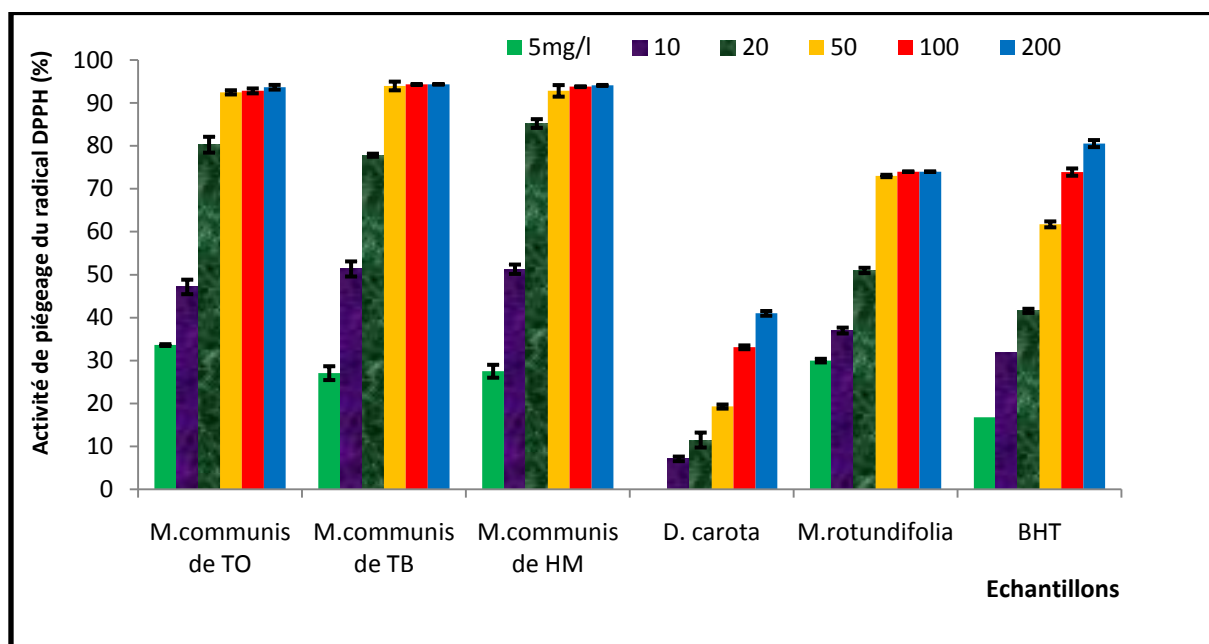
D'après les valeurs enregistrées, nous remarquons que l'huile essentielle de *M.communis* étudiée est très faiblement réductrice du radical DPPH<sup>•</sup>. Ainsi, avec le maximum de concentration (2000 mg/l) elles atteignent des valeurs maximales de 7.79%, 8.02% et 11.23% pour les différentes huiles (Tizi ouzou, Tablat et H.Mélouane, respectivement). De même, nous notons aussi une faible activité antioxydante de la carotte sauvage et de la menthe, les valeurs enregistrées sont 10.08 et 18.46, respectivement avec la concentration de 2000 mg/l. Cependant à des concentrations très faibles, le BHT présente une activité de piégeage très élevée.

Les valeurs des IC<sub>50</sub> n'ont pas été déterminées pour les HE car à la plus grande concentration (2000 mg/l) l'inhibition des radicaux libres n'arrive pas à 50%.

### ✚ Cas des EM:

## Partie Expérimentale

Les différentes activités de piégeage obtenues pour les extraits méthanoliques des plantes étudiées comparées à celles du BHT sont reportées dans la figure 29.



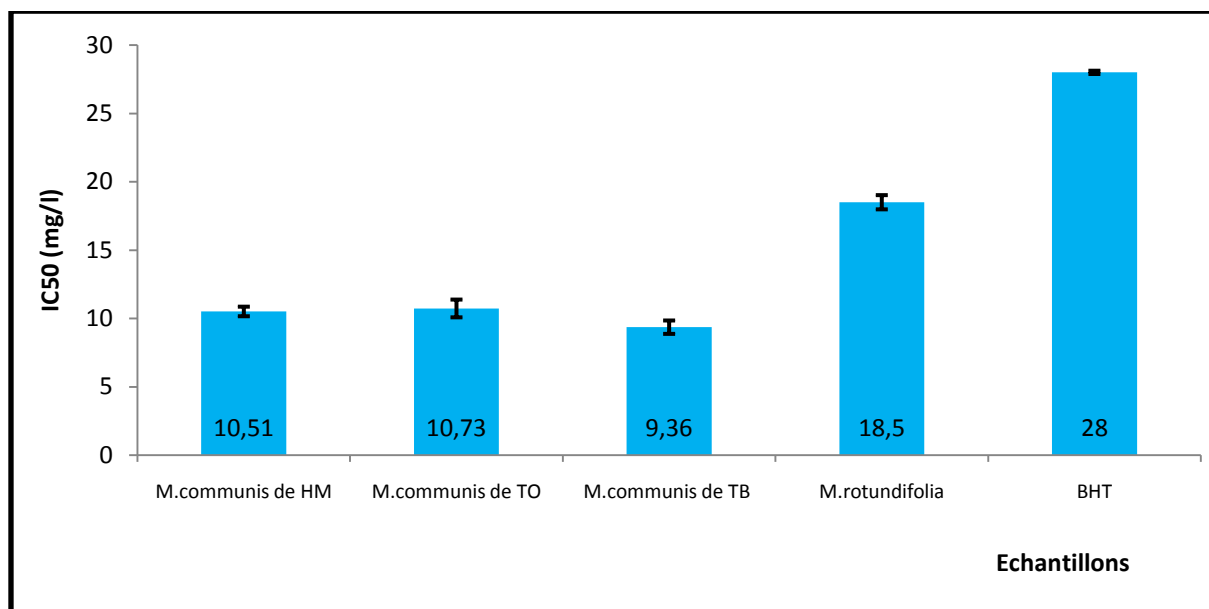
**Figure 29:** Activité de piégeage du radical DPPH' par les EM des plantes étudiées pour des concentrations de 5-200 mg/l.

D'après la figure ci-dessus, on remarque une augmentation des activités de piégeage avec l'augmentation des concentrations en extraits et que cet effet antiradicalaire est beaucoup plus important que celui des HE. En effet, même à faibles doses l'extrait présente une action considérable vis-à-vis des radicaux libres. Cette action est éventuellement due à sa composition phytochimique plus ou moins complexe et variée principalement riche en composés phénoliques auxquels tous les auteurs s'accordent à leur attribuer un potentiel antiradicalaire très important.

En effet, la concentration 10mg/l manifeste une activité élevée (47.16% 51.34%, 51.28%) pour les extraits méthanoliques de Myrte de Tizi ouzou, Tablat et H.Mélouane, respectivement comparativement à celle du BHT (31,82%). Cependant la carotte sauvage présente une activité très faible (7.12%) en la comparant à celles du myrte, de la menthe et du BHT. Ainsi avec la plus grande concentration (200mg /l) l'extrait de la carotte n'arrive pas à inhiber 50% du radical DPPH. Ce résultat était prévisible compte tenu de sa faible teneur en polyphénols. Ceci est confirmé par les résultats obtenus pour l'IC<sub>50</sub> qui est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. La concentration de l'échantillon nécessaire pour

## Partie Expérimentale

inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés. L'ensemble des extraits révèle des propriétés antiradicalaires intéressantes de l'extrait brut méthanolique qui se manifeste par de faibles valeurs d'IC<sub>50</sub>. Les IC<sub>50</sub> des extraits analysés sont indiquées dans la figure 30.



**Figure 30:** Valeurs des IC<sub>50</sub> (mg/l) des extraits du *M.communis*, *M. rotundifolia* et du BHT.

Les IC<sub>50</sub> que nous avons enregistrées sont de 9.36, 10.51 et 10,73 mg/l pour les extraits de myrte provenant de Tablat, H.Melouane et de Tizi Ouzou respectivement. Cependant l'activité antioxydante de la menthe est relativement faible (IC<sub>50</sub>=18.5 mg/l) en la comparant au myrte mais elle reste importante par rapport à celle du BHT (28 mg/l).

Les valeurs obtenues d'IC<sub>50</sub> du myrte sont proches de celles obtenues en Grèce par **Gardeli et al, 2008** qui sont comprises entre 9.54 et 17.1 mg/l en fonction de la saison.

### ☞ Pouvoir réducteur des différents extraits méthanoliques des espèces étudiées et du BHT.

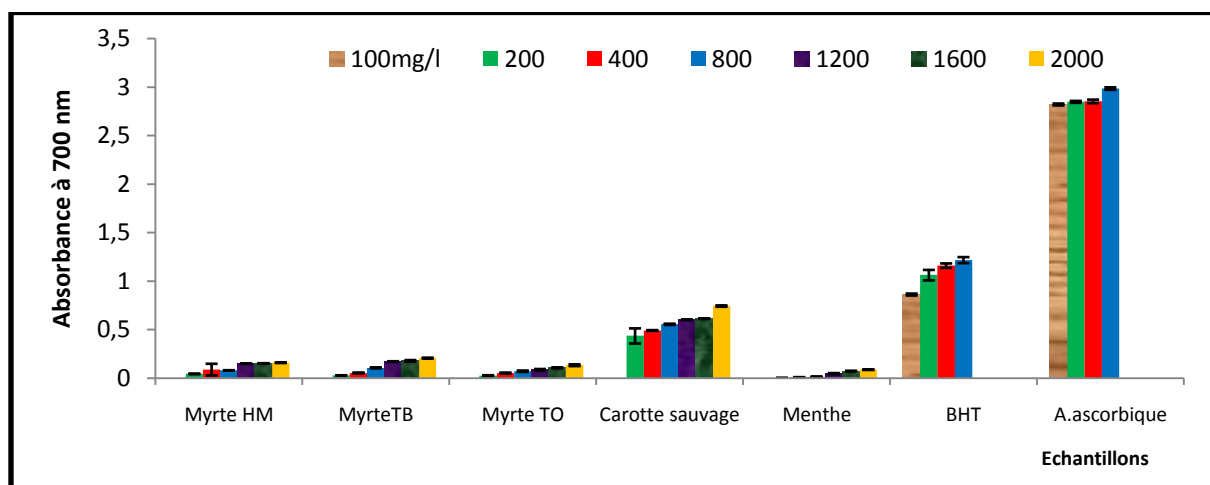
Le pouvoir réducteur mesure la capacité de réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en fer ferreux. (Fe<sup>2+</sup>), donc la mesure de l'aptitude d'une huile essentielle ou d'un extrait à interagir avec les espèces chimiques réactives en tant que donneur d'électrons tels que les radicaux libres. Ces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

### ✚ Cas des HE



## Partie Expérimentale

Les résultats du pouvoir réducteur des huiles essentielles étudiées, du BHT et de l'acide ascorbique, exprimés par l'absorbance à 700 nm, sont illustrés dans la figure 31.



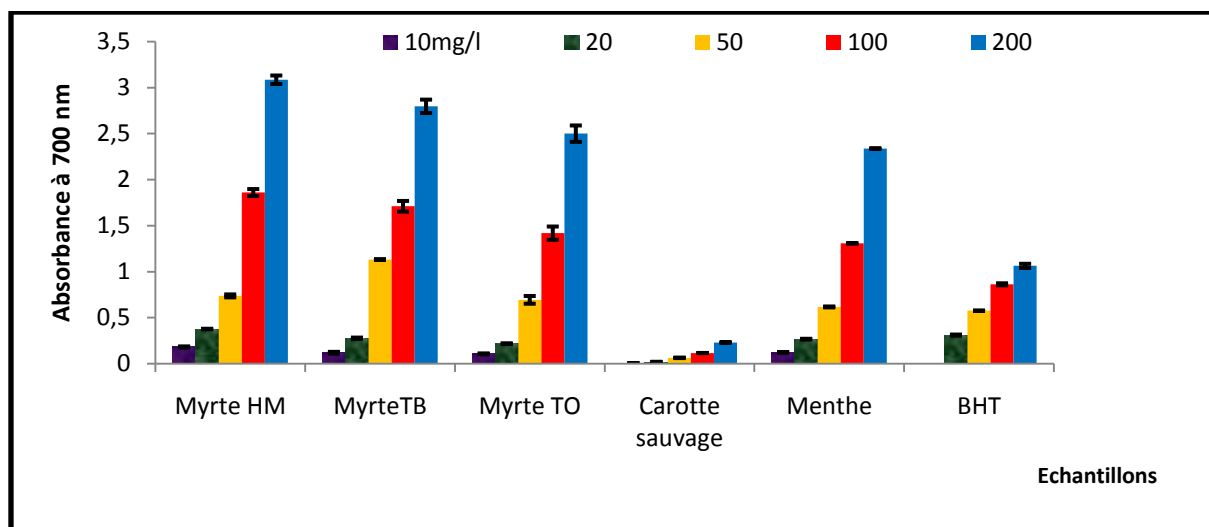
**Figure 31** : Pouvoir réducteur des différents HE des espèces étudiées, du BHT et de l'Acide Ascorbique.

D'après les résultats que nous avons obtenus, le pouvoir réducteur de toutes les huiles essentielles des plantes étudiées est très faible malgré l'augmentation de la concentration qui atteint 2000 mg/l sauf la carotte sauvage qui présente des valeurs relativement considérables (0.744, 0.556, 0.602, 0.556, 0.492 et 0.436) en fonction de différentes concentrations (2000, 1600, 1200, 800, 400 et 200 mg/l) par rapport à celles de la menthe et du myrte. Par ailleurs à cette concentration le pouvoir réducteur au sein du genre *Myrtus* qui est reflété par le degré d'absorbance ne dépasse pas 0.207 pour le myrte provenant de Tablat, 0.16 pour celui de H.Melouane et il est de 0.134 pour le myrte récolté à Tizi ouzou. Cependant les antioxydants de synthèse (A.ascorbique et BHT) enregistrent une activité importante (2.823 et 0.863) respectivement à une concentration de 100 mg/l seulement. Généralement, les résultats obtenus dans ce test confirment ceux trouvés pour le DPPH.

### Cas des EM

Les différentes activités de piégeage obtenues pour les extraits méthanoliques des plantes étudiées comparées à celles du BHT sont reportées dans la figure 32.

## Partie Expérimentale



**Figure 32:** Pouvoir réducteur des différents extraits méthanoliques (EM) des espèces étudiées 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 méthanoliques des différentes plantes étudiées ont montré un grand pouvoir réducteur du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ), ainsi pour une concentration de 50 mg/l d'extrait, l'activité antioxydante qui est reflétée par les degrés d'absorbance qui sont : 0.617- 0.694- 1.132 et 0.737 respectivement pour la menthe, myrte de Tizi Ouzou, Tablat et H.Melouane est supérieure à celle du BHT sauf la carotte sauvage qui présente les plus faibles valeurs parmi les extraits végétaux étudiés et du BHT avec une valeur maximale de 0.231 à une concentration de 200mg/l. Ceci peut être expliqué par la forte teneur en composés phénoliques de deux espèces (le myrte et la menthe) contrairement à la carotte sauvage qui est très pauvre en composés phénoliques. Ces composés connus pour leur pouvoir réducteur sont appelés reductones.

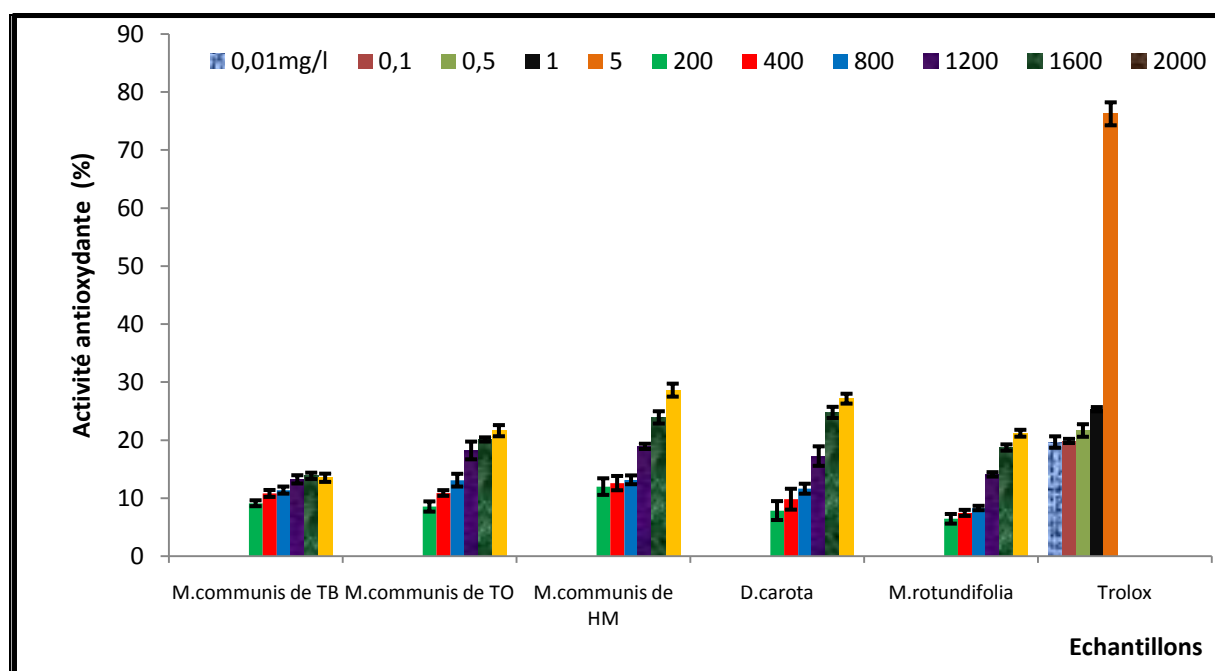
Ils sont capables de réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ), céder des électrons et transformer les radicaux libres actifs en des produits stables (Dorman et al., 2004, Singh et al., 2006).

### ☞ Activité de piégeage du radical ABTS par les HE des plantes étudiées.

#### 🚦 Cas des HE

Les résultats obtenus lors du test de mesure du pouvoir de piégeage du radical ABTS des HE des espèces étudiées et le Trolox qui constitue l'équivalent synthétique de la vitamine E sont illustrés dans la figure 33.

