

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية
الحراش - الجزائر -
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE (ENSA)
EL-HARRACH – ALGER



Thèse

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences
Agronomiques

Thème

Effet de l'addition de thymol ou de carvacrol sur l'activité biologique
des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et d'*Ammoides
atlantica* et de l'effet de l'irradiation gamma sur la composition
chimique et l'activité antioxydante d'extraits de *Thymus algeriensis*

Présentée par : Mme LATRECHE – DOUAR Sabrina

Soutenue le : 22 – 06 – 2019.

Devant le jury composé de :

Président :	M. BENCHABANE Ahmed	Professeur à l'ENSA
Directeur de thèse :	M. HAZZIT Mohamed	Professeur à l'ENSA
Examineurs :	Mme MOUHOUCHE Fazia	Professeur à l'ENSA
	Mme SAHRAOUI Naima	MCA à l'USTHB
	M. BENKACI-ALI Farid	Professeur à l'USTHB
	M. FERHAT Mohamed Amine	Professeur à l'ENS

Année universitaire 2018 - 2019

Remerciements

*Je tiens à remercier Monsieur **HAZZIT Mohamed**, Professeur à l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger), pour son encadrement, sa disponibilité et son sérieux. Son écoute, ses conseils et sa patience m'ont marqué à jamais. Merci encore.*

*Je suis reconnaissante à Monsieur **BENCHABANE Ahmed**, Professeur à l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger), de nous faire l'honneur de présider ce jury. Je tiens aussi à le remercier pour sa bonne humeur, son encouragement, et sa disponibilité tout au long de ce travail.*

*J'exprime toute notre gratitude à Madame **SAHRAOUI Naima**, Maître de conférences à l'USTHB, à Monsieur **FERHAT Mohamed-Amine**, professeur à l'ENS (Kouba), et à Monsieur **BENKACI ALI Farid**, professeur à l'USTHB, pour avoir bien voulu examiner ce travail et être membre du jury.*

*Je tiens à remercier particulièrement Madame **MOUHOUCHE Fazia**, Professeur à l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger) pour avoir accepté d'examiner ce travail et être membre du jury, mais surtout pour son écoute, ses précieux conseils, son encouragement et ses pensées positives. Elle est et sera pour toujours un exemple de réussite pour moi.*

J'associe mes remerciements à l'ensemble des membres du département de Technologie Alimentaire pour l'ambiance chaleureuse et pour nos échanges enrichissants, ainsi qu'à tous mes amis (es).

*Je ne saurais oublier de remercier toutes les personnes qui m'ont aidés, en particulier **Mohammed**, Technicien au laboratoire d'analyse instrumentale, pour la confiance et le soutien dont il m'a fait preuve.*

Enfin, j'exprime mes affectueuses pensées particulièrement à mes parents, mes enfants, et mes proches qui m'ont soutenus et encouragés tout au long de ce travail.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

Partie I : Recherche bibliographique

Chapitre I : Plantes médicinales et principes actifs..... 4

I. Les plantes médicinales..... 4

I.1. Introduction..... 4

I.2. La valeur d'une plante médicinale..... 4

I.3. Estimation du nombre d'espèce de plantes médicinales dans le monde..... 4

I.4. Marché des plantes médicinales..... 5

I.5. Utilisation des plantes médicinales en Algérie..... 5

I.6. Diversité des plantes aromatiques en Algérie..... 6

I.7. Plantes médicinales les plus utilisées en Algérie..... 6

I.8. Les habitats menacés des plantes médicinales..... 7

II. Principes actifs des plantes aromatiques et médicinales..... 8

II.1. Les huiles essentielles..... 8

II.1.1. Historique..... 8

II.1.2. Définition générale d'une " huile essentielle "..... 8

II.1.3. Propriétés physico-chimiques..... 9

II.1.4. Composition chimique..... 9

II.1.5. Distribution et localisation des huiles essentielles..... 11

II.1.6. Fonctions biologiques des huiles essentielles..... 11

II.1.7. Facteurs de variation de la composition chimique..... 11

II.1.8. Utilisation des huiles essentielles..... 12

II.1.9. Toxicité des huiles essentielles..... 13

II.1.10. Conservation des huiles essentielles..... 13

II.1.11. Procédés d'extraction..... 14

II.1.12. Analyse des huiles essentielles..... 16

II.2. Les composés actifs.....	17
II.3. Les alcaloïdes.....	18
II.4. Les composés phénoliques.....	18
Chapitre II : Activités biologiques des plantes médicinales.....	24
I. Activité antioxydante.....	24
I.1. Introduction.....	24
I.2. Déclenchement de l'oxydation.....	24
I.3. Oxydation des corps gras.....	24
I.4. Conséquences de l'oxydation.....	28
I.5. Conséquences des peroxydations lipidiques.....	28
I.6. Prévention contre l'oxydation.....	28
I.7. L'inhibition de l'oxydation des lipides.....	28
I.8. Les antioxygènes ou antioxydants.....	28
I.9. Mesure du degré d'oxydation et du pouvoir antioxydant.....	31
II. Activité bio insecticide.....	33
II.1. Introduction.....	33
II.2. Biopesticides d'origine végétale.....	33
II.3. Avantages des biopesticides d'origine végétale.....	34
II.4. Utilisation des huiles essentielles.....	34
III. Activité antimicrobienne.....	38
III.1. Introduction.....	38
III.2. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles.....	38
III.3. Propriétés antifongiques des huiles essentielles.....	39
III.4. Propriétés antivirales.....	40
III.5. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles.....	40
III.6. Méthodes d'évaluation.....	40
III.7. Limite des méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	42
III.8. Facteurs déterminants l'efficacité de l'activité antimicrobienne.....	42
III.9. Effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles.....	43

Chapitre III : Monographie des plantes et des espèces étudiées	44
I. Monographie de <i>Juniperus</i>	44
I.1. Généralités sur le genre <i>Juniperus</i>	44
I.2. Caractéristiques du genre <i>Juniperus</i>	44
I.3. Classification botanique.....	45
I.4. Répartition géographique.....	45
I.5. Composition chimique des huiles essentielles du genévrier.....	45
I.6. Propriétés pharmacologiques du genre <i>Juniperus</i>	46
I.7. <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	46
II. Monographie de <i>Thymus</i>	47
II.1. Historique.....	47
II.2. Etymologie.....	48
II.3. Classification.....	48
II.4. Variabilité et origine.....	49
II.5. Description morphologique.....	49
II.6. Propriétés du thym.....	49
II.7. L'huile essentielle de thym.....	49
III. Monographie d' <i>Origanum</i>	50
III.1. Historique.....	50
III.2. Classification botanique.....	51
III.3. Description botanique.....	51
III.4. Répartition géographique.....	51
III.5. Huile essentielle d'origan.....	52
IV. Monographie d' <i>Ammoides</i>	52
IV.1. Description.....	52
IV.2. Classification botanique.....	52
IV.3. <i>Ammoides atlantica</i> (Coss. et Dur.) Wolf.....	53
IV.4. Utilisation thérapeutiques.....	54
V. Monographie de <i>Callosobruchus</i>	54

V.1. Généralités sur les insectes phytophages.....	54
V.2. Caractères généraux de la famille des Bruchidae.....	55
V.3. Présentation de <i>Callosobruchus maculatus</i> F.....	55
V.3.1. Position systématique.....	55
V.3.2. Position phylogénétique.....	56
V.3.3. Dénomination.....	57
V.3.4. Origine.....	57
V.3.5. Répartition géographique.....	57
V.3.6. Biologie.....	57
V.3.7. Cycle de développement.....	58
V.3.8. Stade de développement.....	58
V.3.9. Dimorphisme sexuel.....	60
V.3.10. Polymorphisme imaginal.....	61
V.4. Dégâts occasionnés.....	61
V.5. Lutte contre <i>C. maculatus</i> F. par les plantes.....	63
VI. Monographie de la graine hôte <i>Cicer arietinum</i> L.....	64
VII. Monographie des micro-organismes étudiés.....	65
Chapitre IV : Traitement par irradiation.....	67
V.1. Généralités.....	67
IV.2. Historique.....	67
IV.3. Définition du rayonnement.....	68
IV.4. Définition de la dose absorbée.....	68
IV.5. Type des rayonnements ionisants utilisés par l'industrie agroalimentaire.....	68
IV.6. Les rayons Gamma.....	69
IV.6.1. La nature des radiations Gamma.....	69
IV.6.2. Avantages des radiations gamma.....	69
IV.6.3. Catégories de la dose des rayonnements.....	69
IV.7. Domaine d'utilisation de l'irradiation.....	70
IV.8. Avantages du traitement par ionisation.....	71

IV.9. Conséquences biologiques du traitement par ionisation.....	71
--	----

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes.....	72
--	-----------

I.1. Introduction.....	72
------------------------	----

I.2. Plantes médicinales et aromatiques étudiées.....	72
---	----

I.3. Extraction des huiles essentielles.....	75
--	----

I.4. Extraction de la fraction non volatile.....	75
--	----

I.5. Addition de thymol ou de carvacrol à l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i>	76
--	----

I.6. Enrichissement de l'huile essentielle des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> avec du thymol...76
--

I.7. Irradiation de <i>Thymus algeriensis</i>	76
---	----

I.8. Analyse qualitative et semi qualitative des huiles essentielles.....	78
---	----

I.8.1. Analyse qualitative des huiles essentielles par CPG.....	79
---	----

I.8.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM).....	79
--	----

I.9. Identification des composés.....	80
---------------------------------------	----

I.10. Dosage des phénols et des flavonoïdes totaux.....	80
---	----

I.11. Activité antioxydante.....	83
----------------------------------	----

I.11.1. Pouvoir de piégeage du radical libre positif ABTS ^{•+}	83
---	----

I.11.2. Pouvoir de piégeage du radical libre DPPH [•]	85
--	----

I.11.3. Substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS).....	86
--	----

I.11.4. Pouvoir réducteur.....	89
--------------------------------	----

I.12. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>90
--

I.12.1. Milieux de culture et méthodes utilisés.....	91
--	----

I.12.2. Préparation des suspensions microbiennes et des disques.....	92
--	----

I.12.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	92
--	----

I.12.3.1. Etude qualitative de l'effet antimicrobien des échantillons d'HE étudiée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme).....	92
---	----

I.12.3.2. Étude quantitative de l'effet antimicrobien des différents échantillons d'huile essentielle testée par la méthode de dilution en milieu solide.....	95
---	----

I.13. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> sur son activité insecticide.....	98
---	----

I.13.1. Matériels biologiques.....	99
I.13.1.1. Matériel végétal.....	99
I.13.1.2. Matériel entomologique.....	99
I.13.2. Choix des doses expérimentales.....	101
I.13.3. Choix du solvant.....	102
I.13.4. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>A. atlantica</i> sur sa toxicité vis-à-vis de <i>Callosobrochus maculatus</i>	103
I.13.4.1. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>A. atlantica</i> sur sa toxicité par contact.....	103
I.13.4.2. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>A. atlantica</i> sur sa toxicité par inhalation.....	105
I.13.4.3. Détermination de l'effet des doses sublétales (DL ₃₀ et DL ₅₀) des HE supplémentées sur des paramètres biologiques.....	107
I.13.4.3.1. Effet sur la fécondité.....	107
I.13.4.3.2. Effet sur la fertilité.....	108
I.13.4.3.3. Effet sur l'émergence.....	108
I.13.4.3.4. Effet sur le sex-ratio.....	109
I.13.5. Expression des résultats.....	109
I.13.5.1. Calcul du pourcentage d'éclosion.....	109
I.13.5.2. Calcul du pourcentage d'émergence.....	109
I.13.5.3. Calcul du pourcentage de mortalité corrigée.....	109
I.13.5.4. Calcul des doses et des temps létaux.....	110
I.13.5.5. Evaluation du pourcentage d'émergence.....	110
I.13.5.6. Evaluation du sex-ratio.....	111
I.13.6. Analyse statistique.....	111
Chapitre II : Résultats et discussion.....	112
I. Effet de l'irradiation gamma sur la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de <i>Thymus algeriensis</i> Boiss. et Reut.....	112
I.1. Introduction.....	112
I.2. Effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles.....	113
I.3. Effet du rayonnement gamma sur les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes.....	123

I.4. Effet du rayonnement gamma sur l'activité antioxydante.....	126
I.5. Conclusion.....	131
II. Effets de l'addition du thymol sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles des baies du genévrier rouge (<i>Juniperus phoenicea</i>).....	132
II.1. Introduction.....	132
II.2. Composition chimique des huiles essentielles des baies du genévrier rouge.....	132
II.3. Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	140
II.4. Effet de l'addition de thymol sur les activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	144
II.4.1. Effet de l'addition de thymol sur l'activité antioxydante.....	144
II.4.1.1. Effet de l'addition de thymol sur l'activité d'inhibition du radical DPPH.....	144
II.4.1.2. Effet de l'addition de thymol sur l'activité d'inhibition du radical positif ABTS ^{•+}	147
II.4.1.3. Effet de l'addition de thymol sur l'inhibition de la peroxydation lipidique.....	149
II.4.1.4. Effet de l'addition de thymol sur le pouvoir réducteur.....	151
II.4.1.5. Effet de l'addition de thymol sur l'activité antioxydante exprimée en IC ₅₀	155
II.4.2. Évaluation de l'effet de l'addition de thymol sur l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>J. phoenicea</i>	159
II.4.2.1. Étude qualitative.....	159
II.4.2.2. Étude quantitative.....	163
III. Effets de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité antioxydante et insecticide de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> (Coss. et Dur.) Wolf.....	168
III.1. Introduction.....	168
III.2. Rendement et composition chimique.....	168
III.3. Effet de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i>	172
III.3.1. Effet de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité d'inhibition du radical DPPH.....	172
III.3.2. Effet de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité de piégeage du radical ABTS ^{•+}	176
IV. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> (Coss. et Dur.) Wolf. avec du thymol ou du carvacrol sur son activité insecticide.....	179
IV.1. Introduction.....	179

IV.2. Test de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle sur la mortalité des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> F. par contact.....	179
IV.2.1. Observation de l'effet du traitement par contact avec les différents échantillons d'HE seules et enrichies sur la symptomatologie de l'intoxication de <i>C. maculatus</i>	179
IV.2.2. Effet de la supplémentation de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> sur la mortalité de <i>C. maculatus</i> traité par contact.....	180
IV.2.3. Effet des doses sublétales lors de l'essai contact.....	181
IV.3. Effet de la supplémentation de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> sur la mortalité de <i>Callosobruchus maculatus</i> traités par inhalation.....	184
IV.3.1. Résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée.....	184
IV.3.2. Observation du comportement des adultes de <i>C. maculatus</i> traités par l'inhalation d'HE d' <i>A. atlantica</i> supplémentées avec du thymol ou du carvacrol.....	185
IV.3.3. Détermination des temps létaux.....	189
IV.4. Effet de la supplémentation de l'huile essentielle avec du thymol ou du carvacrol sur la fécondité des femelles.....	191
IV.4.1. Résultats de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle sur le total des œufs pondus.....	192
IV.4.2. L'effet de la supplémentation sur le nombre d'œufs pondus par femelle.....	192
IV.4.3. Effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> sur l'évolution dans le temps de la fécondité des femelles de <i>C. maculatus</i>	193
IV.5. Effet de la supplémentation de l'huile essentielle sur la fertilité des femelles de <i>Callosobruchus maculatus</i>	196
IV.5.1. Résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d' <i>A. atlantica</i> sur le taux d'éclosion.....	196
IV.5.2. Observations de l'effet de l'enrichissement de l'HE d' <i>A. atlantica</i> sur l'évolution des œufs de <i>C. maculatus</i>	198
IV.6. Test de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>A. atlantica</i> sur l'émergence des adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i>	203
IV.6.1. Evaluation du pourcentage d'émergence.....	203
IV.6.2. Evaluation de la moyenne des émergences par jour.....	204
IV.6.3. Evaluation du sex-ratio.....	207
Conclusion générale	208

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de quelques huiles essentielles.....	10
Tableau 2 : Propriétés des antioxygènes.....	31
Tableau 3 : Répartition géographique des espèces d'origan en Algérie.....	52
Tableau 4 : Les principaux effets obtenus par des doses efficaces d'irradiation.....	70
Tableau 5 : Plantes médicinales et aromatiques utilisées dans cette étude.....	74
Tableau 6 : Quantités relatives (%) du thymol et du carvacrol dans l'huile essentielle (HE) d' <i>Ammoides atlantica</i> pure et celles additionnées.....	76
Tableau 7 : Temps d'irradiation aux rayonnements gamma des feuilles de <i>T. algeriensis</i>	78
Tableau 8 : Souches ATCC utilisées pour le test de l'activité antimicrobienne.....	91
Tableau 9 : Doses retenues pour les différents tests des échantillons d'huiles essentielles d' <i>Ammoides atlantica</i>	102
Tableau 10 : Composition chimique (%) des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> irradié à des doses de 0, de 10, 20 et de 30 kGy.....	115
Tableau 11 : Phénols totaux (mg EAG/g Extrait), flavonoïdes totaux (mg EQ/g Extrait) et rendements % (g extrait/g de matière sèche) des extraits éthanolique de <i>T. algeriensis</i> (moyennes ± écart type).....	125
Tableau 12 : Activité antioxydante (exprimée en IC_{50} (mg L ⁻¹)) du BHT, des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de <i>T. algeriensis</i> irradié par le rayonnement gamma à différentes doses (0, 10, 20 et 30 kGy).....	127
Tableau 13 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> de la région Soummam (Algérie).....	133
Tableau 14 : Principaux composés ($\geq 5\%$) des huiles essentielles des baies de <i>J. phoenicea</i> issu de différents pays et de différentes régions d'Algérie.....	139

Liste des tableaux

Tableau 15 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle de l'origan (<i>Origanum floribundum</i>).....	141
Tableau 16 : Activité d'inhibition du radical DPPH (%) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles pures des baies de genévrier rouge et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30, et 50 %).....	144
Tableau 17 : Résultats du test du pouvoir réducteur (exprimé en absorbance à 700 nm) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles pures du genévrier rouge et de celles additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).....	152
Tableau 18 : Activité antioxydante exprimée en IC ₅₀ (mg/L) des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> pure et supplémentées avec 10, 30 et 50 % de thymol comparée à celle du thymol et de l'huile essentielle de l'origan.....	156
Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> (pure et additionnée de 30 % de thymol) comparés à ceux du thymol seul et de l'HE de l'origan (<i>Origanum floribundum</i>).....	160
Tableau 20 : Échelle de mesure de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle.....	161
Tableau 21 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI en %) des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> (pure et additionnée de 30 % de thymol) comparées à celle du thymol seul et de l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	164
Tableau 22 : Concentrations Minimales Bactéricides (CMB en %) de l'HE seule de <i>Juniperus phoenicea</i> et de celle additionnée de 30 % de thymol comparées à celles du thymol et de l'HE d' <i>Origanum floribundum</i>	166
Tableau 23 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> (Coss. et Dur.) Wolf.....	169
Tableau 24 : Principaux composés chimiques (%) des huiles essentielles d'espèces d' <i>Ammoides</i> issues de différentes origines d'Algérie.....	171
Tableau 25 : Comparaison des sex-ratio (SR) obtenus pour les différents échantillons étudiés.....	207

Liste des figures

Figure 1 : Structure du flavone.....	20
Figure 2 : Structure du flavane.....	20
Figure 3 : Exemple de tannins hydrolysables : le penta-O-galloyl- β -D-glucose.....	22
Figure 4 : Structure des tannins condensés.....	22
Figure 5 : Phase d'initiation.....	25
Figure 6 : Phase de propagation.....	26
Figure 7 : Phase de terminaison.....	26
Figure 8 : Action des antioxydants appelés « Chain breaking ».....	26
Figure 9 : Formation d'un radical capable de réagir avec l'oxygène.....	27
Figure 10 : Formation de l'oxygène singulet.....	27
Figure 11 : Formation de l'hydropéroxyde (ROOH).....	27
Figure 12 : Formation d'un radical libre antioxygène.....	29
Figure 13 : Technique de micro-atmosphère.....	42
Figure 14 : Larve de <i>Callosobruchus maculatus</i> F. (Gr.40 x 0,8).....	59
Figure 15 : Bruches adultes.....	60
Figure 16 : Dimorphisme sexuel chez les adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i>	60
Figure 17 : Adultes de <i>C. maculatus</i> : forme voilière mâle et femelle (C) \times 10.....	61
Figure 18 : Dégâts occasionnés par <i>Callosobruchus maculatus</i> F. sur des grains de pois chiche commercial (Original) (Gr. 10 x 4).....	62
Figure 19 : <i>Origanum floribundum</i> Munby.....	73
Figure 20 : Baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	73
Figure 21 : Aspect du <i>Juniperus phoenicea</i> dans une forêt.....	74
Figure 22 : Schéma de l'irradiateur pilote du CRNA (Centre de Recherche Nucléaire d'Alger) utilisé pour l'irradiation de <i>T. algeriensis</i>	77
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	81
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	83
Figure 25 : Réaction du radical cationique ABTS ^{•+} en présence d'un antioxydant.....	84
Figure 26 : Réaction du radical DPPH [•] avec un antioxydant AH.....	85
Figure 27 : Réaction de l'acide thiobarbiturique (TBARS) avec le malondialdéhyde (MA)...	87

Figure 28 : Protocole expérimental du test des substances réactives au TBARS.....	88
Figure 29 : Schéma du protocole expérimental du test d'évaluation du pouvoir réducteur.....	90
Figure 30 : Représentation de la zone d'inhibition des germes autour du disque imprégné d'huile essentielle.....	93
Figure 31 : Partage des boîtes de Pétri pour la détermination de la CMI.....	97
Figure 32 : Élevage en masse de <i>C. maculatus</i> dans des bocaux en verre placés dans une étuve obscure à une température de $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ et à une humidité de $70\pm 5\%$	100
Figure 33 : Obtention des adultes de bruches âgés de 24H à partir des tamisages quotidiens des graines secs de pois chiches infestées.....	101
Figure 34 : Évaluation de la toxicité par contact des huiles essentielles d' <i>Ammoides atlantica</i> seules et enrichies avec du thymol ou du carvacrol sur la bruche du niébé.....	104
Figure 35 : Traitement des pots par les huiles essentielles (seule et enrichie) pour le test d'évaluation de l'effet de la supplémentation de l'HE sur sa toxicité par inhalation.....	106
Figure 36 : Évaluation de l'effet de la supplémentation avec du thymol ou du carvacrol de l'HE d' <i>A. atlantica</i> sur sa toxicité par inhalation (après 6 heures) sur la bruche du niébé.....	106
Figure 37 : Chromatogramme GC-MS de l'huile essentielle de <i>Thymus algeriensis</i> non irradié. Les numéros des pics correspondent aux numéros d'ordre des composés du tableau 10.....	114
Figure 38 : Chromatogrammes GC-MS superposés des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> irradié à des doses de 0, 10, 20 et de 30 kGy.....	120
Figure 39 : Variations des teneurs des principaux composés des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> en fonction de la dose d'irradiation.....	122
Figure 40 : Activité antioxydante exprimée en IC_{50} (mg/L) du BHT et des huiles essentielles de <i>T. algeriensis</i> irradié aux doses de 0, 10, 20 et de 30 kGy.....	128
Figure 41 : Activité antioxydante exprimée en IC_{50} (mg/L) du BHT et des extraits éthanoliques de <i>T. algeriensis</i> irradié aux doses de 0, 10, 20 et 30 kGy.....	129
Figure 42 : Rendement % (v/m) en huile essentielle des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> de quelques régions d'Algérie et de certains pays.....	133
Figure 43 : Chromatogramme de l'huile essentielle des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> de la région Soummam (Algérie).....	138
Figure 44 : Chromatogramme (CG-SM) de l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	143
Figure 45 : Activité d'inhibition du radical DPPH (%) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles pures des baies du genévrier rouge et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).....	146
Figure 46 : Activité d'inhibition du radical positif $\text{ABTS}^{+\cdot}$ du thymol et des huiles essentielles des baies du genévrier rouge pure et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).....	148

Figure 47 : Inhibition de la peroxydation lipidique évaluée par le test TBARS du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles des baies du genévrier rouge pure et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).....	150
Figure 48 : Pouvoir réducteur (exprimé en absorbance à 700 nm) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan, des huiles essentielles pures du genévrier rouge et de celles additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30, et 50 %).....	153
Figure 49 : Activité antioxydante exprimée en IC50 (mg/L) des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> supplémentées avec 10, 30 et 50 % de thymol comparée à celle du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et de celle de <i>J. phoenicea</i> pure.....	157
Figure 50 : Zones d'inhibitions (mm) des HE de <i>J. phoenicea</i> (seule et enrichie avec 30 % de thymol) dans le cas de <i>Bacillus subtilis</i>	162
Figure 51 : Résultats de la CMI (%) de l'huile essentielle pure des baies de <i>J. phoenicea</i> testée sur quatre souches bactériennes.....	165
Figure 52 : Résultats de la CMI (%) de l'huile essentielle des baies de <i>J. phoenicea</i> enrichie avec une teneur de 30 % de thymol testée sur quatre souches bactériennes.....	165
Figure 53 : Chromatogramme CG/SM de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> (Coss. et Dur.) Wolf.....	170
Figure 54 : Inhibition du radical DPPH (%) par le BHT, le thymol, le carvacrol et par l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> seule et additionnée de thymol ou de carvacrol.....	173
Figure 55 : Concentrations inhibitrices de 50 % du radical DPPH (mg/L) des huiles essentielles seules d' <i>Ammoides atlantica</i> et additionnées de thymol ou de carvacrol comparées à celles du BHT, du thymol seul et du carvacrol seul.....	175
Figure 56 : Activités de piégeages du radical ABTS•+ (%) par l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> seule et celles supplémentées avec du thymol ou du carvacrol comparées à celles du thymol seul, du carvacrol seul et du trolox.....	176
Figure 57 : Activités de piégeage du radical ABTS•+ exprimées en IC50 (mg/L) par l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> seule et celles supplémentées avec du thymol ou du carvacrol comparées à celles du thymol seul, du carvacrol, et du trolox.....	177
Figure 58 : Effet de la supplémentation de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> avec du thymol et/ou du carvacrol sur l'évolution du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de <i>C. maculatus</i> traités par contact.....	180
Figure 59 : Doses sublétales (DL ₃₀) de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> supplémentée avec du thymol et de celle supplémentée avec du carvacrol comparée à la DL ₃₀ de l'HE seule utilisées lors du traitement par contact vis-à-vis de <i>C. maculatus</i>	182
Figure 60 : Doses sublétales (DL ₅₀) de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> supplémentée avec du thymol et de celle supplémentée avec du carvacrol comparée à la DL ₅₀ de l'HE seule utilisées lors du traitement par contact vis-à-vis de <i>C. maculatus</i>	183
Figure 61 : Effet de la supplémentation de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> avec du thymol ou du carvacrol sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de <i>C. maculatus</i> traités par inhalation.....	185

Figure 62 : Illustration de la différence de comportement entre les insectes de <i>C. maculatus</i> non traités (pots témoins) et ceux traités par inhalation avec de l'huile essentielle seule d' <i>Ammoides atlantica</i> après 6 heures d'exposition.....	186
Figure 63 : Illustration de la différence de comportement entre les insectes de <i>C. maculatus</i> non traités (pots témoins) et ceux traités par inhalation avec de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> supplémentée avec du thymol après 12 heures d'exposition.....	187
Figure 64 : Illustration de la différence de comportement entre les insectes de <i>C. maculatus</i> non traités (pots témoins) et ceux traités par inhalation avec de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> supplémentée avec du thymol après 48 heures d'exposition.....	188
Figure 65 : Effet de la supplémentation de l'HE d' <i>A. atlantica</i> avec du thymol ou du carvacrol sur les temps létaux (TL ₃₀) exprimés en heure.....	189
Figure 66 : Effet de la supplémentation de l'HE d' <i>A. atlantica</i> sur les temps létaux (TL ₅₀) exprimés en heure.....	190
Figure 67 : Effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> avec du thymol ou du carvacrol sur le total des œufs pondus jusqu'à la mort des femelles.....	192
Figure 68 : Effet de la supplémentation de l'huile essentielle d' <i>Ammoides atlantica</i> avec du thymol ou du carvacrol sur le nombre d'œufs pondus par femelle.....	193
Figure 69 : Comparaison de l'évolution dans le temps de l'effet de la supplémentation de l'HE d' <i>Ammoides atlantica</i> avec du thymol ou du carvacrol sur la fécondité des femelles dans le lot témoin et le lot traité avec l'HE seule à la DL ₃₀ des échantillons.....	194
Figure 70 : Taux d'éclosion maximale des œufs (en %) de <i>Callosobruchus maculatus</i> dans le lot témoin et les lots traités à la DL ₃₀ des différents échantillons d'HE (seule et supplémentée).....	197
Figure 71 : Œufs fraîchement pondus par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec différents échantillons d'HE d' <i>A. atlantica</i> (seule ou supplémentées avec du thymol ou du carvacrol) (Gr. x 40).....	198
Figure 72 : Œuf en phase d'avortement au 4eme jour pondu par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec l'HE d' <i>A. atlantica</i> supplémentée avec du carvacrol (Gr. x 40).....	198
Figure 73 : Éclosion au 5eme jour des œufs pondus par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec l'HE d' <i>A. atlantica</i> supplémentée avec du thymol (Gr. x 40).....	199
Figure 74 : Œufs au 7ème jour pondu par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec l'HE seule d' <i>A. atlantica</i> (Gr. x 40).....	199
Figure 75 : Œufs au 7ème jour pondu par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec l'HE d' <i>A. atlantica</i> supplémentée avec du thymol (Gr. x 40).....	199
Figure 76 : Éclosion au 22ème jour d'œufs pondus par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec l'HE seule d' <i>A. atlantica</i> (Gr. x 40).....	200
Figure 77 : Eclosion d'un œuf et avortement de l'autre au 22ème jour d'œufs pondus par une femelle de <i>C. maculatus</i> traitée avec l'HE d' <i>A. atlantica</i> supplémentée avec du thymol (Gr. x 40).....	200

- Figure 78 :** Avortement au 22 ème jour des œufs pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol (Gr. x 40).....201
- Figure 79 :** Œufs au 20ème jour pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol (Gr. x 40).....201
- Figure 80 :** Œuf au 20ème jour pondu par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE seule d'*A. atlantica* (Gr. x 40).....201
- Figure 81 :** Résultats de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur le pourcentage de l'émergence des adultes de *C. maculatus*.....203
- Figure 82 :** Effet de la supplémentation avec du carvacrol ou du thymol de l'HE d'*A. atlantica* sur l'émergence moyenne des adultes de *C. maculatus* par jour.....205

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

AGPI : Acide Gras Poly Insaturés.

AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique.

Amu : Atomic mass unit.

ARN : Acide Ribo Nucléique.

CEE : Comité Economique Européen.

Ci : Curie.

CPPARM : Comité des Plantes Aromatiques et Médicinales.

Europam : European Herb Growers Association.

FAO : organisation des nations unis pour l'alimentation.

FDA : Food and Drug Administration.

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme.

Gr. : Grossissement.

i.p.: intrapéritonéale.

IFEAT: International Federation of Essential oil And Aroma Trades.

IUCN/UICN : International Union for Conservation of Nature/Union Internationale pour la Conservation de la Nature.

KGy : Kilo Gray.

LDL : Low Density Lipoprotein.

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

P.O : par voie orale.

pH : potentiel d'Hydrogène.

PAM/PM : Plantes Aromatiques et Médicinales/Plantes Médicinales.

PPAM : Plantes à Parfums, Aromatiques et Médicinales.

psi : pound per square inch.

SED : Simultaneous Distillation Extraction.

TBARS : Thiobarbituric Acid Reactive Substances.

TBHQ : tert-butylhydroquinone.

TRAFFIC : wildlife trade monitoring network.

UV : ultra-violet.

WWF : World Wildlife Fund.

Introduction générale

Introduction générale

L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. Dans le Hoggar et en absence de médecins, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec ces plantes dont ils connaissent le secret transmis de père en fils. En Kabylie, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner (fumigation de feuilles d'eucalyptus contre la grippe). Dans la steppe pendant les transhumances, les nomades utilisent l'armoise blanche pour lutter contre les indigestions (**Mokkadem, 2004**). La richesse de l'Algérie en plantes aromatiques et médicinales fait que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique « fondamental » pour la connaissance et le savoir dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique « appliqué » dans le domaine de la valorisation des substances naturelles. Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont par ailleurs très intéressées par les propriétés des composés actifs des plantes aromatiques et médicinales d'autant plus qu'il s'agit d'aromatisants et de conservateurs naturels. De ce fait, beaucoup de chercheurs à travers le monde étudient leur potentiel en tant qu'agent de conservation (**Burt, 2004**). La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques et antibactériens naturels utilisés pour la conservation des aliments en raison de leurs innocuités et de l'émergence de microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques. De nombreux chercheurs ont mis en évidence l'efficacité de ces substances naturelles bioactives (**Yildirim et al., 2017 ; Puškárová et al., 2017**).

Les pesticides chimiques utilisés en agriculture représentent une menace sérieuse et un véritable risque environnemental (**Salem et al., 2018**). Ils ont par ailleurs des effets chroniques importants sur la santé humaine (maladies respiratoires, diabète, troubles génétiques et neurologiques), et sont des cancérogènes et des perturbateurs endocriniens (**Tago et al., 2014 ; Combarous, 2017**). La recommandation de l'OMS en faveur de l'élimination des fumigants classiques en 2005 dans les pays développés et en 2015 dans les pays en voie de développement (**Ketoh et al., 2004**), ouvre la voie à la recherche de nouveaux produits à faible répercussion écologique. Les recherches à l'heure actuelle s'orientent vers les PAM contenant des huiles essentielles qui agissent comme des phytopesticides naturels. L'efficacité des huiles essentielles

a été démontrée par les travaux de nombreux chercheurs (**Regnault-Roger et al., 1993 ; Ketoh, 1998 ; Tapondjou et al., 2003 ; Kellouche, 2005 ; Ngamo et Hance, 2007**).

D'autre part, les PAM sont sujettes à l'infestation par des insectes et à la contamination microbienne par des micro-organismes pathogènes lors de leur collecte, traitement, transport et stockage qui sont capables de provoquer des changements physiques ou chimiques dans leurs propriétés médicinales ou dans leurs métabolites. Plusieurs méthodes de décontamination existent mais le traitement le plus versatile est le traitement avec des rayonnements ionisants. L'irradiation gamma comme traitement phytosanitaire s'est avéré sûre et efficace pour améliorer la qualité hygiénique de divers aliments et des herbes afin de prolonger leur durée de conservation (**Organisation Mondiale de la Santé, 1989**).

Partant de ces constats, nous nous sommes ainsi intéressés dans un premier temps à l'étude de l'effet de l'irradiation Gamma sur la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Thymus algeriensis* (Boiss. et Reut.).

Selon la bibliographie, les huiles essentielles de quelques PAM sont connues pour avoir de faibles activités biologiques, alors qu'elles ont un rendement élevé, qu'elles sont très abondantes et même très utilisées en méditerranée, et particulièrement en Algérie. C'est le cas notamment d'*Ammoides atlantica* (Coss. Et Dur.) Wolf. et du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*). Le thymol et le carvacrol sont par ailleurs très connus pour leur fort pouvoir antioxydant. Le carvacrol est le plus actif de tous. Il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches et l'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires, et dentaires. Ces trois composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries (**Pauli, 2001 ; Fabian et al., 2006**). Les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques sont très intéressées par les propriétés de ces composés d'autant plus qu'il s'agit d'aromatisants naturels. La plupart de ces composés sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont encore ici les composés les plus actifs (**Kalemba et al., 2003**).

Face à l'ensemble de ces atouts, nous avons donc pensé dans un second temps à intégrer le thymol et le carvacrol aux huiles essentielles d'*A. atlantica* et de *J. phoenicea* et donc d'étudier l'effet de l'addition (appelée aussi supplémentation ou enrichissement) du thymol et/ou du carvacrol sur la composition chimique, l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne et l'activité insecticide de ces huiles essentielles.

PARTIE I
Recherche
bibliographique

CHAPITRE I
Plantes médicinales et
aromatiques

La présente étude est constituée de deux parties. La première partie est consacrée à une recherche bibliographique portant sur les plantes médicinales et leurs principes actifs ; les activités biologiques des plantes médicinales (antioxydante, antimicrobienne, bio insecticide) ; la monographie des espèces étudiées, y compris la présentation du modèle d'insecte étudié ; et enfin le traitement par irradiation.

La seconde partie est consacrée à une étude expérimentale qui a été focalisée sur :

- ✚ L'étude de l'effet de l'irradiation Gamma sur :
 - la composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* ;
 - l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Thymus algeriensis* ;
- ✚ L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum floribundum*).
- ✚ L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* ;
- ✚ L'étude de l'effet de la supplémentation de 10, de 30 et 50 de % de thymol à l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* sur :
 - son activité antioxydante ;
 - et sur son activité antimicrobienne ;
- ✚ L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* ;
- ✚ L'étude de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du carvacrol sur :
 - son activité antioxydante ;
 - et sur son activité insecticide sur la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*).
- ✚ L'étude de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du thymol sur :
 - son activité antioxydante ;
 - et sur son activité insecticide sur la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*).

I. Les plantes médicinales

I.1. Introduction

Les plantes médicinales sont essentiellement celles dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, renferme une ou plusieurs substances secondaires physiologiquement actives et possédant des propriétés curatives. Au Moyen Âge, on parlait de " simples " (**Debuigne, 1974**). Ces plantes servent de matières premières soit pour isoler à l'état pur leurs principes actifs, soit pour entraîner globalement ceux-ci, avec bien d'autres substances. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Dans le code de la santé publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique, mais en France par exemple une plante est dite *médicinale* lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée européenne et que son usage est exclusivement médicinal. Ces plantes sont ainsi principalement définies pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (**Chabrier, 2010**). Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

I.2. La valeur d'une plante médicinale

La valeur d'une plante médicinale dépend de sa richesse plus ou moins grande en un ou en plusieurs principes actifs, et c'est en fonction de cette teneur que de nombreux facteurs concernant la culture et l'emploi de ces plantes (méthodes de culture, sélection des semences, époque et moment de la récolte, conditions de conservation) doivent être pris en considération (**Georges, 1961**).

I.3. Estimation du nombre d'espèce de plantes médicinales dans le monde

Il n'existe pas de liste mondiale exhaustive des espèces de PM car nombre d'espèces restent encore à déterminer. Ainsi, l'UICN tente d'établir une liste d'après les pharmacopées publiées et les sources qui décrivent les plantes utilisées dans différents systèmes médicaux à travers l'histoire. Cette liste compte actuellement près de 16 000 espèces de plantes supérieures, mousses, fougères et lichens (**Leaman, 2009**). Un inventaire réalisé par l'OMS, vers la fin des années 1970 a estimé que le nombre des espèces ayant des propriétés médicinales était de l'ordre de 21 000 espèces dans le monde (**Schippmann et al., 2002**).

I.4. Marché des plantes médicinales

I.4.1. Dans le monde

Depuis l'année 2000, la demande mondiale pour les produits issus des PPAM connaît une expansion rapide avec un taux de croissance annuel de 10 à 20 % (**Helle et Carsten, 2007**). Ces estimations sont difficiles à corroborer car il n'existe pas d'organisme interprofessionnel pour structurer les différentes filières à l'échelle internationale. Certains secteurs, notamment celui des HE et des PPAM, s'organisent par ailleurs à l'échelle internationale ou régionale, créant des organismes comme l'IFEAT, l'Europam ou des forums interprofessionnels. Mais, les observatoires économiques ou les systèmes de veille globaux restent du domaine du privé ou d'organismes nationaux spécialisés. Avec 700 millions de tonnes et près de 3 milliards de dollars, le marché mondial des plantes sèches en vrac est de taille relativement faible par rapport aux grands marchés agricoles (**Commodity Trade Statistics Database, 2015**).

Les principaux importateurs et exportateurs en volume et en valeur sont la Chine, Hong Kong et les Etats-Unis. Il est important de signaler l'émergence de l'Inde et de la Malaisie qui quintuplent la valeur de leurs parts importées. L'Egypte remonte aussi à la sixième position sur le marché mondial des exportations (2004-2014). Le Maroc, gagne également des parts d'exportation atteignant 2,5 % du marché mondiale en 2014 (**Commodity Trade Statistics Database, 2015**).

I.4.2. En Algérie

L'Algérie est absente de la scène internationale des échanges de PAM. Les herboristes sont estimés à plus de 2 600 et constituent un maillage particulier d'approvisionnement et de distribution des plantes. Souvent sans statuts officiels, ils jouent cependant un rôle moteur sur le marché algérien des plantes médicinales (**Ilbert et al., 2016**).

I.5. Utilisation des plantes médicinales en Algérie

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales remonte à un millier d'années. Les premières écritures sur les plantes médicinales, dans le Maghreb et en Algérie, remontent au 9ème siècle où le docteur Ishâ-Ben-Amran a laissé divers traités sur la médecine et les drogues simples. Abdallah-Ben-Lounès, né à Oran, a décrit l'utilisation de beaucoup de PM (**Benhouhou, 2005**). Fourment et Roques ont publié en 1942 un livre sur les PAM d'Algérie

Chapitre I – Plantes médicinales et aromatiques

Partie I – Recherche bibliographique

où 200 espèces ont été étudiées, la plupart d'entre elles étaient originaires du Nord de l'Algérie alors que seulement 6 provenaient du Sahara (**Hamdi-Pachaet *al.*, 1993**). Le travail le plus récent publié sur les plantes médicinales algériennes est reporté dans les ouvrages de **Beloued (1998)** et de **Baba Aïssa (1999)**.

I.6. Diversité des plantes aromatiques en Algérie

La richesse de la flore algérienne est incontestable, elle recèle un grand nombre d'espèces classées en fonction de leur degré de rareté : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques (**FAO, 2012**). Ces plantes sont certes abondantes, mais dispersées géographiquement et ont des potentialités de rendement faible. Leur contrôle est difficile et leur exploitation ne suffit pas à couvrir les besoins nationaux.

Ayant une position géographique privilégiée, l'Algérie possède une flore extrêmement riche et variée représentée par 4 125 plantes vasculaires inventoriées et réparties en 123 familles botaniques. A cette richesse spécifique est associée une originalité sur le plan systématique (nombreuses plantes endémiques) ; sur le plan phytochimique (spécificité des substances bio synthétisées) ; et sur le plan pharmacologique.

I.7. Plantes médicinales les plus utilisées en Algérie

Les PM de la famille des composées ont acquis une très grande importance. Cette famille comprend 23 000 espèces (**Menz et Winkelmann, 1987**). Cette immensité systématique se caractérise par son pouvoir d'adaptation aux milieux climatiques et pédologiques. Parmi les 1 000 genres de cette famille, le genre *Centaurea* compte à lui seul environ 700 espèces et 600 sous-espèces (**Trease et Evans, 1983**). Il est répandu aussi bien sur le territoire algérien qu'en Europe, sur le bassin méditerranéen, à l'ouest de l'Asie et sur le continent américain.

Le genre *Centaurea* est majoritairement présent dans l'est et le sud-est de l'Algérie, dont 7 espèces sont sahariennes (**Quezel et Santa, 1963**). Les centaurées ont été amplement étudiées et restent un objet de plusieurs études et recherches photochimiques qui ont révélé la présence de flavonoïdes (**Flamini et *al.*, 2000**), de composés cacétyléniques (**Bohlmann et *al.*, 1973**), de lactones sesquiterpéniques (**Fortuna et *al.*, 2001**), d'alcaloïdes (**Ahmed et *al.*, 1970**), et de

stéroïdes. Les espèces du genre *Centaurea* sont les plus utilisées en Algérie, elles possèdent plusieurs vertus thérapeutiques et activités biologiques.

I.8. Les habitats menacés des plantes médicinales

Les PM se localisent majoritairement dans des zones appelées Zones Importantes pour les Plantes (ZIP). Une ZIP est un site naturel ou semi-naturel présentant une richesse botanique exceptionnelle et/ou une composition remarquable de plantes. **Yahi et al., en 2010** sur la base d'un travail bibliographique ont défini 14 ZIP en Algérie. La plupart de ces ZIP se situent en zones forestières. 2 seulement en zones humides et 1 dernière en zone littorale. Aucune n'est située en zone aride, alors même que des plantes endémiques y sont présentes.

Il faut toutefois rappeler que d'autres PAM poussent un peu partout sur le sol algérien sans forcément être répertoriées ou classées dans des ZIP. Par exemple, celles qui poussent dans la région de Collo, les monts de Tlemcen, la péninsule d'Arzew, le Cap Falcon, l'Ouarsenis, le Sersou, la région d'Aflou et le Djebel Aissa et/ou dans des domaines où terres privées, dans les zones steppiques et sahariennes. Quelques causes de la dégradation des PAM en Algérie peuvent être citées ci-dessous (**Mokkadem, 1999**) :

- ✓ exploitation abusive des sols (labours anarchiques au détriment des parcours comprenant les plantes médicinales) ;
- ✓ déboisement et coupe irrationnelle des PM utilisées pour la guérison et le commerce ;
- ✓ l'insécurité qui a régné pendant plusieurs décennies sur une partie de l'Algérie a souvent empêché la mise en œuvre de mesures de gestion, de conservation et d'acquisition de données sur le terrain ;
- ✓ surpâturage, incendies et défrichements des forêts ;
- ✓ mode de rémunération des ramasseurs-cueilleurs (les ramasseurs-cueilleurs opèrent des destructions sauvages des PAM) ;
- ✓ utilisation d'herbicides et de pesticides (destruction de nombreuses PM, tel que le *Papaver rhoeas* L.) ;
- ✓ accession à la propriété foncière agricole et mise en valeur des terres ;
- ✓ décharges anarchiques des déchets ;
- ✓ construction en zone rurale et en bordure de mer a contribué à la dégradation et à la raréfaction de nombreuses espèces, telles que dans la Mitidja : chardon marie (*Silybum marianum*), asphodèle (*Asphodelus microcarpus*).

II. Principes actifs des plantes aromatiques et médicinales

II.1. Les huiles essentielles

II.1.1. Historique

Les huiles essentielles (HE) sont des substances naturelles existant depuis l'antiquité, on en trouve la trace en Egypte, 4000 ans environ avant Jésus Christ (**Odoul, 2003**). Au 16^{ème} siècle, le médecin Suisse Paracelse étudie l'extraction de l'« âme » des végétaux à laquelle on donnera le nom d'« esprit d'essence », ensuite d'« huile essentielle ». Pendant le 17^{ème} siècle, 175 HE différentes ont été produites.

En 1866, Kekule utilisa pour la première fois le terme « terpène » désignant la classe des composés les plus répandus dans les huiles essentielles. En 1877, Otto Wallach découvrit « la règle isoprénique » et Léopold Ruzicka a mis en évidence les « polyterpènes », composants importants des essences.

En 1879, Louis Poure réalisa le premier appareil industriel permettant d'extraire le parfum avec récupération du solvant. En 1885, débute l'ère chimique et c'est précisément depuis cette époque que les humains des nations occidentales commencèrent à absorber dans leur alimentation des additifs. Les essences livrent progressivement leurs secrets depuis l'avènement de la chimie organique à la fin du 19^{ème} siècle (**Valnet, 1980**). Et ce n'est qu'au début du 20^{ème} siècle que les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles ont fait l'objet de recherches scientifiques.

II.1.2. Définition générale d'une " huile essentielle "

Il est difficile de donner une seule définition (**Naves, 1964**). L'HE est définie comme étant un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés, elle est extraite de la plante grâce à des procédés physiques, et est responsables de l'odeur caractéristique de la plante (**AFNOR, 2000**). Elles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales. Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal (**Teuscher et al., 2005**). Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent les composés d'une HE, à savoir leur capacité à se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum et à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**Dumortier, 2006**).

II.1.3. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des HE répondent généralement aux observations suivantes :

- ✓ elles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante ; elles sont rarement colorées ; leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau (sauf exception pour les HE de clou de girofle, de saffras, et de cannelle) ;
- ✓ l'indice de réfraction dépend essentiellement de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés ;
- ✓ elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques, elles sont aussi liposolubles mais peu soluble dans l'eau ; elles sont douées d'un pouvoir rotatoire (**Bruneton, 1995**).

Bernard et al., (1988) ajoute que les HE n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ; ont un point d'ébullition qui varie de 160 °C à 240 °C ; sont stables à température ambiante et dans de bonnes conditions de stockage.

II.1.4. Composition chimique

II.1.4.1. Groupes chimiques des huiles essentielles

Les HE sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive au groupe des terpénoïdes et au groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Environ 10 000 molécules ont été identifiées jusqu'au aujourd'hui. Les HE sont généralement poly moléculaires. La plupart des composés chimiques des HE sont des hydrocarbures monoterpéniques acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques, des cétones et des époxydes monoterpéniques. On rencontre aussi des alcools, des cétones et des époxydes sesquiterpéniques. Parallèlement à ces terpènes des dérivés du phénylpropane peuvent aussi exister et être accompagnés de leurs produits de dégradation. Une partie des composants alcooliques et phénoliques peut être estérifiée avec des acides. Bien que généralement ces esters ne soient présents qu'en faible quantité, ce sont souvent eux qui déterminent la finesse caractéristique de l'odeur d'une HE. **Le Louarn (1994)** classe quelques HE en trois catégories d'après la fonction de leurs constituants principaux (**Tableau 1**).

Chapitre I – Plantes médicinales et aromatiques

Partie I – Recherche bibliographique

Tableau 1 : Classification de quelques huiles essentielles (**Le Louarn, 1994**).

<i>Type d'huile essentielle</i>	<i>Origines</i>	<i>Teneur en composé majoritaire</i>
HE hydrocarbonées riches en terpènes ou en carbures hydrogénés.	Citron – Pin	90 % de limonène.
HE oxygénées riches en alcools et en esters.	Rose – Thym – Coriandre	50 % de géraniol - Plus de 30 % de thymol - 70 à 80 % de linalol.
HE sulfurées.	Conifères – Liliacées	-

II.1.4.2. Familles chimiques des huiles essentielles

II.1.4.2.1. Les composés terpéniques

Les terpènes sont des composés formés de l'assemblage de deux ou de plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta-1,3-diène). Selon **Bruneton (1995, 1999)**, seuls les terpènes les plus volatiles dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée (monoterpènes et sesquiterpènes) sont rencontrés dans la composition des huiles essentielles. Les monoterpènes C₁₀ sont présents dans la quasi-totalité des HE, ils peuvent être acycliques (Myrcène, Ocimène), monocyclique (ρ -Cymène, α -Terpinène) ou bicyclique (Camphène, Sabinene, Pinène, 3-Carène). Les sesquiterpènes C₁₅ sont constitués de trois éléments isopréniques disposés de façon à donner des structures monocycliques ou polycycliques.

II.1.4.2.2. Les composés aromatiques

Les HE renferment aussi des composés odorants de type phényl propanoïdes qui empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes. On peut citer les aldéhydes cinnamiques, les cuminiques et anisiques ; les phénols et éthers (thymol, carvacrol, eugénol) et les alcools (linalol).

II.1.4.2.3. Les composés d'origine diverse

Les HE peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire et entraînés lors de l'hydrodistillation, tels que les acides (C₃ – C₁₀), les aldéhydes, les esters acycliques et les lactones (**Bruneton, 1995**).

II.1.5. Distribution et localisation des huiles essentielles

Les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (Labiés, Ombellifères, Crucifères). La synthèse et l'accumulation de ces huiles sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées (**Bruneton, 1995**). Les HE sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires. Elles sont alors stockées dans des cellules (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae, Asteraceae). Sur le site de stockage, les gouttelettes d'HE sont entourées de membranes spéciales, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile, ces membranes limitent l'évaporation et l'oxydation des HE (**Bruneton, 1993 ; Teuscher et al., 2005 ; Dumortier, 2006**).

II.1.6. Fonctions biologiques des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1995)**, les fonctions biologiques des HE demeurent le plus souvent obscures. Néanmoins, la localisation des HE leur confère un rôle répulsif vis-à-vis des prédateurs et attractifs pour les insectes pollinisateurs. Leur présence au niveau des racines, des écorces et du bois confère à la plante un effet antiseptique. Certains terpènes linéaires interviennent par ailleurs dans le métabolisme de la plante, ils peuvent être employés comme source énergétique (**Guignard, 1996**). Il est toutefois vraisemblable qu'ils aient un rôle écologique aussi bien dans les interactions végétales et animales – végétales (**Bruneton, 1993**).

II.1.7. Facteurs de variation de la composition chimique

Une HE est très fluctuante dans sa composition où intervient un grand nombre de paramètres. De profondes modifications peuvent ainsi se produire lors de la récolte, du séchage et du stockage des PAM et/ou lors de l'extraction et du conditionnement des HE (**Mamouni, 1994 ; Ait Chebib et Baha, 2005**). Selon **Viaud (1993)**, les principaux facteurs de variabilité de cette composition sont :

- ✚ l'origine géographique de la plante : la composition d'une HE varie avec le terroir et le climat. Une même plante suivant son biotope donne des chémotypes différents. C'est ainsi que l'HE de *Thymus vulgaris* suivant l'aire de cueillette peut être à chémotype thymol ou carvacrol et avoir des propriétés bactéricides ; à chémotype géraniol avec des propriétés

fongicides ; ou encore à chémotype linalol avec des propriétés spasmolytiques (**Viaud, 1993 ; Pibiri, 2006**) ;

- ✚ la partie de la plante : l'HE n'a pas la même composition si elle provient de la plante entière, des fleurs, des racines ou des graines ;
- ✚ la récolte : influe également sur la qualité des HE, la météorologie au moment de la récolte, l'heure de la récolte et la période de végétation ;
- ✚ le type de culture (sauvages ou cultivées) et l'utilisation des pesticides et des désherbants ;
- ✚ le procédé d'extraction : lors de l'hydrodistillation (**Lahlou, 2004**) ;
- ✚ A cela s'ajoute l'action de certains agents exogènes, par exemple lorsque la menthe poivrée est parasitée par *Eriophyes menthae* (acarien) sa teneur en menthonfuranne chute (**Bernard et al., 1988**).

II.1.8. Utilisation des huiles essentielles

II.1.8.1. En industrie agroalimentaire

Les HE sont utilisées comme agents naturels aromatisants et de conservation (**Turgeon, 2001**). Leur utilisation est due à la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (**Conner, 1993**). Les HE peuvent être utilisées aussi pour apporter de la saveur et un arôme raffiné aux cafés, thés, boissons, pâtisseries, etc.

II.1.8.2. Pour leur activité insecticide

Les analyses par CPG/SM ont montré l'existence de la pulégone comme produit majoritaire de l'HE de *Mentha pulégium* et de la pipériténone pour *Mentha suaveolens*. L'étude de l'activité insecticide de ces huiles sur *Sitophilus oryzae* et *Rhizopertha dominica* a démontré que ces HE étaient toxiques avec un taux de mortalité très élevé (**Benayad, 2007**). Des études montrèrent l'efficacité de l'HE de *C. ambrosioides* et d'*E. saligna* sur *C. maculatus*. Ces deux HE exercent également un effet répulsif sur cet insecte (**Tapondjou et al., 2003**). Les HE du romarin et de la menthe montrent une grande efficacité par inhalation, la mortalité est de 100 % après 24H d'exposition que ce soit sur *S. oryzae* ou sur *T. confusum* (**Benazzeddine, 2010**).

II.1.8.3. En industries pharmaceutiques et cosmétiques

Les HE entrent dans la fabrication de produits pharmaceutiques, en raison de leurs propriétés thérapeutiques et dans celle des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés aromatiques (**Turgeon, 2001**).

II.1.9. Toxicité des huiles essentielles

II.1.9.1. Toxicité par ingestion

Certains auteurs se basent sur la composition des HE et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent (**Franchomme et Pénéol, 1990^{ab}** ; **Mailhebiau, 1994**). Les molécules aromatiques présentes étant très puissantes, une ingestion peut, selon la catégorie et la quantité absorbée, générer une toxicité élevée voir même la mort. Les HE neurotoxiques sont celles contenant de la cétone (absinthe, anis, fenouil, romarin, menthe). Ces cétones induisent des crises épileptiques et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels graves (**Bachelot et al., 2006**).