## Partie Expérimentale



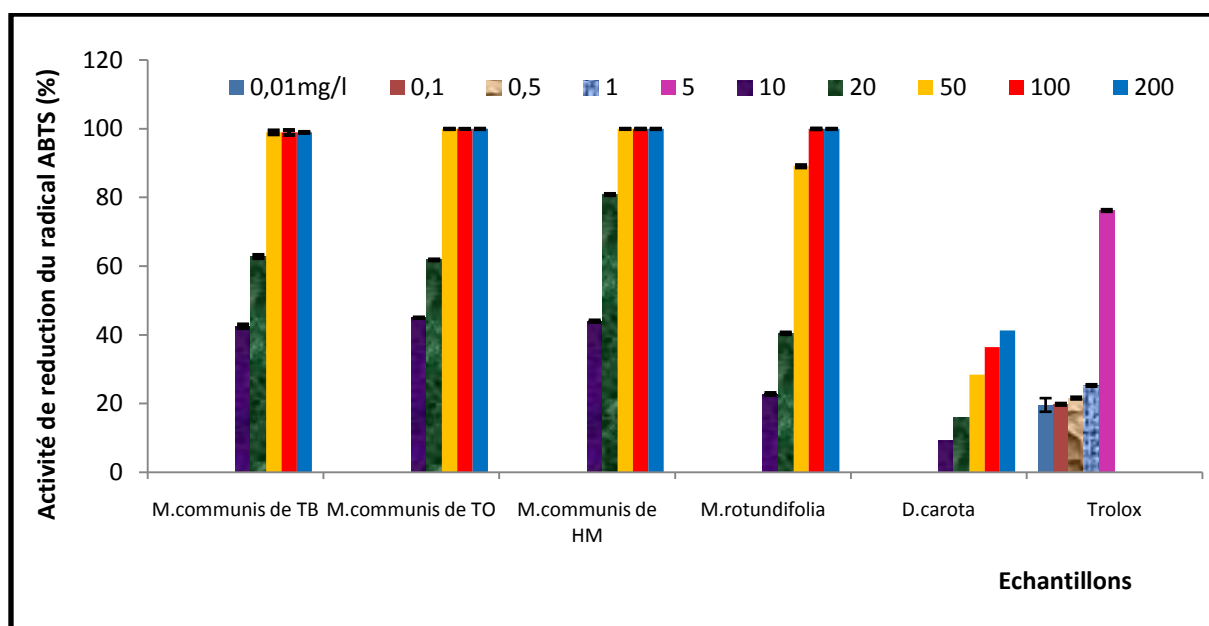
**Figure 33:**Activité de piégeage du radical ABTS par les HE des plantes étudiées et du Trolox.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons qu'il y a une différence significative en activité antioxydante entre l'antioxydant de référence Trolox et nos échantillons, en effet, malgré l'augmentation de la concentration en HE qui varie entre 200 et 2000mg/l, l'activité antioxydante reste très faible contrairement à l'antioxydant de référence. Ainsi les valeurs maximales enregistrées sont de 13.51, 21.63 et 28.62 % pour le *M.communis* provenant de Tablat, Tizi ouzou et H.Melouène respectivement, et elles sont de 27.15 et 21.19 % pour *D.carota* et *M.rotundifolia* respectivement. Cependant, l'antioxydant de synthèse Trolox manifeste une forte activité même à de faibles concentrations. Pour une concentration de 5 mg/l, la valeur enregistrée est de 76.25 %.

### Cas des EM

Les résultats obtenus lors du test de mesure du pouvoir de piégeage du radical ABTS des EM espèces étudiées et le Trolox qui constitue l'équivalent synthétique de la vitamine E sont illustrés dans la figure 34.

## Partie Expérimentale



**Figure 34:** Activité de piégeage du radical ABTS par les extraits méthanoliques des plantes étudiées et du Trolox.

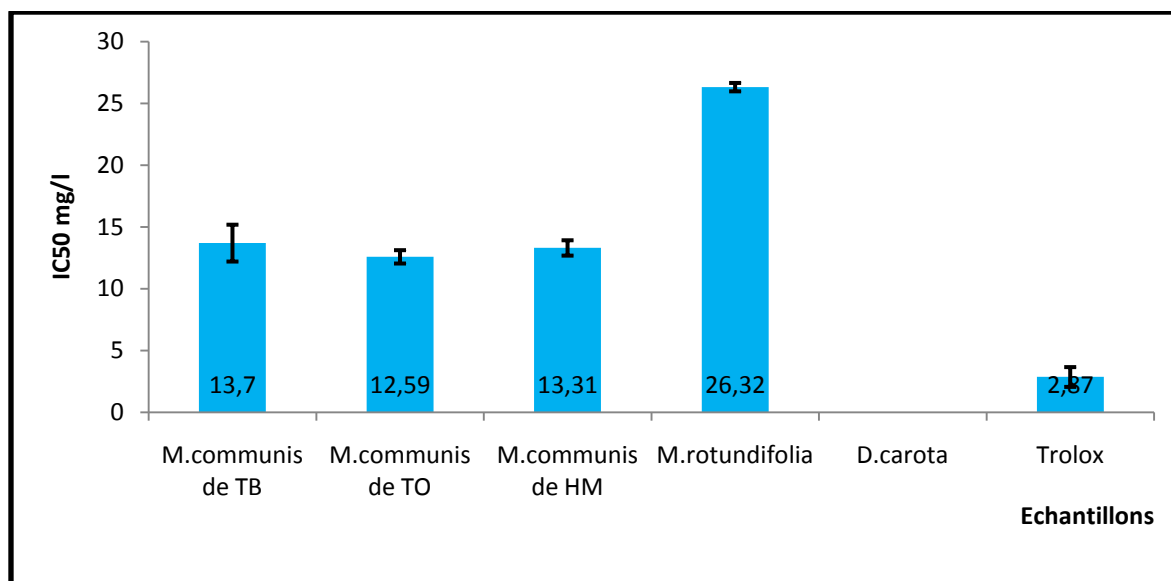
D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué une forte activité inhibitrice des extraits méthanoliques du *M.communis*. Pour une concentration de 20 mg/l, les valeurs enregistrées sont de 62.76, 61.95 et 81.03 % respectivement pour le myrte provenant de Tablat, Tiziouzou et H.Melouène. A la concentration de 50 mg/l, l'activité antioxydante des trois échantillons de myrtus atteint 100%.

De même pour l'activité inhibitrice d'extrait de la menthe qui est de 40.42 et 89.13 à des concentrations de 20 et 50 mg/l. Mais les valeurs restent toujours inférieures à celles obtenues pour l'antioxydant de référence : le Trolox. En effet, le Trolox a été testé pour des concentrations très faibles variant de 0.01 et 5 mg/l.

Cependant, la carotte sauvage manifeste la plus faible activité qui n'atteint pas 50% d'inhibition. Ces valeurs sont dues certainement à sa faible teneur en phénols, comme il déjà été signalé précédemment. Par conséquent, la  $IC_{50}$  de cette dernière n'a pas été déterminée.

Pour confirmer ces résultats, nous avons déterminé les  $IC_{50}$  des extraits du myrte et de la menthe qui sont illustrées dans la figure 35.

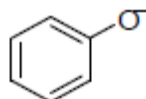
## Partie Expérimentale



**Figure 35:** Valeurs d'IC<sub>50</sub> (mg/l) des extraits méthanoliques des *M.communis* de *Mentha. rotundifolia* et du Trolox

Nous avons remarqué que les IC<sub>50</sub> obtenues reflètent l'activité inhibitrice trouvée par les différentes concentrations. Cette dernière est de 13.7, 12.59 et 13.51 mg/l pour les extraits de myrte de Tablat, de Tizi ousou et de H.Melouène respectivement contre 2.87 mg/l pour l'antioxydant de référence Trolox. On conclut que ces extraits disposent d'une activité antioxydante importante similaire mais qui reste inférieure à celle du Trolox.

D'une façon générale, une propriété importante des groupements hydroxyles des phénols est leur acidité due à la labilité des protons acides, qui entraîne la formation d'anions phénoxydes (Figure 36) stabilisés par résonance. Un tel anion, a la possibilité de perdre un électron pour former un radical (**Sartori-Thiel, 2003**) ; l'électron, lui, pouvant être récupéré par un radical libre. La structure aromatique du radical phénoxyde ainsi formé lui confère une certaine stabilité, donc une réactivité plus faible, en raison de la délocalisation du radical (**Leopoldini et al., 2011**). Il peut, ensuite, réagir avec un autre radical libre (**Korkina et al., 2012**).



**Figure 36:** Structure chimique de l'ion phénoxyde

## Partie Expérimentale

### 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées.

L'activité antibiotique de nos HEa été évaluée par une étude qualitative et quantitative dont les normes et les éléments de référence sont tirés de la bibliographie.

#### 5.1. Etude qualitative de l'activité antimicrobienne et levuricide des HE

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, la technique utilisée est celle de l'aromatogramme, identique à celle de l'antibiogramme pour les antibiotiques. C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et, en pratique, on utilise un milieu d'ensemencement solide du fait qu'il est le plus simple et plus facilement reproductible. Pour cela, après avoir ensemencé le milieu de culture avec la suspension microbienne, et en déposant un disque stérile imprégné d'huile essentielle, on incube les boîtes de Pétri dans les conditions prédéfinies. Après un temps de latence de 24h pour les bactéries et de 48h pour la levure, le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire, nommée aussi zone d'inhibition de la croissance microbienne, montre la destruction des germes et donne une indication précise sur l'activité antimicrobienne des huiles utilisées.

Les résultats des mesures sont regroupés dans le tableau 13.

**Tableau 13:** Diamètres des zones d'inhibitions des H.E. sur les germes pathogènes étudiés.

Souche microbienne	Gram (-)		Gram (+)		Levures	
	<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccaromyces seriveceae</i>
<b>Echantillon</b>						
<b><i>D.carota</i></b>	-	<10	16±1	17.16±1.04	19.83±0.76	15.23±1.36
<b><i>M.rotundifolia</i></b>	-	16.5±1.32	20.83±0.76	23.33±1.52	41.1±1.15	38.33±1.52
<b><i>M.communis de HM</i></b>	-	<10	18.06±1.36	16.33±1.51	13.03±1.83	24.86±1.79
<b><i>M.communis de TB</i></b>	-	14.16±0.76	17.86±1.8	16.13±0.8	12.26±0.64	24.16±0.28
<b><i>M.communis de T.O</i></b>	-	<10	20.16±0.76	21.13±1.20	17.2±0.72	18.23±1.66

\*HM : Hammame Melouane ; \*TB : Tablat ; TO : Tizi Ouzou.

Une classification des huiles essentielles en rapport avec leur spectre d'activité antimicrobienne peut être établie en fonction de l'importance du halo d'inhibition.

## Partie Expérimentale

---

Une échelle de mesure de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles fut émise par **Ela et al. 1996 et Meena et Sethi, 1994** en ordonnant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 04 classes :

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

Le choix des bactéries s'est porté sur quatre souches, appartenant à deux catégories différentes (Gram positif et Gram négatif). L'efficacité des produits testés ainsi que leur mode de pénétration dans la bactérie sont différents.

Comme le montre le tableau 12, les diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles étudiées variaient de 10 à 41.1 mm avec les plus hautes valeurs des zones d'inhibition observées contre le *C. albicans* (41.1 mm) et *S. seriveceae* (38.33 mm). *C. albicans* est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. Elle provoque des infections fongiques essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Toutefois, l'huile essentielle de *M. rotundifolia* a une forte activité levuricide contre *C. albicans* et *S. seriveceae* avec des diamètres de zones d'inhibition de 41.1 et 38.33 mm, respectivement.

Au contact des Gram négatifs, les huiles essentielles n'ont montré aucune inhibition vis-à-vis de la souche *P. aerogenosa* (résistante). Cependant, le comportement de la souche *E. coli* est différent en fonction de l'espèce testée. En effet, l'huile de la menthe et du myrte provenant de Tablat sont légèrement inhibitrices avec des diamètres de zones de 16.5 et 14.16 mm.

D'après les résultats obtenus, il n'y a pas une différence significative de l'activité inhibitrice de la croissance microbienne en sein du genre *Myrtus*.

De toutes les souches bactériennes utilisées, *S. aureus* est l'une des plus communes des bactéries gram-positives qui provoque des intoxications alimentaires. Sa source n'est pas la nourriture elle-même, mais les humains qui contaminent les aliments après qu'ils ont été traités (**Rauha et al., 2000**). Ces observations peuvent être attribuées à la nature des composants biologiquement actifs. En effet, divers composés chimiques ont une activité directe contre de nombreuses espèces de bactéries, telles que les terpènes et une variété d'hydrocarbures aliphatiques (alcools, aldéhydes et les cétones). Le caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et le caractère hydrophile de leurs groupes fonctionnels sont d'une importance principale à l'action antimicrobienne des composants d'huiles essentielles

## Partie Expérimentale

**5.2. Etude quantitative de l'activité antimicrobienne :** La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber la croissance du microorganisme, après 24/48 heures de contact avec les bactéries et levures respectivement (Tableau 14).

**Tableau 14:** Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) des HE des plantes étudiées

Echantillons	<i>D.carota</i>	<i>Mentha</i>	<i>M.communis</i> de HM	<i>M.communis</i> de TB	<i>M.communis</i> de TO
Souches	CMI (%)	<i>rotundifolia</i> CMI (%)	CMI (%)	CMI (%)	CMI (%)
<i>Escherichia coli</i>	> 2	0.5	>2	0.125	0.5
<i>Bacillus subtilis</i>	0.5	0.06	1	0.06	0.5
<i>Staphylococcus Aureus</i>	1	0.125	0.5	0.06	0.125
<i>Candida albicans</i>	0.25	0.06	>2	>2	0.5
<i>Saccaromyces seriveceae</i>	0.06	0.06	≤0.03	≤0.03	≤0.03

D'après les résultats obtenus on constate que les valeurs des CMI obtenues varient en fonction des souches testées et des échantillons utilisés.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles des plantes testées a été confirmée par le dosage de bouillon de microdilution. Comme, le montre le tableau les résultats les plus prometteurs étaient obtenus à partir de l'huile essentielle de la *M.rotundifolia* qui avait les valeurs de CMI les plus faibles contre toutes les souches testées ce qui confirme les résultats précédemment obtenus avec la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme).

Il convient de noter que les bactéries Gram+ (*B.subtilis* et *S.aureus*) se sont montrées plus sensibles que les Gram- (*E. coli*) ce qui confirme les résultats obtenus dans l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne. Parmi les levures testées, *Candida albicans* a révélé la plus grande résistance envers les différentes HE comparativement à *Saccharomyces cereviceae*.

Ces huiles essentielles, grâce à leur composition chimique riche en terpènes, alcools et aldéhydes ont été reconnues comme dotées de pouvoirs antiseptiques. Dans le domaine microbiologique, plusieurs travaux ont été effectués dans le but de montrer leur activité antimicrobienne (Boakye et al.,1977 ; Thomas, 1989 ; Garry et al., 1997 ; Amvam Zollo et al., 1998 ; Andriantseferana et al., 1998).

Les propriétés bactéricides se justifient par leur pH acide dans la mesure ou la pullulation microbienne est favorisée par l'alcalinité tandis que l'acidité s'y oppose ; ces propriétés se



justifient également par l'effet de l'hydrophobicité des composés terpéniques : cas du thymol et du carvacrol (**Morten et al., 2012**), car la structure phénolique du thymol lui confère des capacités de destruction membranaire par sa forte hydrophobicité et sa capacité à céder un proton qui va pouvoir s'insérer dans la bicouche lipidique de bactéries. Ce qui va engendrer un phénomène de fluidification et entraîner une augmentation de la perméabilité membranaire. C'est la conclusion à laquelle arrivent, **Dubey et al. (2000)** ; **Nakamura et al. (1999)** ; **Nguefack et al. (2004)** ; **Onawunmi et al. (1984)**.

En outre, les propriétés antimicrobiennes des HES diffèrent en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les bactéries de l'action des HES (**Tassou et al., 1995**). Ainsi les HES diluées dans la phase lipidique des aliments seront moins efficaces sur les bactéries de la phase aqueuse (**Mejlholm et Dalgaard, 2002**). Les aliments à faible teneur en eau empêchent également l'accès des HES aux sites cible sur la membrane des cellules bactériennes. Par ailleurs, une réaction chimique entre les protéines et les groupes fonctionnels des HES réduit la disponibilité des molécules actives : ceci a été observé pour le carvacrole, conduisant à une protection relative de *B. cereus* contre les HES dans le lait (**Pol et al., 2001**). De plus, certains solvants ou détergents peuvent influencer l'activité antimicrobienne des HES. C'était le cas pour le Tween-80, solvant qui neutralise les groupes fonctionnels phénoliques et réduit leur activité antimicrobienne (**Cremieux et al., 1981**).

### 6. Evaluation de l'activité insecticide des extraits étudiés

La mise en évidence du potentiel insecticide des extraits végétaux est un moyen non seulement de comprendre l'utilisation traditionnelle des plantes pour la protection des denrées mais aussi d'offrir des possibilités nouvelles par la mise en œuvre d'extraits de plantes.

L'activité insecticide des huiles essentielles sur les arthropodes des stocks de denrées alimentaires a été largement démontrée (**Keïta et al., 2000** ; **Kouninki et al., 2007**). **Regnault-Roger et Hamraoui (1995)** ont rapporté que l'huile essentielle d'*O. basilicum* présente une toxicité létale pour le coléoptère *Acanthoscelides obtectus* (Say), la bruche du haricot. L'activité insecticide des huiles essentielles d'*O. canum* et d'*O. basilicum* sur *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) a été démontrée par **Keïta et al. (2000)**.

L'activité insecticide des extraits des trois plantes aromatiques (*M. communis* L., *D. carota* L. subsp. *Carota* et *M. rotundifolia* L.) a été étudiée sur la mortalité des adultes de *S. oryzae* et *T. confusum* Duv. en conditions de traitement. Leur efficacité a été déterminée par effet dose et

## Partie Expérimentale

temps d'exposition sur 20 individus en comparant leurs DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> tirées de la courbe de régression des Probits en fonction des log doses décrite par **Finney en 1971**.