II.1.9.2. Toxicité dermique

Tous les ouvrages traitant des HE donnent des concentrations maximales. Le thym, l'origan et la sarriette sont connus pour leur pouvoir irritant, l'angélique et la bergamote sont photosensibilisantes, la cannelle est dérmocaustique et allergisante pour les peaux sensibles (**Pibiri, 2006**).

II.1.9.3. Toxicité sur les cellules animales ou humaines

Les HE de thym et de lavande sont cytotoxiques pour les cellules du hamster chinois. Les HE de différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers (**Sivropoulou et al., 1996**).

II.1.10. Conservation des huiles essentielles

Il est possible de réduire l'instabilité des HE en utilisant des flacons de faible volume (aluminium, acier inoxydable, verre brun), entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basse température, ou conservés sous atmosphère d'azote (**Bruneton, 1993**). Une HE

se conserve parfaitement durant plusieurs années si elle est entreposée de la bonne manière (Purchon, 2001).

II.1.11. Procédés d'extraction

Le procédé d'obtention de l'HE intervient de façon déterminante sur sa composition chimique (Garnero, 1977).

II.1.11.1. Expression à froid

Cette méthode est apparue au cours du XIX^{ème} siècle. Utilisée uniquement pour les agrumes. Ces dernières sont séparées par un système mécanique (abrasion, compression, incision, perforation, et autres). La qualité des essences obtenues manuellement est incomparablement supérieure à celles obtenues par les procédés actuels. Toutefois, la durée de vie du produit est courte. La rentabilité de cette technique est par ailleurs minime.

II.1.11.2. Extraction à la vapeur d'eau

C'est un procédé utilisant la vapeur d'eau pour séparer les substances aromatiques. Il est considéré comme le seul moyen compatible avec un usage médical.

II.1.11.2.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

L'hydrodistillation a pour objet de faire dégager à l'état de vapeur la substance odorante incorporée dans la plante (Bonthoux et al., 2007). La plante est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans une ampoule à décanter où il est possible de distinguer deux phases bien distinctes (Bachelot et al., 2006). Le protocole est le même pour une extraction à grande échelle mais le ballon et le chauffe-ballon sont remplacés par un alambic et l'erlenmeyer par un vase florentin (Willem, 2002).

II.1.11.2.2. Entraînement à la vapeur

Ce mode est basé sur le principe de l'entraînement des composés odorants volatils par des aérosols de vapeur d'eau. Sous l'effet combiné de l'ébullition, il y a un éclatement progressif des cellules et des glandes contenant l'HE et un épuisement des plantes en différentes fractions

d'essence. L'essence n'est ni retenue par le matériel végétal ni solubilisée dans l'eau (**Guenther, 1952**). Les vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation, les phénomènes intervenants lors de cette technique seraient l'osmose et la diffusion libre (**Guenther, 1972**).

II.1.11.2.3. Hydrodistillation par micro-ondes sous vide

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

II.1.11.2.4. Extraction à l'eau surchauffée

Cette technique utilise de l'eau surchauffée sous pression (125 et 175 °C). Elle utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à une température constante dans une étuve. Utilisée avec du romarin, cette technique donne un rendement plus élevé que lors de l'entraînement à la vapeur (**Basil et al., 1998**).

II.1.11.2.5. Simultaneous Distillation-Extraction

La SED (Simultaneous Distillation-Extraction) est une extraction liquide – liquide qui est menée dans l'appareil de Likens et Nikerson modifié. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant. Le solvant est recyclé en continue (**Vermin, 1982**).

II.1.11.3. Extraction par le CO₂ à l'état supercritique

Cette techniques trouve un intérêt tout particulier au niveau des produits naturels, car elle conduit à des extraits appelés « cœur de la nature » souvent proches de l'odeur et de la matière première traitée et exempts de solvants organiques (**Pellerin, 2001**).

II.1.12. Analyse des huiles essentielles

Les principales méthodes d'analyse des huiles essentielles sont :

II.1.12.1. La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles (**Cavalli, 2002**). Les éléments gazeux ou volatils d'un échantillon sont placés dans un injecteur. Ils vont ensuite être emportés (phase mobile) par un gaz porteur qui va les amener dans la phase stationnaire pour qu'ils y soient séparés. Il s'agit bien souvent d'un liquide ou d'un solide. Plus un élément a d'affinité avec la phase stationnaire, plus il prendra de temps pour sortir de la colonne de chromatographie. Les éléments peuvent être identifiés mais aussi quantifiés.

II.1.12.2. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Le couplage CPG/SM permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (**Cavalli, 2002**). L'interface la plus simple pour cette technique consiste à réunir la colonne du chromatographe au spectromètre de masse, soit en introduisant directement l'extrémité de la colonne dans la chambre d'ionisation ou par le relais d'un capillaire de transfert chauffé et placé entre le chromatographe et le spectromètre de masse (**Rouessac et Rouessac, 1995**). Le principe de la méthode consiste à soumettre un composé moléculaire à cette analyse en déclenchant un processus à plusieurs étapes (**Pradeau et al., 1992**) :

- ✚ l'ionisation : les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et de la haute température (200 °C), il résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de départ ;
- ✚ l'accélération : les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leur énergie cinétique ;
- ✚ la séparation : les ions seront distribués suivant leur rapport Masse/Charge ;

- ✚ la détection : les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées ;
- ✚ le 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 leur rapport Masse/Charge.

L'appareillage CG/SM permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG et ceci en comparant les spectres de masse obtenus avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées.

II.2. Les composés actifs

II.2.1. Les glucosinolates

Les glucosinolates sont constitués d'un résidu β -D-glucose, d'un résidu oxime sulfaté et d'une chaîne latérale de structure variable selon l'acide aminé dont elle dérive. Ils sont rencontrés chez les Brassicaceae ou les Crucifères. Ils sont stockés dans toutes les parties de la plante et libérés lors d'une attaque de phytophages. Plus de 120 glucosinolates différents ont été identifiés dans les plantes, et plusieurs de ces composés ont été étudiés pour l'effet anticancérogène (**Possenti et al., 2016**). Dans l'alimentation, les glucosinolates à forte dose sont toxiques et antinutritifs, mais à de faibles doses ils possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, antioxydantes, antimutagéniques et anticarcinogéniques.

II.3. Les alcaloïdes

Ce sont des composés azotés naturels et dont le goût est amer. Quelques composés liés avec des propriétés neutres et faiblement acides sont aussi inclus dans les alcaloïdes (**Jutin et al., 2014**). Les vrais alcaloïdes sont tirés d'acides aminés (**Raghuveer et al., 2014**). Ils forment une grande famille hétérogène de métabolites secondaires, avec plus de 12 000 substances isolées (**Tania et al., 2012**). Ils présentent des intérêts biologiques, et pharmacologiques. Ils provoquent chez l'homme diverses réponses physiologiques et psychologiques. Ils sont cependant très toxiques à forte dose. Les pyrrolizidines et les tropanes sont les alcaloïdes les plus importants. Les pyrrolizidines sont très répandues dans la nature et présents dans les Asteracea, les Boraginaceae, les Fabaceae et les Orchidaceae. La morphine, isolée des

Opiacées, tel que le *Papaver somnifère*, reste encore à ce jour un des analgésiques les plus efficaces.

II.4. Les composés phénoliques

Avec plus de 8 000 structures phénoliques recensées, les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie acétate (**Lugasi et al., 2003**). Les composés polyphénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles ainsi que des groupements fonctionnels (ester, méthyle ester, glycosides).

II.4.1. Rôles des composés phénoliques

Des travaux ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques des végétaux (**Alibert et al., 1977**). Ils sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits (**Ghedira, 2005**) et parfois des feuilles. Ils assurent aussi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (**Bruneton, 1993 ; Rajnerayanama et al., 2001 ; Hadi, 2004**). La capacité d'une plante à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est par ailleurs souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Rees et Harborne, 1985**).

II.4.2. Classification des composés phénoliques

Selon **Harborne (1989)**, les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Cette structure peut s'étendre de molécules simples, tels que les acides phénoliques, aux composés fortement polymérisés, tels que des tannins (**Lugasi et al., 2003**). Les composés phénoliques sont constitués de trois grandes catégories (**Beta, 2003 ; Dicko et al., 2006 ; Dykes et al., 2006**) : les acides phénoliques ; les flavonoïdes et les tannins. Ils forment ainsi le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

II.4.2.1. Les non flavonoïdes

Ils sont représentés par les acides phénols, les stilbénoloïdes et les curcuminoïdes.

II.4.2.2. Les flavonoïdes

II.4.2.2.1. Définition

L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C en 1938 (Szent-Görgyi, 1938 ; Bruneton, 1993). Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels. Ils sont considérés comme des micronutriments importants jouant le rôle d'antioxydant (Alan et Miller, 1996) ou possédant des propriétés biologiques diverses. De nombreuses études épidémiologiques ont montré leurs influences bénéfiques sur la santé humaine (Gutteridge et Halliwell, 1994 ; Ferreira et Bekker, 1996).

II.4.2.2.2. Biosynthèse des composés flavonoïques

Les composés de départ de la biosynthèse des flavonoïdes sont le malonyl CoA, le cinnamoyl CoA et les dérivés CoA de l'acide cinnamique (Gerhard, 1993). Ces composés sont formés suite à deux voies complémentaires, voie acétate malonate et voie shikimate (Hollman et al., 1999 ; Middleton et al., 2000). Des réactions post biosynthétiques sont effectuées pour donner la structure finale aux flavonoïdes (Marfak, 2003). Il existe cependant des flavonoïdes non glycosylés comme la quercétine (Bruneton, 1993 ; Remesy et al., 1996 ; Middleton et al., 2000).

II.4.2.2.3. Structure et classification des flavonoïdes

✚ Structure : les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à 15C, constitué de 2 unités aromatiques et de 2 cycles en C₆ (A et B) reliés par un hétérocycle en C₃ (Bruneton, 1999 ; Pietta, 2000). Ils sont ainsi des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone (Figure 1) portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base (Bruneton, 1993). Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées à ce jour (Alan et Miller, 1996 ; Rajnerayanama et al., 2001) (Figure 2).

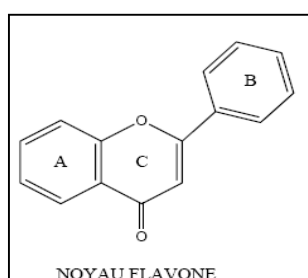


Figure 1 : Structure du flavone (Bruneton, 1993 ; Middleton, 2000).

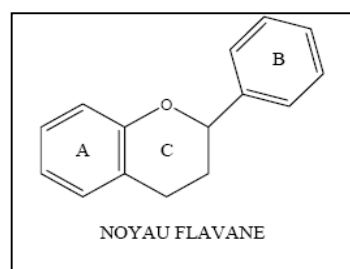


Figure 2 : Structure du flavane (Bruneton, 1993 ; Middleton, 2000).

✚ Classification : structurellement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (Pietta, 2000). Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B (Heim et al., 2002) et le cycle intermédiaire (Julies et Christin, 2002). 14 groupes différents ont été identifiés dont 6 groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés tels que les flavones, isoflavones, flavanones, flavonols et les anthocyanidines (Heim et al., 2002 ; Hendrich, 2006). La partie osidique des flavonoïdes peut être mono-, di- ou tri saccharidique. La partie glycarique est formée soit d'hexoses (D-glucose, D-galactose, etc.), de pentoses (D-apiose, L-arabinose, etc.) ou avec des acides (Dglucuronique, D-galacturonique, etc.). La partie osidique peut être linéaire ou ramifiée (Gerhard, 1993).

II.4.2.2.4. Propriétés pharmacologique des flavonoïdes

✚ Propriétés anti-inflammatoires et immunologiques : la quercétine a un effet anti-inflammatoire (Middleton et Drzewiecki, 1984). Les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (Da Silva et al., 1994 ; Galati et al., 1994 ; Middleton, 1996). Les flavones et les flavonols inhibent la prolifération des lymphocytes T, alors que la myricétine est active sur les lymphocytes B (Mookerjee et al., 1986 ; Namgoong et al., 1994).

✚ Propriétés antivirales et antibiotiques : les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales permettant ainsi une bonne protection des souris vis-à-vis d'une infection virale (Vrijssen et al., 1987). Il existerait une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes et divers virus de l'herpès (Mucsi et Pragai, 1985). Les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1 (Mahmood et al., 1993 ; Fesen et al., 1994). Des études ont apporté l'évidence de l'effet bactéricide de différentes flavanones sur l'ADN gyrase de *S. aureus* (Ohemeng et al., 1993 ; Sato et al., 1995). Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est très

Chapitre I – Plantes médicinales et aromatiques

Partie I – Recherche bibliographique

complexe. Nous citons l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ; la séquestration de substrat ou la chélation de métaux ainsi que l'inhibition du métabolisme microbien (**Mila et Scalbert, 1994**).

- ✚ Propriétés antinéoplasiques : des études ont révélé les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs de tumeurs chez la souris (**Kato et al., 1983**). La quercétine est capable de diminuer, chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires (**Verma et al., 1988**). Les flavonoïdes peuvent interférer avec le métabolisme des xénobiotiques en stimulant les systèmes de détoxification (**Wattenberg, 1983 ; Bu-Abbas et al., 1995**).
- ✚ Propriétés antioxydantes : ce sont des piègeurs efficaces des radicaux libres (**Laughton et al., 1989 ; Puppo, 1992**), et ont aussi une activité chélatrice des métaux (**Puppo, 1992 ; Van Acker et al., 1995**). Ce sont enfin de puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (**Laughton et al., 1989 ; De Whalley et al., 1990**).
- ✚ Propriétés pro-oxydantes : ils sont susceptibles d'avoir un effet prooxydant (**Kessler et al., 2002**). Plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs (**Laughton et al., 1989 ; Yen et al., 1997**).

II.4.2.2.5. Distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent dans les organes aériens jeunes et parfois dans les racines (**Milane, 2004**). Une trentaine de flavonoïdes ont été identifiés chez les Astéracées (**Bruneton, 1993 ; Milane, 2004**).

II.4.2.3. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires jouant un rôle important sur le plan organoleptique, nutritionnel, physiologique et pharmacologique de par leurs propriétés antioxydantes. Ils sont de plus dotés d'un rôle protecteur pour les végétaux vis-à-vis des animaux prédateurs.

II.4.2.3.1. Classification

D'après **Porter (1988)**, les tanins sont classés en deux catégories :

Chapitre I – Plantes médicinales et aromatiques

Partie I – Recherche bibliographique

a- les tannins hydrolysables (Figure 3) qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acides-phénol. L'acide phénol peut être de l'acide hexahydroxy diphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (**Bruneton, 1999 ; Gorger et al., 1994 ; König et al., 1994 ; Yoshida et al., 1995**).

b- et les tannins condensés (Figure 4) qui sont des proantho cyanidines, composés phénoliques hétérogènes, oligomères et polymères de flavanes, de 3-flavanols, de 5-désoxyflavan-3-ols et de flavane-3,4-diols. Toutes ces molécules appartiennent à la famille des flavonoïdes, composés en C6-C3-C6, et possèdent en commun la propriété de libérer des anthocyanidines par chauffage en milieu acide.

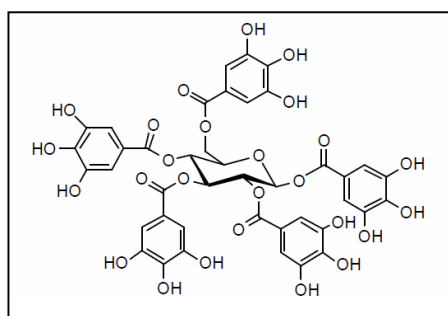


Figure 3 : Exemple de tannins hydrolysables : le penta-O-galloyl- β -D-glucose.

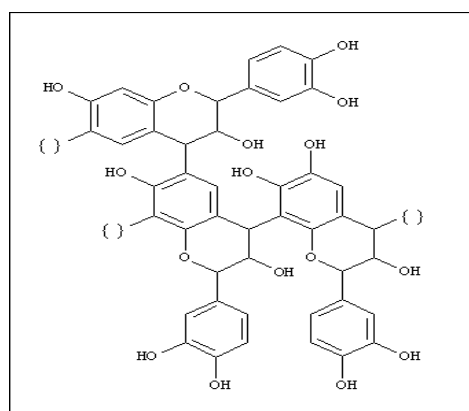


Figure 4 : Structure des tannins condensés (**Niokhor, 2003**).

II.4.2.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les tannins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation. Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone. Ils réagissent avec le chlorure ferrique et sont précipités de leurs solutions aqueuses par les sels de métaux lourds et par la gélatine.

II.4.2.3.3. Actions pharmacologiques

L'activité pharmacologique des tannins a fait l'objet de nombreux travaux, dont voici les principaux :

✚ **Activités antibactériennes :** Mahamat, 1990 et Bassene et al., 1995 ont comparé l'activité antibactérienne de *Combretum micranthum*, de *Guiera senegalensis* et de *Terminalia avicennioides*. Ils indiquent que ces plantes sont antiseptiques. Kolodzie et al., 1999 ont pu

Chapitre I – Plantes médicinales et aromatiques

Partie I – Recherche bibliographique

montrer que les tanins ont une activité antimicrobienne faible à modérée, mais une grande activité anticryptococcus.

- ✚ **Activités antivirales :** **Nonaka et al., 1990** et **Robert et al., 1992** ont montré que 9 tannins ont une activité inhibitrice de la transcriptase reverse (TR) du virus HIV dans les lymphocytes H9.
- ✚ **Activités anti-inflammatoires :** **Mota et al., 1985** ont tenté de déterminer les actions anti-inflammatoires des tannins isolés des écorces d'*Anacardium occidentale* L. Ils ont ainsi montré une action anti-inflammatoire.
- ✚ **Activités antioxydantes :** **Bouchet et al., 1998** ont examiné les propriétés antioxydantes et antiradicalaires de *Guiera senegalensis*. Ils ont ainsi confirmé les propriétés antioxydantes de 9 tannins isolés.
- ✚ **Activités anticoagulantes :** **Hui Dong et al., 1998** ont travaillé sur *Green japonicum*. Ils révèlent que les 7 tannins isolés présentent une forte activité anticoagulante chez le lapin.

CHAPITRE II
Activités biologiques
des plantes médicinales

I. Activité antioxydante

I.1. Introduction

Les HE et leurs composants sont connus pour posséder des activités antioxydantes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaire ou comme additifs alimentaires (Caillet et Lacroix, 2007). Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (Bouhdid et al., 2006).

Au cours des réactions d'oxydation un certain nombre de composés (radicaux libres) vont exister pendant une durée variable. La dégradation oxydative des aliments de nature lipidique présente des inconvénients à la fois sur les plans organoleptique, nutritionnel, fonctionnel, économique et hygiénique (Jeantet et al., 2006 ; Nessrien et Mohamed, 2007 ; Rashid et al., 2010). Elle peut par ailleurs avoir des répercussions sur la santé du consommateur. Elle est de plus mise en cause dans le vieillissement des tissus biologiques et des organismes ainsi que dans de nombreuses pathologies (Berset, 2006).

I.2. Déclenchement de l'oxydation

Le déclenchement de l'oxydation est peut être dû à plusieurs facteurs intra et intrinsèques (Hultin, 1994 ; Frankel, 1998). L'oxydation touche ainsi principalement les lipides insaturés lors de la préparation et de la conservation des produits utilisés dans l'agro-alimentaire, la pharmacologie et la cosmétologie (Cillard et Cillard, 2006).

I.3. Oxydation des corps gras

I.3.1. Introduction

Les réactions d'oxydation est à l'origine de goûts et d'odeurs, de " saveur oxydée ", fort désagréables. Cependant, il est difficile de les définir. On parle de goût huileux, de carton, métallique, et de suiffage. Le goût de poisson est parfois prédominant, à cela s'ajoute la formation des peroxydes cancérigènes.

I.3.2. Définition

D'après Rossignol - Castera (2006), l'oxydation des matières grasses est un phénomène naturel, chimique, complexe, spontané, évolutif, irréversible, altératif et

incontournable. C'est une dégradation en chaîne des acides gras insaturés par action de l'oxygène atmosphérique et sous l'effet de différents facteurs exogènes et/ou endogènes.

I.3.3. Les substrats des réactions d'oxydation

Les composés exposés à subir l'oxydation sont principalement les acides gras insaturés. Les acides gras saturés ne s'oxydent qu'à une température supérieure à 60 °C, tandis que les acides polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé.

I.3.4. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

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

I.3.4.1. Auto-oxydation

Dans ce cas les acides gras poly insaturés peuvent se transformer spontanément pour former des radicaux libres et des dérivés peroxydes. L'hyperproduction de radicaux libres est à la base des explications physiopathologiques de nombreuses maladies. Normalement, il existe un équilibre entre la production de radicaux libres et l'activité antioxydante (**Allain, 1999**). L'oxydation des lipides est une réaction auto catalytique suivant une courbe exponentielle. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois phases distinctes **Eymard (2003) :**

a- Phase d'initiation (Figure 5) : en présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un proton (H^\bullet) pour former un radical libre de lipide (R^\bullet). L'arrachement du proton est facilité tant par l'élévation de la température que par les rayonnements ou les catalyseurs (Cu, Fe, Co, Mn, Ni). A ce stade, dit de peroxydation, la flaveur de rance peut ne pas être perceptible.

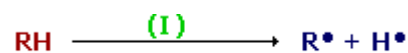


Figure 5 : Phase d'initiation.

b- Phase de propagation (Figure 6) : les radicaux libres formés (R^\bullet) fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (ROO^\bullet) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras (RH) pour former des hydroperoxydes ($ROOH$).

Chapitre II – Activités biologiques des plantes médicinales

Partie I – Recherche bibliographique

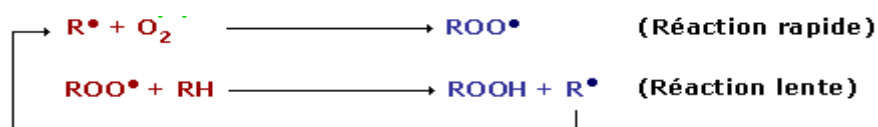


Figure 6 : Phase de propagation.

Cette étape se traduit aussi par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation, par deux voies principales (Judde, 2004). Une voie dite de scission, conduisant aux saveurs de rance ; et une autre dite de remaniement, conduisant à l'apparition d'acides gras oxydés et de triglycérides oxydés. A ce stade le rancissement est bien présent. Il peut être accompagné par d'autres conséquences d'ordres fonctionnels et d'ordre physiologique. Au cours de cette phase l'auto oxydation s'auto entretient (Richard, 1992) ;

c- Phase de terminaison (Figure 7) : après avoir atteint une vitesse maximale d'oxydation, celle-ci diminue par combinaison des radicaux lipidiques entre eux pour donner des produits non radicalaires. La réaction la plus fréquente est une réaction de dimérisation qui est liée à la pression partielle d'oxygène du milieu. À pression d'oxygène élevée se sont surtout les radicaux peroxydes qui réagissent entre eux (Cillard et Cillard, 2006).

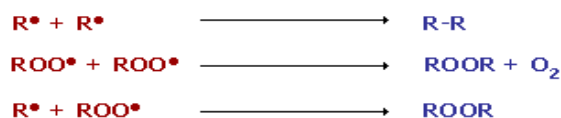


Figure 7 : Phase de terminaison.

Certains antioxydants vont provoquer la terminaison de la peroxydation en piégeant les radicaux peroxydes, ils sont appelés « Chain breaking » (Cillard et Cillard, 2006) (Figure 8).

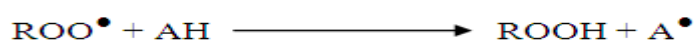


Figure 8 : Action des antioxydants appelés « Chain breaking ».

I.3.4.2. Photo-oxydation

La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photo sensibilisateurs (Hultin, 1992). Dans ce cas deux situations peuvent se présenter (Judde, 2004). Une photoxydation directe ; ou une oxydation photo sensibilisée où grâce à la présence nécessaire d'un agent photo sensibilisateur, les photo sensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens3). Ils interviennent ainsi dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes

(Frankel, 1998). Selon le premier mécanisme, les photo sensibilisateurs de type I agissent comme des radicaux libres initiateurs. Dans son état triplet, le photo sensibilisateur arrache un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène (Figure 9) ;

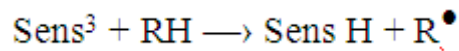


Figure 9 : Formation d'un radical capable de réagir avec l'oxygène.

Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II réagissent dans leur état excité (Sens^3) avec l'oxygène triplet pour donner de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) (Figure 10) :

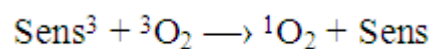


Figure 10 : Formation de l'oxygène singulet.

L'oxygène singulet ainsi formée est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxydes (ROOH) (Figure 11).

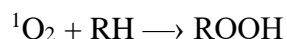


Figure 11 : Formation de l'hydroperoxyde (ROOH).

Ensuite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto oxydation. Les hydroperoxydes formés sont différents de ceux formés par auto oxydation (Frankel, 1998).

I.3.4.3. Oxydation enzymatique

Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (Hultin, 1994). Durant la congélation, l'activité enzymatique est ralentie. Cependant, une fois la décongélation amorcée cette activité reprend et s'accroît. A - 40 °C, elle est complètement arrêtée (Frankel, 1998).

I.3.5. Facteurs influençant l'oxydation des lipides

a-Facteurs endogènes : ce sont ceux qui caractérisent la nature et/ou la qualité du corps gras tels que le taux d'insaturations, les traces de photo sensibilisateurs ainsi que l'absence d'antioxydants naturels. La qualité du corps gras est également garante de la maîtrise du risque oxydatif (Judde, 2004).

b-Facteurs exogènes : il s'agit principalement de facteurs environnementaux (température, pH, activité de l'eau et pression partielle en oxygène).

I.4. Conséquences de l'oxydation

D'après **Rossignol – Castera (2006)**, les principales conséquences de l'oxydation sont dues à la dégradation des propriétés biochimiques par la formation de radicaux libres, d'hydroperoxydes, de composés furaniques et surtout d'aldéhydes saturés et insaturés, qui peuvent être à l'origine de nouveaux composés d'arômes ; à la dégradation des propriétés organoleptiques et le rancissement du produit ; à la perte de la valeur nutritionnelle ; à la perte de l'appétence du produit (Feed & pet-food) et à la modification de son aspect (couleur, texture).

I.5. Conséquences des peroxydations lipidiques

Les hydroperoxydes instables en se décomposant vont donner de nouveaux radicaux libres provoquant l'oxydation des biomolécules. L'oxydation des protéines altère leurs structures et leurs fonctions, toutes les structures de la cellule seront ainsi touchées (**Cillard et Cillard, 2006**). Des composés toxiques (peroxydes, époxydes, aldéhyde mutagènes) s'accumuleront enfin dans les aliments. La toxicité de ces composés est débattue (**Florians et al., 2001**).

I.6. Prévention contre l'oxydation

Les antioxydants jouent un rôle important dans la prévention et la propagation des dommages oxydatifs (**Cillard et Cillard, 2006**).

I.7. L'inhibition de l'oxydation des lipides

Elle est basée sur la maîtrise des facteurs environnementaux. Les antioxydants utilisés comme moyen de lutte sont soit des agents de prévention qui bloquent la phase d'initiation en réagissant avec les initiateurs de la réaction, soit des agents de terminaison qui bloquent la poursuite de la phase de propagation(**El Atyqy, 2007**).

I.8. Les antioxygènes ou antioxydants

I.8.1. Mécanisme d'action

L'action des antioxygènes se situe, pour la plupart d'entre eux, au niveau de l'étape de terminaison de l'auto-oxydation. Par ailleurs, certaines substances permettent de limiter l'initiation de l'auto-oxydation (**Multon, 1992**). D'une façon générale, l'antioxygène phénolique (AH) bloque la propagation de la réaction en chaîne par sa capacité à réagir avec

différents types de radicaux (**Figure 12**). Le radical antioxygène formé (A^\bullet), stabilisé par résonance, confère à l'antioxygène phénolique son efficacité (**Multon, 1992**).