### 6.1. Evaluation de l'effet insecticide des extraits méthanoliques par effet contact sur *S. oryzae* et *T.confusum*

Dans le bassin méditerranéen, on rencontre un très grand nombre de plante aromatique. Son climat riche en luminosité et en chaleur, qu'accompagnent des saisons marquées, exige de la part des plantes des efforts adaptatifs favorable à une richesse moléculaire évolutive leur conférant de multiples propriétés, entre autre l'effet insecticide

#### ✚ Cas de *S. oryzae*

Nous représentons dans le tableau 15 suivant le taux de mortalité corrigée enregistré par effet contact sur *S.oryzae* en fonction du temps d'exposition et les différentes doses testées (0.07, 0.15, 0.31 et 0.62 mg /cm<sup>2</sup>).

**Tableau 15 :** Efficacité des extraits méthanoliques par effet contact vis à vis du *S. oryzae*.

Echantillons			M.communis TO	M.communis TB	M.communis HM	D.carota	M. rotundifolia
Dose (mg/ml)	Dose (mg/cm <sup>2</sup> )	Temps (heures)	MC %	MC %	MC %	MC %	MC %
<b>5</b>	<b>0.07</b>	<b>24</b>	0	0	0	0	0
		<b>48</b>	8.7	5.2	5	5.7	2.1
		<b>72</b>	9.7	6.7	6	8.5	2.2
		<b>96</b>	11.4	7.3	7.5	9.7	2.5
		<b>120</b>	15.6	8.1	24.1	10.4	4.33
		<b>144</b>	18.6	12.1	27.1	12.1	10.4
<b>10</b>	<b>0.15</b>	<b>24</b>	0	0	0	0	0
		<b>48</b>	3.5	6.2	6.2	6.2	2.5
		<b>72</b>	3.7	12.2	12.2	14.7	2.7
		<b>96</b>	5	20.2	20.2	16.1	5.5
		<b>120</b>	25.8	41.1	41.1	19.6	7.6
		<b>144</b>	26.8	47.1	43.1	21.1	23.2
<b>20</b>	<b>0.31</b>	<b>24</b>	0	0	0	0	0
		<b>48</b>	8.7	12.5	12.5	12.5	2.5
		<b>72</b>	13.5	12.9	12.9	14.7	6.1
		<b>96</b>	18.9	18.9	18.9	32.9	8.8
		<b>120</b>	41.1	56.5	56.8	37.4	18.3
		<b>144</b>	42.7	63.5	65.5	42.4	32.2
<b>40</b>	<b>0.62</b>	<b>24</b>	1.2	25	25	1.25	0
		<b>48</b>	8.7	27.2	27.5	12.5	1.25
		<b>72</b>	13.5	29.8	29.8	19.7	4.7
		<b>96</b>	25.3	53.1	53.1	41.7	18.8
		<b>120</b>	75.7	87.2	87.1	43.5	28.5
		<b>144</b>	81.7	89.2	91.1	48.7	43.7
		<b>168</b>	97.3	100	100	87.8	73

## Partie Expérimentale

**Tableau 16 :** Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le *S.oryzae* en fonction du temps.

Temps (h)	24	48	72	96	120	144	168
Me (%)	0	0.25	0.5	2.45	2.45	6	6

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que le taux de mortalité augmente avec l'augmentation de la dose de l'extrait. En effet, l'extrait méthanolique du myrte provenant de différentes régions a une activité insecticide sur *S.oryzae* après cinq jours d'exposition où le taux de mortalité atteint 41.1, 56.6 et 56.8% pour l'extrait du myrte provenant de Tizi Ouzou, Tablat et H.Melouane respectivement avec la dose de 0.31mg/cm<sup>2</sup>(20mg/ml). Cependant, la dose 0.62 mg/cm<sup>2</sup> est à l'origine de 100% de mortalité pour l'extrait du myrte provenant de Tablat et H.Melouane et de 97.3% pour l'extrait du myrte recueilli à Tizi ouzou. Par contre, l'extrait de la carotte sauvage a provoqué 54.6% de mortalité après sept jours d'exposition à la dose de 0.31mg/cm<sup>2</sup> et un taux de mortalité de 87.8% seulement avec la dose de 0.62mg/cm<sup>2</sup>. De même, l'extrait de la menthe présente les pourcentages les plus faibles avec un taux de mortalité de 52.5% au bout de sept jours d'exposition on utilisant la dose de 0.31mg/cm<sup>2</sup> et un maximum de mortalité qui ne dépasse pas 73%.

✚ **Cas de *T.confusum*** : nous représentons dans le tableau suivant le taux de mortalité corrigée enregistré par effet contact sur *T.confusum* en fonction du temps d'exposition et les différentes doses.

**Tableau 17 :** Efficacité des extraits méthanoliques par effet contact vis à vis du *T.confusum*

Echantillons			M.communis TO	M.communis TB	M.communis HM	D.carota	M. rotundifolia
Dose (mg/ml)	Dose (mg/cm <sup>2</sup> )	Temps (heures)	MC %	MC %	MC %	MC %	MC %
5	0.07	24	0	0	0	0	0
		48	8.7	8.1	10	8.7	0
		72	9.1	9.7	11	9.7	0
		96	11.3	11.3	12.7	10.1	0
		120	15.6	13.4	19.9	13.2	1.7
		144	17.6	14.8	20.9	20.7	10
10	0.15	168	20.8	16.2	22.8	22.1	15
		24	0	0	0	0	0
		48	3.7	6.2	5.3	6.2	2.5
		72	4.7	12.2	9.7	13.7	2.9
		96	5	13.9	12.6	25.3	3.7
		120	25.8	22.3	16.8	28.5	5.1
20	0.31	144	27.8	24.6	18.7	36	23.4
		168	43.1	41.9	45.9	43.2	32.1
		24	0	0	0	0	0
		48	2.5	12.5	12.5	11.5	2.5
		72	6.3	16.4	12.9	14.2	6.4
		96	12.8	18.9	31.6	32.9	8.1
		120	43.7	37.3	41.1	38.7	18.3

## Partie Expérimentale

		144	48.7	39.1	43.1	56.5	32.2
		168	67.1	59.1	63.2	61.6	53
40	0.62	24	0	12.5	12.5	1.2	0
		48	1.25	13.7	21.2	12.5	1.25
		72	6.5	19.7	31.1	19.7	4.6
		96	22.7	40.5	51.6	41.7	18.3
		120	57.8	51.4	55.2	48.6	28.4
		144	60.8	54.6	57.6	71.8	43.5
		168	93.4	92.5	96.2	74.9	73.1

**Tableau 18:** Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le *T.confusum* en fonction du temps.

Temps (h)	24	48	72	96	120	144	168
Me (%)	0	0	0.25	1.25	2	2.25	2.25

D'après les résultats enregistrés, nous remarquons que les extraits végétaux testés aux doses de 0.07 et 0.15 mg/cm<sup>2</sup> ne sont pas efficaces et le taux de mortalité n'atteint pas 50% qu'après 6 jours d'exposition à la dose de 0.31 mg/cm<sup>2</sup>. Par ailleurs c'est la dose de 0.62 mg/cm<sup>2</sup> qui est l'origine de 71.8 % de la mortalité des adultes du *T.confusum* après 5 jours d'exposition aux extraits du myrte et de la carotte sauvage. Par contre l'extrait de la menthe manifeste les plus faibles taux de mortalité en effet, c'est au bout de 7 jours que la mortalité dépasse 53% avec la dose de 0.31 mg/cm<sup>2</sup>.

**Tableau 19:** Evaluation de la DL<sub>50</sub> et de la DL<sub>90</sub> des extraits méthanoliques par effet contact sur *T.confusum* et *S.oryzae*

Espèces	Echantillons	T.E	DL <sub>50</sub> (mg/cm <sup>2</sup> )	DL <sub>90</sub> (mg/cm <sup>2</sup> )
<b><i>S. oryzae</i></b>	Myrte de T. Ouzou	5	0.42	2.67
	Myrte de H.Melouane	5	0.33	2.98
	Myrte de Tablat	5	0.42	2.58
	Carotte sauvage	7	0.24	0.79
	Menthe	7	0.28	1.46
<b><i>T. confusum</i></b>	Myrte de T. Ouzou	5	0.44	2.75
	Myrte de H.Melouane	5	0.5	2.08
	Myrte de Tablat	5	0.58	5.61
	Carotte sauvage	6	0.26	1.64
	Menthe	7	0.28	1.44

\*T.E. : temps d'exposition

## Partie Expérimentale

D'une façon générale, la comparaison des résultats obtenus révèlent que le *T.confusum* est plus résistant aux effets toxiques des extraits méthanolique que *S.oryzae* ; ainsi l'efficacité d'un toxique se mesure par sa DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub> qui représentent les quantités de substance toxique entraînant la mort de 50% et 90% d'individus d'un même lot respectivement. Les résultats obtenus durant ces tests biologiques sont présentés dans le tableau 18.

D'après **Philogène et al., (2008)** de nombreux composés polyphénoliques, acides phénols et flavoïdes, parmi lesquels l'acide rosmarinique et la lutéoline 7-glucoside (composés les plus abondants) et d'autres molécules polyphénoliques ubiquitaires dans la nature, provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte. Celle-ci peut être rapide : dès le premier jour ou plus tardive, le quatrième jour.

### 6.2. Evaluation de l'effet insecticide des HE par effet contact sur *S. oryzae* et *T. confusum*

✚ **Cas de *S. oryzae*** : nous représentons dans le tableau suivant le taux de mortalité corrigée enregistré par effet contact des HE sur *S.oryzae* en fonction du temps d'exposition et les différentes doses testées.

**Tableau 20** :Efficacité des HE du myrte et de la carotte sauvage par effet contact vis à vis du *S. oryzae*.

Echantillons			M.communis TO	M.communis TB	M.communis HM	D.carota
Dose ( $\mu$ l/ml)	Dose ( $\mu$ l/cm <sup>2</sup> )	Temps (heures)	MC %	MC %	MC %	MC %
4	0.06	24	0	2.3	1.2	5
		48	2.2	11.2	10.2	9.7
		72	41.2	32.1	42.4	29.4
		96	51.2	35.3	61.4	43.7
		120	62.3	42.1	77.1	74.1
		144	90	51.3	100	100
8	0.12	24	0	2.5	0	1.2
		48	3.5	3.6	4.7	6.3
		72	52.4	50.7	52.6	21.9
		96	57.6	56.1	62.6	51.4
		120	84.2	71.7	89.1	94.5
		144	95	80.9	100	100
16	0.25	24	0	3.6	1.2	1.2
		48	2.2	13.2	8.5	7.2
		72	66.4	56.1	65.4	30.7
		96	71.7	61.5	71.4	79.5
		120	88.2	71.1	93	82.3
		144	100	85.2	100	100
32	0.5	24	1.2	1.2	0	0
		48	2.6	22.2	4.6	17.2
		72	78.1	77.3	76.9	33.2
		96	81.1	79.4	87.9	88.5
		120	93	81.3	96.2	100
		144	100	91.84	100	100

## Partie Expérimentale

**Tableau 21 :** efficacité d'HE de la menthe à feuilles rondes par effet contact vis à vis du *S. oryzae*

<b>M. rotundifolia</b>			
<b>Dose (µl/ml)</b>	<b>Dose (µl/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Temps (heures)</b>	<b>MC (%)</b>
<b>0.5</b>	<b>0.007</b>	<b>24</b>	5
<b>1</b>	<b>0.015</b>	<b>24</b>	27.5
<b>2</b>	<b>0.03</b>	<b>24</b>	62.5
<b>4</b>	<b>0.06</b>	<b>24</b>	100

**Tableau 22:** Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le *S.oryzae* en fonction du temps.

<b>Temps (h)</b>	24	48	72	96	120	144	168
<b>Me (%)</b>	0	0	0.25	0.75	2.5	2.5	3.25

Lorsqu'on expose les adultes du *S.oryzae* à des concentrations croissantes d'huile essentielle du myrte on enregistre une mortalité rapide et progressive. En effet, à une dose de 0.06µl/cm<sup>2</sup> l'HE du myrte provenant de Tizi ouzou et H.melouane sont efficaces on provoquant des taux de mortalité qui dépassent 50% (51.2 et 61.4% respectivement) ; et au bout de 3 jours avec la dose de 0.12µl/cm<sup>2</sup> toutes les HE extraites du myrte de différentes régions sont efficaces et manifestent un taux de mortalité supérieur à 50%. Ce taux de mortalité augmente en fonction de l'augmentation de la dose jusqu'il atteint 100% et 90% avec la dose de 0.06µl/cm<sup>2</sup> après un temps d'exposition de 6 jours pour l'HE extraite du myrte provenant de H.Melouane et Tizi Ouzou respectivement. Cependant, la progression de la toxicité d'HE extraite du myrte provenant de Tablat est relativement lente, par ailleurs c'est avec la plus forte dose (0.5 µl/cm<sup>2</sup>) qu'on a enregistré 91.8% après 6 jours d'exposition.

L'effet toxique induit par l'HE du *D.carota ssp carota* est généralement proportionnel à la dose utilisée ; on a remarqué qu'au bout de 7 jours toutes les doses testées sont à l'origine de 100% de mortalité des adultes du charançon du riz (*S.oryzae*). On outre, avec la dose de 0,06µl/cm<sup>2</sup> cette HE a provoqué 61.4% de mortalité après 4 jours d'exposition.

Par contre, le test d'efficacité de l'huile essentielle de la Menthe a dévoilé une toxicité de cette dernière sur les adultes de *S.oryzae*, en effet à une dose de 0.06µl/cm<sup>2</sup> le taux de mortalité est atteint 100%, et il dépasse 50% à la moitié de cette dernière (0.03 µl/cm<sup>2</sup>) et même les doses les plus faibles (0.007 et 0.015 µl/cm<sup>2</sup>) ont provoqué 5 et 27.5 % de mortalité respectivement au bout d'un temps très réduit qui est de 24 h seulement.

✚ **Cas de *T.confusum*** : nous représentons dans le tableau suivant le taux de mortalité corrigée enregistré par effet contact des HE sur *T.confusum* en fonction du temps d'exposition et les différentes doses testées.

**Tableau 23:** Efficacité des HE par effet contact vis à vis du *T.confusum*.

## Partie Expérimentale

Echantillons			M.communis	M.communis	M.communis	D.carota
Dose ( $\mu\text{l/ml}$ )	Dose ( $\mu\text{l/cm}^2$ )	Temps (heures)	TO	TB	HM	
			MC %	MC %	MC %	MC %
4	0.06	24	7.9	0	1.2	1.2
		48	13	6.2	3.5	2.5
		72	29.1	6.2	4.2	5
		96	45.8	23.7	8.3	5.8
		120	48.6	27.3	11.2	12.5
		144	48.6	31.4	14.6	46.4
8	0.12	24	10.4	27.5	13.7	0
		48	14.9	28.7	26	2.5
		72	32.9	30	38.2	2.8
		96	56.1	57.5	41.3	3.7
		120	57.8	60.1	45.3	13.7
		144	59.2	64.3	46.8	55.6
16	0.25	24	13	36.2	36.2	0
		48	22.6	35	42.3	7.5
		72	45.8	55	60.9	8.7
		96	63.9	61.2	71.2	11.2
		120	65.7	63.4	72.1	16.2
		144	76.3	68.1	75.3	68.3
32	0.5	24	14.3	47.5	47.5	0
		48	21.3	48.7	49.8	7.5
		72	76.8	88.7	97.4	12.5
		96	79.3	100	100	13.7
		120	80.2			27.5
		144	97.3			75.9
		168	97.8			79.7

**Tableau 24:** Efficacité d'HE de la menthe à feuilles rondes par effet contact vis à vis du *S. oryzae*

<b>M.rotundifolia</b>			
Dose ( $\mu\text{l/ml}$ )	Dose ( $\mu\text{l/cm}^2$ )	Temps (heures)	MC (%)
0.5	0.007	24	5
1	0.015	24	10
2	0.03	24	52
4	0.06	24	100

**Tableau 25 :** Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le *T.confusum* fonction du temps

Temps (h)	24	48	72	96	120	144	168
Me (%)	0	0	0.25	0.25	2	2.25	2.25

## Partie Expérimentale

Quand on a exposé les adultes du *T.confusum* aux différentes doses de différents échantillons, nous avons remarqué que ces derniers se comportent différemment vis-à-vis de la toxicité des HE des plantes testées. En effet, au sein du genre myrtus et à des doses qui ne dépassent pas  $0.12 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ , nous avons remarqué que toutes les HE ne sont pas efficaces puisque le taux de mortalité est inférieur à 50%, mais avec l'augmentation des doses le taux de mortalité augmente également pour atteindre 45.8, 55 et 60.9% au bout de 72h pour l'HE provenant de Tizi ousou, Tablat et H.Melouane respectivement.

La dose  $0.5 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  est à l'origine de 100% de mortalité pour l'HE de Tablat et H.Melouane et cela au bout de 4 jours d'exposition et elle cause 97.3% de mortalité pour le myrte provenant de Tizi ousou après une exposition de 6 jours.

De même, nous avons remarqué que l'HE de la carotte sauvage à des faibles doses n'est pas efficace contre les adultes du *T.confusum* mais il devient de plus en plus toxique avec l'augmentation de la dose pour atteindre un maximum de mortalité qui est de 79.7% au bout de 7 jours d'exposition.

Cependant, l'HE de la menthe est toxique contre le *T. confusum*. Il convient à noter que l'activité insecticide de cette huile essentielle ne nécessite pas beaucoup de temps pour se manifester, la mortalité maximale (100%) étant enregistrée le premier jour post traitement avec une dose de  $0.06 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ .

**Tableau 26:** Evaluation de la  $LD_{50}$  et  $LD_{90}$  des HE de l'effet contact sur *T. confusum* et *S.oryzae*

Espèces	Echantillons	Temps (jours)	$LD_{50}$ ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ )	$LD_{90}$ ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ )
<b><i>S. oryzae</i></b>	Myrte de T. Ouzou	3	0.1	1.48
	Myrte de H.Melouane	3	0.1	1.38
	Myrte de Tablat	3	0.13	1.4
	Carotte sauvage	4	0.1	0.61
	Menthe	1	0.02	0.04
<b><i>T. confusum</i></b>	Myrte de T. Ouzou	3	0.24	0.99
	Myrte de H.Melouane	3	0.18	0.38
	Myrte de Tablat	3	0.2	0.54
	Carotte sauvage	6	0.09	0.7
	Menthe	1	0.02	0.04

La comparaison des HE en fonction des taux de mortalité induits et de leur  $DL_{50}$ , montre que ces dernières exercent une toxicité sur le genre *Sitophilus* et le *Tribolium*, les  $DL_{50}$  qui concernent les deux genres (*Sitophilus* et *Tribolium*) sont proches et sont dans la même gamme :  $0.1 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ ,  $0.1 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  et  $0.13 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  pour l'HE de Tizi ousou, Hammame Mélouane



## Partie Expérimentale

et Tablat respectivement contre le *Sitophilus* et sont de 0.24  $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ , 0.18  $\mu\text{l}/\text{cm}^2$  et 0.2  $\mu\text{l}/\text{cm}^2$  pour l'HE extraite de myrte de Tizi ouzou, Tablat et H.Mélouane contre le *Tribolium*.