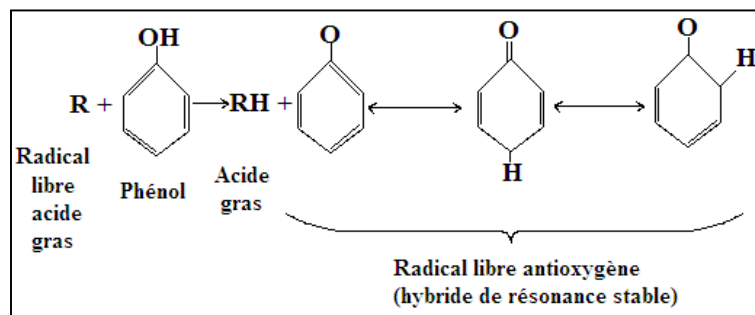


Figure 12 : Formation d'un radical libre antioxygène.

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

- les antioxydants de type I : ils inhibent la propagation des réactions radicalaires (**Belaiche, 1979**).
- les antioxydants de type II : ce type prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes rentrent dans cette catégorie (**Roeding-Penman et Gordon, 1998**) ;
- les antioxydants de type III : ils regroupent les facteurs de l'environnement.

I.8.2. Les différents types d'antioxydants

I.8.2.1. Les antioxydants endogènes

Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en :

- ✚ Un système de défense primaire composé d'enzymes et de substances antioxydantes tels que la super oxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion peroxydase (GPx), etc.
- ✚ Un système de défense secondaire composé d'enzymes protéolytiques, de phospholipases, d'ADN endonucleases, de ligases et de macroxyprotéinases (**Pincemail et al., 1998**).

I.8.2.2. Les antioxydants naturels

Plusieurs substances naturelles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et peuvent également lier les acides gras libres (**Svoboda et Hampson, 1999**).

Chapitre II – Activités biologiques des plantes médicinales

Partie I – Recherche bibliographique

- ✚ La vitamine E : protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement (**Meydani^(a), 2000**) et la diminution de l'athérosclérose (**Meydani^(b), 2000**). Les données cliniques ont prouvé que les patients atteints de la maladie d'Alzheimer obtiennent des réponses remarquables au traitement par la vitamine E (**Pieroni et al., 2002**).
- ✚ La vitamine C : elle régénère le tocophérol et a de plus un effet antioxydant puissant dans le tube digestif empêchant l'oxydation des nitrates en nitrites et en nitrosamides (agents cancérigènes) (**Vansant, 2004**).
- ✚ Les composés phénoliques extraits de plantes : telles que le romarin, cumin, thym, origan, clou de girofle, sauge (**Chevolleau, 1990 ; Vardar-Unlu et al., 2003 ; Skerget et al., 2005 ; Lee et al., 2005 ; Küçük et al., 2007**). Les molécules actives sont soit des flavonoïdes, soit des dérivés de l'acide benzoïque, soit des dérivés de l'acide cinnamique ou des composés phénoliques (thymol, carvacrol) (**Das et Pereira, 1990 ; Chevolleau, 1990 ; Pokorny, 1991 ; Schwarz et Ternes, 1992 ; Crapiste et al., 1999 ; Tepe et al., 2006**). Les composés phénoliques peuvent aussi prévenir l'oxydation des LDL (**Meyer et al., 1997**). Des chercheurs japonais ont constaté que les polyphénols du thé vert augmentent l'activité des macrophages, des lymphocytes B, des lymphocytes T et des cellules tueuses naturelles (**Hegarty et al., 2000**). Certaines HE et leurs composants sont cytostatiques et peuvent être antiprolifératifs. L'examen de *Pelargonium sp.*, de *Myristica fragrans*, d'*Origanum vulgare ssp. Hirtum* et de *Thymus vulgaris* a montré une action hépato protectrice (**Svoboda et Hampson, 1999**).

I.8.2.3. Les antioxydants de synthèse

Ce sont principalement : le BHA (butyl-hydroxy-anisole) qui est un mélange de deux isomères ayant des propriétés carcinogènes ; et le BHT (butyl-hydroxy-toluène ou hydroxy toluene butylated). On peut aussi citer le TBHQ (ter-butylhydroxy-quinone), l'anhydride sulfureux, les sulfites, l'acide érythroborique, l'érythroborate de sodium et le palmitate d'ascorbyle.

I.8.2.4. Propriétés des antioxygènes

Les propriétés de quelques antioxygènes sont décrites dans le tableau 2.

Chapitre II – Activités biologiques des plantes médicinales

Partie I – Recherche bibliographique

Tableau 2 : Propriétés des antioxygènes (Multon, 1992).

Nature	Solubilité	Stabilité à la chaleur	Exemples d'applications
Tocophéroles	Liposolubles	Dégradés par la chaleur	- Matières grasses et aliments diététiques
Acide ascorbique	Hydrosoluble	-	- Boissons
BHA	Très soluble dans les huiles et les graisses.	Très bonne stabilité	- Huiles pour friture, produits transformés.
BHT	Bonne solubilité dans les huiles et les graisses.	Bonne stabilité	Efficace dans les graisses.
TBHQ	Très soluble dans les huiles.	Thermostable	Stabilisation des huiles.

I.9. Mesure du degré d'oxydation et du pouvoir antioxydant

Selon **Gray (1978)**, il n'y a pas de méthode idéale, bien corrélée aux changements organoleptiques se produisant au cours des réactions d'oxydation (**Berset et Cuvelier, 1996**). Les tests de mesure de l'activité antioxydante dans les aliments et les systèmes biologiques peuvent être classés dans deux groupes. Ceux utilisés dans l'évaluation de la peroxydation des lipides sous des conditions standard (**Sanchez-Moreno, 2002**) ; et ceux utilisés dans la mesure du pouvoir de piégeage des radicaux libres (Scavenging of free radicals). On rencontre parfois aussi, des tests de mesure des pouvoirs chélateur et réducteur de métaux.

I.9.1. Mesure de l'oxydation des lipides

L'état d'avancement de la réaction peut être évalué par la mise en évidence de la disparition des substrats de l'oxydation. Une grande variété de méthodes est disponible (**Dobarganes, 2002**).

I.9.1.1. Analyse des substrats d'oxydation

Ce sont des méthodes manométriques, polarographiques, chromatographiques ou gravimétriques. Ce type d'analyse est employé pour déterminer les cinétiques d'oxydation des

lipides en système modèle pour des tests accélérés d'oxydation ou dans le cas de conservation d'échantillons en emballage étanche (Berset et Cuvelier, 1996).

I.9.1.2. Mesure des acides gras non oxydés résiduels

Cette mesure suit la cinétique de disparition d'un ou de plusieurs acides gras insaturés présents dans l'aliment, après extraction, méthylation et analyse par chromatographie en phase gazeuse.

I.9.1.3. Méthodes chromatographiques

On peut citer parmi ces méthodes la chimiluminescence (Miyazawa *et al.*, 1994) ; la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) (Koskas *et al.*, 1983) ; et la thermolyse (Saidia et Hammond, 1989).

I.9.2. Analyse des peroxydes

I.9.2.1. Mesure du taux de peroxydes

Plusieurs tests accélérés de production d'hydroperoxydes dans l'aliment ou dans les matières grasses ont été normalisés (test de Swift ou AOM ; Rancimat). Deux méthodes sont classiquement appliquées pour doser les peroxydes : la méthode iodométrique de Lea (Lea, 1946 ; AOCS, 1989) ; et la méthode colorimétrique (Mitsuda *et al.*, 1966).

I.9.2.2. Détermination des diènes conjugués

Les diènes conjugués absorbent à 232 nm et à 270 nm (norme AFNOR T60-223).

I.9.2.3. Analyse des produits secondaires d'oxydation

Parmi les méthodes les plus utilisées, on peut citer : le dosage des composés aldéhydiques (test à l'acide thiobarbutirique TBA) ; la mesure de l'indice de para-anisidine (IpA) – IUPAC 2.504 ; et le dosage des composés volatils.

I.9.3. Mesure du pouvoir de piégeage des radicaux libres

On peut éviter d'avoir à oxyder le substrat sur lequel on veut tester l'efficacité d'un antioxydant en choisissant de réduire un radical stable. C'est le cas du radical DPPH• (2,2-

Chapitre II – Activités biologiques des plantes médicinales

Partie I – Recherche bibliographique

diphenyl-1-picrylhydrazyl). Ce DPPH• peut fixer un H• arraché à l'antioxydant AH. Il perd alors son absorbance à 517 nm. L'avantage de ce test est d'être rapide et de ne nécessiter aucune condition drastique puisqu'il a lieu dans la cuve du spectrophotomètre en milieu méthanolique sans oxygénation. C'est le test le plus répandu et le plus utilisé de nos jours. D'autres tests mettant en jeu d'autres radicaux stables sont disponibles dans la littérature.

I.9.4. Mesure du pouvoir réducteur

Le fer et le cuivre possèdent des capacités privilégiées d'interaction avec l'oxygène. Il n'est donc pas surprenant de voir les métaux traces avoir une place particulière dans les mécanismes impliquant les radicaux libres de l'oxygène. Dans notre cas nous avons choisi la méthode **Oyaizu (1986)** dans le but d'étudier la capacité des échantillons étudiés à réduire le fer ferrique.

I.9.5. Mesure du pouvoir chélateur

Le fer peut stimuler et accélérer l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, (**Elmastaş et al., 2006**). Les agents chélateurs qui forment une liaison de type σ avec les métaux sont actifs comme antioxydants secondaires (**Suresh-Kumar et al., 2008**). Les composés phénoliques sont de bons chélateurs des ions métalliques (**Morris, 1995 ; Brown et al., 1998**).

II. Activité bio insecticide

II.1. Introduction

Les insecticides sont toutes les substances qui tuent les insectes, empêchent l'éclosion des œufs, et compromettent le développement normal des larves ou la maturation sexuelle (**Faurie et al., 2003**). Le groupe des pesticides englobe plusieurs familles, dont les organochlorés, les carbamates, les organophosphorés et les insecticides végétaux (**Belmonte, 2005**).

II.2. Biopesticides d'origine végétale

Un bio pesticide se définit comme tous organismes vivants ou substances d'origine naturelle. Cependant, pour certains auteurs, le terme de bio pesticide doit être réservé aux agents biologiques de lutte ou de contrôle des insectes (**Vincent et Coderre, 1992 ; Van Driesche et**

Bellows, 1996 ; Vincent, 1998). Même si cette définition très restrictive omet les produits issus du métabolisme des organismes biologiques comme les composés sémio chimiques, il est cependant fondé étymologiquement d'appeler les molécules phytochimiques à caractère phytosanitaire des « biopesticides d'origine végétale » (**Philogene et al., 2002**). Avec le statut d'« insecticides idéals » ces phytoproduits constituent une composante essentielle de la lutte intégrée. Les HE interviennent dans la protection des végétaux et la lutte contre les insectes nuisibles, elles peuvent donc être considérées comme des « biopesticides d'origine végétale ».

II.3. Avantages des biopesticides d'origine végétale

Regnault-Roger (2002) cite parmi ces avantages :

- ✚ la spécificité : il existe une grande variation dans la sensibilité d'une espèce d'insecte à une même HE ;
- ✚ la biodégradabilité : les molécules allélochimiques sont facilement biodégradées par voie enzymatique ;
- ✚ la résistance : la diversité des molécules allélochimiques conduit à la diversification des cibles moléculaires et biochimiques chez l'insecte ;
- ✚ la biodisponibilité : bien qu'elles soient sujettes à plusieurs facteurs influençant leur biodisponibilité, ces molécules peuvent être disponibles en quantités suffisantes ;
- ✚ la sélectivité : les composés sémio chimiques des végétaux auraient un effet sélectif sur les espèces cibles (**Chiasson et Beloin, 2007**).

II.4. Utilisation des huiles essentielles

Les HE sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour lutter contre les ravageurs phytophages (**Cseke et Kaufman, 1999**). Elles ont largement prouvé leur efficacité en laboratoire contre de nombreux ravageurs des denrées stockées (**Belmain et al., 2001 ; Keita et al., 2001^b ; Raja et al., 2001 ; Murdock et al., 2003 ; Seri-Kouassi et al., 2004 ; Kellouche et Soltani, 2004**).

II.4.1. Principaux composés à effet insecticide

Plusieurs travaux de recherche ont mis en évidence le pouvoir insecticide des PAM, qui est variable selon l'insecte et la composition chimique de l'HE (effet non systémique) (**Shaaya et al., 1997 ; Kim et al., 2003**).

II.4.2. Mécanismes d'action insecticide des huiles essentielles

Les HE peuvent agir par fumigation, contact ou répulsion. Elles agissent aussi sur les insectes adultes par effet « Knock-down ». Elles peuvent par ailleurs entraîner un effet anti-appétant, inhiber la ponte ou alors avoir un effet ovicide et larvicide. D'autres mécanismes, tels que les perturbations des voies de biosynthèse ou des systèmes enzymatiques peuvent également être impliqués (**Tajkarimi et al., 2010**). Ces actions sont dues aux constituants lipophiles des HE (**Bakkali et al., 2008**). L'activité bio insecticide des HE est influencée par la stéréochimie des molécules impliquées. Par ailleurs, la diversité de leurs constituants leur confère la particularité de ne pas avoir des cibles cellulaires caractéristiques. Cette particularité permet une limitation du taux de développement des résistances (**Houël, 2011**). L'action des propriétés pesticides de ces HE est indiquée ci-dessous.

II.4.2.1. Action sur les estérases

Les monoterpènes sont des molécules neurotoxiques qui agissent sur différentes cibles en fonction de leur nature chimique (**Huignard et al., 2008**). Le citral, le pulégone, le linalol, le bornyl acétate et le cinéol sont des inhibiteurs réversibles et compétitifs qui occupent le site actif hydrophobique de l'acétylcholinestérase (**Ryan et Byrne, 1988**). Le linarin extrait des fleurs de *Mentha arvensis* (**Oinonen et al., 2006**) ; et le 3-carène et le β -pinène ont montré une efficacité dans l'inhibition de l'acétylcholinestérase in vitro (**Savelev et al., 2004**).

II.4.2.2. Action sur l'activité électrique neuronale

L'effet biopesticide de l'eugénol se traduit par une inhibition quasi complète de l'activité électrique neuronale des insectes, alors que l'effet biopesticide du citral et du géraniol sur les neurones des insectes induit une action bi-phasique en fonction de la dose utilisée (**Price et Berry, 2006**).

II.4.2.3. Action sur l'activation des systèmes de détoxification

II.4.2.3.1. Réaction d'hydrolyse et d'oxydation

Elles incluent l'activation et ou la conversion des molécules exogènes en un composé plus polaire. L'introduction de groupes fonctionnels augmente la solubilité dans l'eau et permet soit leur stockage loin des tissus sensibles, soit leur excrétion (**Haubruge et Amichot, 1998**).

II.4.2.3.2. Réactions de conjugaison

Nayamador (2009) a révélé que des individus de deux ravageurs majeurs : *C. subinnotatus* et de *C. maculatus* F., traités par fumigation utilisant l'HE de *Cymbopogon giganteus chiov* ont vu les activités enzymatiques de la glutathion s-transférase augmenter significativement (**Franciosa et Bergé, 1995**).

II.4.2.4. Action sur la modification des cibles moléculaires

Le système nerveux central des insectes comportent les sites d'actions des biopesticides. Selon **Nyamador (2009)**, les cibles privilégiées des biopesticides sont ceux cités ci-dessous.

II.4.2.4.1. Le canal sodium « voltage dépendant »

Les substances neurotoxiques issues des bio-insecticides se fixent sur les sites d'action empêchant ainsi la fermeture du canal sodium et en perturbant la transmission synaptique. Cela provoque chez l'insecte un effet « Knock-down » c'est-à-dire l'effet de paralysie des muscles et du système nerveux des insectes entraînant leur mort. L'acide rosmarinique et la lutéoline-7-glucoside provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte. Celle-ci peut se manifester soit rapidement (cas de la quercétine) soit tardivement (cas de l'acide vanillique) s'accompagnant parfois d'un effet « Knock-down ». **Ketoh et al., (2006)** ont démontré que l'HE de *O. basilicum* induit une inhibition totale de l'activité électrique neuronale. **Price et Berry (2006)** ont rapporté que l'eugénol provoque une inhibition complète de l'activité électrique neuronale.

II.4.2.4.2. L'Acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques du système nerveux central des insectes (**Fournier et Mutero, 1994**). Son rôle est d'hydrolyser l'acétylcholine, ce qui permet la fermeture des canaux associés au récepteur du neurotransmetteur.

II.4.2.4.3. Les récepteurs de l'acide gamma-amino butyrique (GABA_r)

Les biopesticides se fixent sur les récepteurs de l'acide gamma amino butyrique (GABA_r) et inhibent le fonctionnement du canal chlore qui lui est associé. L'ouverture de ce

canal induit une hyperpolarisation et l'inactivation de la membrane de la cellule nerveuse (Priestley et al., 2003).

II.4.2.4.4. Action sur les récepteurs octopaminergiques

L'octopamine est une neurohormone et un neuromédiateur chez les invertébrés (Roeder, 1999).

Huignard et al., (2008) affirment que l'eugénol agirait en se fixant sur les récepteurs de l'octopamine. L'action de l'eugénol se fait, soit à plus faibles doses en augmentant l'activité de l'adénylcyclase des cellules du système nerveux de l'insecte (*Periplaneta americana*), soit à plus fortes doses en réduisant la production d'AMP cyclique (Enan, 2005).

II.4.3. Modes de pénétration des huiles essentielles

Nous pouvons citer ci-dessous trois modes de pénétration des huiles essentielles.

II.4.3.1. Par contact

Il a été démontré que de nombreux constituants terpénoïdes des HE sont toxiques par contact pour un large éventail d'insectes et peuvent être utilisés comme bio-insecticide.

II.4.3.2. Par inhalation

En raison de leur caractère volatil, les HE agissent comme des fumigants (Don-Pedro, 1996) et pourraient être utilisées dans le traitement des grands stocks (Ketoh, 1998). Certains monoterpènes entraînent une toxicité inhalatoire chez certains insectes (carvacrol, linalool, eugénol, thymol, terpinéol, cuminaldéhyde, ρ -cymène, anéthole, cinnamaldéhyde).

II.4.3.3. Par ingestion

Des signes d'intoxication (neurotoxicité, effet anti-appétant,...) peuvent apparaître chez l'insecte suite à l'ingestion des HE.

II.4.4. Action des huiles essentielles sur la fécondité, la fertilité et les stades de développement des insectes

Pour que les bio insecticides assurent un contrôle efficace des populations d'insectes ravageurs des denrées stockées, il faudrait qu'ils soient actifs non seulement sur les adultes, sur

les œufs déposés à la surface des graines ainsi que sur les larves ou les nymphes qui se développent à l'intérieur des graines. De nombreuses études ont démontré qu'une molécule allélochimique présente dans une HE n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle reproductif d'un insecte, la sensibilité d'un insecte peut en effet évoluer en fonction de son développement physiologique (Shaaya et al., 1991 ; Regnault-Roger, 2008). La sélectivité et la spécificité permettent à ces molécules naturelles d'agir à des moments déterminés sur les espèces étudiées.

III. Activité antimicrobienne

III.1. Introduction

Les HE et les extraits phénoliques des PAM ont été largement exploités pour diverses applications alimentaires (Oussalah et al., 2007). Connus pour leur efficacité antimicrobienne et antiseptique, ces HE et extraits sont par ailleurs à la base des médecines dites alternatives à la médecine des antibiotiques (Zhiri, 2006). Ils répondent par ailleurs aux problèmes liés au développement de l'antibiorésistance.

III.2. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles

Les PAM synthétisent plus de 100 000 petites molécules dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne (Tegos et al., 2002 ; Lewis et Ausubel, 2006). Les molécules actives ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais ont évolué pour leur fournir une protection naturelle. Beaucoup de travaux ont été consacrés ces dernières années aux propriétés médicales et antimicrobiennes de leurs extraits (Licina et al., 2013). L'exploitation des PAM est un moyen efficace pour le développement de nouveaux produits antimicrobiens (Oyedeji et al., 2011).

III.2.1. Actions antimicrobiennes des huiles essentielles

Les HE ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Cette activité est principalement fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs

Chapitre II – Activités biologiques des plantes médicinales

Partie I – Recherche bibliographique

(Caillet et Lacroix, 2007). Des études ont prouvé l'existence d'une forte activité antibactérienne contre des souches Gram⁺ et Gram⁻ (Di Pasqua et al., 2005).

Caillet et Lacroix (2007) ont signalé que les HE empêchent la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Les HE de l'origan, du thym, de la sauge, du romarin et du clou de girofle ont un large spectre antibactérien (Pauli, 2001 ; Fabian et al., 2006).

III.2.2. Constituants actifs antibactériens

Les molécules réputées pour leur activité antibactérienne sont des terpénoïdes, car les hydrocarbures saturés et les acétates ioniques sont inactifs (Griffin et al., 1999). Les composés chimiques de plus grande efficacité et à plus large spectre sont :

- ✚ les alcools sont connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives. Ils agissent en dénaturant les protéines (Dorman et Deans, 2000) ;
- ✚ les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisés sont le néral et le géranial (des citrals), le citronnellal et le cuminal (Franchomme et al., 1990^b ; Dorman et Deans, 2000) ;
- ✚ les phénols sont responsables de dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Le thymol et l'eugénol sont responsables de l'activité fongicide (Bennis et al., 2004), et bactéricides des HE qui en contiennent (Cox et Mann, 2000 ; Lambert et Skandamis, 2001 ; Walsh et Maillard, 2003). Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les HE sont efficaces (Cosentino, 1999). Le thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches.

III.3. Propriétés antifongiques des huiles essentielles

Les HE peuvent être employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes (Ribera et Zuñiga, 2012 ; Jäger et Holm Freiesleben, 2014). Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre *C. albicans*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *P. chrysogenum*, et bien d'autres (Kalembe et al., 2003). Burt (2004) décrit les activités antifongiques des HE de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia*. L'efficacité des huiles extraites d'*Achillea fragrantissima* (Barel et al., 1991), d'*A. setacea*, d'*A. teretifolia* (Unlu et al., 2002) et d'*A. millefolium* (Candan et al., 2003) contre la levure pathogène *C. albicans* a également été mise en évidence.

III.4. Propriétés antivirales

Les PAM représentent une solution alternative pour traiter les diverses pathologies engendrées par les virus car ils sont très sensibles aux molécules aromatiques.

III.5. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles

La sélectivité des HE envers certaines bactéries est le résultat de la composition variée des fractions actives présentes dans ces huiles, et qui présentent souvent des actions synergiques. Le mécanisme d'action des HE est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻. L'HE exerce son pouvoir par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe (**Hammer et al., 1999 ; Dorman et al., 2000 ; Bagamboula et al., 2004**).

III.6. Méthodes d'évaluation

Le choix de la méthode peut être basé sur de nombreux facteurs. Les différents protocoles peuvent quant à eux être classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'HE (liquide, solide ou gazeux), et selon la nature du contact de l'HE avec le germe en question (diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans un émulsionnant). Il n'y a pas de méthode standardisée pour exprimer les résultats de l'activité antibactérienne (**Klančnik et al., 2010 ; Balouiri et al., 2016**). Les méthodes utilisées donnent parfois des résultats différents selon le manipulateur et les conditions opératoires expérimentales (**Surk, 2003**).

III.6.1. Détermination de la CMI et de la CMB

La CMI « Concentration Minimale Inhibitrice » peut être déterminée 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**). La CMI n'est fréquemment pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci pousse à définir un autre paramètre : la CMB « Concentration Minimale Bactéricide », parfois appelée aussi « CML : Concentration Minimale Létale ». 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 (**Davidson et Parish, 1989**).

III.6.2. Technique par contact direct

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

III.6.2.1. Technique d'aromatogramme ou méthode de diffusion

L'aromatogramme est appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Il consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée 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 (**Zaika, 1988 ; Dorman et Deans, 2000 ; Lis-Balchin et Hart, 2000**).

III.6.2.2. Méthodes de dilution

Ces méthodes sont réalisées en milieu liquide ou 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.

III.6.2.3. Méthode des puits

La méthode consiste à découper un trou circulaire vertical dans la gélose et à y verser une solution d'HE de concentration connue. Diffusant radialement, cette dernière créait une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Dorman et Deans, 2000**).

III.6.3. Technique de micro-atmosphère

Cette méthode a été décrite par **Singh et al., (2006)**. Son protocole (**Figure 13**) est techniquement proche de celui des aromatogrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Ici, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, puis renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. La lecture du test porte donc sur la croissance ou non de l'inoculum (**Hulin et al., 1998**).

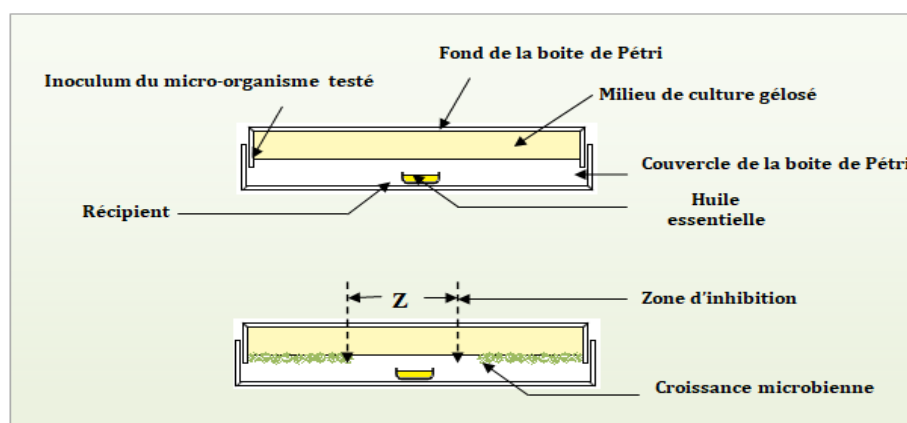


Figure 13 : Technique de micro-atmosphère.

III.7. Limite des méthodes d'évaluation

Ces techniques posent un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les HE, en raison de leurs très faibles solubilités dans les milieux de culture aqueux (**Deans et Ritchie, 1987 ; Giamperi et al., 2002**). Toutefois, il est nécessaire de déterminer le meilleur solvant, et il est difficile de choisir les bonnes concentrations pour obtenir des CMI et des CMB reproductibles et répétables.

III.8. Facteurs déterminants l'efficacité de l'activité antimicrobienne

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HE ou de leurs composants actifs, tels que le type et la structure moléculaire des composants actifs de l'HE ; la méthode d'évaluation antimicrobienne ; la dose ajoutée ainsi que le type de microorganisme ciblé et son éventuelle adaptation (**Hermal, 1993**). La susceptibilité des bactéries est indépendante du Gram (**Dorman et Deans, 2000**) ou dépend des HE utilisées (**Deans et Ritchie, 1987**). Malgré le large spectre d'activité des HE, les souches Gram⁻ ont été signalées comme étant les souches les plus résistantes en comparaison avec les souches Gram⁺ (**Cosentino et al., 1999 ; De Billerbeck, 2007**).

Hulin et al., (1998) explique d'autre part que les facteurs influençant les propriétés antimicrobiennes des HE sont :

- ✚ la température : **Moleyar et Narasimham (1992)** et **Bowles et al., (1995)** ont montré respectivement que la température affecte les propriétés d'inhibition de l'aldéhyde

Chapitre II – Activités biologiques des plantes médicinales

Partie I – Recherche bibliographique

cinnamique lorsqu'elle augmente, et améliore les propriétés antibactériennes des carbonyles aromatiques et aliphatiques lorsqu'elle baisse ;

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

III.9. Effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles

Les effets antimicrobiens des associations d'huiles essentielles sont définis selon quatre interactions possibles :

- ✚ l'indifférence : l'activité d'une HE n'est pas affectée par l'autre ;
- ✚ l'addition : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque HE étudiée isolément et pour une même concentration ;
- ✚ la synergie : l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque HE étudiée isolément, à la même concentration ;
- ✚ l'antagonisme : l'association diminue l'activité de l'une ou de l'autre, elle est inférieure à la somme des effets de chaque HE étudiée séparément.