De même pour l'HE de la carotte sauvage qui présente une  $DL_{50}$  dans la même gamme (0.1 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ ) que le myrte. Par contre la menthe étudiée présente les résultats les plus prometteurs en termes de toxicité, elle a enregistré les  $DL_{50}$  les plus faibles.

Dans nos conditions expérimentales et d'après ces résultats nous pouvons conclure que les HEse sont avérées plus efficaces, quelle que soit la plante utilisée et l'espèce d'insecte choisi par rapport aux les extraits méthanoliques.

### 6.3. Evaluation de l'effet insecticide des HEpar effet inhalation sur *S. oryzae* et *T.confusum*

L'exposition inhalatrice des adultes de *S.oryzae* et de *T.confusum* à la dose  $D=2\mu\text{l}$  (0,028 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ ) d'huile essentielle de différentes plantes entraine une réduction de leur effectif vivant. Lors de leur introduction dans les pots saturés en odeur d'H.E., on a observé que les insectes sont affairés et manifestent un comportement agité quelque soit la dose utilisée.

#### Cas de *S.oryzae*

Nous représentons dans le tableau suivant le taux de mortalité corrigée enregistré par effet inhalation sur *S.oryzae* en fonction du temps d'exposition.

**Tableau 27 :** Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation sur *S.oryzae*

Echantillons	M.communis	M.communis	M.communis	D.carota	M.rotundifolia
Temps (h)	(TB) MC%	(TO) MC%	(HM) MC%	MC%	MC%
6					3.7
12	0	0			21.2
18	11.4	13.8			52.4
24	32.5	38.7			75
48	36.2	41.2	0	0	100
72	41.2	46.2	1.2	6.6	
96	50	55	9.1	32.2	
120	58.7	60	15.7	50.1	
144	79.7	87.3	80.9	83.6	
168	86.3	89.8	94.3	96.2	

**Tableau 28:** Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le *S.oryzae* en fonction du temps

Temps (h)	24	48	72	96	120	144	168
Me (%)	0	0	0	0	3.66	3.66	5

## Partie Expérimentale

Les résultats que nous avons obtenus montrent que les effets toxiques des HE extraites du myrte provenant de Tablat et Tizi Ouzou sont approximatifs et dans la même gamme, en effet le taux de mortalité augmente avec l'augmentation de la durée d'exposition. Les taux les plus élevés sont enregistrés au bout de 7 jours qui sont de 86.3% et 89.8% pour ces deux échantillons respectivement. Cependant, avant 48h aucune mortalité n'est enregistrée on exposant les adultes de *S.oryzae* à l'HE de myrte provenant de H.Melouane, de telle façon que la mortalité est remarquablement faible et commence à peine au bout de 124 heures avec un pourcentage de 15.7%, l'intolérance des adultes du *S.oryzae* pour cette HE se manifeste par l'augmentation de ce taux qui atteint un maximum de 94.3% au bout de 7 jours. De même, nous avons remarqué que *S.oryzae* manifeste les signes de tolérance au bout de 72 heures face aux vapeurs d'HE qui saturent le milieu ambiant des pots, mais il devient de plus en plus sensible au delà de 96 heures d'exposition, le taux de mortalité enregistré est de 96.2% durant 7 jours de traitement.

Cependant, l'efficacité de l'HE extraite de la menthe est remarquable en effet, les insectes subissant le traitement par une dose de  $2 \mu\text{l}/\text{cm}^3$  ont montré une petite résistance qui n'a pas duré plus d'une journée puisqu'on a pu atteindre la mortalité totale au bout du deuxième jour.

### ✚ Cas de *T.confusum*

Nous représentons dans le tableau suivant le taux de mortalité corrigée enregistré par effet inhalation sur *T.confusum* en fonction du temps d'exposition.

**Tableau 29** : Efficacité par inhalation des HE des plantes étudiées sur *T.confusum*.

Echantillons	M.communis TO (MC%)	M.communis TB (MC%)	M.communis HM (MC%)	D.carota (MC%)	M.rotundifolia (MC%)
<b>Temps (heures)</b>					
<b>6</b>					0
<b>12</b>			0		8.7
<b>18</b>	0	0	2.5		28.7
<b>24</b>	0	1.2	8.7	0	48.5
<b>48</b>	1.2	2.5	18.7	2.5	94.7
<b>72</b>	3.7	15	28.7	15	100
<b>96</b>	9.1	23.4	36.2	23.7	
<b>120</b>	13.1	43.4	47.5	45	
<b>144</b>	40	72.4	51.8	58.2	
<b>168</b>	74.4	87.2	55.6	72.1	

**Tableau 30** : Evolution de la mortalité du témoin Me (%) chez le *T.confusum* en fonction du temps

## Partie Expérimentale

<b>Temps (h)</b>	24	48	72	96	120	144	168
<b>Me (%)</b>	0	0	0	0	3.66	3.66	5

La réponse du *T. confusum* à l'HE du *M. communis* était relativement lente, de telle façon que la mortalité est remarquablement faible et commence à peine au bout de 24 et 48 heures de traitement avec un pourcentage de 1.2% pour l'HE extraite du myrte de Tizi Ouzou et de Tablat respectivement et c'est après 168 heures du traitement qu'on a noté 74.4 et 87.2 % de mortalité. Par contre, l'exposition des insectes aux effets d'inhalation de l'HE extraite du myrte provenant de H.Melouane provoque une mortalité qui débute avant 24 heures de traitement mais elle reste lente et n'atteint que 55.6% après 168 heures d'exposition. De même, l'activité insecticide de l'HE extraite de la carotte sauvage ne diffère pas trop de celle constatée avec l'HE extraite du myrte provenant de H.Melouane mais au bout de 168 heures, le taux de mortalité enregistré est plus important (72.1%).

Par contre l'HE de *M. rotundifolias* est révélée toxique pour les deux espèces de Coléoptères. En effet, l'ensemble des effectifs du *T.confusum* subissant le traitement par une dose de 2 µl ont montré une petite résistance qui n'a pas duré plus d'une journée puisqu'on a pu atteindre un taux de mortalité de 94.7% après 2 jours de traitement et une mortalité totale au bout du troisième jour.

**Tableau 31 :** Evaluation du TL<sub>50</sub> de l'effet d'inhalation des HE des plantes étudiées.

Espèce végétale	<i>M.communis</i> de	<i>M.communis</i> de	<i>M.communis</i> de	<i>D.carota</i>	<i>M.rotundifolia</i>
Espèce animale	T.O	H.M	TB		
<i>S.oryzae</i>	81	124	96	120	17
<i>T. confusum</i>	148	142	124	122	23

L'exposition inhalatrice des adultes de *S.oryzae* à la dose D=2µl (0,028µl/cm<sup>3</sup>) d'HE de différentes plantes entraîne une réduction de leur effectif vivant. En effet, les valeurs de TL<sub>50</sub> évaluées de la droite de régression sont de 81h, 124h et 96 h pour les HE extraites de Myrte de Tizi ouzou, H. mélouane et Tablat respectivement. Presque le même effet toxique a été observé au cours de l'exposition des adultes de *S.oryzae* à la vapeur de l'HE du *D.carota ssp carota* avec un TL<sub>50</sub> de 120h. Cependant, il est intéressant de mentionner la forte toxicité du *M.rotundifolia* vis-à-vis des adultes de *S.oryzae* avec un TL<sub>50</sub> le plus court (17h)

C'est de la même façon que l'effet toxique de ces plantes testées sur les adultes du *S.oryzae* est reproduit contre ceux du *T.confusum* avec des TL<sub>50</sub> plus au moins longs, en effet les TL<sub>50</sub>

## Partie Expérimentale

---

évaluées de la droite de régression pour différentes HE sont de 148h, 142h et 124 h pour l'HE extraite du myrte provenant de Tizi ousou, H.Mélouane et Tablat respectivement et sont de 122h et 23h pour *D. carota ssp carota* et *M. rotundifolia*.

L'efficacité des huiles essentielles est généralement liée à la nature de leurs composants majoritaires. L'activité insecticide des espèces végétales varie en fonction des écotypes utilisés. Cette observation est confirmée par les travaux réalisés en Côte d'Ivoire par **Séri-Kouassi (2004)** qui pense que le degré d'intoxication des insectes est fonction de la composition des huiles testées, une composition qui dépend elle-même de la zone de récolte des plantes et de l'organe du végétal utilisé.

En effet, les vapeurs d'HE agiraient sur le système nerveux des insectes entraînant le déclenchement rapide d'un mécanisme de feed back négatif. Selon **Saxena et Rohdendorf (1974)** et **Schmidt et al. (1991)**. La perturbation physiologique induite par les huiles essentielles chez les insectes a été aussi évoquée par **Séri-Kouassi (2004)**, **Ketoh (1998)** et **El-Nahal et al. (1994)**.

L'activité insecticide des substances naturelles d'origine végétale est la faculté d'action conjuguée à ces dernières de provoquer des effets endommageant sur les populations d'insectes nuisibles afin de limiter leur pullulation ou leur nocivité. Ces substances sont à la fois des matières actives qui agissent par leur propriétés chimiques et dans certains cas des complexes synergistes pour d'autres molécules chimiques (**Regnault-Roger et al., 2008**).

**French (1985)** souligne que ce sont les propriétés comme la volatilité, la nature éphémère et la biodégradation qui constituent les avantages d'une utilisation des HE comme pesticides.

---

# *Conclusion générale*



*«Toute aventure humaine, quelque singulière qu'elle paraisse, engage  
l'humanité entière. »  
- Jean-Paul Sartre –*

## Conclusion Générale

---

### Conclusion générale

La connaissance empirique des plantes remonte à l'aube de l'humanité. L'époque actuelle voit le retour en force de la recherche du naturel.

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 extraits de trois échantillons du *Myrtus communis* et deux autres espèces qui sont *Mentha rotundifolia* et *Daucus carota* subsp. *Carota*.

Nous avons remarqué que le rendement d'extraction en HE du genre *Myrtus* est faible quelque soit la région de récolte : 0.33, 0.35 et 0.41% pour le myrte provenant de Tizi Ouzou, H.Melouane et Tablat, respectivement. Par contre la carotte sauvage et la menthe à feuilles rondes sont plus riches en huile essentielle avec des rendements de 1et 0.7 %, respectivement. Cependant, le rendement en extrait méthanolique au sein du genre *Myrtus* est légèrement différent en fonction de la région de récolte et il présente des valeurs du rendement plus grandes que celui de la menthe (11.23%) et de la carotte sauvage (7.12%).

Les teneurs en phénols totaux des trois échantillons du *M.communis* qui sont en fonction de la région du prélèvement sont proches et dans la même gamme. Cependant cette teneur est moyenne on la comparant aux travaux effectués dans le même axe de recherche. De même pour la menthe à feuilles rondes qui enregistre une teneur dans la même gamme que le myrtus contrairement à la carotte sauvage qui enregistre des valeurs les plus faibles. 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.

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.

L'étude de la variabilité chimique des HE par GC et GC/MS de trois échantillons du myrte commun récolté de trois régions différentes du nord algérien n'a révélé aucune différence significative (qualitativement et semi-quantitativement), en effet c'est une espèce qui est riche en monoterpènes avec les teneurs de : 62.9 ; 56.4 et 62.3% pour le myrte provenant de Tizi- Ouzou, Tablat et H.Melouane, respectivement, suivie par les teneurs en monoterpènes oxygénés et sesquiterpènes. Cependant, la teneur en sesquiterpènes oxygénés est la moins représentée. D'une façon générale, toutes les huiles sont caractérisées par la prédominance de

## Conclusion Générale

---

deux composés à savoir l' $\alpha$ -pinène et le limonène pour la classe des monoterpènes et 1,8-cineole, linalool, géranyl acetate et méthyleugenol pour la classe des monoterpènes oxygénés. L'analyse chimique d'huile essentielle du *D.carota* L subsp.*carota* est principalement constituée de sesquiterpènes (25.8%) et de sesquiterpènes oxygénés (57.8%) dont les principaux composés sont le carotol, la trans-asarone et le  $\beta$ -bisabolène .

Cependant, l'analyse chimique d'huile essentielle du *M. rotundifolia* L a révélé une nette dominance des composés cétoniques (75.4%). C'est une huile qui est très riche en cis-piperitoneoxide et en piperitenone oxide avec des teneurs de 46.8%,28.4 %,respectivement, Pour cette HE 9.7% de sa composition chimique est non identifié ce qui signifie l'insuffisance des techniques que nous avons utilisées (CPG et CPG/SM) par conséquent une analyse complémentaire comme l'RMN est nécessaire.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante effectuée par trois tests différents : inhibition du radical DPPH, du l'ABTS et du pouvoir réducteur montre que les extraits méthanoliques présentent un effet antiradicalaire important quelque soit le test utilisé et la plante testée, contrairement à celui des HE qui reste faible malgré l'augmentation de la concentration (2000 mg/l).

Concernant les résultats apportés par l'analyse antimicrobienne, les HE ont manifestées un potentiel biocide variable d'un germe à un autre. Ainsi, les HE ont montré une action inhibitrice envers la majorité des souches microbiennes testées, en effet, on a enregistré un diamètre des zones d'inhibition qui s'étale entre 12 et 41 mm contre *C. albicans* et entre 16 et 21 mm contre *S. aureus* qui sont considérées comme des souches bactériennes très dangereuses et très difficiles à éliminer.

Cependant, la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui occupe une place privilégiée dans les activités industrielles est sensible aux effets toxiques des HE testées avec un diamètre des zones d'inhibition qui s'étale entre 15 et 38 mm. Par conséquent, il faut prendre les précautions nécessaires avant toute utilisation des produits de désinfection à base de ces HE.

Il convient à noter que l'HE de la menthe à feuilles rondes a la plus forte activité antimicrobienne parmi toutes les huiles testées, ceci peut s'expliquer par sa richesse en acétone (75.4%).

Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HES ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation d'activité antimicrobienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des microorganismes ciblés et leur éventuelle adaptation aux HE.

## Conclusion Générale

---

Etant donné la complexité de la composition chimique des HE, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

\* attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

\* acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

\* destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie

Les HES en tant qu'insecticides révèlent des résultats satisfaisants par rapport aux extraits méthanoliques qui sont moins toxiques soit contre *S.oryzae* ou/et *T.confusum*.

L'HE de la *M.rotundifolia* s'est avérée le plus toxiques parmi les HE des espèces étudiée vis-à-vis du *S.oryzae* et *T.confusum* avec un taux de mortalité très élevé enregistré pendant un temps d'exposition très réduit.

D'après les résultats obtenus, le *T. confusum* est moins sensible aux effets toxiques des extraits végétaux des plantes étudiées que *S. oryzae*.

Cette activité est due principalement aux plusieurs substances du métabolisme secondaire qui synthétisent les plantes. Ces molécule peuvent avoir différents effets contre les insectes : répulsif, attractif, perturbateur du développement, inhibiteur de la reproduction, etc. Leur toxicité peut être directe ou indirecte sur les organes cibles (organes sensoriels, système nerveux, système endocrines, appareil digestif, appareil reproductif, etc.).

L'efficacité des huiles essentielles en tant qu'insecticides est la préoccupation de nombreux chercheurs. Leurs propriétés comme la volatilité, la nature éphémère et la biodégradation constituent les avantages d'une utilisation des HE comme pesticides. Les travaux effectués concourent à mettre en évidence les différents éléments pouvant accroître l'action des huiles essentielles contre les insectes ravageurs. Dans ces dernières années, et face à une législation de plus en plus restrictive sur l'application des pesticides de synthèse, la recherche de phytoinsecticides s'inscrit dans une stratégie particulièrement adapté aux exigences du consommateur tout en préservant l'environnement.

L'obtention de ces produits naturels à l'état pur nécessite beaucoup de professionnalisme et sans doute des dépenses élevées. A titre d'exemple, pour avoir quelques microlitres d'huile essentielle il faut des quantités considérables de la matière végétale qui est devenu pourtant de plus en plus demandée au marché mondiale. Mais les meilleurs résultats que l'on peut obtenir



## ***Conclusion Générale***

---

à court ou à long terme encouragent à préparer des produits naturels à des fins bien déterminés.

Malgré les propriétés efficaces des extraits végétaux et leur utilisation dans divers domaines, ils peuvent induire le risque d'être toxiques, la production et la caractérisation des extraits végétaux, le contrôle de leur qualité tout autant que la mise en évidence d'une éventuelle spécificité nécessite la mise en œuvre des méthodes de préparation et d'analyses les plus modernes.

Cependant, les composantes responsables des activités biologiques des extraits que nous avons utilisés n'ont pas été isolées et des travaux supplémentaires devraient être menés pour identifier et isoler ces composés bioactifs. Par ailleurs, à titre d'exemple, il serait intéressant de tester l'activité antioxydante et antimicrobienne par d'autres méthodes et d'évaluer les extraits étudiés par des tests *in vivo* pour permettre de déceler éventuellement l'utilité de nouveaux agents en phyto-thérapeutique et en agroalimentaire comme conservateurs alimentaires naturels.