CHAPITRE III
Monographie des plantes
et des espèces étudiées

I. Monographie de *Juniperus*

I.1. Généralités sur le genre *Juniperus*

I.1.1. Historique

Juniperus est un terme latin qui est étymologiquement peu clair. Une première hypothèse stipulerait qu'il ferait référence au mot celtique *Gen* « buisson », et *Prus* « âcre ». Une seconde révélerait que ce nom se composerait des mots latins *Junior* « plus jeune » et *Parere* « apparaître ». Selon la tradition chrétienne, le genévrier est considéré comme étant une plante protectrice. Depuis l'Antiquité, les Grecs et les Arabes avaient coutume d'utiliser le genévrier comme PM. C'est au XIX^e siècle que ses vertus antirhumatismales, digestives et diurétiques ont été rapportées par François-Joseph Cazin. Les romains utilisaient l'huile de cade, obtenue en chauffant le bois du *Juniperus oxycedrus*. Cette huile servait aussi à l'embaumement des morts. Dans l'Antiquité et au Moyen Âge, le genévrier était utilisé comme panacée, ses fumigations étaient réputées désinfectantes et combattaient les épidémies de peste et de choléra. Le « vin de genièvre » avait des vertus diurétiques. Une légende prétend que celui qui croquera chaque jour une baie de genévrier sera épargné par la maladie.

I.1.2. Origine

Originaires d'Amérique, d'Asie et d'Afrique, les genévriers occupent une place importante dans le paysage nord-africain. Ce sont des espèces pionnières peu exigeantes. Elles sont de plus présentes en bord de mer jusqu'aux sommets des Atlas. Les genévriers sont les seules essences résineuses pouvant constituer en montagne de véritables peuplements forestiers (Boudy, 1950).

I.2. Caractéristiques du genre *Juniperus*

Le genre botanique des genévriers appelé aussi poivre du pauvre comporte des variétés dites rigides caractérisées par des aiguilles piquantes et des variétés dites souples présentant un feuillage en écailles. Il est représenté par des arbres et des arbustes résineux, aromatiques à feuilles opposées ou verticillées. Il est caractérisé par des cônes très particuliers appelés « galbules ». Ils comportent des écailles plus ou moins complètement soudées entre elles. Les fleurs se présentent sous la forme de très petits chatons. Les cônes femelles formés d'un petit nombre d'écailles charnues plus au moins concrescentes à maturité. Ils produisent des baies

vertes qui virent au bleu, au brun ou au noir à maturité. Les genévriers sont des espèces eurasiatique et montagnardes (*J. communis* et *J. sabina*). **Quezel et Santa (1963)** indiquent que les genévriers en région méditerranéenne peuvent se répartir du point de vue écologique en plusieurs ensembles : les genévriers thermo méditerranéen (*J. phoenicea*, *J. turbinata*, *J. microcarpa*, *J. navicularis*) ; les genévriers liés à des structures forestières (*J. oxycedrus*, *J. communis*) ; et les genévriers préférentiels des milieux steppiques (*J. turbinata*, *J. thurifera*).

I.3. Classification botanique

Le genre *Juniperus* comprend environ 60 espèces. En Berbérie, le genre *Juniperus* est représenté par trois espèces : le *J. phoenicia* (genévrier de Phénicie ou genévrier rouge) ; le *J. thurifera* (genévrier de thurifère) ; le *J. oxycedrus* (oxycèdre ou cade) ; et enfin, bien que rare et spontané, le *J. communis*.

Ci-dessous la classification botanique du genre *Juniperus* :

Règne : Plantae.

Embranchement : Spermatophytes.

Sous embranchement : Gymnospermes.

Classe : Pinopsida.

Ordre : Pinales.

Famille : Cupressaceae.

Genre : *Juniperus*.

I.4. Répartition géographique

Le genévrier est une espèce méditerranéenne que l'on trouve en France, en Cyrénaïque et en Afrique du Nord. Il couvre en Algérie environ 290 000 hectares. Il recule de plus en plus dans l'Atlas Saharien et sur le versant du sud du Grand-Atlas sous l'action du climat désertique, mais surtout sous celle de l'homme et des troupeaux (**Boudy, 1952**).

I.5. Composition chimique des huiles essentielles du genévrier

Des recherches ont montré que les composants majoritaires de ces HE sont : l' α -Pinène, le δ -3-carène, le sabinene, l' α -phellandréne, le limonène, le linalol, le piperitine et le linalyl acétate (**Asili et al., 2008 ; Adams et al., 2003 ; Barrero et al., 2006 et Dob et al., 2008**). Des

hydroxycoumrines (ombelliférone), des flavonoïdes (rutine, quercitrin, isoquercitrin) et des proanthocyanidines (catéchine, épicatechine, gallocatéchin) ont de plus été retrouvés dans les extraits de feuilles de genévrier.

I.6. Propriétés pharmacologiques du genre *Juniperus*

Les genévriers se prêtent à des usages médicaux, alimentaires et cosmétiques. L'ensemble de ses espèces possède les mêmes propriétés pharmacologiques (**Lafon, 1987 ; Trease et Evans, 1989**). Le décocté préparé à partir des baies est utilisé pour traiter les abcès et les ulcérations de la peau et le diabète (**Boukef, 1986**).

I.7. *Juniperus phoenicea* L.

Juniperus phoenicea L. a été décrit par Linné en 1753. Ses noms vernaculaires sont : Genévrier de Phénicie, genévrier rouge, genévrier de Lycie, Lycien ou Fausse Sabine, le *mourven* des Provençaux. Alors que ses noms libyques sont : Ara'ar au Maroc et en Algérie, Aïfs, zimba (en langue chaouia).

I.7.1. Distribution géographique

Il est souvent confondu et en compétition avec le Thuya de Berbérie. (**Quezel et Gast, 1998, 2011**). C'est une espèce circum-méditerranéenne. Il constitue, au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès (Algérie), notamment dans le sud de ce massif (régions de Maafa, Beni Fodhala...). Il est le symbole végétal d'El Hierro. Il est fortement résistant à l'érosion éolienne et à la pression anthropique (**Aafi et al., 2000 ; Benabid, 2000 ; Aafi, 2003**).

I.7.2. Habitat

Rochers et coteaux arides, garrigue, maquis ou forêt microphylls persistants sur un sol sec et pierreux, dunes de sable. Indifférent vis-à-vis du milieu édaphique, il colonise les sols d'un substrat siliceux ou calcaire allant jusqu'à 2 400 m d'altitude. C'est une espèce héliophile.

I.7.3. Morphologie

C'est un arbrisseau ou un arbuste buissonnant. Il peut atteindre 8 mètres de haut, l'écorce est d'un brun rougeâtre ou grisâtre, assez épaisse. Souvent rampant, il ressemble au cyprès avec

ses rameaux un peu aplatis recouverts d'écaillés. Sa floraison a lieu de Février à Mars/Avril. Ses cônes sont bacciformes arrondis à ovoïdes de 8 à 14 mm de diamètre, noirâtres au début puis vert jaunâtre et enfin brun rouge foncé légèrement pruines à maturité et contenant de 3 à 9 graines. Il peut se multiplier en tube ou en godet (**Boudy, 1950**). On le distingue par la couleur rouge de ses fruits, par son port ramifié et moins puissant et par l'aspect touffu de ses rameaux cylindriques (**Auclair, 1993**).

I.7.4. Utilisation

Juniperus phoenicea L. est considéré comme une importante PM (**Dawidar et al., 1991 ; Adams et al., 1996**). Elle est utilisée à l'état vapeur pour la bronchite et le contrôle de l'arthrite. Ses feuilles sont utilisées pour traiter les diarrhées, les rhumatismes et le diabète (**Bellakhder, 1997 ; Allali et al., 2008**). Le mélange de feuilles et de baies est utilisé comme agent hypoglycémiant (**Amer et al., 1994**). Ses fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (**Akrout, 1999**). En Algérie, il est surtout reconnu pour son activité anti-diarrhéique (**Dob et al., 2008 ; Mazari et al., 2010**). Les composés chimiques des rameaux, des feuilles et des fruits sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques d'usage antiseptique (**Watt et al., 1962 ; Stassi et al., 1996 ; Medini et al., 2006**). Les cônes, les rameaux, mais surtout les jeunes pousses préparées en infusion ont des effets diurétiques, stomachiques et digestifs (**Bellakhder, 1997 ; Barrero et al., 2004**). Les feuilles sont utilisées contre le diabète, la diarrhée et le rhumatisme, alors que les fruits peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (**Le Floch, 1983 ; Qnais et al., 2005**).

I.7.5. Toxicité

L'HE de *J. phoenicea* contient du sabinol, du pinène, du citronellole, du thuyone et autres substances. Il était utilisé d'une manière criminelle pour provoquer des avortements. A fortes doses, la mort survient dans la plupart des cas.

II. Monographie de *Thymus*

II.1. Historique

Déjà dans l'Antiquité Galien citait « le thym est notoirement incisif et chaud. Il est propre à faire uriner et à provoquer le flux menstruel, à faire avorter et sortir l'enfant, et à nettoyer les parties nobles et intérieures. Il est propre à faire cracher et jeter toutes les

superfluités de la poitrine et du poumon ». Aetius écrivait au Ve siècle que les patients utilisant du thym « évacueront la colère et les autres humeurs, et même la matière pourrie, piquante et mordante qui cause la douleur ». Les égyptiens utilisaient le thym pour embaumer leurs morts. Chez les romains, il entra dans la composition des cosmétiques. Son usage se répand dans la pharmacopée au XIe siècle. Hildegarde et Albert le Grand le mentionnent contre la lèpre, la paralysie et les maladies nerveuses. Au Moyen-âge, il était brûlé pour masquer les odeurs ou pour ralentir la putréfaction. En 1887, Chamberland démontra son action bactéricide vis-à-vis du bacille du charbon. Cadéac et Meunier l'étudièrent en 1889 sur les bacilles typhiques. En 1894, Miquel avait montré le pouvoir bactéricide des vapeurs de thym (**Valnet, 1979**).

II.2. Etymologie

L'origine du nom thym proviendrait aussi bien du latin *thymus* signifiant « parfumer » que du grec *thumus* « courage », ou *thumos* « grosseur », ou encore, du thyein « fumée ». Le nom thym proviendrait aussi du mot grec *thymos* qui veut dire odeur, et à ce titre le thym est très largement utilisé en qualité de PM (**Richard et al., 1985**).

II.3. Classification

Le thym appartient à la famille des Lamiaceae (Labiatae) (**Bouhdid et al., 2006**). Elle regroupe entre 200 et 250 genres et entre 3 200 et 6 500 espèces reconnues pour leur fort pouvoir antioxydant (**Anon, 2003 ; Dorman et al., 2004 ; Venkateshappa et Sreenath, 2013**). Le genre *Thymus* comporte plus de 200 espèces (**Morales, 1997**). Selon la classification d'Engler (1829-1926), le thym appartient au :

Règne : Plantae.

Embranchement : Spermaphyte.

Sous embranchement : Angiosperme.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Métaclamydées.

Ordre : Tubiflorale.

Famille : Lamiacées.

Sous famille : Stachyoidea.

Genre : *Thymus*.

II.4. Variabilité et origine

En raison de l'extrême variabilité des espèces et des hybridations interspécifiques, la détermination des espèces reste toujours très délicate (**Quezel et Santa, 1963**). Environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen (**Jalas, 1971**). La région méditerranéenne occidentale semble ainsi être son centre d'origine.

II.5. Description morphologique

Le thym est un petit sous arbrisseau érigé ou prostré et odorant, il forme des touffes compactes très ramifiées (10 à 30 cm). Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocaillieux et dans les garrigues. Ses tiges sont ramifiées tortueuses et ligneuses peu touffues et où les rameaux dressés sont grisâtres et compactes. Ses feuilles sont sessiles, petites et étroites de forme lancéolée, de couleur verte blanchâtre et cotonneuse blanchâtre par-dessous. Les fleurs rosées, blanches ou petites, en épis à l'aisselle des feuilles supérieures. Les fruits sont des tétrakènes bruns et glabres.

II.6. Propriétés du thym

En usage externe le thym est un : stimulant général du physique, du psychique, et de la circulation capillaire ; apéritif ; hyper tenseur ; antispasmodique ; antiseptique ; génito-urinaire ; diurétique, sudorifique, emménagogue, carminatif, vermifuge. Il est par ailleurs : bactéricide ; antivenimeux ; antiputride, cicatrisant, révulsif, et parasiticide en usage interne (**Valnet, 1979**).

II.7. L'huile essentielle de thym

Les essences produites par les différentes espèces de thym ont des différences sensibles dans leur composition chimique (**Valnet, 1979**). L'essence de thym est beaucoup plus antiseptique que le phénol et l'eau oxygénée. L'action bactéricide et cicatrisante est beaucoup plus prononcée pour les essences peroxydées et détéropénées que pour l'essence brute (**Valnet, 1979**). Elle a un goût fort, piquant, épicé, herbeux, plutôt plaisant avec une odeur caractéristique (**Valnet, 1979**).

II.7.1 Composition chimique

La tige du thym contient en plus de l'HE des flavonoïdes (thymonine, cirsilinéol et 8-méthoxy-cirsilinéol) et des acides-phénols (notamment caféïques et rosmariniques), des tanins

et une résine (**Haraguchi et al., 1996**). La composition chimique de l'HE de thym dépend d'un nombre de facteurs principalement d'origine génétique et édaphoclimatique, elle dépend aussi de la saison de cueillette (**Hazzit et al., 2009**).

II.7.2. Quelques résultats d'application de l'huile essentielle de thym

- ✚ Activité antibactérienne : l'activité de 14 HE a été évaluée, l'*Haemophilus influenzae* était la plus sensible aux HE, suivie par *Streptococcus pneumoniae* et par *Streptococcus pyogenes*. Le *S. aureus* y était moins sensible. Les HE contenant des aldéhydes ou des phénols montraient l'activité antibactérienne la plus forte suivies par celle contenant des alcools terpéniques. Les HE de thym, d'écorce de cannelle, de lemon-grass, de périlla et de menthe poivrée ont été sélectionnées pour tester leurs effets infectieux sur le système respiratoire (**Zhiri, 2006**).
- ✚ Activité antifongique : selon **Ruberto et al., (1993)**, l'HE de thym manifeste une activité antifongique vis-à-vis d'*Aspergillus* et de *Fusarium sp.* contrairement à celle observée avec l'HE de la sauge et du laurier.
- ✚ Activité antioxydante : d'après **Draglant et al., (2003)**, le thym, l'origan, la sauge et le clou de girofle ont une forte activité antioxydante. Elle est due essentiellement à la présence de composés phénoliques (**Ramarathnam et al., 1995**).

II.7.3. Localisation des principales espèces de thym en Algérie

D'après **Djerrari et Crouzet (1985)**, plus de 27 espèces du genre *Thymus* pousse entre l'Algérie et le Maroc. 11 espèces sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (**Kabouche et al., 2005**). Ces espèces sont réparties du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais.

III. Monographie d'*Origanum*

III.1. Historique

Le nom origan est dérivé du grec « oros » et « genos » et signifierait « éclat ou parure des montagnes ». Connu depuis des millénaires, il était l'objet de certaines superstitions, on lui prêtait le pouvoir de préserver l'homme et l'animal des maladies et de rendre amoureux les cœurs les plus réticents (**Richard, 1992**).

III.2. Classification botanique

Les origans appartiennent à la grande famille des Lamiaceae (Labiatae). Dans sa révision du genre, **Ietswaart (1980)** classe le genre *Origanum* en 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous espèces et 17 hybrides naturels. Depuis cette classification 5 autres espèces et 1 hybride ont pu être identifiés. Les espèces sont caractérisées par une grande variabilité morphologique et biochimique (**Alfaïz, 2006**).

La classification botanique de l'origan est représentée ci-dessous (**Ietswaart, 1980**).

Règne : Plantae (végétal).

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiaceae (alt. Labiatae).

Sous famille : Nepetoideae.

Genre : *Origanum*.

III.3. Description botanique

L'origan est un mini arbuste pérenne, à port dressé ou étalé. Les feuilles ont une forme et une taille différentes contenant des poils glandulaires ou non à leur surface. Les fleurs sont bisexuées (**Alfaïz, 2006**), le calice de l'origan est tubuleux à cinq dents courtes, bilabiées ou non. La corolle quant à elle est blanche, rosée ou bien violette (**Quezel et Santa, 1963**). Les inflorescences sont et réunis en inflorescences composées (**Richard, 1992**).

III.4. Répartition géographique

L'origan pousse surtout dans les pays méditerranéens, avec une concentration plus marquée dans les régions de l'Est (Grèce, Turquie et Moyen Orient) (**Alfaïz, 2006**). Il pousse également dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie (**Ruberto et al., 2002**). C'est est une plante répandue en Algérie, elle est représentée par deux espèces *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*.

Chapitre III – Monographie des plantes et des espèces étudiées

Partie I – Recherche bibliographique

Tableau 3 : Répartition géographique des espèces d'origan en Algérie (Quezel et Santa, 1963).

Espèces	Localisations et caractéristiques
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	Commun dans tout le Tell. Espèce endémique Algéro-tunisienne poussant dans les garrigues et broussailles.
<i>Origanum floribundum</i> Munby.	Pousse en pâturage, surtout en montagne. Espèce rare dans le sous-secteur du littoral et le secteur de Kabylie. Endémique en Algérie.

III.5. Huile essentielle d'origan

Les deux principaux composés de l'HE d'origan sont le carvacrol et le thymol (Ultee et al., 1999). Plusieurs études ont mis en évidence de nombreuses activités biologiques et pharmacologiques (antifongique, antibactérienne, antioxydante, analgésique, anti-inflammatoire, antispasmodique, antimutagenique et anticancéreuse). Par ailleurs on a rapporté d'autres activités biocides en tant qu'insecticide, nématocide et anti mollusque (Alfaiz, 2006).

IV. Monographie d'*Ammoides*

IV.1. Description

La famille des ombellifères, au quelle appartient le genre *Ammoides*, se caractérise par une organisation florale très homogène ce qui rend l'identification délicate. Elle doit son nom à son inflorescence ordinairement en ombelle et ombellules. La morphologie du fruit apporte une aide à l'identification. Cette famille est présente dans le monde entier, principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et compte environ 438 genres et 3 955 espèces (Rubinstein, 2009). **Le genre *Ammoides* compte les espèces suivantes :** *Ammoides atlantica* (Coss. & Durieu) H. Wolff. ; *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. ; *Ammoides pusilla* var. *trachysperma* (Boiss.) Molero Mesa & Pérez Raya. ; *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. ; *Ammoides verticillata* var. *pusilla* (Pamp.) Thell. ; et *Ammoides verticillata* var. *trachysperma* (Boiss.) Maire.

IV.2. Classification botanique

Le genre *Ammoides* (ou *Ptychotis*) est classé selon la clé de détermination botanique de Quezel et Santa (1963) et de Guinochet et Vilmorin (1975) comme suit :

Embranchement : Phanérogames.

Sous embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotylédones.

Sous classe : Dialypétales.

Série : Calciflores.

Ordre : Ombellales.

Famille : Ombellifères.

Genre : *Ammoides* ou *Ptychotis*.

IV.3. *Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf.

IV.3.1. Morphologie

Selon **Quezel et Santa (1962)**, *Ammoides atlantica* est une plante bisannuelle ou vivace à souche épaisse pourvue d'une rosette de feuilles basilaires. Ses tiges sont peu ramifiées. Ses feuilles inférieures sont pétiolées, elles comportent de nombreux segments multifides verticillés. Ses feuilles supérieures sont quant à elle pennatifides à segments linéaires. *A. atlantica* se présente sous la forme d'ombelles comportant 3 à 6 rayons. Ses fruits ont une taille de 2 à 2,5 mm.

IV.3.2. Habitat

Ammoides atlantica (Coss. et Dur.) Wolf. est retrouvée au-dessus de 1 000 m sur les pelouses et les montagnes.

IV.3.3. Localisation géographique

Ammoides atlantica (Coss. et Dur.) Wolf. est une espèce endémique en Algérie et assez commune en méditerranée. Elle est retrouvée dans le sous-secteur de l'Atlas Tellien, en grande et petite Kabylie, en Numidie, dans le secteur du Tell constantinois, dans le sous-secteur de l'Atlas Saharien algérois et dans le sous-secteur de l'Atlas Saharien constantinois (y compris dans les Aurès).

IV.3.4. Composition chimique de l'huile essentielle

Les résultats du screening phytochimique d'*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. confirment la richesse de cette plante en composés phénoliques (polyphénols, tanins

catechiques, flavonoïdes, flavones, leucoanthocyanes, coumarines, anthocyanes et quinones libres), en composés terpeniques : (saponosides, stéroïdes, stérols, triterpènes), en composés azotés (alcaloïdes) et en caroténoïdes (**Daira et al., 2016**).

IV.4. Utilisation thérapeutiques

En médecine traditionnelle algérienne, le genre *Ammoides* est largement utilisé pour prévenir et guérir diverses maladies. Elle est utilisée pour soigner les problèmes respiratoires, en cas de rhume, de fièvre, de migraine, de trouble gastriques et d'infections rénales. Les graines de la plante montrent plusieurs effets thérapeutiques à savoir : diurétique, analgésique, carminatif, anti-diarrhéique, antihistaminique, vermifuge, anti-asthmatique et autres (**Felidj et al., 2010**). Par ailleurs, *Ammoides pusella* et *Ammoides atlantica* sont utilisées comme antibactérien et pour traiter le vitiligo. Les *Ammoides* sont aussi utilisées comme condiments (**Bellakhdar, 1997**). L'extrait aqueux d'*A. pusilla* est utilisé dans l'est du Maroc pour traiter le diabète (**Bnouham et al., 2007**). L'HE d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. de la région de Jijel est utilisée localement pour traiter la fièvre des enfants. Des études ont également mise en évidence les activités antimicrobiennes et antibactériennes des HE d'*A. pusella* et d'*A. atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. de la région de Sétif (**Laouer et al., 2003 ; Laouer et al., 2008**). Certains alcaloïdes présents dans l'HE d'*A. verticillata* (Desf.) Briq. sont connus pour leur efficacité antimicrobienne (**Omulokoli et al., 1997**) et pour traiter certains cancers. *A. pussila* est connue principalement pour son action « veinoactif » (**Wichtl et Anton, 2003**). Les résultats de **Benarba et al., (2015)** montrent que les flavonoïdes présents chez *Ammoides* possèdent des effets thérapeutiques contre plusieurs maladies (grippe, fièvre, asthme, hypertension, intoxications).

V. Monographie de *Callosobruchus*

V.1. Généralités sur les insectes phytophages

La plupart des insectes ravageurs des denrées stockées appartiennent à l'ordre des coléoptères (**Booth et al., 1990**). D'immenses quantités de légumineuse sèches sont perdues chaque année en raison de ces insectes phytophages (**FAO, 2006**). Selon **Delobel et Tran (1993)**, les coléoptères constituent l'ordre d'insectes le plus riche en espèces environ 350 000, ils sont responsables de l'essentiel des pertes dans les silos. Les bruches (Coleoptera : Bruchidae) sont les plus importants insectes ravageurs des grains entreposées dans les régions

tropicales. On distingue parmi ces bruches : *Callosobruchus maculatus* ou bruche du niébé et du pois chiche ; *Acanthoscelides obtectus* ou bruche du haricot ; *Caryedon serratus* ou bruche des arachides. *Callosobruchus maculatus* est un insecte ravageur primaire au même titre que *Sitophilus* sp. et *Rhyzopertha* sp. qui attaquent les graines saines. Ces derniers facilitent par ailleurs l'attaque des ravageurs secondaires tels qu'*Oryzaephilus* sp., *Cryptolestes* sp. et *Tribolium* sp., qui s'installent sur les graines déjà entamées (Farrelle, 1998 ; De Groot, 2004). Chaque espèce de Bruchidae n'était capable de se développer que dans un petit nombre de légumineuses (Center et Johnson, 1974 ; Jansen, 1977).

V.2. Caractères généraux de la famille des Bruchidae

La famille des Bruchidae comprend deux groupes :

- ✚ Le premier renferme les bruches se développant dans les champs, dans les graines encore vertes et qui ont une seule génération annuelle (univoltines), comme *Bruchus pisorum* (bruche du pois), *B. rufimanus* (bruche de la fève) ou *B. lentis* (bruche des lentilles) ;

- ✚ Le deuxième renferme les bruches qui se multiplient à l'intérieur des entrepôts et dans les graines sèches. C'est le cas de *C. maculatus* (la bruche du niébé), de *C. chinensis* (bruche chinoise), de *Acanthoscelides obtectus* (bruche du haricot), de *Caryedon serratus* (bruche de l'arachide) et de *B. atrolineatus* (bruche africaine du niébé) (Delobel et Tran, 1993).

Seules les sous familles des Bruchinae, des Amblycerinae et des Pachymerinae comprennent les espèces nuisibles aux plantes cultivées (Hoffman et al., 1962).

V.3. Présentation de *Callosobruchus maculatus* F.

Ce redoutable déprédateur se développe préférentiellement sur la graine du niébé. Il est par ailleurs capable de se reproduire sur les graines de pois chiche stockées. Il peut produire 16 générations en un an lorsque les conditions sont très favorables (Ketoh et al., 2006). Il est caractérisé par un polyvoltisme (Nyamador et al., 2010).

V.3.1. Position systématique

Fabricius a décrit pour la première fois *Callosobruchus maculatus* en 1775 sous le nom de *Bruchus maculatus*. Cette espèce fut également aussi répertoriée sous plusieurs noms : *Bruchus quadrimaculatus*, *Laria quadrimaculatus* (Bedel, 1901) et *Pachymerus*

quadimaculatus. Selon **Fabricius (1775)** et **Balachowsky (1962)**, la taxonomie de *Callosobruchus maculatus* est comme suit :

Embranchement	Arthropodes
Sous embranchement	Pterygotes
Classe	Insectes
Section	Néoptères
Sous-section	Néoptères endoptérygogènes
Ordre	Coléoptères
Sous ordre	Phytophaga
Super famille	Phytophagoidea
Famille	<i>Bruchidae</i>
Sous famille	<i>Bruchinae</i>
Genre	<i>Callosobruchus</i>
Espèce	<i>Callosobruchus maculatus</i>

V.3.2. Position phylogénétique

Avec près de 1 300 espèces (**Borowiec, 1987**), les bruches constituent un groupe assez peu diversifié au regard des 135 000 espèces connues de coléoptères phytophages (**Lawrence, 1982**). Depuis le milieu du 19^{ème} siècle, ce groupe d'insecte était considéré comme constituant une famille à part entière (Coleoptera : Bruchidae). Toutefois, un tournant important eu lieu vers la fin des années 1990 (**Kingsolver, 1995 ; Verma et Saxena, 1996 ; Duckett, 1997 ; Lingafelter et Pakaluk, 1997 ; Schmitt, 1998**), en particulier en raison de l'apparementement supposé des Sagrinae (Chrysomelidae) avec les Bruchidae (**Borowiec, 1987 ; Reid, 1995 ; Silvain et Delobel, 1998**). Par la suite, un nombre croissant d'études moléculaires vinrent soutenir cette hypothèse et mirent en évidence une position phylogénétique relativement dérivée des bruches au sein des représentants de la famille des Chrysomelidae (**Duckett et al., 2003 ; Farrell et Sequeira, 2004 ; Gómez-Zurita et al., 2007**). En conséquence, la plupart des études portant sur le groupe traitent dorénavant les bruches comme une sous-famille de Chrysomelidae (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae) (**Lecointre et Le Guyader, 2001**).

V.3.3. Dénomination

Callosobruchus maculatus est communément appelé la bruche du pois chiche et ou la bruche du niébé. Habituellement appelée bruche à 4 tâches ou bruche maculée, elle est aussi dénommée *Bruchus quadrimaculatus*, *Bruchidius maculatus*, *B. ornatus*, *B. ambiguus*, *B. simatus*. Les anglo-saxons l'appellent : Cowpea Weevil ; Cowpea Seed Weevil ; Spotted Cowpea Bruchid ; Chinese Bruchid ; Adzuki Bean Beetle.

V.3.4. Origine

La sous-famille des Bruchinae n'est connue que sur les légumineuses. Son origine n'est pas bien connue, mais **Decelle (1981)** pense que cette espèce serait originaire d'Afrique.

V.3.5. Répartition géographique

En Afrique tropicale, 16 espèces de bruches sont rencontrées sur les graines de légumineuses (**Decelle, 1987**). Ces espèces sont représentées par 7 genres (*Callosobruchus*, *Bruchidius*, *Acanthoscelides*, *Carjedon*, *Zabrotes*, *Pachymerus* et *Spermophagus*) répartis dans 3 sous familles (**Taylor, 1981**). *Callosobruchus maculatus* est originaire d'Asie et d'Afrique (**Southgate, 1978**). Cette espèce a tendance à préférer le climat tropicale et subtropicale (**Lepesme, 1944 ; Fleurat Leussard, 1980**). Le commerce des graines de légumineuses a fait voyager *C. maculatus* dans de nombreuses régions subsahariennes de l'Afrique de l'ouest (**Ridet, 1992 ; Fleurat Leussard, 1980 ; Caswell, 1981**). Les deux espèces de coléoptères les plus répandues sont *C. maculatus* et *C. chinensis*, réparties dans les régions tropicales et subtropicales. *C. maculatus* est originaire d'Afrique où il reste dominant.

V.3.6. Biologie

Callosobruchus maculatus est une espèce cosmopolite et bien adaptée aux conditions de l'environnement et à celles des structures de stockage. Hors mis le niébé, principale plante hôte (**Weidner et Rack, 1984 ; Decelle, 1987**), elle peut également se développer aux dépens de plusieurs espèces de légumineuses (**Ouedraogo et Huignard, 1981**). Après la récolte, le développement des larves se poursuit dans les graines au cours du stockage. La durée du cycle de l'œuf à l'adulte est variable en fonction des conditions climatiques et serait comprise entre 30 et 35 jours (**Singh et Allen, 1979**) et même au-dessous de 20 jours en conditions de haute température et de faible humidité relative (**Ouedraogo et al., 1996 ; Sanon et Ouedraogo,**

1998). A la fin de la saison sèche, lorsque les graines sont fortement dégradées et que la saison des pluies débute, les individus de la forme voilière émergent dans les stocks (Ouedraogo, 1991). La forme non voilière de *C. maculatus* F. est particulièrement reproductrice et adaptée à la vie des stocks. Plusieurs générations d'adultes peuvent s'y succéder. Les individus de la forme voilière, en quiescence reproductrice et aptes au vol, auraient tendance à quitter les systèmes de stockage. Ils seraient à l'origine de l'infestation des cultures de niébé (Ouedraogo, 1991).

V.3.7. Cycle de développement

Dans des conditions de laboratoire (27 °C et 70 % d'humidité relative), Hoffmann (1945) considère que *C. maculatus* F. accomplit son cycle biologique en 28 jours. Kellouche (2005) parle par ailleurs d'une moyenne de 28 ± 3 jours dans les graines de pois chiche. L'incubation des œufs dure environ 1 semaine, le développement larvaire 15 jours et la nymphose 6 jours.

V.3.8. Stade de développement

Selon Ouedraogo (1978), le cycle de développement de *C. maculatus* F. est similaire à celui de la majorité des *Bruchidae*, il passe ainsi par 4 stades, énumérés et développés ci-dessous.

V.3.8.1. L'œuf

Dans les stocks, la femelle de *C. maculatus* dépose ses œufs ovoïdes directement sur le péricarpe des graines (Balachowsky, 1962 ; Delobel et Tran, 1993). Alors que dans les champs, elle les dépose sur les gousses vertes ou mûres de *V. unguiculata* (Alzouma, 1981). On compte 75 à 100 œufs par ponte. Les œufs de couleur blanchâtre sont ainsi fixés le long des sutures des gousses ou à la surface des graines stockées (Biémont et al., 1982). Les études de Kawechi (1995) démontrent que les femelles de *C. maculatus* peuvent anticiper la compétition larvaire future en produisant de gros œufs pour améliorer les chances de survie de sa descendance. Lors de la ponte, une phéromone de marquage est déposée en même temps que l'œuf (Delobel et Tran, 1993).

V.3.8.2. La larve

L'éclosion de la larve a lieu 3 à 5 jours après le dépôt de l'œuf (**Ouedraogo, 1978**). L'éclosion peut aussi survenir entre le 5ème et le 7ème jour. La larve (**Figure 14**) néonate, de type chrysomélien perfore la paroi externe de l'enveloppe de la gousse ou du tégument de la graine et rentre à l'intérieur (**Lepesme, 1944**). Le développement larvaire est fonction de la température ambiante, il peut être très rapide autour de son optimum (15 à 20 jours). La larve connaît quatre stades de développement, à savoir : La larve de : stade 1 (larve néonate ou L1), stade 2 (L2), stade 3 (L3) et stade 4 (L4).



Figure 14 : Larve de *Callosobruchus maculatus* F. (Gr. 40x0,8)

V.3.8.3. La nymphe

La nymphe est d'abord blanchâtre et non scléifiée. Par la suite, les organes se sclérifient pour aboutir à l'imago. La durée de la nymphose peut aller de 7 à 28 jours. La durée moyenne de développement est de 30 jours, elle varie en fonction des caractéristiques de la graine hôte et des conditions de température et d'humidité relative (**Kossou et Aho, 1993**). *C. maculatus* se nymphose à l'intérieur d'une seule graine après avoir construit une fenêtre au niveau du tégument (**Southgate, 1979**).

V.3.8.4. L'adulte

L'adulte qui émerge est de petite taille, de forme courte, ramassée et globuleuse mesurant 2,8 à 3,5 mm de longueur. La tête est noire, les antennes et le pronotum sont de couleur rouge clair ou brun (**Figure 15**). Le corps est généralement de coloration rougeâtre, de forme oblongue recouvert de soies (ou poiles) blanches à blanc-jaunâtres (**Ouedraogo, 1991**). A

l'émergence l'extrémité postérieure de l'abdomen dépasse légèrement les élytres (**Ouedraogo, 1978**).



Figure 15 : Bruches adultes.

Les antennes sont noires avec les 4 premiers articles roux. Chez les mâles, elles sont plus élargies à partir du 7ème article, mais certaines femelles ont les antennes entièrement rouges (**Balachowsky, 1962**). L'espèce est ailée, bien qu'il existe des formes brachyptères ou aptères (**Mallamaire, 1962**). Recouverts d'une pilosité fine, les élytres sont fortement sclérifiés et ne sont utilisés que lors du vol (**Chatened du Gaetan, 1990**).

V.3.9. Dimorphisme sexuel

Une coloration différente des élytres et du pygidium permet de distinguer le mâle de la femelle (**Figure 16**). En effet, le pygidium est élargi et de couleur sombre sur les deux faces pour les femelles. Il est par contre petit et manque de rayures chez les mâles. Les femelles sont de taille plus grande et de couleur plus foncée, contrairement aux mâles qui sont de couleur brune claire (**Beck et al., 2007 ; Mouhouche, 2012**).

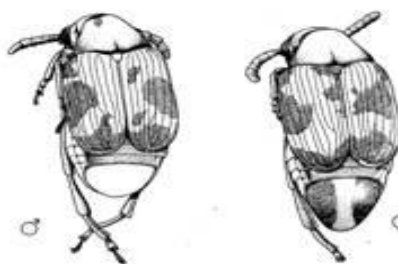


Figure 16 : Dimorphisme sexuel chez les adultes de *Callosobruchus maculatus*.

V.3.10. Polymorphisme imaginal

Le polymorphisme imaginal chez *C. maculatus* est induit pendant le développement embryonnaire et/ou post embryonnaire. Il dépend des conditions de température et de teneur en eau des graines (Ouedraogo, 1991 ; Ouedraogo et al., 1991). Deux formes d'adultes ont ainsi été décrites et caractérisées par Utida (1954 ; 1972) ; Caswell (1960) et Ouedraogo (1978 ; 1991), se sont les adultes de la forme non voilière et les adultes de la forme bonne volière (Figure 17).



Figure 17 : Adultes de *C. maculatus* : forme voilière mâle et femelle (C) \times 10 (Sanon, 2009).

Ces adultes différents par des caractères morphologiques, physiologiques et comportementaux. Les adultes voiliers sont en quiescence reproductrice à l'émergence des graines. 1 % des femelles de forme voilière sont reproductrices sexuellement actives ; 3 % sont en quiescence reproductrice et 96 % sont en diapause reproductrice (Zannou, 2000). La quiescence est une adaptation à des variations irrégulières de l'environnement entraînant des modifications physiologiques peu profondes (Tauber et al., 1981 ; 1984). Des travaux antérieurs ont montré que les adultes voiliers présentaient une véritable diapause reproductrice identique à celle observée chez *B. atrolineatus* (Glitho et al., 1996). Cette forme quitte les stocks à l'approche et pendant la saison des pluies et est à l'origine de l'infestation des cultures de niébé (Sano-Fujii, 1984 ; Huignard et al., 1985).

V.4. Dégâts occasionnés

Plusieurs générations de *C. maculatus* peuvent se succéder. Des récoltes entières peuvent ainsi être détruites après trois à quatre mois de stockage (Caswell, 1961 ; Prevett, 1971 ; Alzouma, 1981). Les stocks ravagés sont facilement reconnaissables à la présence de l'enveloppe de l'œuf, visibles par transparence lorsque les bruches ont atteint un stade larvaire

avancé. Les pertes occasionnées sont estimées à plusieurs milliers de dollars par an. Au moment de l'entreposage des récoltes, le taux d'infestation par les bruches est faible, généralement inférieur à 5 % (Ouedraogo, 1991 ; Sanon *et al.*, 2005). En absence de protection efficace, et après 1 mois de conservation, ce taux atteint 30 %, puis 80 à 100 % en 5 mois de stockage (Seck *et al.*, 1991 ; Ouedraogo *et al.*, 1996 ; Van Alebeek, 1996). Ces pertes peuvent atteindre 100 % en Afrique tropicale (El-Sawaf, 1956 ; Lienard et Seck, 1994 ; FAO, 2009). Les dégâts (Figure 18) causés par les bruches sont variés et incluent des pertes quantitatives et qualitatives.



Figure 18 : Dégâts occasionnés par *Callosobruchus maculatus* F. sur des grains de pois chiche commercial (Original) (Gr. 10 x 4).

V.4.1. Pertes qualitatives

Selon Habibi (1998), les larves de *C. maculatus* creusent des galeries dans les cotylédons des graines. L'attaque des graines entraine la détérioration de l'aspect physique des graines, mais aussi l'inhibition de l'activité trypsique et l'apparition de l'acide phytique (Xavier-Filho, 1993), et de l'acide urique (Ali et Muzquiz, 1998). Une modification de la composition vitaminique des graines (Huis et Rooy, 1998), ainsi qu'une augmentation de la teneur en cellulose sont également observées (Martin-Cabrejas *et al.*, 1995). La qualité des protéines des graines subit par ailleurs une diminution de la composition en méthionine et une augmentation de l'acide urique et de l'azote non protéique (Keita *et al.*, 2001^b). Une étude réalisée sur des lots d'arachides a montré que les gousses percées par des insectes avaient des teneurs en aflatoxine les plus élevées (Bockelée-Morvan, Gillier, 1979). La perforation des graines infestées favorise d'autre part le développement des germes pathogènes, le pouvoir germinatif de ces graines en est fortement diminué (Gain, 1987).

V.4.2. Pertes quantitatives

Elles se traduisent essentiellement par une perte pondérale due à une consommation directe des réserves contenues dans les graines attaquées (Gueguen et Cerletti, 1994). Chaque

logette nymphale entrainera une perte de poids de la graine de pois chiche. Cette perte s'explique par une fécondité élevée et par l'absence de diapause reproductrice (Utida, 1972).

V.5. Lutte contre *C. maculatus* F. par les plantes

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux propriétés insecticides des PAM (Ketoh et al., 2002 ; Seri-Kouassi et al., 2004 ; Sanon et al., 2006 ; Ngamo et al., 2007). L'utilisation des plantes pour la conservation des grains stockés est connue avant même l'apparition des insecticides de synthèse (Gueye et al., 2010). Les agriculteurs avaient pour coutume d'introduire dans leurs greniers des PAM pour protéger les graines entreposées (Sanon et al., 2002). Ces moyens de lutte anti-ravageur seraient alors d'un grand intérêt pour les producteurs, aussi bien sur le plan écologique, que sur le plan économique (Cardona et Kornegay, 1999 ; Doumma et al., 2006 ; Shaheen et al., 2006 ; Somta et al., 2006). Les extraits naturels des PAM sont utilisés sous plusieurs formes : extraits aqueux (Gwinner et al., 1996 ; Aouinty et al., 2006) ; extraits organiques (Regnault-Roger et al., 1993) ; huiles végétales (Kellouche, 2005) ; HE et poudres végétales.

V.5.1. Utilisation sous forme de poudre

Keita et al., (2000)^a ont prouvé l'efficacité de la poudre d'*O. gratissimum* contre les attaques du niébé par *C. maculatus*. D'après Pereira et Wohlegmuth (1982), les graines de margousier ont un effet très efficace sur les adultes de *S. oryzae* L., de *S. zéamais* L. et de *C. maculatus* F. Tofel et al., (2015) indiquent que la poudre des graines de *A. indica* causerait une mortalité de 34,28 % dans les 6 jours de lutte contre *C. maculatus* et plus de 90 % de mortalité chez *S. zéamais* après 7 jours d'exposition.

V.5.2. Utilisation en fumigation

Raja et al., (2001) en testant par fumigation les HE de *Mentha arvensis*, de *Mentha piperita*, de *Mentha spicata* et de *Cymbopogon nardus* ont montré des effets ovicide et adulticide sur *C. maculatus*.

V.5.3. Utilisation sous forme d'extraits organiques

Selon Regnault–Roger et Hamraoui (1993), les extraits organiques les plus puissants sont le menthol, l'eugénol et la pulégone. Talukder et al., (1998) montrent que les extraits des

graines de *T. péruviana*, de *C. caravida*, et de *R. communis* sont toxiques vis-à-vis de certains coléoptères.

V.5.4. Utilisation sous forme d'extraits aqueux

Les extraits aqueux du pyrèthre (*Tanacetum cinerariifolium*) et de plusieurs espèces de labiacées manifestent une efficacité élevée sur presque la totalité des ravageurs des denrées stockées, et en particulier contre *C. maculatus* F. (Gwinner et al., 1996 ; Hamraoui et Regnault-Roger, 1997).

V.5.5. Utilisation sous forme d'huiles essentielles

L'ensemble de ces auteurs : Seck et al., (1993), Ramzan (1994), Gakuru et Fouabi (1995), Don-Pedro (1996)^{ab}, Rajapakse et Van Amden (1996), Keita et al., (2001)^b, Raja et al., (2001), Ketoh et al., (2002) et Kellouche et al., (2004) confirme l'efficacité insecticide des PAM.

VI. Monographie de la graine hôte *Cicer arietinum* L.

VI.1. Histoire et domestication

Le pois chiche cultivé appelé *Cicer arietinum* L. est la première légumineuse à graine domestiquée dans le monde (Hannan et al., 2001 ; Redden et Berger, 2007). Il est connu sous le nom d'« hallaru » (3 000 ans avant J.-C.). Ses premières traces d'utilisation comme aliment remontent à environ 7 000 ans. Il est certainement originaire du Proche-Orient. On rapporte souvent qu'il a conquis l'Europe durant le Moyen Âge après que les croisés l'eurent découvert au Proche-Orient, où il est alors appelé « pois cornu ». Mais sa culture et sa consommation sont en réalité attestées bien avant, au moins dès le IXe siècle. Selon des études, la Turquie serait probablement la zone pionnière dans la domestication du pois chiche 5450 avant JC (Hannan et al., 2001). Il se propagea plus tard vers l'Inde, le moyen orient et les pays du bassin méditerranéen (Singh et al., 2013). Il occupe aujourd'hui le deuxième rang parmi les légumineuses consommées dans le monde après la fève *Phaseolus vulgaris* L. (Gupta et al., 2014).

VI.2. Taxonomie

C'est l'unique espèce domestiquée du genre *Cicer* (Kerem et al., 2007), il est aujourd'hui classé sous la tribu monogénérique des Cicereae (Singh et al., 2013). Le genre *Cicer* comprend 43 espèces (Singh et Jauhar, 2005 ; Redden et Berger, 2007). Sa taxonomie est indiquée ci-dessous suivant la classification phylogénétique APG III (Bremer et al., 2009) :

Règne : Plantes.

Clade : Angiospermes.

Clade : Eudicotylédones.

Clade : Core-Eudicot.

Clade : Rosidés.

Clade : Eurosides I.

Ordre : Fabales.

Famille : Fabaceae.

Sous famille : Faboideae.

Tribu : CicereaeAlef.

Genre : *Cicer*.

Nom binominal : *Cicer arietinum* L., 1753.

VI.3. Etymologie

Le nom de *Cicer arietinum* L. vient du latin *Cicero aries*, *cicero*(Rafiul, 1991). Ce nom se retrouve dans le français pois chiche, dans l'italien *cece*, dans l'allemand *kichererbse*, dans l'anglais *chickpea*, dans le néerlandais *kikkererwt* ou même dans le berbère *ikiker*. Selon les régions, plusieurs noms communs sont utilisés pour désigner le pois chiche : Homos ou Hamaz, Bengal gram, Chickpea, Egyptian pea, Nohud, Kabuli chana et Loblebi (Latif, 2002). En langue arabe, le pois chiche est nommé « hullar ». D'un point de vue pratique, le pois chiche est classé selon deux types Kabuli et Desi.

VII. Monographie des micro-organismes étudiés

Nous décrivons dans cette partie les souches sélectionnées pour étudier l'effet de la supplémentation de l'HE de *J. phoenicea* sur son activité antimicrobienne. Un tableau complétant cette description est présenté dans le chapitre matériels et méthodes.

VII.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli (bacille à Gram négatif) commensal du tube digestif est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, elle peut aussi provoquer des diarrhées, des gastroentérites, des infections extra intestinales, des septicémies, et diverses infections communautaires ou nosocomiales (Nataro et Kaper, 1998).

VII.2. *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques appartiennent à la famille des *Micrococcaceae*, ce sont des cocci à Gram positif qui tendent à se grouper en amas. *S. aureus* (staphylocoque doré) tient particulièrement une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (Chambers, 1997). Il est responsable de gastro-entérites ; d'infections urinaires et d'ostéomyélite et d'arthrite.

VII.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Bactérie ubiquitaire, avec des bacilles très mobiles. Très contagieuse car elle se trouve partout dans la nature. Elle présente une grande capacité pathogène et est de plus en plus responsables opportunistes. Les pathologies engendrées par les *Pseudomonas* sont très diverses. Il s'agit souvent de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques. Une des plus redoutables est *P. aeruginosa* (Strateva et Yordanov, 1995).

VII.4. *Candida albicans*

Appartenant à la famille des *Cryptococcaceae*, *Candida albicans* est principalement à l'origine de la candidose disséminée. C'est un champignon fréquemment retrouvé au niveau de la bouche et du tractus gastro-intestinal. Elle est responsable de lésions cutanées ; d'infections œsophagiennes et d'infections génitales (Fuerst, 1976 ; Pieri et Kirkiacharian, 1992).

VII.5. *Bacillus subtilis*

C'est une bactérie ubiquitaire (Gram positif) appartenant à la famille des *Bacillaceae*. Elle n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais elle peut contaminer les aliments et provoquer exceptionnellement des intoxications alimentaires.

CHAPITRE IV
Traitement par irradiation

V.1. Généralités

La source de rayonnement la plus utilisée pour l'irradiation des aliments est le cobalt-60 ; celui-ci produit des rayonnements électromagnétiques qui possèdent une énergie beaucoup plus élevée que celle de la lumière. Grace aux rayons ionisants produits par les irradiateurs, cette technologie est utilisée sur des aliments conditionnés et déjà emballés afin de diminuer le nombre de bactéries, d'améliorer la salubrité de l'aliment, d'augmenter sa durée de vie, et d'éliminer les insectes qu'ils peuvent contenir.

L'avantage de l'irradiation par rapport aux autres méthodes traditionnelles est que les rayons pénètrent directement au cœur de l'aliment, contrairement aux pesticides et aux gaz qui eux agissent en surface. Le traitement s'effectue à froid, ce qui permet de conserver les valeurs nutritives et les propriétés physico-chimiques des aliments. Avec une telle méthode, l'utilisation des additifs alimentaires peut être diminuée voire éliminée. Le Food and Drug Administration des États-unis a décidé d'utiliser l'irradiation plutôt que la fumigation pour le traitement des épices, des fruits et des légumes. Les rayons-X, dont l'énergie est variable, sont émis par des machines ; les rayons gamma, dont l'énergie est spécifique, résultent de la désintégration spontanée de radio nucléides, provenant du cobalt-60. Celui-ci se transforme ainsi en nickel au bout de 10 ans, le cobalt-60 perd aussi 10 % de son énergie par an. La demi-vie est de 5 ans.

IV.2. Historique

Les découvertes des rayons-X, par le physicien allemand Wilhelm Rontgen, en 1895, ensuite des substances radioactives, par Henri Becquerel, l'année suivante, initièrent un courant de recherche intense portant sur les effets biologiques de ces types de radiations. A cette époque, la plupart des irradiations étaient effectuées par exposition aux rayons-X, et se produisaient lorsque des électrons, propulsés par un accélérateur se heurtaient à de la matière des atomes de tungstène par exemple. Dès 1905, des scientifiques faisaient breveter aux États-unis des processus d'irradiation servant à tuer les bactéries. En 1921, un autre brevet proposé par les américains approuvait un procédé utilisant la technologie aux rayons-X pour éliminer un parasite le *Trichinella spiralis* de la viande. En 1930, la France émet à son tour un brevet autorisant cette fois-ci l'utilisation de l'irradiation des aliments afin de détruire les bactéries pathogènes de la nourriture. Ce n'est que vers la fin des années 50, que l'industrie agroalimentaire s'intéressa plus sérieusement à la possibilité de commercialiser des aliments

Chapitre VI – Traitement par irradiation

Partie I – Recherche bibliographique

irradiés. Le congrès américain considérait à cette époque comme c'est toujours le cas l'irradiation des aliments comme l'ajout d'un simple additif alimentaire, et il incombait aux compagnies utilisant cette technologie de démontrer la sécurité des aliments irradiés proposés (Nestle, 2003). C'est en 1963 que la FDA commença à autoriser la mise sur le marché des premiers aliments irradiés. Au début des années 1970, la National Aeronautics and Space Administration (NASA), adopta l'irradiation afin de stériliser les viandes pour les voyages dans l'espace (Karel, 1989).

IV.3. Définition du rayonnement

Le rayonnement est un transfert d'énergie prenant la forme d'ondes ou de particules. Ils existent deux catégories de rayonnement : le rayonnement ionisant et le rayonnement non ionisant. Le type de rayonnement traité dans notre étude est le rayonnement ionisant.

IV.4. Définition de la dose absorbée

C'est la quantité d'énergie communiquée par le rayonnement à la matière traversée par unité de masse. Elle se mesure en Gray (Gy) au moyen d'un dosimètre. 1 Gy correspond à la dose absorbée par une masse de 1 Kg à laquelle les rayonnements communiquent une énergie de 1 joule.

$$1 \text{ Gray} = 1 \text{ joule par Kg} \quad (1 \text{ Gy} = 1 \text{ j/Kg})$$

Pour les biologistes, une dose égale déposée par différents types de radiations n'aura pas le même effet biologique. Un Gray déposé par des particules alpha produit plus de dégâts qu'un Gray déposé par des photons X. La différence provient notamment de la géométrie du dépôt d'énergie à l'échelle microscopique (Cordoliani, 2002).

IV.5. Type des rayonnements ionisants utilisés par l'industrie agroalimentaire

Ioniser c'est soumettre les denrées alimentaires à l'action des radiations fondamentales pour les assainir ou les stériliser, et augmenter ainsi leur durée de vie (Pouget, 2000).

Selon Vasseur (1991), trois types de radiations peuvent être utilisés :

*Les rayons gamma émis par du cobalt 60, et qui sont très pénétrants (énergie 1Mev) ;

Chapitre VI – Traitement par irradiation

Partie I – Recherche bibliographique

*Les électrons accélérés de moins de 10Mev (e^- , contrairement aux rayons gamma et aux rayons X qui sont des photons) ;

*Les rayons X d'énergie inférieurs à 5Mev : ces rayons éjectent des électrons des atomes sans toucher au noyau atomique ce qui lèse l'ADN (cet effet direct est recherché) (**Le Corre et Venaille, 1989**). Ils génèrent aussi des produits de radiolyse surtout dans l'eau ou en présence d'oxygène (on traite donc les aliments à sec, à l'état congelé ou sous vide).

IV.6. Les rayons Gamma

Ils sont très différents des électrons par leur origine, leurs sources et leurs utilisations. Mais le processus d'interaction avec le produit traité, bien que différent de celui des électrons, aboutit également à une ionisation des atomes touchés, donc à un transfert d'énergie à la masse irradiée (**Vasseur, 1991**). Les rayonnements gamma sont émis par des noyaux radioactifs. Pour ioniser les denrées alimentaires on utilise principalement le cobalt 60 et le césium 137 comme sources de rayonnements, les deux étant des radio isotopes (**Vasseur, 1991**).

IV.6.1. La nature des radiations Gamma

C'est une forme d'énergie pure qui est généralement caractérisée par sa pénétration profonde et ses faibles débits de dose. Les radiations Gamma tuent efficacement les micro-organismes présents dans la totalité du produit et sur son emballage.

IV.6.2. Avantages des radiations gamma

Les principaux avantages de l'utilisation des radiations gamma sont la précision du dosage ; la rapidité du traitement ; l'uniformité dans la distribution des doses utilisées ; la flexibilité du système utilisé ; la libération dosimétrique ; et enfin la disponibilité immédiate du produit alimentaire après traitement.

IV.6.3. Catégories de la dose des rayonnements

Dans la pratique, la dose utilisée varie selon le type de produit alimentaire traité, et selon l'effet désiré. Les niveaux de traitement peuvent être regroupés en trois catégories (**Arvanitoyannis et al., 2009**) :

Chapitre VI – Traitement par irradiation

Partie I – Recherche bibliographique

- a- Dose dite « faible », jusqu'à 1 KGy : elle est utilisée pour retarder le processus physiologique, tels que le murissement ou la germination des fruits frais et des légumes. Elle affecte aussi les populations d'insectes et de parasites qui peuvent être présentes dans les aliments ;
- b- Dose dite « moyenne », de 1 à 10 KGy : elle est utilisée pour réduire le nombre de microorganismes pathogènes présents dans les aliments.
- c- Dose dite « haute », supérieure à 10 KGy : elle est utilisée pour la stérilisation des viandes, des volailles, des fruits de mer et d'autres aliments (Seo et al., 2007).

IV.7. Domaine d'utilisation de l'irradiation

La dose d'irradiation varie selon l'effet recherché. Les principaux effets obtenus par différentes doses efficaces d'irradiation sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Les principaux effets obtenus par des doses efficaces d'irradiation.

Doses efficaces d'irradiation (KGy)	Effets obtenus
0,03 à 0,1	Inhibition de la germination des bulbes et des tubercules.
1 à 3	Désinsectisation
1 à 6	Pasteurisation (appelée aussi Radurisation).
15 à 50	Stérilisation (appelée aussi Radappertisation).
60	Inhibition de l'activité enzymatique.

Remarque : il est indispensable de connaître avec précision la dose d'irradiation absorbée par le produit alimentaire dans tout procédé d'irradiation, que ce soit à l'échelle industrielle ou au laboratoire. Plusieurs procédés dosimétriques ont été développés dans le but de déterminer la dose reçue par un produit, ainsi que la répartition des doses dans un objet volumineux (FAO, IAEA, WHO, 1999).

IV.8. Avantages du traitement par ionisation

En plus d'assainir et/ou de stériliser un produit alimentaire, la **FAO/IAEA/WHO (1997)** ainsi que la **FAO/IAEA/WHO/ICGFI (1992)** retiennent trois avantages du traitement par ionisation :

- ✓ Contrairement au traitement thermique, l'ionisation est un traitement à froid qui maintient les propriétés organoleptiques, physicochimiques et nutritionnelles des produits dits fragiles ;
- ✓ Il permet le traitement des produits déjà conditionnés, il n'y a donc pas de recontamination bactérienne ;
- ✓ Absence de résidus : les produits de radiolyse sont instables (contrairement aux conservateurs).

IV.9. Conséquences biologiques du traitement par ionisation

Les rayonnements ionisants entraînent toutefois des modifications chimiques de l'ADN et de l'ARN. Il s'agit principalement des ruptures des chaînes ou des liaisons hydrogènes, des formations entre hélices, ou plus grave des ponts entre bases successives d'un même brin (**Mafart, 1995**). Ces modifications peuvent avoir comme conséquences un blocage de la duplication de l'ADN lorsqu'il n'existe pas de système de réparation pour ce type de liaison et un arrêt de la synthèse de protéines lorsque l'ARN messager rencontre un codon radio modifié pour lequel il n'existe pas d'ARN de transfert correspondant (**Le Corre et Venaille, 1989**). A cela s'ajoute une oxydation détruisant la structure lipoprotéique de la membrane. Ces perturbations entraînent une inhibition de la croissance, voire la mort des cellules. Les microorganismes en phase de multiplication sont d'ailleurs les plus vulnérables car la croissance entraîne un effet fortement amplificateur des altérations de l'ADN (**Mafart, 1995**).