---

# *Références Bibliographiques*



*« Le monde est un spectacle à regarder et non un problème à résoudre. »  
- Jules de Gaultier –*

### Références bibliographiques

- 1- **Adams R.P., 2007.** Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4<sup>th</sup> ed., Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL., USA.
- 2- **AFNOR, 2000.** Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.
- 3- **Ağaoğlu S., Dostbil N. & Alemdar S., 2007.**Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bull Vet Inst Pulawy.*, 51: 53-57.
- 4- **Agnihotri A, Khatoon S & Shanta M., 2003.** Pharmacognostical evaluation of an antioxidant plant-Acorus calamus. *Natural Production Science*, 9: 264-269.
- 5- **Ahmad A.M., Khokhar I., Ahmad I., Kashmiri M.A, Adnan A& Ahmad M., 2006.** Study of antimicrobial activity and composition by GC/MS spectroscopic analysis of the essential oil of *Thymus serpyllum* *International Journal Food Safety.*, 5: 56-60.
- 6- **Alessandra Bertoli, Barbara Conti, Valerio Mazzoni , Laura Meini & Luisa Pistelli, 2011.** Volatile chemical composition and bioactivity of six essential oils against the stored food insect *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera Dryophthoridae). *Natural Product Research*. ISSN 1478–6419 print/ISSN 1478–6427 online, London.
- 7- **Alyafi Alzhri G., 2007.** Determination of chemical composition of Prangos and the possibility to use in the applied field, Damascus University, 54 p.
- 8- **APG III, 2009.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 105-121.
- 9- **Aronne G. & Russo D.1997.** Carnivorous mammals as seed dispersers of *Myrtus communis* (Myrtaceae) in the Mediterranean shrublands. *Plant Biosystems*, 131, 189-195.
- 10- **Awika J.M., L. W. Rooney, X. Wu, R. L. Prior & L. Cisneros-Zevallos, 2003.** Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(23): 6657-6662.
- 11- **Baba Moussa F., Koumaglo K., Ayedoun A.K., Moudachirou M. & Bouchet P.1997.** Activite antifongique d'huiles essentielles extraites de differentes plantes du Bénin et du Togo. *Cryptogamie-Mycologie*, 18(2) : 165-168.
- 12- **Babushok, V.I., Linstrom, P.J. & Zenkevich, I.G., 2011.** Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40, 43101-1- 43101-47
- 13- **Bach D., Mascre M. & Deysson G., 1979.** Organisation et classification des plantes vasculaires, cours de botanique générale quatrième série, tome II, Paris, pp.1979, 529.
- 14- **Bari M.A., Islam W., Khan A.R. & Mandal, 2010. A.** Antibacterial and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae). *International Journal Agricultural Biological.*, 12: 386-390.

## Références Bibliographiques

---

- 15- **Bauer K., Garbe D. & Surburg H. 1990:** in Common Fragrance and Flavor Materials, Preparation, Properties and Uses, 2<sup>nd</sup> ed., VCH, Weinheim, 142 p.
- 16- **Bekon K. & Fleurat Lessard F., 1989.** Evolution des pertes en matière sèche des grains dus à un ravageur secondaire - *Tribolium castaneum* (Herbest), (Coléoptère Tenebrionidae), lors de la conservation des céréales, céréales en région chaudes. AUPELF-UREF, Ed. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 97-104.
- 17- **Belaiche P., 1979.** L'aromatogramme: Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. M.S.A. éd., Paris, 204 p.
- 18- **Benzie I. F. & J. Strain, 1996.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239(1): 70-76.
- 19- **Benayad, 2013.** Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. *Thèse de doctorat*, Université Mohammed V- Agdal Faculté Des Sciences Rabat, 26 p.
- 20- **Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M. & Gaset A., 1988.** Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie. Information chimie.
- 21- **Berthier A., 1980 :** Epices-aromates leurs huiles essentielles et oléorésines. parfums, cosmétiques, arômes n°34- août/septembre; pp. 39-44.
- 22- **Biffin E., Lucas E.J., Craven L. A., Ribeiro da Costa I., Harrington M.G. & Crisp M.D., 2010.** Evolution of exceptional species richness among lineages of fleshy-fruited Myrtaceae. *Annals of Botany*, 106, 79-93.
- 23- **Bisognano C., 2000.** Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus* : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires, *Thèse de Doctorat*, Genève.
- 24- **Blache, D. & M. Prost, 1992.** Free radical attack: Biological test for human resistance capability. In Proceedings of the IX College Park Colloquium on Chemical Evolution: A Lunar-Based Chemical Analysis Laboratory: pp. 82-98.
- 25- **Boelens M.H. & Jimenes R., 1991.** The chemical composition of Spanish Myrtle oils, Part I, *Journal of Essential Oil Research*, 3, 173-177.
- 26- **Botineau M., 2010.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs, Tec & Doc, Paris, 1335 pp.
- 27- **Bouguerra A. & Zeghou K., 2009.** Etude des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle extraite des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. Mémoire d'ingénieur. INATAA, Université Mentouri Constantine, 46p.
- 28- **Bourrel C., 1993.** Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de toulouse*. Toulouse, France.

## Références Bibliographiques

---

- 29- **Bradesi P., Tomi F., Casanova J., Costa J. & Bernardini A.F.** 1997. Chemical composition of myrtle leaf essential oil from Corsica, *Journal of Essential Oil & Research*, 9, 283-288.
- 30- **Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier & C. Berset, 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
- 31- **Browicz K., 1984.** Chorology of trees and shrubs in south-west Asia and adjacent regions, Vol. 3. Warsawa and Poznan, Poland Polish Scientific Publishers.
- 32- **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2ème Ed., Paris. 623 p.
- 33- **Bruneton J., 2001.** Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2ème Ed : TEC & DOC. Paris. 337 p.
- 34- **Burgot, G. & Pellerin, F., 2003.** Microextraction en phase solide (SPME). *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation, P2, n°P1430*: 1430.1-1430.20.
- 35- **Burits M., Bucar F., 2000.** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323–328.
- 36- **Caccionni D, Guizzardi M, Biondi D, Agantio R. & Guisepe R., 1998.** Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *penicillium digitatum* and *penicillium italicum*. *International Journal Food Microbiology*, 43: 73- 79.
- 37- **Caillet S. & Lacroix M. 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA.*, 1- 8 pp.
- 39- **Chami F., 2005.** Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. *Thèse de doctorat*, Fès, Maroc, 266pp.
- 40- **Clarke S., 2008.** Processing, extraction and purity. *Essential chemistry for aromatherapy*. 2<sup>ème</sup> édition. Londres: Elsevier, p. 79-93.
- 41- **Clevenger J.F., 1928.** Apparatus for volatile oil determination, description of new type, *American Perfumer & Essential Oil Review*, 23, 467-503.
- 42- **Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington J.R. & Wyllie S.G., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal Application Microbiology* , 88: 170-175.
- 43- **Cremieux, A., H. Guirard-Dauriac & G. Dumenil. 1981.** Neutralisation des antiseptiques et désinfectants. *Journal de Pharmacie de Belgique* 36: 223-226.
- 44- **Croteau R., Kutchan T.M. et Norman G.L., 2000.** Natural products (secondary Metabolites). *American society of plant physiologist*, Vol.24, pp.1250-1318.

## Références Bibliographiques

---

- 45- Da Costa, N.C. et Eri, S.2005. Identification of Aroma Chemical. *Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances*. Pp. 12-31.
- 46- Damien Dorman HJ., Kosar M., Kahlos K., Holm Y. & Hiltunen R. 2003. Antioxidant properties and Composition of aqueous Extracts from Mentha Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 51, pp. 4563-4569.
- 47- Daniel L., D. Paz D., Eduardo D., Davies P., Roser Vila & Salvador Canigueral, 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol. 45, N°4, 519-524.
- 48- Derwich E, Benziane Z. & Boukir A. 2010. GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Research Journal Agricultural Biological Science*. 6: 191-198.
- 49- Djarri L., Medjroubi K., Akkal S., Elomri A., Seguin E. & Vérité P., 2006. Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. *Flavour and Fragrance journal*, 21: 647-649.
- 50- Dorman D.H.G., Bachmayer O., Kosar M. & Hiltunen R., 2004. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *Lamiaceae* species grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52, pp. 762-770.
- 51- Dugo G. & Di Giacomo A., 2002. *The genus Citrus*. Londres, Taylor & Francis Publishing, 642 p.
- 52- El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Briky D., Fachtel M., Blaghen M., Talbi M. (2003). Chemical composition and antimicrobial and insecticidal activities of the essential oil in *Mentha rotundifolia* from Morocco. *Acta Bot. Gallica* 150(3), pp. 267-274.
- 53- El Gharras, H., 2009. Polyphenols, Food sources, properties and applications. *International Journal of Food Science and Technology* 44(12): 2512-2518.
- 54- Elhoussine D., Z. Benziane & A. Boukir, 2010. Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *mentha rotundifolia* from Morocco. *Electronic Journal of environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 9 (1), 2010, pp. 19-28.
- 55- Ferdjioui S., 2014. Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas de Sétif
- 56- Fleming Jones M.E. & Smith, R.E., 2003. Volatile Organic Compounds in Foods: A Five Years Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 8120-8127.
- 57- Franchomme P., 1981, L'aromatologie à visée anti-infectieuse. *Phytomedecine*, 1: 25-47.
- 58- French C., 1985. The bioregulatory action of flavour compounds on fungal spores and other propagules. *Annual Review Phytopathology*, 23: 175-199.

## Références Bibliographiques

---

- 59- Gardeli C., Papageorgiou V., Mallouchos A., Theodosios K. & Komaitis M., 2008.** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* 107 - 1120–1130
- 60- Garry R.P. & Chalchat J.C., 1992.** Les huiles essentielles de Myrte du pourtour méditerranéen, 10<sup>ème</sup> Journées Internationales des Huiles Essentielles, Dignes-les-Bains, 5-7/9/1991, Actes, *Rivista Italiana EPPOS*, N° spécial, 524-532.
- 61- Gauthier R., Gourai M. & Bellakhdar J., 1988.** A propos de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. var. *Italica* et var. *Baetica* récolté au Maroc, II, Rendement et composition selon le mode d'extraction; comparaison avec diverses sources, *Al Biruniya*, 4, 117- 132.
- 62- Ghouami S., Idrissi A. & Fkih Tetouani S., 2001.** Synthèse de nouveaux hétérocycles à partir de l'oxyde de piperiténone. *Tetrahedron Letterature*. 2107–2109, 42 p.
- 63- Gill AO, Delaquis P, Russo P. & Holley RA., 2002.** Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Journal Food and Microbiology*, , 73: 83-92.
- 64- Grenier A.M., Nardon, P. & Bonnot G., 1986.** Importance de la symbiose dans la croissance des populations de *Sitophilus oryzae* L. (Coléoptère, Curculionide). Etude théorique et expérimentale. *Acta Oecologica*, , Vol. 7, N°1, p. 93-110.
- 65- Grété P., 1965.** Précis de botanique, Systématique des angiospermes Tome II ; 2<sup>ème</sup> édition révisée, Faculté de Pharmacie de Paris, Masson, 429p.
- 66- Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V., 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal Application and Microbiology*, , 86: 985-990.
- 67- Harzallah-Skhiri F, Mastouri M, Casanova J, Mighri Z., 2009.** Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *Maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and 13C-NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial Activity. *Chemistry & Biodiversity*, 6: 881-889.
- 68- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A.R., Faleiro, M.L. & Miguel, M.G., (2009).** Chemical composition and Biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*, 116, 714-721.
- 69- Heywood V.H., Moore D.M., Richardson IB & Stearn W.T., 1996.** Les plantes à fleurs 306 Familles de la flore mondiale, pp.218-219.
- 70-Himed L., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon*: application à la margarine. *Mémoire de Magister*. Université Mentouri Constantine, Algérie, 91p.
- 71- Honzel, D., S. G. Carter, K. A. Redman, A. G. Schauss, J. R. Endres & G. S. Jensen, 2008.** Comparison of chemical and cell-based antioxidant methods for evaluation of foods and natural products: Generating multifaceted data by parallel testing using erythrocytes and polymorphonuclear cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(18): 8319-8325.

## Références Bibliographiques

---

- 72- **Huang, 1988.** Perfumer and flavorist. *Progress in Essential oils*, 1988-1991. April/May 1988, Vol. 13, N° 2, P. 67.
- 73- **Hulin V., 1998.** Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes in Sciences des aliments, vol.18, p.p. 563-582
- 74- **Huignard J., 2008.** Utilisation des composés secondaires des végétaux pour la protection des graines d'une légumineuse, le niébé. Conséquence sur les insectes ravageurs et leurs parasitoïdes in Biopesticides d'origine végétale, pp.187-206.
- 75- **Hultin H.O., 1994.** Oxidation of lipids in seafoods in *Seafoods Chemistry, Processing Technology and Quality*. Shahidi, F. & Botta, J.R. Ed. Blackie Academic & Professional, New York, pp. 49-74
- 76- **Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S. & Nigam P.S., 2010.** *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Braz Journal & Microbiology*, 41: 1070-1078.
- 77- **Hussain A.I., Anwar F., T.H.S. Sherazi & Przybylski R., 2008.** Chemical composition antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108: 986-995.
- 78- **Hussain AI., 2009.** Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. *Doctorale thesis*, Pakistan, 257p.
- 79- **J. Valente, M. Zuzarte, R. Resend, M.J. Gonçalves, C. Cavaleiroa, C.F. Pereira, M.T. & Cruz, L., 2014.** Salgueiro. *Daucus carota* subsp. *gummifer* essential oil as a natural source of antifungal and anti-inflammatory drugs. *ScienceDirect Industrial Crops and Products*.
- 80- **Jabrane A., Ben Jannet H., Harzallah-Skhiri F., Mastouri M., Casanova J., Mighri Z., 2009.** Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *Maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial Activity. *Chemistry & Biodiversity*, 6: 881-889.
- 81- **Jean; 2000.** Perfumer and flavorist, September/October 2000. *Progress in Essential oils*, 1996-2000. Vol. 25 N° 5, 52p.
- 82- **Jensch D & Poschlod P., 2008.** Germination ecology of two closely related taxa in the genus *Oenanthe*: Fine tuning for the habitat. *Aquat Bot.*, 89: 345-351.
- 83- **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A. & Steven P., 2002.** Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1ère Ed: Paris et Bruxelles. pp. 369-384.
- 84- **Kang, J., C. Xie, Z. L., S. Nagarajan, A. G. Schauss, T. Wu & X. Wu, 2011.** Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Chemistry* 128(1): 152-157.
- 85- **Kanoun K ; 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). *Mémoire de magister*. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.



## Références Bibliographiques

---

- 86- Karatzas A.K., Kets E.P.W., Smid E.J. & Bennik M.H.J.,2001.**The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes*.*Journal Application & Microbiology.*, 90: 463–469.
- 87- Keïta S.M., Vincent C., Jean-Pierre Schmit J.P., Ramaswamy S. & Bélanger A., 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 36:355-364.
- 88- Ketoh G.K., Koumaglo H.K. & Glitho I.A., 2005.** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research* 41: 363-371.
- 89- Kokkini S. & Papageorgiou V.P. 1988.** Constituents of Essential Oils from *Mentha X rotundifolia* Growing Wild in Greece. *Planta Med.*166–167,38 p.
- 90- Kolb B.1999.** Headspace sampling with capillary columns. *Journal of chromatography A*, 842. Pp.163-205.
- 91- Koleva I. I., Van Beek T. A., Linssen J. P. H., De Groot A., & Evstatieva L. N., 2002.** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, 13, 8-2002-17.
- 92- Korkina, L., C. De Luca & S. Pastore, 2012.** Plant polyphenols and human skin: Friends or foes. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1259:77-86.
- 93- Kouninki H., Ngamo L.S.T., Hance T. & Ngassoum M.B. 2007.** Potential use of essential oils from local Cameroonian plants for the control of red flour weevil *tribolium castaneum* (herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 7(5): ISSN 1684-5374.
- 94- Kulevanova S. & Panovska T.K.,2001.**Antioxidant activity of essential oils of different Wild *thymus* L. Species. *Bull. Chemistry, Technology Macedonia*, 20: 61-66.
- 95- Ladiges P., Parra-O. C., Gibbs A., Udovicic F., Nelson G. & Bayly M. 2011.** Historical biogeographical patterns in continental Australia:congruence among areas of endemism of two major clades of eucalypts. *Cladistics*, 27, 29-41.
- 96- Lanfranchi D.A., Laouer H., El Kolli M., Prado S., Maulay-Bailly C., Baldovini N., 2010.** Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *Journal Agricultural FoodChemistry*, 58: 2174-2179.
- 97- Lawrence B. M, 1994.** Essential Oils, Allured Publishing Corp. Carol Stream, IL, 28p.
- 98- Leila R., M., Elferchichi, H. Ghazghazi, J. Jebali, S. Ziadi,Chedia -Aouadhi, H. Chograni, Y. Zaouali, N. Zoghلامي & A. Mliki, 2013.** Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 49- 883-889.

## Références Bibliographiques

---

- 99- Leopoldini, M., N. Russo & M. Toscano 2011.** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry* 125(2): 288-306.
- 100- LEPESME P., 1944** - Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. P. Le chevalier, Paris, pp. 61 - 67.
- 101- Lopez, M., F. Martinez, C. Del Valle, M. Ferrit & R. Luque, 2003.** Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method. *Talanta* 60(2-3): 609-616.
- 102-104-Lis-Balchin M. & Hart S. L., 2000.** Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils, originating in Australia and New Zealand. *Phytotherapy Research*, vol.14, pp. 623-629.
- 103- Lubbers S., Decourcelle N., Vallet N. & Guichard E., 2004.** Flavor Release and Rheology Behavior of Strawberry Fat-free Stirred Yogurt during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3077-3082.
- 104- Malecky M., 2007.** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. *Thèse de doctorat*, INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231 Paris, pp. 30-35.
- 105-Malesev D. & Kuntic V., 2007.** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*.72, 921-939pp.
- 106- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy & L. Jimenez 2004.** Polyphenols, Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79(5): 727-747.
- 107- Matich, A.J., Rowan, D.D. et Banks, N.H., 1999.** Solid phase microextraction for quantitative headspace sampling of apple volatiles. *Analytical chemistry*, 68: 4114-4118.
- 108- Maxia A., Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Tuveri E. ,Gonçalves M.J., Cavaleiro C. & Salgueiro L., 2009.** Chemical characterization and biological activity of essential oils from *Daucus carota* L. subsp. *carota* growing wild on the Mediterranean coast and on the Atlantic coast, *Fitoterapia*, 80: 57-61.
- 109-Mazzoni V., Tomi F. & Casanova J., 1999.** A daucane-type sesquiterpene from *Daucus carota* seed oil. *Flv Frag*, 14: 268-272.
- 110- Mehdi R., M. Mirzakhani, A. & G. Pirbalouti, 2013.** Essential oil variation among 21 wild myrtle (*Myrtus communis* L.) populations collected from different geographical regions in Iran. ScienceDirect. *Industrial Crops and Products* 51-328-333.
- 111- Mejlholm, O. & P. Dalgaard. 2002.** Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Letters in Applied Microbiology* 34: 27-31.
- 112- Meng-lan S. & Watson M.F., 2005.** *Daucus* in Flora of China. Science Press (Beijing) and Missouri Botanical Garden Press, 14: 204.