PARTIE II
Étude
expérimentale

CHAPITRE I

Matériels et méthodes

I.1. Introduction

Afin de mettre en évidence les propriétés biologiques des plantes sélectionnées dans notre étude, et dans le but de suivre la tendance actuelle qui consiste à irradier les plantes aromatiques pour améliorer la durée de leur conservation et/ou leurs propriétés biologiques, notre travail a visé plus spécialement l'étude de l'effet de l'irradiation gamma sur la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Thymus algeriensis*. Un second aspect a également retenu notre attention, nous avons ainsi choisi deux autres plantes aromatiques, médicinales et endémiques en Algérie (*Juniperus phoenicea* et *Ammoides atlantica*) qui selon la bibliographie possèdent un bon rendement mais de très faibles activités biologiques, nous avons ainsi pensé les enrichir avec du thymol et ou du carvacrol afin d'étudier l'impact de cet enrichissement sur leurs activités biologiques. Ainsi, en plus de l'étude de l'effet de l'irradiation, trois autres parties ont été étudiées, à savoir :

- ✚ L'étude de l'effet de l'addition du thymol sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles des baies du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) ;
- ✚ L'évaluation de l'effet de l'addition du thymol sur l'activité antioxydante et insecticide des huiles essentielles d'*Ammoides atlantica*.
- ✚ L'évaluation de l'effet de l'addition du carvacrol sur l'activité antioxydante et insecticide des huiles essentielles d'*Ammoides atlantica*.

L'objectif de cette thèse et donc multiple, plusieurs tests ont ainsi été effectués en mettant en œuvre différentes méthodes référencées et tirées de la bibliographie afin de montrer la relation entre l'irradiation, la composition chimique et l'activité antioxydante des PPAM retenues ; et entre l'enrichissement des HE en carvacrol et/ou en thymol et les activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne et insecticide) des PAM étudiées.

I.2. Plantes médicinales et aromatiques étudiées

Le matériel végétal utilisé dans cette étude (**Tableau 5 et figures 19, 20 et 21**) est représenté par : *Juniperus phoenicea* L., *Origanum floribundum* Munby, *Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf et *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale



Figure 19 : *Origanum floribundum* Munby.



Figure 20 : Baies de *Juniperus phoenicea* L.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale



Figure 21 : Aspect du *Juniperus phoenicea* dans une forêt.

Tableau 5 : Plantes médicinales et aromatiques utilisées dans cette étude.

Plantes	Provenances	Parties traitées	Dates de récolte
<i>Thymus algeriensis</i> Boiss. et Reut.	Hamdania (Médéa)	Feuilles	Mai 2014
<i>Ammoides atlantica</i> (Coss. et Dur.) Wolf	Herboriste (Alger)	Feuilles + fleurs	Juin 2016
<i>Juniperus phoenicea</i> L.	Soummam (Bejaia)	Fruits ou baies (mûrs)	Juillet 2013
<i>Origanum floribundum</i> Munby	Maala (Bouira)	Feuilles	Mai 2013

Différentes expériences ont été réalisées sur ces quatre plantes aromatiques et médicinales, à savoir :

- *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. a subi un prétraitement par irradiation à l'aide de rayons gamma en vue de l'étude de l'effet de différentes doses de ce rayonnement sur la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de cette plante ;

- L'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* a été enrichie avec plusieurs doses de thymol ou de carvacrol. Cette étude a pour but la mise en évidence de l'existence ou non d'un effet synergique de cet enrichissement sur l'activité antioxydante et l'activité insecticide contre la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*) de l'huile essentielle de d'*A. atlantica* ;
- L'huile essentielle des baies du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) a été enrichie avec différentes doses de thymol en vue d'étudier l'effet de ce composé phénolique sur l'activité antioxydante et antimicrobienne de cette huile. Les résultats ont été comparés par rapport à ceux d'une huile essentielle (*Origanum floribundum*) contenant naturellement du thymol.

I.3. Extraction des huiles essentielles

100 g de matière végétale séchée à l'ombre et à la température ambiante du laboratoire, ont été soumis à une hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (pendant 3 h). Les huiles essentielles recueillies dans de petites fioles en verre opaque ont été stockées à 4 - 6°C jusqu'à leur analyse.

Étant donné que les baies de *Juniperus phoenicea* sont charnues et recouvertes d'une écorce, elles ont été soumises à un broyage préalable pour faciliter l'extraction des huiles essentielles, tandis que les autres plantes ont été utilisées sans broyage.

Le rendement en huile essentielle est exprimé en millilitre pour 100 g de matière végétale.

I.4. Extraction de la fraction non volatile

L'extraction des composés non volatils (composés phénoliques entre autre) a été effectuée par solvant (éthanol à 95 %) à l'aide d'un Soxhlet (extraction solide-liquide) pendant 4 h. L'extrait obtenu a été concentré au moyen de l'évaporateur rotatif, lyophilisé, pesé et stocké en vue de son analyse. Le rendement en extrait sec a été déterminé par rapport à la matière sèche.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

I.5. Addition de thymol ou de carvacrol à l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica*

Après addition de thymol ou de carvacrol à l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica*, les teneurs relatives (%) ont été quantifiées par chromatographie en phase gazeuse selon les valeurs du tableau 6.

Tableau 6 : Quantités relatives (%) du thymol et du carvacrol dans l'huile essentielle (HE) d'*Ammoides atlantica* pure et celles additionnées.

	Échantillons		
	Huile essentielle pure	HE + Thymol	HE + Carvacrol
Thymol (%)	48,54	67,67	41,05
Carvacrol (%)	8,54	0,75	26,05

I.6. Enrichissement de l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* avec du thymol

En vue d'étudier l'effet de l'addition (enrichissement) du thymol à l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* sur ses activités antioxydante et antimicrobienne, nous avons pris trois fractions de cette même huile essentielle auxquelles nous avons ajouté des quantités de thymol de 10, de 30 et de 50 % (m/m).

I.7. Irradiation de *Thymus algeriensis*

Les feuilles de *T. algeriensis* ont été emballées dans quatre sacs en polyéthylène de 150 g chacun. Trois échantillons (sacs) ont été irradiés à température ambiante en utilisant les rayons gamma provenant d'une source de rayonnement de cobalt 60 type COP-4 (ORIS Industries, France) (**Figure 22**). L'irradiation a été réalisée en une seule expérience au CRNA (Centre de Recherche Nucléaire d'Alger). Les doses de rayonnement gamma de ⁶⁰Co appliquées au matériel végétal étaient de 10, de 20 et de 30 kGy ($\pm 20\%$), au débit de dose de 6,91 Gy/min, déterminé avec un dosimètre de Fricke. Un lot de matériel végétal a été conservé sans irradiation et utilisé comme échantillon témoin.

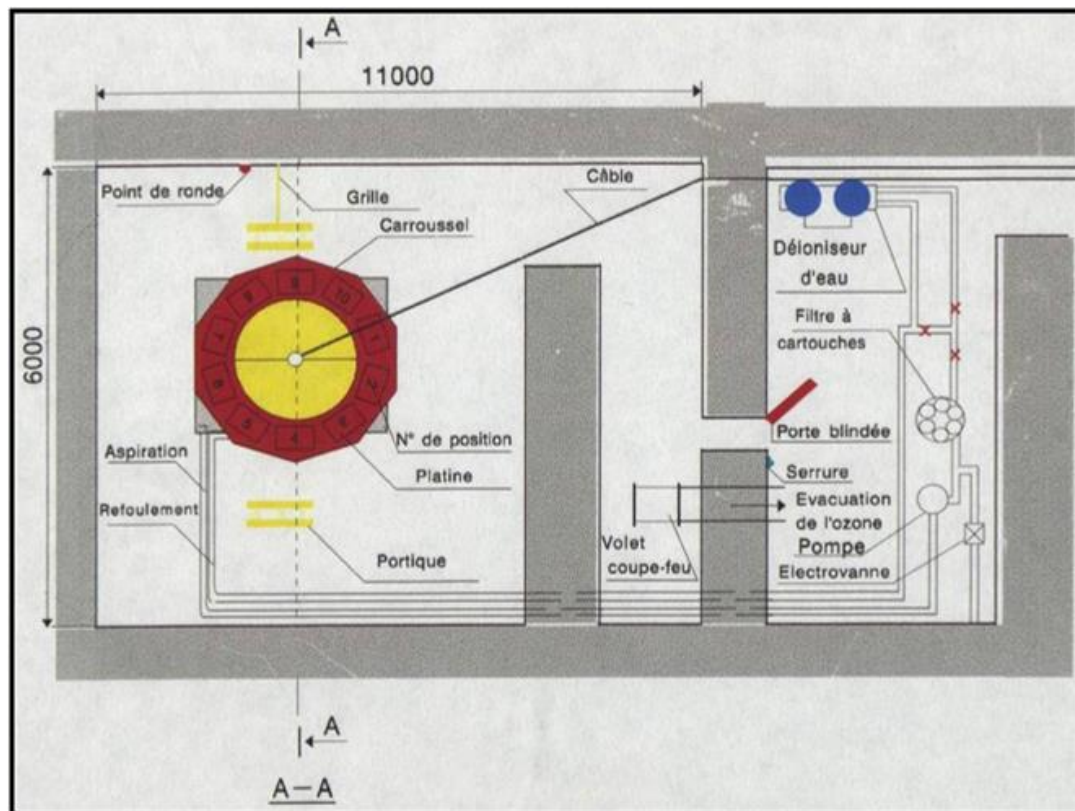


Figure 22 : Schéma de l'irradiateur pilote du CRNA (Centre de Recherche Nucléaire d'Alger) utilisé pour l'irradiation de *T. algeriensis*.

I.7.1. Irradiateur pilote

Une source de rayonnement gamma de ^{60}Co a été utilisée au cours de cette étude. L'irradiateur pilote du Centre de Recherche Nucléaire d'Alger (CRNA) est composé de trois sources cylindriques de ^{60}Co de type COP₄ fabriquées par ORIS Industries (France). Elles sont disposées verticalement dans un porte-source en acier inoxydable. Les sources de dimension de 384 mm de hauteur et de 26,6 mm de diamètre ainsi disposées forment une hauteur active de 1152 mm. Pour des raisons pratiques une cale de 85 mm a été déposée sous la source du bas.

En position d'irradiation, la partie inférieure de cette source se trouve à 350 mm au dessus de la platine. L'activité initiale au 08/10/2002 date d'installation de la source était de $13,32 \cdot 10^{14}$ Bq soit 35990 Ci. L'activité de la source était de 6565,33 Ci au mois de Mai 2015.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

Les conditions opératoires étaient les suivantes :

- ✓ Distance par rapport à la source : 25 cm.
- ✓ Débit de dose : Débit = 6,91 Gy/min.
- ✓ Irradiation le 20 mai 2015.
- ✓ Activité de la source A = 6565,33 Ci.

t est la durée ou le temps d'irradiation (**Tableau 11**). Il est calculé à partir de la formule suivante :

$$D = I * t \text{ donc } t = D/I$$

Avec : **D** : Dose en Gy ou en KGy ;

I : Débit de dose en Gy/min ;

t : durée ou temps d'irradiation en heure.

Tableau 7 : Temps d'irradiation aux rayonnement gamma des feuilles de *T. algeriensis*.

Doses (KGy)	Débit de dose (Gy/min)	Temps d'irradiation (H)
10	6,91	24h07'
20	6,91	48
30	6,91	72

I.8. Analyse qualitative et semi qualitative des huiles essentielles

Les huiles essentielles des différentes PAM étudiées ont été analysées à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) associée à la détection par ionisation de flamme (CG-FID), et de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM).

I.8.1. Analyse qualitative des huiles essentielles par CPG

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) a été effectuée au laboratoire d'analyse instrumentale du département de Technologie alimentaire de l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique d'El-Harrach, Alger). Cette analyse a été réalisée au moyen d'un appareil du type Hewlett-Packard 6890 CG-FID, équipé d'une colonne capillaire de silice fondue à phase stationnaire apolaire HP5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25µm d'épaisseur du film).

La température de la colonne est programmée à 60°C pendant 8 min, une élévation de 2°C/min jusqu'à 280°C, puis maintenue à 280°C pendant 15 min. Les échantillons dilués (1/10 hexane, v/v) de 0,2 µL ont été injectés en mode split avec un rapport de division de 1:25.

La température de l'injecteur est de 250°C. Un débit de gaz vecteur (N₂) de 0,5 ml/min a été utilisé. La détection par ionisation de flamme (FID) a été réalisée à 320°C. Les données quantitatives ont été obtenues électroniquement à partir des aires du chromatogramme obtenu par CG-FID sans utiliser de facteur de correction.

I.8.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) a été réalisée avec un système Hewlett Packard automatique comprenant un appareil de chromatographie en phase gazeuse 6890, couplé à un spectromètre de masse 5973A équipé d'une colonne apolaire HP5MS (30m × 0,25mm × 0,25µm d'épaisseur de film).

Les conditions opératoires pour la GC-MS sont :

- ✓ Helium comme gaz vecteur avec un débit de 0,5 ml/min ;
- ✓ Mode split (1:25) ;
- ✓ Volume injecté : 0,2 µL (1/10 hexane, v/v) ;
- ✓ 250°C : température d'injection ;
- ✓ Le programme de température du four est identique à celui décrit ci-dessus pour l'analyse par CG-FID. Nous avons utilisé un mode d'ionisation avec impact

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

électronique à 70 eV sur une gamme de balayage de 30 à 550 unités de masse atomique.

I.9. Identification des composés

Les composés chimiques des différentes huiles essentielles étudiées ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (RI) à ceux cités par la littérature (**Babushok et al., 2011 ; Adams et al., 2007**) et à ceux de certains étalons disponibles dans notre laboratoire.

La confirmation de l'identification de chaque composant chimique a été faite en comparant leurs spectres de masse à ceux de la littérature et à ceux des bases de données informatisées fournies par les logiciels NIST 2005 et Wiley 7N (**Adams et al., 2007**).

Pour le calcul des indices de rétention un mélange d'alcane C_8-C_{22} est injecté dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons. Ces indices sont calculés selon la formule suivante :

$$IR = 100z + 100n \cdot \frac{t_{Rc} - t_{Rz}}{t_{Rz+n} - t_{Rz}}$$

t_{Rc} : temps de rétention du composé étudié ;

t_{Rz} : temps de rétention de l'alcane à z atomes de carbones qui précède le composé étudié ;

t_{Rz+n} : temps de rétention de l'alcane à z+n atomes de carbones qui suit le composé ;

n : différence des nombres d'atomes de carbone (généralement $n = 1$).

I.10. Dosage des phénols et des flavonoïdes totaux

I.10.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux (PT) des extraits non volatils a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu conformément à la méthode décrite par **Slinkard et Singleton (1977)** utilisant l'acide gallique comme standard.

I.10.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu contient un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque le réactif de Folin-Ciocalteu réagit avec les composés phénoliques présents dans les échantillons d'huile essentielle, il oxyde les groupements oxydables de ces composés. Les produits de réduction (oxydes métalliques W_8O_{23}/Mo_8O_{23}) de couleur bleue présentent un maximum d'absorption à 765 nm, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols présents dans les extraits végétaux.

I.10.1.2. Mode opératoire

L'échantillon d'extrait (0,5 ml) et 2 ml de carbonate de sodium (75 g L^{-1}) ont été ajoutés à 2,5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu à 10 % (v/v). Après 30 minutes de réaction à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm. Les tests ont été réalisés en triple.

Une courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (**Figure 23**) a été utilisée pour déterminer la quantité de phénols totaux (PT) en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g extrait).

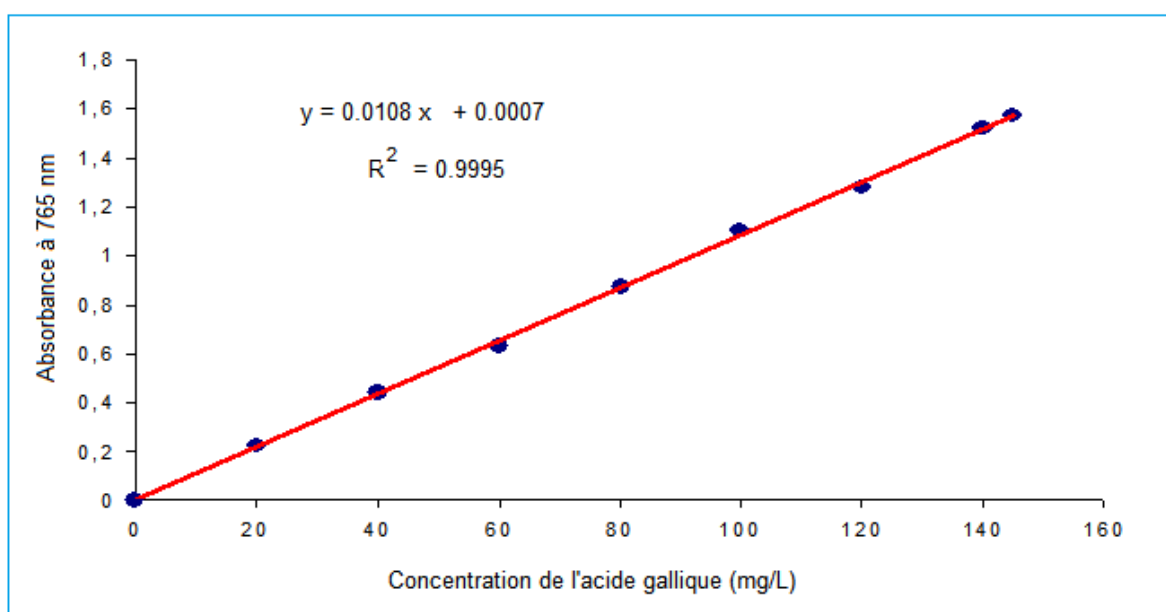


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

I.10.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) a été retenue pour le dosage des flavonoïdes totaux (FT) des extraits étudiés (**Lamaison et Carnet, 1990**).

I.10.2.1. Principe

Le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) forme avec les flavonoïdes un complexe jaune, dont l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 420 nm.

La quercétine est utilisée comme standard pour la courbe d'étalonnage (**Figure 24**). La teneur en flavonoïdes totaux (FT) est estimée en mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g extrait).

I.10.2.2. Mode opératoire

- ✓ 1 ml d' AlCl_3 additionné à 1 ml de chaque dilution d'échantillon à analyser dissout dans l'éthanol ;
- ✓ Lecture de l'absorbance à 420 nm après 1 heure d'incubation à l'obscurité et à température ambiante ;
- ✓ Réglage du zéro avec une solution contenant 1 ml d' AlCl_3 additionné à 1 ml de solvant (éthanol) ;
- ✓ Chaque expérience est répétée trois fois.

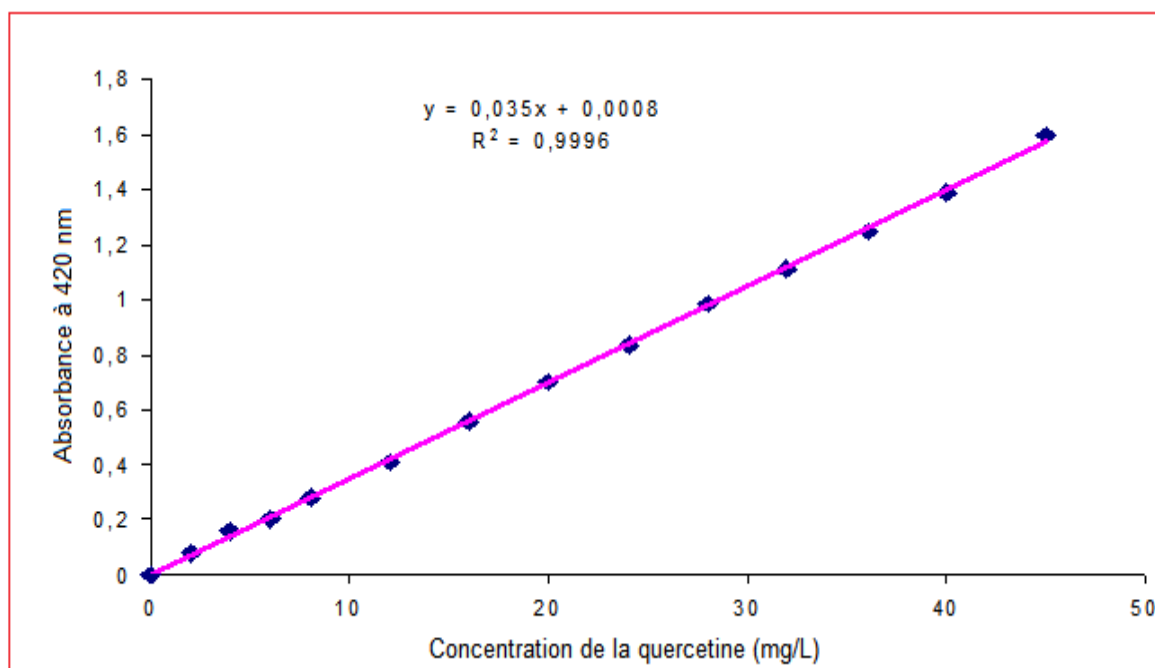


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

I.11. Activité antioxydante

I.11.1. Pouvoir de piégeage du radical libre positif ABTS^{•+}

Le principe du test permettant la détermination du pouvoir de piégeage du radical libre positif ABTS^{•+} est basé sur la décoloration à 734 nm du radical cationique stable ABTS^{•+} de couleur bleue en présence d'un antioxydant (**Figure 25**).

I.11.1.1. Mode opératoire

Le test de décoloration du radical cationique ABTS^{•+} (acide 2,2', azino-bis-(3-éthylebenzothiazoline)-6-sulfonique) a été effectué en utilisant la méthode rapportée par **Re et al., (1999)**.

Le radical cationique ABTS^{•+} a été produit par réaction de 7 mM de solution d'ABTS avec 2,45 mM de persulfate de potassium (K₂S₂O₈), le mélange réactionnel étant maintenu à l'obscurité et à température ambiante pendant 12 à 16H avant utilisation.

La solution d'ABTS^{•+} obtenue a été diluée avec de l'eau distillée à une absorbance de 0,7 ± 0,02 à 734 nm.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

Des solutions éthanoliques (25 μL) d'échantillons à diverses concentrations ont été mélangées à 980 μL de solution diluée d'ABTS $^{\bullet+}$. Après réaction à température ambiante, pendant 7 minutes, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 734 nm.

L'eau distillée a été utilisée pour régler le zéro. Une basse absorbance du mélange réactionnel indique une plus forte activité antioxydante du radical cationique ABTS $^{\bullet+}$.

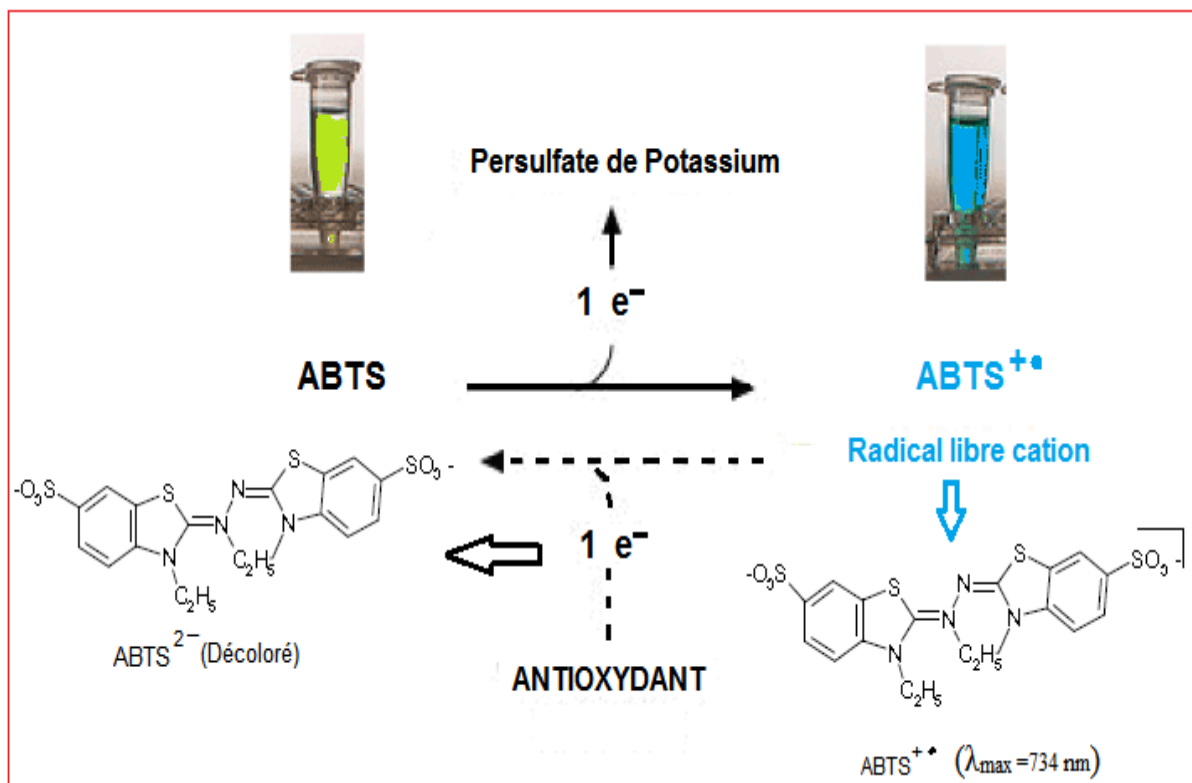


Figure 25 : Réaction du radical cationique ABTS $^{\bullet+}$ en présence d'un antioxydant.

L'activité antioxydante ou appelée aussi capacité antioxydante (exprimée en %) des différents échantillons d'huiles essentielles testées a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Activité antioxydante (\%)} = (\%) \text{ d'inhibition du radical ABTS}^{\bullet+} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Où :

A_0 est l'absorbance du témoin négatif (sans échantillon) ; Et A_1 l'absorbance en présence d'échantillon. Les tests ont été effectués en triple.

La concentration fournissant l'inhibition de 50 % du radical cationique $ABTS^{\bullet+}$ (IC_{50}) a été calculée pour chaque échantillon d'huiles essentielles testées à partir du graphe donnant le pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration de l'HE ou des témoins positifs.

Les antioxydants de référence tels que le BHT (Butylhydroxytoluène) et le Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), qui sont des antioxydants de synthèse, ont été utilisés comme des témoins positifs.

I.11.2. Pouvoir de piégeage du radical libre DPPH[•]

Le DPPH possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant est établie en mesurant la diminution de la coloration violette mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.

La capacité de céder des hydrogènes par les huiles essentielles, les extraits des PAM ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution éthanolique contenant le radical libre DPPH provoquée par la réduction du radical par l'antioxydant (AH) (**Figure 26**).

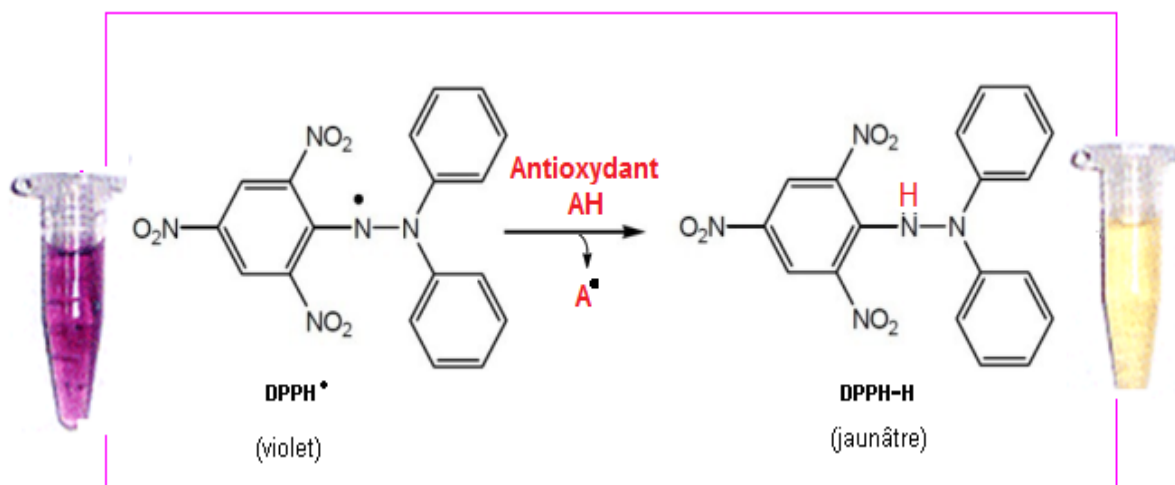


Figure 26 : Réaction du radical DPPH[•] avec un antioxydant AH.