## Références Bibliographiques

---

- 113- Meusel H., Jäger E., Rauschert S. & Weinert E. 1978.** Vergleichende chorologie der Zentraleuropäischen flora. Ed. Karten, Jena. Bolòs de O. & Vigo J. 1984. *Flora dels Paisos Catalans*, Vol. I. Editorial Barcino, Barcelona.
- 114-Meyer-Warnod B., 1984.** Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, *Perfumer & Flavorist*, **9**, 93-103.
- 115-Migliore J., 2011.** Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre myrtus en méditerranée et au sahara. *These de doctorat*, université de Paul Cézanne Aix-Marseille, Faculté des Sciences et Techniques, pp.64-69.
- 116- Mills C. & Cleary B. J., 2004.** Inhibition of acetylcholinesterase by Tea Tree oil in *Journal of Pharmacy and Pharmacol.*, n.56, pp.375-379.
- 117- Miller N.J, Sampson J. & Candeias L.P., 1996.** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Letters* 384: 240-2.
- 118- Möller K., 2008.** La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNISCO.152 p.
- 119- Molyneux, P., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Song Klama Karin. *Journal.Sciences & . Technology*, 26 (2): 211-219.
- 120- Moreira M.R. Ponce A.G., Del Valle C.E., Roura S.I., 2005.**Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technology*, 38: 565-570.
- 121- Morelle J., 2003.** L'oxydation des aliments et la santé. Ed Impression Librairie F-X. de Guibert, 257 p.
- 122- Moudachirou, 1997.** Perfumer and flavorist, Progress in Essential oils, 1995 2000.January/February, Vol. 22 N° 1, 49p.
- 123- Mouhouche F. & Fleurat lessard F., 2003.** Sensibilité de quelques variétés de poischiche aux attaques de *Sitophilus oryzae* (L) et *Callosobruchus maculatus* (F).Science des aliments n° 5 ; 15p
- 124- Moulinier C., 2003.** Parasitologie et mycologie médicales : élément de morphologie et de biologie, Ed. Emi.
- 125- Moure, A., J. M. Cruz, D. Franco, J. Manuel Dominguez, J. Sineiro, H. Dominguez, M. J. Nunez & J. Carlos Parajo, 2001.**Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry***72**(2): 145-171.
- 126- M. Brada, M. Bezzina, M. Marlier, A. Carlier & G. Lognay, 2007.** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnologie, Agronomie,Société et Environnement*, 11 (1), 3-7.

## Références Bibliographiques

---

- 127- Negahban M. & Moharramipour S., 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects in *Journal Stored Products Research*, n.43, 123–128pp.
- 128- Nardon P., 1963. Les possibilités d'emploi des radiations dans la lutte contre les insectes. *Phytoma*, Vol.3. 144, pp. 7-12.
- 129- Nassiri-Asl M. & H. Hosseinzadeh, 2009. Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research*, 23(9): 1197-1204.
- 130- Neve J., 2002. Antioxydants alimentaires : Vitamines, oligoéléments et non -nutriments in *Aliments fonctionnels*. Tec & doc éd., Paris, pp. 281-313.
- 131- Newmann D. & Cragg G.M., 2007. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*. 70: 461-477.
- 132- Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B., Jirovertz L., Ousman A., Nukenine E. & Moukala O.E., 2001. Protection of stored Maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medical faculty Landbouw University of Gent*, 66 (2a): 473-478.
- 133- Nyamador S.W., 2009. Influence des traitements a base d'huiles essentielles sur les capacités de reproduction de *Callosobruchus subinnotatus* pic et de *Callosobruchus maculatus* f. (coleoptera : bruchidae) : mecanisme d'action de l'huile essentielle de *cymbopogon giganteus* chiov. *Thèse doctorat en sciences de la vie*, universite de lome faculte des sciences ,lome- togo, 197p.
- 134- Nykänen & Nykänen, 1989. Perfumer and flavorist, In *Progress in Essential oils*, 1988-1991. January/February, Vol. 14 N° 1, 29p.
- 135- Odoul M., 2003. Les huiles essentielles. La lettre de l'Institut Français de Shiatsu, N°. 2, pp.1-12.
- 136- Oinonen P. P. & Jokela J. K., 2006. Linarin, a selective acetylcholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis* in *Fitoterapia*, N°. 77, pp.429-434.
- 137- Osman A. M., K. K. Y. Wong, S. J. Hill & A. Fernyhough, 2006. Isolation and the characterization of the degradation products of the mediator ABTS-derived radicals formed upon reaction with polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340(2): 597-603.
- 138- Ou B., D. Huang, M. Hampsch-Woodill, J. A. Flanagan & E. K. Deemer, 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(11): 3122-3128.
- 139- Ou B., M. Hampsch-Woodill & R. L. Prior, 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(10): 4619-4626.

## Références Bibliographiques

---

- 140- Ouattara B., Simard R.E., Holley R.A., Piette G. & Begin A., 1997.** Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 155-162.
- 141- Ozenda P., 2004.** Flore et végétation des saharas. 3<sup>ème</sup> Ed. CNRS édition. Paris. pp. 399- 402.
- 142- Paradiso A., Cecchini C., De Gara L. & D'Egidio M.G., 2006.** Functional, antioxidant and rheological properties of meal from immature durum wheat. *Journal of Cereal Science*, Vol. 43, n. 2, pp. 216-222.
- 143- Paris R., Godon M., 1979.** Chromatographie en couche mince et sur papier des huiles essentielles. Ed. Masson, Paris.
- 144- Paulian R., 1988 -** Biologie des coléoptères. Ed. Le Chevalier., Paris, 710p.
- 145- Pavel M., Ristić M., Stević T., 2009.** Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal Ser. of Chemistry Soc.*, 75: 27-34.
- 146- Pawliszyn, J.P., 2003 .**Sample Preparation: Quo Vadis. *Analytical chemistry*, 75: 2543-2558.
- 147- Pharmacopée Européenne, 1997.** 3<sup>ème</sup> édition, Conseil de l'Europe. Sainte Ruffine : éd. Maisonneuve S.A., 1918 pages.
- 148- Pelli K. & Lyly M., 2003.** Les antioxydants dans l'alimentation in *Biotechnology Finlande*, n.2, pp.15-20
- 149- Percival S.L., 2004.** Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 480 p.
- 150- Perez-Bonilla, M., Salido, S., Van deek, T.A., Linares-Palomino, P.J., Altarejos, J., Nogueras, M. & Sanchez A., 2006.** Isolation and identification of radical scavengers in olive (*Olea Europaea*) wood. *Journal of chromatography*, 1112: 311-318.
- 151- Philogene B.J.R., 2008.** Action synergique des composés d'origine végétale in *Biopesticides d'origine végétales*. Tec & Doc éd., Paris, pp. 277- 286.
- 152- Pibiri M. C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huiles essentielles. *Thèse de Doctorat*, école polytechnique fédérale, Lausanne, 161 p.
- 153- Pietta P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, vol.63, pp.1035-1042.
- 154- Pigg K.B., Stockey R.A. & Maxwell S.L., 1993.** *Paleomyrtinaea*, a new genus of permineralized myrtaceous fruits and seeds from the Eocene of British Columbia and Paleocene of North Dakota. *Canadian Journal of Botany*, 71, 1-19.
- 155- Pillonel L., Bosset J.O. et Tabacchi R., 2002.** Rapid preconcentration and enrichment techniques for the analysis of food volatile. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 35: Pp.1-14.

## Références Bibliographiques

---

- 156- Pimenov M.G., Leonov M.V., 1993.** The genera of the Umbelliferae Nomenclator. Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom, 156 p.
- 157- Pinelo, M., L. Manzocco, M. J. Nunez et M. C. Nicoli (2004).** "Solvent effect on quercetin antioxidant capacity." *Food Chemistry* 88(2): 201-207.
- 158- Perrin H., 1991.** Bio systématique et écologie évolutive des Curculio (Coleoptera : Curculionidae) double radiation sur Ficus (Moraceae) et sur fagales. Thèse en Sciences, Université Paris VI, 265 p.
- 159- Poitou F., 1996.** Composition of the essential oil of *Xylopi aethiopica* dried fruits from Benin. *Journal of Essential Oil Research*, 8 (3): 329-330.
- 160- Pol I. E., H. C. Mastwijk, R. A. Slump, M. E. Popa & E. J. Smid., 2001.** Influence of food matrix on inactivation of *Bacillus cereus* by combinations of nisin, pulsed electric field treatment and carvacrol. *Journal of Food Protection* 64: 1012– 1018.
- 161- Portes E., 2008.** Synthèse et Etudes de Tétra hydro curcuminoïdes: Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. *Thèse de doctorat*, Université Bordeaux I, 44-46 pp.
- 162- Pourrut B., 2008.** Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. *Thèse de doctorat*, Toulouse, France.
- 163- Pradeau D. & Cohen Y., 1992.** L'analyse pratique du médicament. Ed. *médicales internationales*, 418-428.
- 164- Pratt D.E., 1980.** Natural antioxidants of soybean and other oil seeds. Ed. M.G. Simic, and M. Karel, Plenum, Autoxidation in food and biological systems: 261-282.
- 165- Prieur, C., J. Rigaud, V. Cheynier & M. Moutounet, 1994.** Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry* 36(3): 781-784.
- 166- Price D. N., 2006.** Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches in *Journal of Insect Physiology*, n.52, pp.309-319.
- 167- Quezel P. & Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 1963.
- 168- Quideau, S., D. Deffieux, C. Douat-Casassus & L. Pouységu 2011.** Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities and synthesis. *Angewandte Chemie – International Edition* 50(3): 586-621.
- 169-Rahmani M., 2007.** Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. *Les technologies de laboratoire*, n.2, pp. 18-21.
- 170-Ram S., Verma R., Padalia C. & A. Chauhan, 2014.** Chemical composition variability of essential oil during ontogenesis of *Daucus carota* L. subsp. *sativus* (Hoffm.) Arcang. *Industrial Crops and Products* 52-809- 814.

## Références Bibliographiques

---

- 171- Ramanoelina, 1997.** Perfumer and flavorist. *Progress in Essential oils*, 1995-2000. January/February, Vol. 22 N° 1, 49p.
- 172- Ratcliffe F.N., 1941.** The importance of *Rhizopertha dominica* as a pest of wheat under war time storages conditions. *Journal conciliation Science Industrial Research Australia*, 14, 143-180.
- 173- Re R., Pellegrini N. & Protegente A., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-7.
- 174- Rameau J.C., Mansion D., Dume G. & Gauberville C. 2008.** Flore forestière française. Guide écologique illustré. Région méditerranéenne. I.D.F., Paris.
- 175- Regnault –Roger C., 2008.** Biopesticides d'origine végétales, 2éd., Tec & Doc éd., Paris, 496p.
- 176- Raza SA, Rehman A, Adnan A & Qureshi F., 2009.** Comparison of antioxidant activity of essential oil of *Centella asiatica* and Butylated hydroxyanisole in sunflower oil at ambient conditions. *Biharean Biol.*, 3: 71-75.
- 177- Regnault-Roger C. & Hamraoui A., 1995.** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a Bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Stored Products Research* 31:291-299.
- 178- Remigius C., 2010.** Composition of the Essential Oil from *Daucus carota* ssp. *carota* Growing Wild in Vienna. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. Jeobp 13-1, pp. 12-19
- 179- Rhayour K. 2002.** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
- 180- Rice-Evans C. A., N. J. Miller & G. Paganga 1996.** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20(7): 933-956
- 181- Roeder T., 1999.** Otopamine in invertebrates. *Progress Neurobiol*, N°.59, pp. 533-561.
- 182- Rosalino L.M., Rosa S. & Santos-Reis M., 2010.** The role of carnivores as Mediterranean seed dispersers. *Annales of Zoologici Fennici*, 47, 195-205.
- 183- Ryan M. F. & Byrne O. 1988.** Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase in *Journal Chemistry & Ecology*, N°.14, pp.1965-1975
- 184- Sahu, S.C. & Gray, G.C., 1993.** Interactions of flavonoids, trace metals, and oxygen: Nuclear DNA damage and lipid peroxidation induced by myricetin. *Cancer Letters*, 70: 73-79.
- 185- Sartori-Thiel A., 2003.** Activités anti-microbiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. *Science et Agronomie. Thèse de doctorat*, 177p.
- 186- Savelev S. U., 2004.** Butyryl and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of salvia species and their constituents in *Phytotherapy Research.*, N°.18, pp.315-324.
- 187- Schmitt B., Schulz H., Storsberg J. & Keusgen M., 2005.** Chemical Characterization of *Allium ursinum* L. Depending on Harvesting Time. *Journal of Agricultural and Food*

## Références Bibliographiques

---

*Chemistry*, 53: 7288-7294.

**188- Shahidi F., 1997.** Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications, Ed aocs mission statement, 174-197 pp.

**189- Shaaya E., 1991.** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-products insects in *Journal Chemistry & Ecology*, N°.173, p.p.499-504

**190- Singh G., Marimuthu P., De Heluani C.S. & 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, pp.174-181.

**191- Sipailiene A, Venskutonis P.R, Barauskiene R. & Sarkinas A., 2006.** Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18: 698-703.

**192- Skoog D.A., Holler F.J. & Nieman T.A., 2003.** Principes d'analyse instrumentale. 1<sup>ère</sup> édition, Ed. De Boeck Université, 945p.

**193- Souza E.L., Guerr N.B., Stamford T.L.M & Lima E.O., 2006.** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm.*, 87: 22-25.

**194- Souza EL, Stamford TLM, Lima E.O., 2006.** Sensitivity of spoiling and pathogen food related bacteria to *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. *Braz Journal Microbiology*, 37: 527-532.

**195- Staniszewska M. & Kula J., 2001.** Composition of the essential oil from wild carrot. *L.ssp. carota*) growing in Poland. *Journal Essential Oil Research*, 13: 439-441.

**196- Steffan J.R., 1978.** Description et Biologie des insectes in **Scotti G., 1978** - Les insectes et les acariens des céréales stockées. Ed. AFNOR et I.T.F.C., Paris, pp. 1-62

**197- Strid A., 1996.** Phytogeographia Aegea and the Flora Hellenica database. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 99B Supplement, 279-289.

**198- Surburg; 2000.** Perfumer and flavorist, *Progress in Essential oils*, 1996-2000. September/October 2000, Vol. 25 N° 5, P. 52.

**199- Sytsma K.J., Litt A., Zjhra M.L. Pires J.C., Nepokroeff M., Conti E., Walker J. & Wilson P.G. 2004.** Clades, clocks, and continents: historical and biogeographical analysis of Myrtaceae, Vochysiaceae, and relatives in the Southern Hemisphere. *International Journal of Plant Science*, 165, 85-105.

**200- Taga, M.S., Miller, E.E. et Pratt, D.E. 1984.** Chia seeds as a natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61: 928-931.

**201-Tapondjou L. A., 2003.** Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles de feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera, Bruchidae). Cahiers d'études et de recherche francophones/Agricultures, n.12, pp.401-407.



## Références Bibliographiques

---

- 202- Tassou, C., E. H. Drosinos & G.J. E. Nychas, 1995.** Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 jC and 10 jC. *Journal of Applied Bacteriology* 78: 593– 600.
- 203- Tateo F., Picci V., 1982.** Primo indagini sulla caratterizzazione GLC-MS dell'olio essenziale di mirto di Sardegna (*Myrtus communis* L.), *La Rivista della Società di Scienza dell'Alimentario*, 11, 153-158.
- 204- Tiqwari A. K., 2001.** Imbalance in antioxidant defense and human diseases: Multiple approach of natural antioxidants therapy. *Current science*, N°.1, pp.1179-1181
- 205- Tranchant J., 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris.
- 206- Valnet J., 1980.** Aromathérapie: Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine, Paris. 542 p.
- 207- Van Delden C, Iglewski BH., 1998.** Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerge, Infection & Disease.*, 4: 551-560.
- 208- Van Den Berg R., Haenen G.R. & Van Den Berg H., 2000.** The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay, *Food Chemistry*, 70 : 391-5.
- 209- Verpoorte R., 2002.** La pharmacognosie du nouveau millénaire : pistes et biotechnologies. Des sources du savoir aux médicaments du futur, 4<sup>e</sup> congrès européen d'ethnopharmacologie. IRD Edition, Paris, 274 p.
- 210-Verzele et al.; 1988.** Perfumer and flavorist, *Progress in Essential oils*, 1988-1991. April/May, Vol. 13, N° 2, 67p.
- 211- Vignes P. & Vignes D., 2007.** L'herbier des plantes sauvages. Editions Larousse, Paris,
- 212- Villiere A. et Genot C., 2006.** Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions in *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Vol.13, n.2, p.p. 152-9.
- 213- Wang Z., Hennion B., Urruty L. et Montury, M., 2000.** Solid phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography : a complementary technique to solid-phase microextraction gas chromatography for the analysis of pesticide residues in strawberries. *Food additives and contaminants*, 17: 915-923.
- 214- Weaver D. K., 1991.** Toxicity of R, S- linalool to four species of storage Coleoptera as influenced by degradation and volatilization. *Proceeding of the 5<sup>th</sup> International Working Conference on Stored-Product Protection*.éd. Fleurat-lessard F. and Ducom P. Bordeaux, n.3, pp.1725-1736.
- 215- Wannas W.A., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jemia M., Ouchikh O., Hamdaoui G. & E. Kchouk M., 2010.** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italic* L.) leaf, stem and flower, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1362-1370.

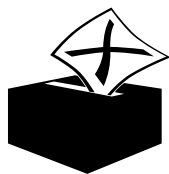
## Références Bibliographiques

---

- 216- Wendakoon CN & Sakaguchi M.,1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal Food Prote*, 58: 280-283.
- 217- Weyerstahl P., Marshall H., Rustaignan A., 1994. Constituents of the essential oil of *Myrtus communis* L. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 6, 333-337.
- 218- Wilson P.G., O'Brien M.M., Gadek P.A. & Quinn C.J., 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of intrafamilial groups. *American Journal of Botany*, 88, 2013-2025.
- 219- Wannas W. A. , B. Mhamdi, J. Sriti, M. Ben Jemia, O. Ouchikh, G Hamdaoui, M. E. Kchouk, B. Marzouk,2010. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology* , 48 (2010) 1362–1370.
- 220- Xia, E. Q., G. F. Deng, Y. J. Guo et H., 2011. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences* 11(2): 622-646.
- 221- Zaika, L.L., 1988. Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination in *Journal Food Safety*, N°9, pp.97–118.
- 222- Zambonelli A, D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E, Maggi L & Bianchi A., 2004. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymusvulgaris* L. *Journal Essential Oil Research*,16: 69-74.



# *Annexes*



*« Tout vient à point à qui sait attendre. »*

*-Adage populaire-*

## Annexes

### I. Tests statistiques (XLStat 2014): Résultat de l'ANOVA ( $p < 0,05$ ) au sein du genre *Myrtus*.

I.1. ANOVA des compositions chimiques des huiles essentielles des tiges feuilletées du myrte prélevé de trois régions différentes.

**Tableau 32** : Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	1,398	0,699	0,004	0,996	3.47
Erreur	21	3404,019	162,096			
Total corrigé	23	3405,416				

**Tableau33** : Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	8,800	4,501	1,955	0,064	-0,561	18,161
TO	0,462	6,366	0,073	0,943	-12,776	13,701
TB	0,550	6,366	0,086	0,932	-12,689	13,789
HM	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations

### I.2.dosage des phénols totaux

**Tableau 34**: Statistique descriptive

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
phénols	9	72,273	84,545	78,939	4,172

**Tableau 35** : Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	96,844	48,422	6,850	0,028	5.14
Erreur	6	42,412	7,069			
Total corrigé	8	139,257				

**Tableau 36** : Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	83,030	1,535	54,091	< 0,0001	79,273	86,787
HM	-8,031	2,171	-3,699	0,010	-13,344	-2,718
TO	-4,242	2,171	-1,954	0,098	-9,556	1,071
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F > F_t$  (5.14) nous devons donc rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il y a de différence significative entre les différentes régions de récolte.

## Annexes

### Dosage des flavonoïdes

**Tableau 37 :** Statistique descriptive

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
flavonoïdes	9	15,700	21,800	18,511	2,469

**Tableau38 :** Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	42,896	21,448	21,910	0,002	5.14
Erreur	6	5,873	0,979			
Total corrigé	8	48,769				

**Tableau 39 :** Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	21,567	0,571	37,755	< 0,0001	20,169	22,965
TB	-4,200	0,808	-5,199	0,002	-6,177	-2,223
HM	-4,967	0,808	-6,148	0,001	-6,944	-2,989
TO	0,000	0,000				

La valeur de  $F > F_t$  nous devons donc rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il y a de différence significative entre les différentes stations.

### I.3. Activité biologique

- Activité antioxydante (HE).

\*DPPH

**Tableau 40 :** Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	55,323	27,661	16,316	< 0,0001	3.18
Erreur	51	86,463	1,695			
Total corrigé	53	141,785				

**Tableau 41 :** Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	6,833	0,307	22,266	< 0,0001	6,217	7,449
HM	1,606	0,434	3,699	0,001	0,734	2,477
TO	-0,833	0,434	-1,920	0,060	-1,705	0,038
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F > F_t$  nous devons donc rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il y a de différence significative entre les différentes stations.

\*ABTS

**Tableau 42 :** Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	0,020	0,010	3,463	0,039	3.18
Erreur	51	0,144	0,003			
Total corrigé	53	0,163				

## Annexes

**Tableau 43 : Paramètre du modèle**

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	0,080	0,013	6,397	< 0,0001	0,055	0,105
TO	0,033	0,018	1,872	0,067	-0,002	0,069
HM	0,045	0,018	2,538	0,014	0,009	0,080
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F > F_t$  nous devons donc rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il y a de différence significative entre les différentes stations.

\*Pouvoir réducteur

**Tableau 44 : Analyse de la variance**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	0,590	0,295	0,281	0,756	3.22
Erreur	42	44,072	1,049			
Total corrigé	44	44,662				

**Tableau 45 : Paramètre du modèle**

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	0,988	0,264	3,735	0,001	0,454	1,522
TO	0,261	0,374	0,697	0,489	-0,494	1,016
HM	0,220	0,374	0,587	0,560	-0,535	0,974
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

-Activité antioxydante (EM).

\*DPPH

**Tableau 46 : Analyse de la variance**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	3,444	1,722	0,002	0,998	3.68
Erreur	15	11287,500	752,500			
Total corrigé	17	11290,944				

**Tableau 47 : Paramètre du modèle**

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	72,667	11,199	6,489	< 0,0001	48,797	96,537
TO	1,000	15,838	0,063	0,950	-32,757	34,757
HM	0,167	15,838	0,011	0,992	-33,591	33,924
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

## Annexes

\*ABTS

**Tableau 48** : Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	81,733	40,867	0,062	0,940	3.89
Erreur	12	7926,000	660,500			
Total corrigé	14	8007,733				

**Tableau 49** : Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	85,000	11,493	7,395	< 0,0001	59,958	110,042
TO	-5,600	16,254	-0,345	0,736	-41,015	29,815
HM	-3,800	16,254	-0,234	0,819	-39,215	31,615
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

\*Pouvoir réducteur

**Tableau 50** : Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	0,590	0,295	0,281	0,756	3.22
Erreur	42	44,072	1,049			
Total corrigé	44	44,662				

**Tableau 51** : Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	0,988	0,264	3,735	0,001	0,454	1,522
HM	0,261	0,374	0,697	0,489	-0,494	1,016
TO	0,220	0,374	0,587	0,560	-0,535	0,974
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

I.4. activité insecticide

-EM

\*S.oryzae

**Tableau 52** : Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	1428,881	714,440	0,894	0,413	3.11
Erreur	81	64736,679	799,218			
Total corrigé	83	66165,560				

## Annexes

**Tableau 53 :** Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	32,750	5,343	6,130	< 0,0001	22,120	43,380
HM	-9,250	7,556	-1,224	0,224	-24,283	5,783
TB	-1,107	7,556	-0,147	0,884	-16,140	13,926
TO	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

\*T.confusum

**Tableau 54 :** Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	2	1428,881	714,440	0,894	0,413
Erreur	81	64736,679	799,218		
Total corrigé	83	66165,560			

**Tableau 55 :** Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	32,750	5,343	6,130	< 0,0001	22,120	43,380
HM	-9,250	7,556	-1,224	0,224	-24,283	5,783
TB	-1,107	7,556	-0,147	0,884	-16,140	13,926
TO	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

-HE

\*S.oryzae

**Tableau 56 :** Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	$F_t$
Modèle	2	1073,778	536,889	0,396	0,674	3.13
Erreur	69	93526,542	1355,457			
Total corrigé	71	94600,319				

**Tableau 57 :** Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	54,125	7,515	7,202	< 0,0001	39,133	69,117
TO	-3,333	10,628	-0,314	0,755	-24,536	17,869
HM	-9,333	10,628	-0,878	0,383	-30,536	11,869
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.



## Annexes

\*T.confusum

**Tableau 58 : Analyse de la variance**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	675,548	337,774	0,450	0,639	3.12
Erreur	75	56263,490	750,180			
Total corrigé	77	56939,038				

**Tableau 59 : Paramètre du modèle**

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	41,600	5,478	7,594	< 0,0001	30,687	52,513
TO	7,150	7,537	0,949	0,346	-7,864	22,164
TB	3,920	7,747	0,506	0,614	-11,513	19,353
HM	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

-HE. « Inhalation ».

\*S.oryzae

**Tableau 60 : Analyse de la variance**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	775,125	387,562	0,362	0,701	3.47
Erreur	21	22480,833	1070,516			
Total corrigé	23	23255,958				

**Tableau 61 : Paramètre du modèle**

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	33,167	13,357	2,483	0,022	5,388	60,945
TO	10,500	17,244	0,609	0,549	-25,361	46,361
HM	14,500	17,244	0,841	0,410	-21,361	50,361
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

\*T.confusum

**Tableau 62 : Analyse de la variance**

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F	Ft
Modèle	2	775,125	387,562	0,362	0,701	3.47
Erreur	21	22480,833	1070,516			
Total corrigé	23	23255,958				

## Annexes

Tableau 63 : Paramètre du modèle

Source	Valeur	Erreur standard	t	Pr >  t	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Constante	33,167	13,357	2,483	0,022	5,388	60,945
TO	10,500	17,244	0,609	0,549	-25,361	46,361
HM	14,500	17,244	0,841	0,410	-21,361	50,361
TB	0,000	0,000				

La valeur de  $F < F_t$  nous devons donc accepter l'hypothèse nulle  $H_0$  et conclure qu'il n'y a pas de différence significative entre les différentes stations.

NB :  $F_t$  c'est la variable de Fisher-Snedecor  $F(v_1 ; v_2)$  ayant la probabilité 0.05 d'être dépassée.

### II. Courbes d'étalonnage obtenus lors du dosage des phénols totaux et les flavonoïdes

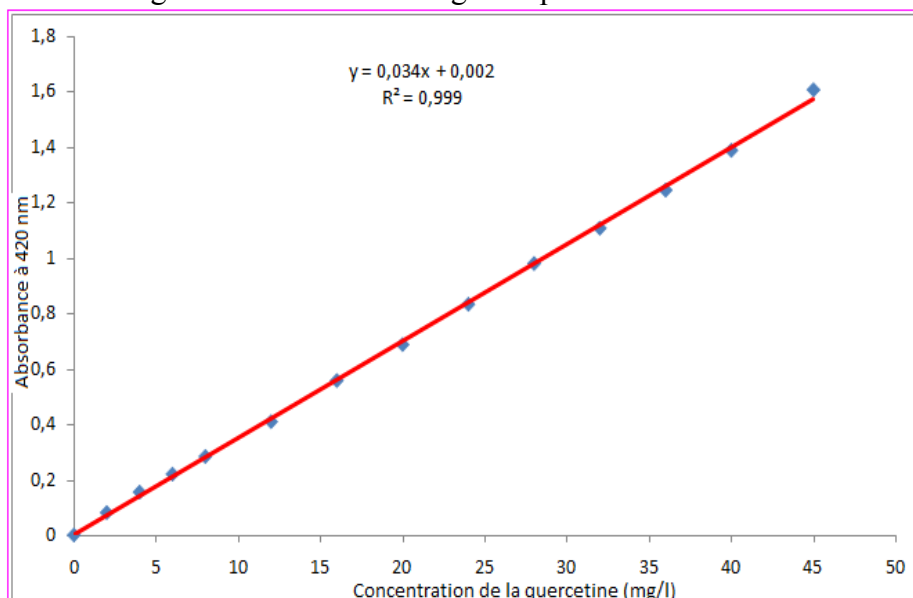


Figure 36 : Courbe d'étalonnage de la quercetine

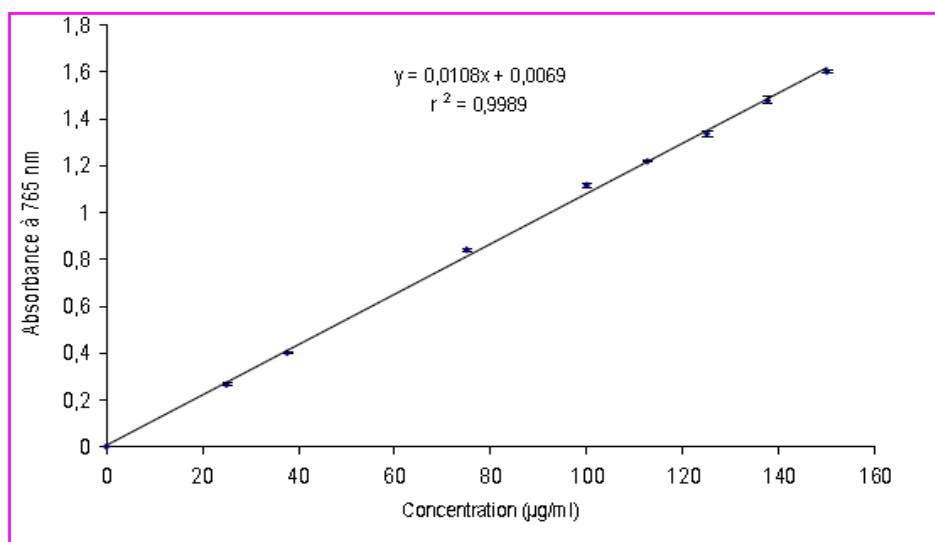
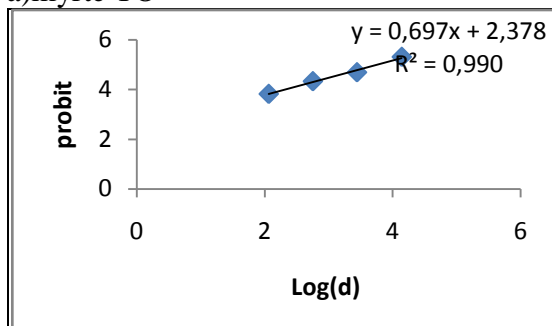


Figure 37 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

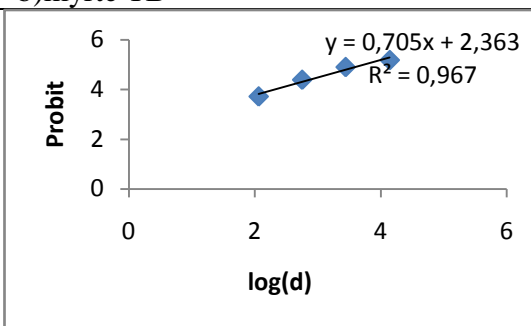
## Annexes

### III. Activité insecticide : calcul de DL<sub>50</sub>, DL<sub>90</sub> et TL<sub>50</sub>.

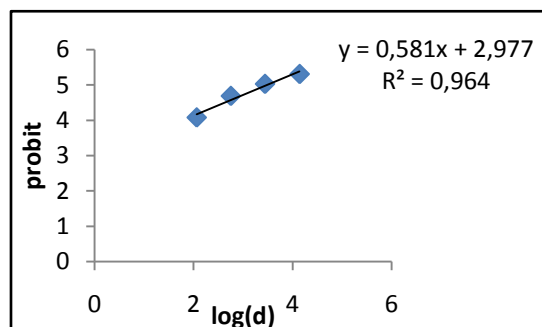
a) myrte TO



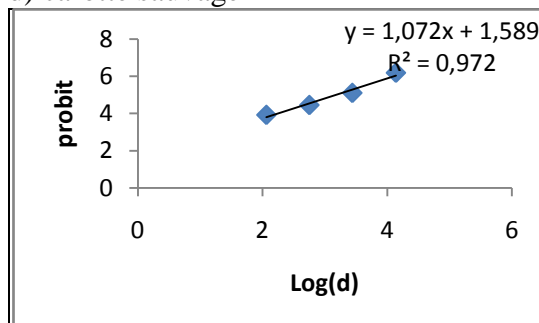
b) myrte TB



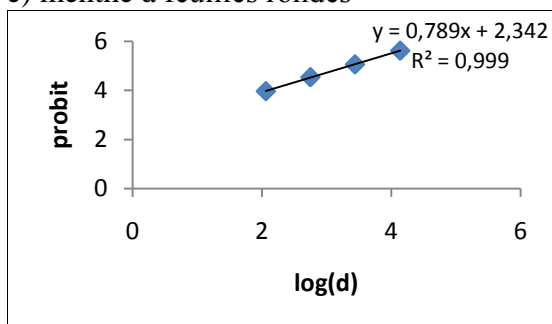
c) myrte HM



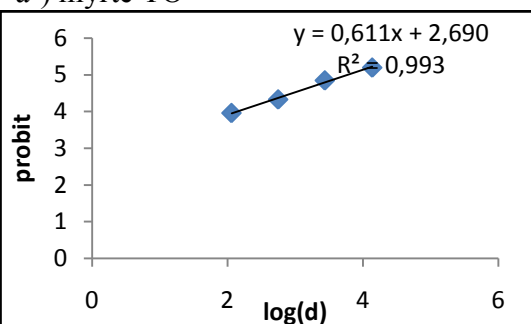
d) carotte sauvage



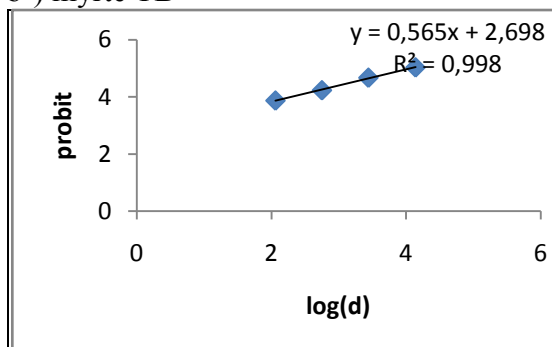
e) menthe à feuilles rondes



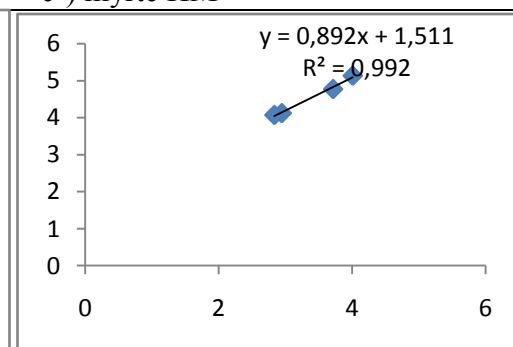
a') myrte TO



b') myrte TB



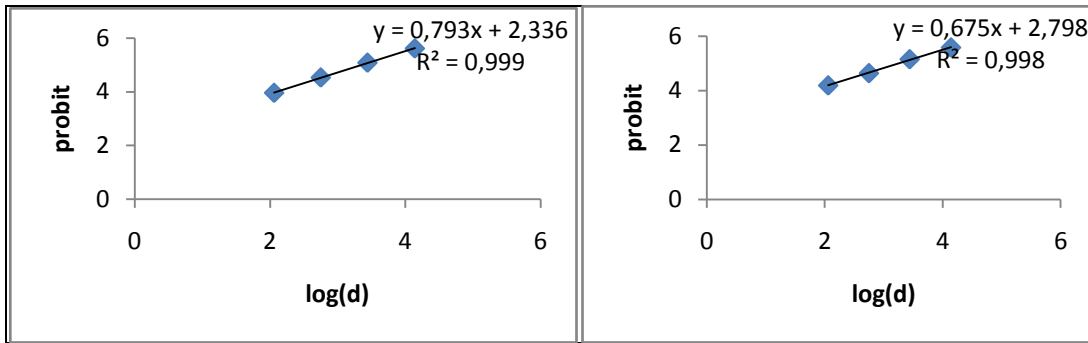
c') myrte HM



d') carotte

e') menthe à feuilles rondes

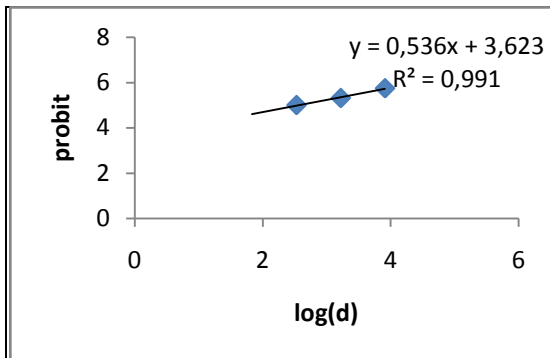
## Annexes



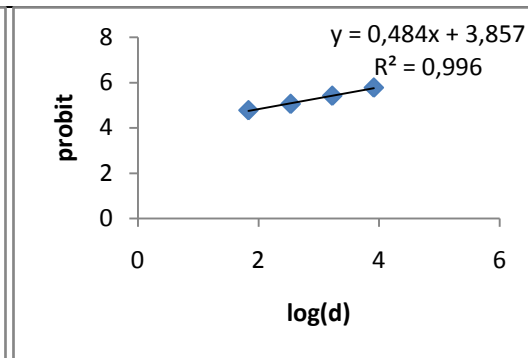
a-b-c-d-e : *S.oryzae*  
 a'-b'-c'-d'-e' : *T.confusum*

**Figure : Droites de régression obtenues par la relation log(dose)-Probit des extraits méthanoliques des plantes testées par effet contact à l'égard de *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*.**

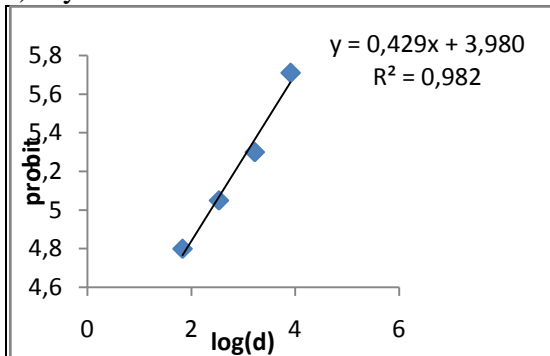
a) myrte TB



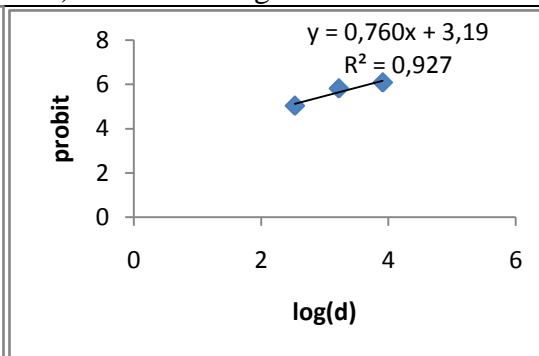
b) myrte TO



c) myrte HM



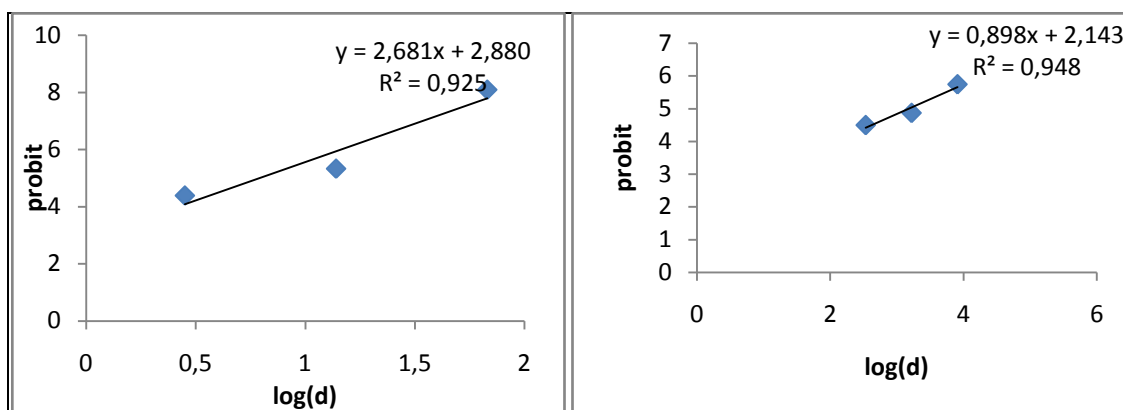
d) Carotte sauvage



e) menthe à feuille rondes

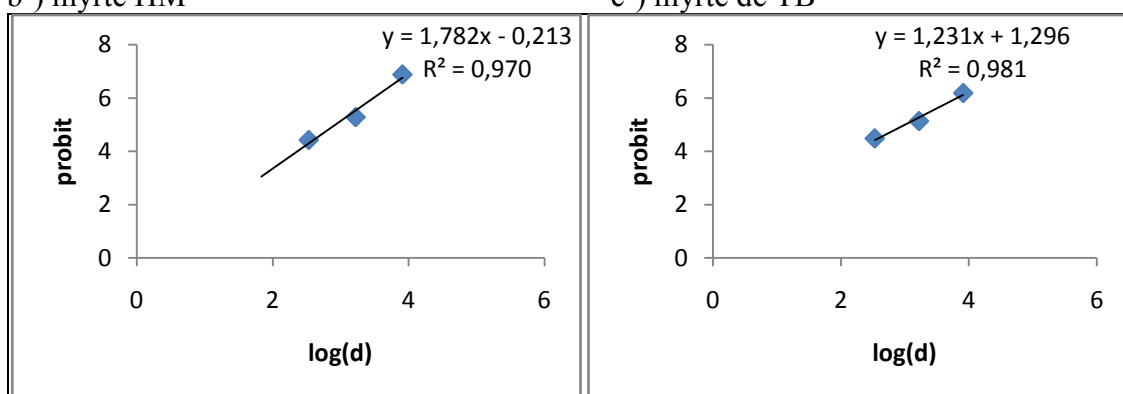
a') myrte TO

## Annexes



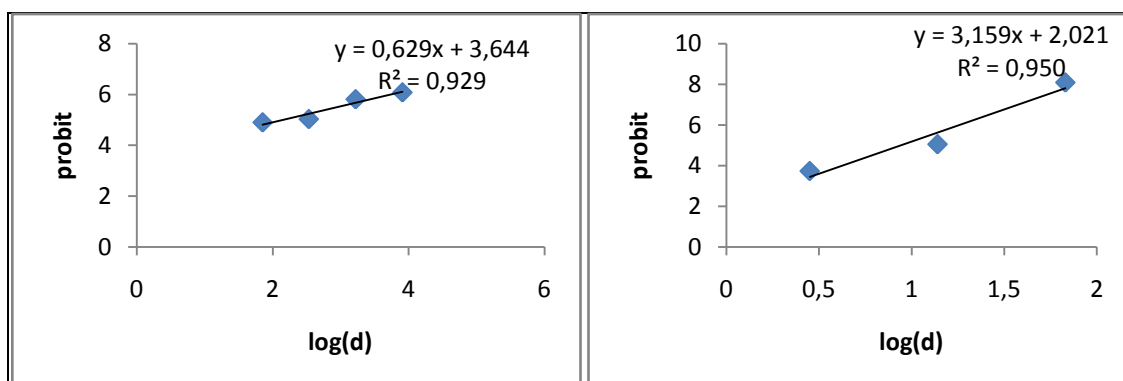
b') myrte HM

c') myrte de TB



d') carotte sauvage

e') menthe à feuilles rondes



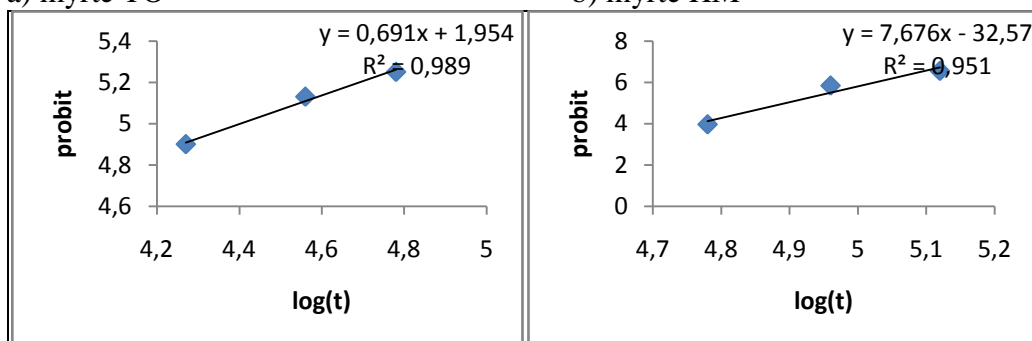
a-b-c-d-e : *S.oryzae*

a'-b'-c'-d'-e' : *T.confusum*

**Figure : Droites de régression obtenues par la relation  $\log(\text{dose})$ -Probit des HE des plantes testées par effet contact à l'égard de *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*.**

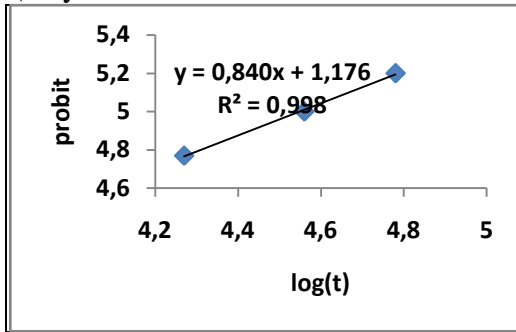
a) myrte TO

b) myrte HM

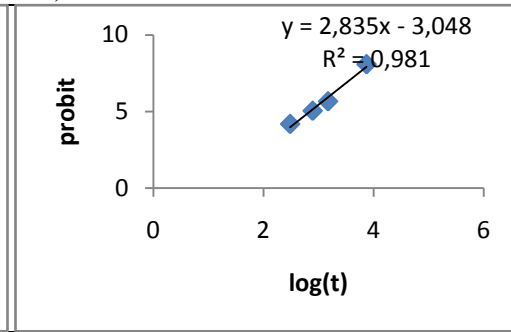


## Annexes

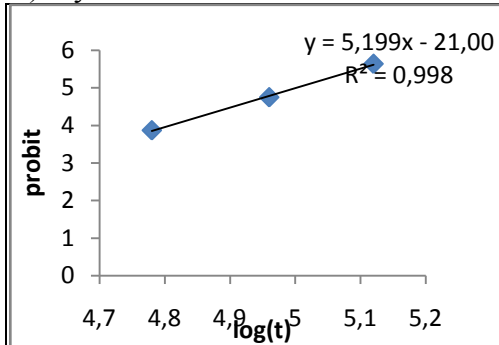
c) myrte TB



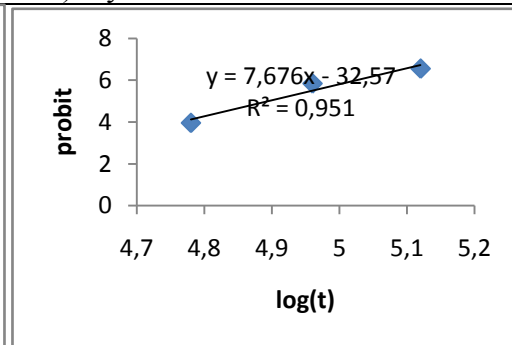
d) menthe à feuilles rondes



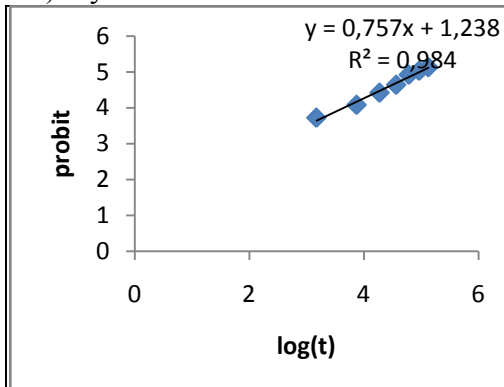
a') myrte TO



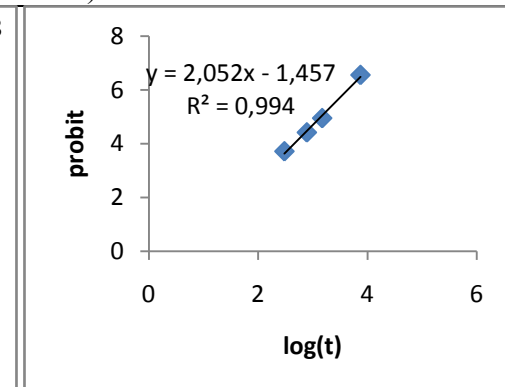
b') myrte TB



c') myrte HM



d') menthe à feuilles rondes



a-b-c-d-e : *S.oryzae*

a'-b'-c'-d'-e' : *T.confusum*

**Figure :** Droites de régression obtenues par la relation  $\log(\text{temps})$ -Probit des HE des plantes testées par effet inhalation à l'égard de *Sitophilus oryzae* et *Tribolium confusum*.

**Tableau :** Table de transformation du pourcentage des mortalités en probit

## Annexes

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

## Résumé

Notre travail consiste à étudier la composition chimique et l'activité biologique des extraits de trois plantes aromatiques : *M.communis* L, *Mentha rotundifolia* L et *Daucus carota* ssp. *carota* L les extraits de trois échantillons de *Myrtus communis* L ont été étudiés.

Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation les extraits sont obtenus au soxlet.

Le dosage des phénols totaux est variable d'un échantillon à un autre. La teneur la plus élevée est constatée dans le myrte provenant de Tablat ( $83.03 \pm 1.89$  mg GAE/g MS), suivi du myrte provenant de Tizi ouzou et H.Melouane ( $78.79 \pm 2.95$  et  $75.12 \pm 2.97$  mg GAE/g MS) respectivement. La menthe à feuilles rondes représente 87.12 mg GAE/g MS et 9.96 mg GAE/g MS seulement pour la carotte sauvage. Les flavonoïdes ont été obtenus avec des teneurs qui s'étalent entre 16 et 21 mg EQ/g d'extrait pour le genre myrtus et elle est de 16.21 et 8.5 pour la menthe et la carotte resp. L'analyse chimique par CG et CG/SM révèle la richesse du myrte étudié par  $\alpha$ -pinène et limonène. L'HE de la menthe est caractérisée par la teneur élevée en cétone (75.4%) et celle de la carotte sauvage est riche en carotol (48.4%).

L'activité insecticide des extraits sont testés vis-à-vis du *S.oryzae* et *T.confusum*. Les résultats obtenus révèlent l'effet toxique des HE contrairement aux extraits méthanoliques.

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par trois méthodes ; la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH ainsi que l'ABTS. Elle est élevée dans les extraits méthanoliques et faible pour les différentes huiles étudiées.

L'activité antimicrobienne des HE testées ont manifesté un potentiel biocide variable d'un germe à un autre et en fonction de la plante utilisée.

Les résultats de l'activité insecticide des extraits méthanoliques est faible contrairement à celle des HE qui est satisfaisante notamment celle de la menthe qui a présenté des résultats prometteurs.

**Mots clé :** plante aromatique, huile essential, extrait méthanolique, activité biologique, CG, CG/SM.

## Abstract

This study was designed to examine the chemical composition and biological activity of the plant extracts of *Myrtus communis* grown in three different areas of Algeria, *Mentha rotundifolia* L and *Daucus carota* ssp. *carota*. The essential oil of different plants was obtained by hydrodistillation and methanolic extracts obtained by soxhlet. Methanol extract of different plants was analyzed in terms of the dosage in total phenolic and flavonoids contents. Gallic acid equivalent representing total phenolic constituents of methanolic extracts were 78.79, 75 and 83.03 mg GAE/g, it was 87.12 and 6.96 mg GAE/g about *M.rotundifolia* and *D.carota* respectively; the Quercetin equivalent representing total flavonoids were 21.61, 16.81 and 17.42 mg QE/g of myrtle from Tizi Ouzou, Hamam Melouan and Tablat respectively and it was 16.21, 8.5 mg QE/g about *M.rotundifolia* and *D.carota* ssp. *Carota* respectively. Essential oil subsequently analysed by GC-MS. It was characterized by high proportions of  $\alpha$ -pinene and limonene, the main compound of *M. rotundifolia* is cetone (75%) and the carotol (48.5%) is the main compound of *D. carota*. The antioxidant potential of the samples was evaluated



using three separate methods, inhibition of free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-Azino-bis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) bradical-scavenging activity (ABTS) and Reducing power. The results showed the existence of an antioxydant activity of the methanolic extracts of different plants but oil essentialware less effective. 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. The samples were tested for their insecticidal activities against adults of *Sitophilus oryzae* and *Tribolium confusum*, using direct contact application and fumigation methods. The methanolic extract showed less effective than essential oils.

**Keywords:** aromatic plant, essential oil, methanolic extract, biological activity, CG,CG/SM.

## ملخص

من اجل المساهمة في تثمين النباتات المحلية ذات الأهمية البالغة قمنا بدراسة كل من:

- نبتة الريحان *M. communis* L
  - نبتة النعناع دائرية الأوراق *M. rotundifolia* L
  - نبتة الجزر غير المغروس *D. carota subsp. carota* L
- من خلال هذه الدراسة تم استخلاص الزيوت الطيارة بواسطة عملية التقطير بالماء وكانت النتائج كما يلي:
- بالنسبة للريحان المقطوف من تيزي وزو، تابلاط، وحمام ملوان تم ضبط المحتوى الكيميائي لهذه الزيوت بواسطة CG ,CG/SM وتبين ان هذه النبتة غنية ب  $\alpha$ - pinène و limonene.
  - النعناع غني بالأستون piperitone oxide و cis piperitone oxide
  - الجزر غني carotol و B.Bisabolene
- كما لفت انتباهنا المستخلص الميتانولي لجميع النباتات المذكورة حيث تم تغيير الفينولات المتنوعة الكلية وكمية الفلافونويدات. كما تم كذلك دراسة كل من النشاط المضاد للاكسدة والنشاط المضاد للمكروبات والحشرات *S. oryzae*, *T. confusum*، حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها ان جميع المستخلصات الميتانولية لها قدرة عالية على استرجاع الجذور الحرة عكس الزيوت الأساسية. كما برهنت النتائج على فعالية الزيوت الطيارة ضد المكروبات والحشرات المستعملة في هذه الدراسة خاصة الزيت المستخلص من نبتة النعناع *M. rotundifolia* الكلمات المفتاحية نباتات معطرة-زيوت اساسية-مستخلص متانولي-نشاط بيولوجي. CG, CG/SM