I.11.2.1. Mode opératoire

La méthode suivie dans cette étude est celle décrite par **Benchabane et al., (2015)** où 25 µL de chaque échantillon testé sont mélangés dans un tube à essai avec 975 µL d'une solution éthanolique de DPPH (60 µM). Après une période d'incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière et à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm.

Les expériences sont réalisées en 3 répétitions successives indépendantes. L'activité antioxydante AI (%) est calculée en utilisant la formule suivante :

$$AI (\%) = (1 - Ae/At) \times 100$$

Où :

Ae : Absorbance de l'échantillon testé (mélangé avec le DPPH) après 30 min d'incubation ;

At : Absorbance du DPPH au temps t = 0 (avant de lui ajouter l'échantillon d'huile essentielle) ;

La concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC₅₀) est la concentration correspondante à une activité antioxydante égale à 50 % comme indiqué précédemment pour le test du radical cationique ABTS^{•+}.

I.11.3. Substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

Ce test a été réalisé selon la méthode modifiée décrite par **Miguel et al., (2004)** où le jaune d'œuf est utilisé comme substrat riche en lipides. Selon **Hazzit (2008)**, ce test peut être effectué sur différents substrats riches en lipides oxydables, parmi lesquels on peut citer le saindoux, le cholestérol, les matières grasses, l'acide linoléique, les huiles végétales, le jaune d'œuf, le foie de rat, le cerveau de porc, et autres.

Dans ce test le malondialdéhyde (MA) réagit avec deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBARS) pour former un complexe de couleur rose à rouge absorbant à 532 nm (**Figure 27**).

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

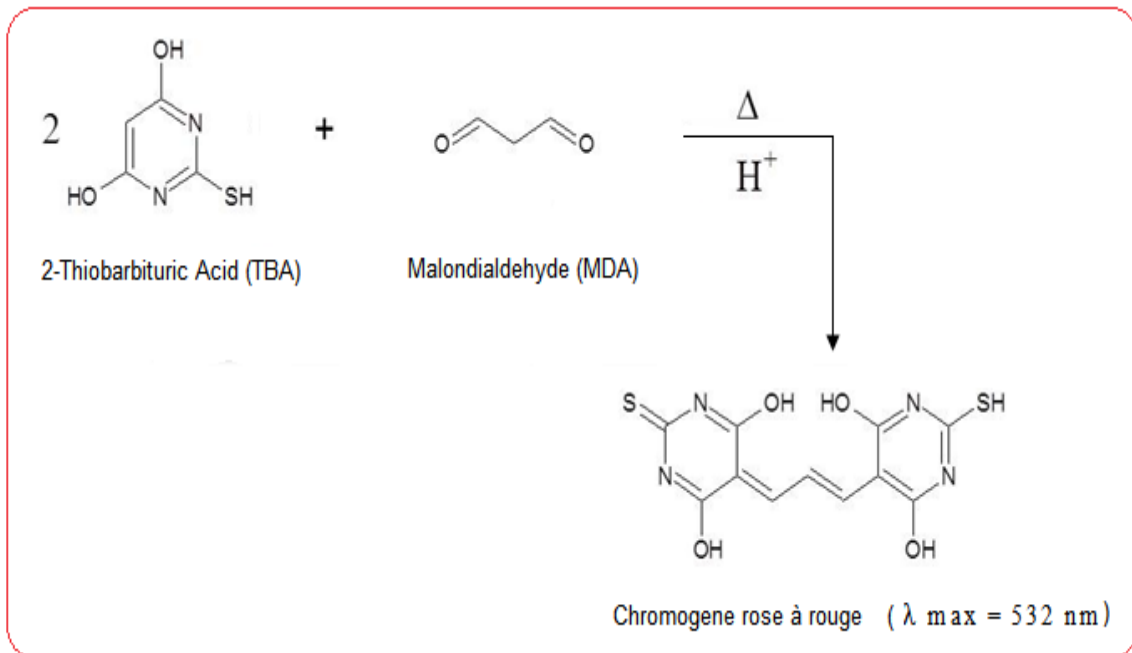


Figure 27 : Réaction de l'acide thiobarbiturique (TBARS) avec le malondialdéhyde (MA).

I.11.3.1. Mode opératoire

Le protocole expérimental du test permettant la détermination des substances réactives au TBARS est représenté dans la figure 28.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

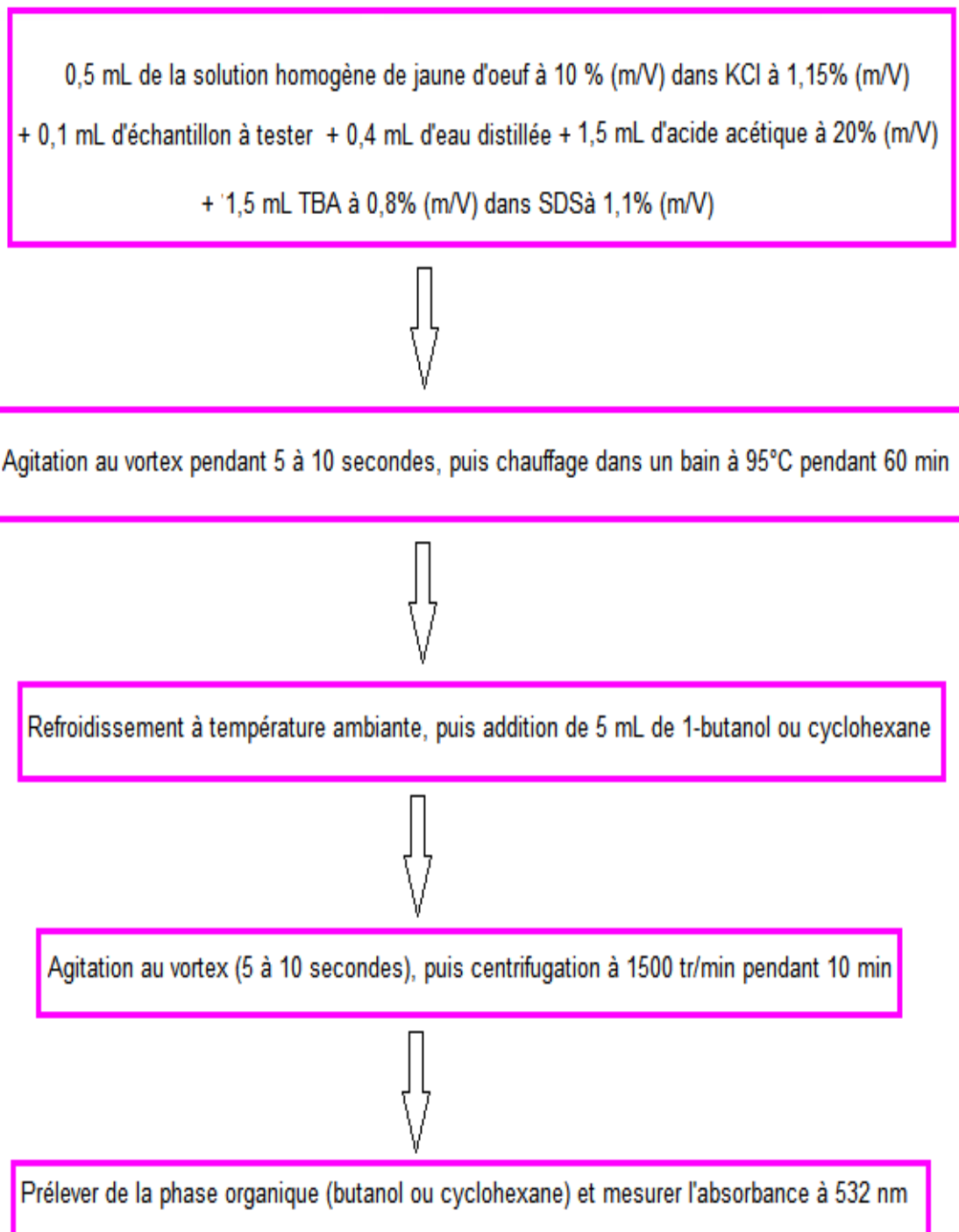


Figure 28 : Protocole expérimental du test des substances réactives au TBARS.

I.11.4. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur mesure la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) :



Dans ce test la couleur jaune de la solution testée change ou vire vers diverses nuances de vert et bleu selon le pouvoir réducteur de chaque échantillon (**Hazzit et al., 2013**).

La présence d'agents réducteurs provoque la conversion du complexe (Fe^{3+} /ferricyanure) à la forme ferreuse qui peut être suivie à 700 nm en raison de la formation d'une couleur bleu de Prusse de $\text{Fe}_4 [\text{Fe} (\text{CN})_6]_3$.

L'augmentation de l'absorbance à 700 nm indique une augmentation de la capacité réductrice.

I.11.4.1. Mode opératoire

Le pouvoir réducteur des différents échantillons d'huiles essentielles testées est évalué par la méthode d'**Oyaizu (1986)**. Le protocole expérimental de cette méthode est indiqué ci-dessous (**Figure 29**) :

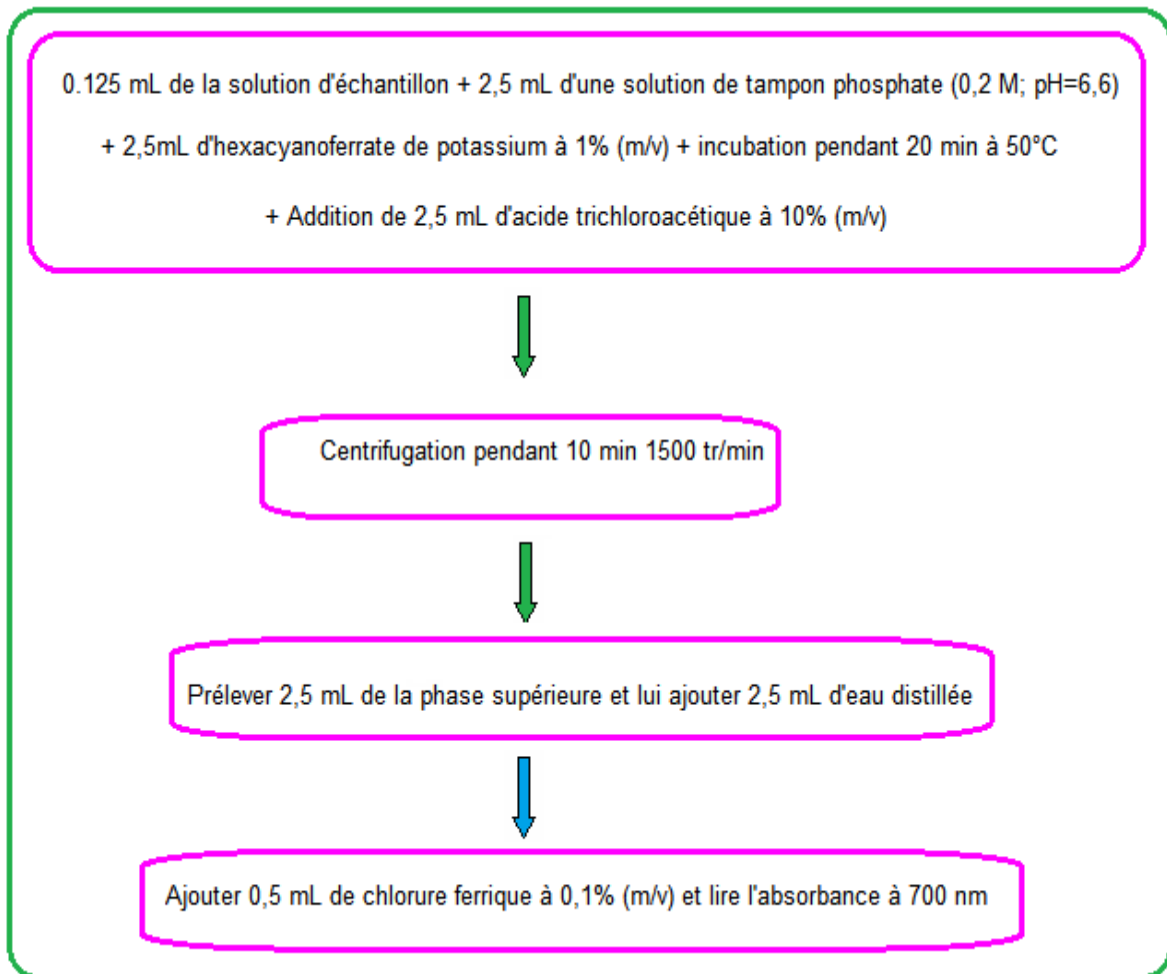


Figure 29 : Schéma du protocole expérimental du test d'évaluation du pouvoir réducteur.

I.12. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* a été testée par deux méthodes (qualitative et quantitative) sur quelques souches de références provenant de la collection ATCC du CRD-SAIDAL (Alger). Les souches sélectionnées (**Tableau 8**) pour cette étude ont été décrites dans le chapitre III de la partie bibliographique.

Elles ont été choisies pour :

- ✓ leur potentiel de pathogénicité important ;
- ✓ leur fréquence élevée de contamination, notamment dans les industries agroalimentaires ;

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

- ✓ et surtout pour leur disponibilité exclusive au moment de notre expérimentation au laboratoire de microbiologie du groupe SAIDAL.

Les différents tests ont été réalisés en trois répétitions pour l'ensemble des échantillons d'huiles essentielles étudiées.

Tableau 8 : Souches ATCC utilisées pour le test de l'activité antimicrobienne.

Nom de la souche		Numéro ATCC
Gram+	<i>Bacillus subtilis</i>	9372
	<i>Staphylococcus aureus</i>	6538
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	4157
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027
Levure	<i>Candida albicans</i>	24433

I.12.1. Milieux de culture et méthodes utilisés

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé deux méthodes :

- ✓ Une méthode qualitative appelée : aromatoگرامme ; méthode de diffusion sur milieu gélosé ; ou méthode de disque. Cette méthode permet la détermination de la sensibilité des germes aux huiles essentielles étudiées (seules et enrichies avec du thymol) ;
- ✓ Et une méthode quantitative qui est appelée dilution d'agar ou CMI. Elle consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles testées.

Le principe de ces deux techniques microbiologiques est tiré du titrage des antibiotiques (**Pharmacopée européenne, 2002**). Ces techniques sont validées par le laboratoire de microbiologie du CRD-SAIDAL.

Suivant les méthodes retenues et les souches testées, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants :

- Le TSA (Tryptic Soy Agar) pour obtention par repiquage de jeunes cultures de 24h ;

- Le milieu de culture Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries ;
- Le milieu de culture Sabouraud (SAB) pour les levures (tests qualitatif et quantitatif mais aussi pour le repiquage) ;
- Eau physiologique.

I.12.2. Préparation des suspensions microbiennes et des disques

A partir des jeunes cultures de 24 h pour les bactéries et de 48 h pour les levures, on prélève à l'aide d'une pipette pasteur des colonies bien isolées et homogènes que l'on dépose dans un tube à essai avec 9 ml d'eau physiologique stérile (à 0,9 %). On agite ensuite jusqu'à homogénéisation.

Une fois la suspension bien homogène, on procède à une lecture de la densité optique de cette dernière à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 620 nm.

Afin d'obtenir un inoculum de 10^8 UFC/ml, des densités optiques (DO) de 0,2 à 0,3 pour les bactéries (0,3 à 0,4 pour *Staphylococcus aureus*) et de 2 à 3 pour les levures sont nécessaires. Lorsque la DO est plus élevée que ces valeurs on ajoute de l'eau physiologique. Si elle est par contre plus faible, on ajoute encore quelques colonies et on refait à chaque fois une lecture jusqu'à l'obtention de la concentration voulue.

Les disques utilisés sont des disques Antibiotica-Testblattchen D-3354 Dassel W-Germany d'un diamètre de 9 mm. Ces disques sont mis dans une boîte de pétri, et sont stérilisés sous U.V. avant utilisation.

I.12.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

I.12.3.1. Étude qualitative de l'effet antimicrobien des échantillons d'HE étudiée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

L'étude qualitative des échantillons d'HE a pour objectif de déterminer la sensibilité des souches testées vis-à-vis de ces HE (seules et supplémentées avec du thymol). Pour cela, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé dite méthode de l'aromatogramme.

La méthode de diffusion sur milieu gélosé est largement utilisée (**Smith-Palmer et al., 1998 ; Ozcan et Chalchat, 2003**) et reste encore aujourd'hui une des plus fiables. Le mode

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

opératoire suivi a été proposé par l'équipe du CRD-SAIDAL, suivant les principes des antibiogrammes de la **Pharmacopée Européenne (2008)**.

I.12.3.1.1. Principe

La méthode des aromagrammes consiste à déposer un disque stérile en cellulose de 9 mm de diamètre et imprégné de l'HE étudiée à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri et ensemencée avec le micro-organisme à tester.

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (mm ou cm) de la zone claire autour du disque (halo translucide), appelée zone d'inhibition (**Figure 30**).

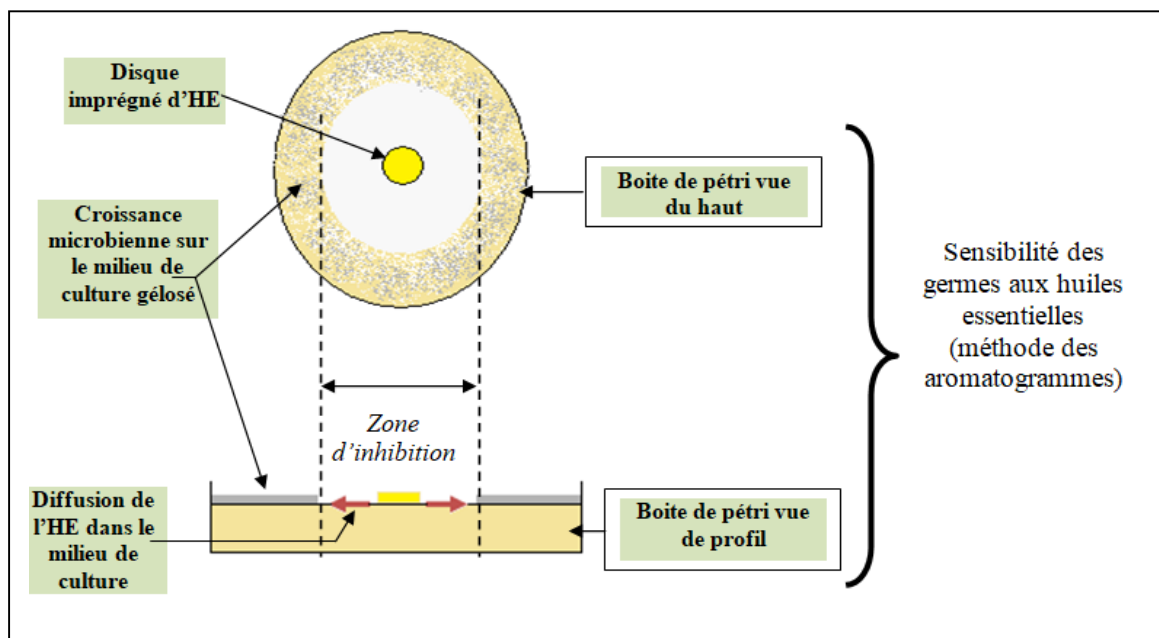


Figure 30 : Représentation de la zone d'inhibition des germes autour du disque imprégné d'huile essentielle.

I.12.3.1.2. Protocole expérimental

a. Préparation de la première couche du milieu

Elle consiste à :

- ✓ Liquéfier les milieux de culture (Mueller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures) dans un bain marie à 95°C ;

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

- ✓ Couler, aseptiquement, la première couche de gélose dans des boîtes de Pétri de 90 mm, à raison de 20ml par boîte ;
- ✓ Laisser refroidir les boîtes sur la paillasse jusqu'à ce qu'elles se solidifient.

b. Préparation de la deuxième couche du milieu

Elle consiste à :

- ✓ Faire fondre les deux milieux de culture (MH et SAB) et les laisser refroidir jusqu'à une température de 45°C ;
- ✓ Transvaser 50 ml de chaque milieu dans des flacons stériles ;
- ✓ Ensemencer les milieux avec 200 µL de chaque suspension (bactérienne sur le milieu MH, levurienne sur le milieu Sabouraud) à l'aide d'une micropipette stérile, puis agiter pour homogénéiser ;
- ✓ Couler rapidement la deuxième couche de chaque milieu ensemencé à raison de 5 à 6 ml sur la première couche de gélose solidifiée (couche support) correspondante à chaque milieu ;
- ✓ Étaler immédiatement la couche en faisant pivoter la boîte de Pétri sur elle-même pour obtenir une surface uniforme ;
- ✓ Laisser le tout se solidifier sur la paillasse.

c. Dépôt des disques

A l'aide d'une micropipette et en utilisant des cônes stériles, on prélève 20 à 30 µL d'huile essentielle pure ou enrichie ; il suffira par la suite de :

- ✓ Déposez chaque quantité d'HE prélevée sur le disque stérile posé préalablement à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ensemencée et de laisser diffuser pendant 30 mn ;
- ✓ Incuber à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 25 °C pendant 48 h pour les levures.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, les disques stériles, imbibés jusqu'à saturation d'huile essentielle sont déposés sur la surface de la gélose, au milieu de la boîte de Pétri pour l'HE enrichie et à raison de deux disques par boîte pour l'HE seule.

d. Expression des résultats

La sensibilité des germes aux huiles essentielles est déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (halo d'inhibition). Cette zone est estimée en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse en prenant compte du diamètre du disque et qui est de 9 mm.

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

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

I.12.3.2. Étude quantitative de l'effet antimicrobien des différents échantillons d'huile essentielle testée par la méthode de dilution en milieu solide

Cette partie de l'étude consiste à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ainsi que les concentrations minimales bactéricides (CMB) des différentes souches testées.

I.12.3.2.1. Détermination des CMI

a. Principe

La détermination des CMI a comme principe d'effectuer des dilutions de l'huile essentielle testée dans le milieu gélosé solide Muller-Hinton pour les bactéries et dans le milieu Sabouraud pour les levures, puis d'inoculer ces milieux avec les souches testées. Grâce à ces dilutions, il est possible de définir la plus faible concentration qui inhibera la croissance microbienne des souches testées.

b. Mode opératoire de la CMI

b.1. Préparation de la suspension microbienne

A partir des cultures jeunes du 18 h à 24 h pour les bactéries et de 48 h pour les levures, il faudrait réaliser des suspensions microbiennes de 10^7 à 10^8 germes/ml pour chacun des germes à tester dans 5 ml d'eau physiologique par ajustement de la transmittance de 22 % à 32 % pour les bactérie et de 2 % à 3 % pour les levures. Une série de dilution décimale allant de 10^{-1} à 10^{-4} est ensuite préparée.

b.2. Préparation des dilutions d'huile essentielle

La préparation des dilutions d'huile essentielle testée consiste à :

- ✓ Remplir un flacon avec 200 ml de milieu (MH ou Sabouraud) liquéfié préalablement au bain marie à 95°C puis refroidi jusqu'à 45°C ;
- ✓ Ajouter 1 ml de Tween 80 ;
- ✓ Transvaser 50 ml dans un deuxième flacon et lui ajouter 1 ml d'huile essentielle pure pour avoir la concentration à 2% ;
- ✓ Verser la moitié du flacon dans une boîte de Pétri puis ajuster le reste du flacon à 50 ml avec du milieu neuf pour avoir la dilution à 1 % ;
- ✓ Procéder de la même manière jusqu'à la dilution à 0,03 % ;
- ✓ Laisser les boîtes de Pétri sur la paillasse pour le refroidissement et la solidification du milieu ;
- ✓ Après solidification, tracer sur la face inférieure des boîtes de Pétri contenant le milieu MH des traits pour les séparer en deux puis en quatre ce qui correspond aux quatre souches bactériennes, puis tracer un seul trait pour partager en deux les boîtes de Pétri contenant le milieu SAB (**Figure 31**) ;
- ✓ Placer des disques en papier buvard de 9 mm de diamètre sur chaque espace correspondant à une souche ;
- ✓ensemencer les boîtes de Pétri par spotage à l'aide d'une micro seringue de 3 μ L des suspensions microbienne de la dilution 10^{-4} germes/ml ;
- ✓ Laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 mn ;

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

✓ Incuber les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les levures.

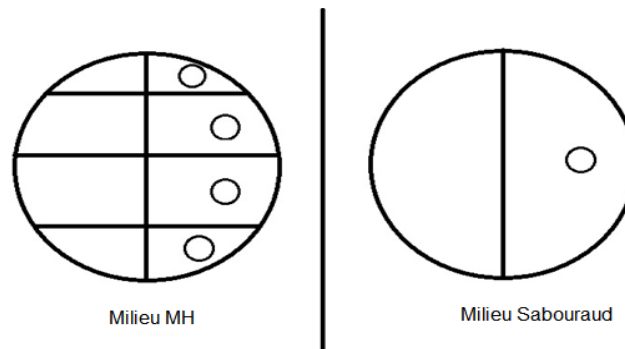


Figure 31 : Partage des boîtes de Pétri pour la détermination de la CMI.

c. Expression des résultats

La lecture des résultats se fait à l'œil nu. La CMI représente ainsi la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance visible à l'œil nu après la période d'incubation à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour les levures.

La présence de deux colonies ou moins n'est pas prise en considération (**Hammer et al., 1999**).

I.12.3.2.2. Détermination des CMB

Après avoir mis en évidence un effet inhibiteur des échantillons testés, nous avons essayé d'approfondir l'étude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* (seule et celle enrichie avec du thymol) afin de déterminer l'existence d'un effet bactéricide au-delà de cet effet inhibiteur.

La CMB est donc déterminée après avoir eu les résultats de la CMI, elle représente la concentration minimale bactéricide. En d'autres termes, c'est la concentration minimale d'HE nécessaire à la destruction totale de l'inoculum initial.

a. Mode opératoire

La méthode permettant la détermination de la CMB consiste à :

✓ Liquéfier les milieux MH et SAB dans un bain marie à 95°C ;

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

- ✓ Couler les boîtes de Pétri qui correspondent aux souches bactérienne par le milieu MH liquéfier et maintenu en surfusion à 45°C et celle des levures par le milieu SAB ;
- ✓ Laisser les boîtes de Pétri sur la paillasse jusqu'à la solidification du milieu ;
- ✓ A l'aide d'une pince stérile, prélever aseptiquement les disques correspondant aux concentrations des échantillons testés où aucune croissance n'est observée pour une souche donnée en fin d'incubation lors de la détermination de la CMI ;
- ✓ Réintroduire les disques dans les boîtes de Pétri identifiée et coulées par les milieux de culture dépourvu en huile essentielle ;
- ✓ Incuber les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.

b. Expression des résultats

La lecture des résultats des différentes CMB se fait à l'œil nu. Il suffit d'indiquer la plus faible concentration d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* (seule et celle enrichie avec du thymol) où aucune croissance microbienne n'est visible. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque expérience et pour chaque échantillon testé.

I.13. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* sur son activité insecticide

Cette partie a été traitée de façon approfondie, large et objective afin d'apporter de nouveaux éléments de réflexion aux domaines de l'agroalimentaire et de l'industrie des biopesticides, le but globalement étant d'essayer de développer une stratégie de valorisation des substances naturelles d'origine végétale garantissant la conservation des graines de pois chiche sans risque sur la santé des consommateurs et sur l'équilibre bioécologique. Nous avons ciblé de façon plus précise l'étude de l'effet que pourrait avoir la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du carvacrol et/ou du thymol sur l'activité insecticide de cette dernière vis-à-vis de *Callosobrochus maculatus*.

Quatre études ont ainsi été menées lors de cette partie :

- ✓ L'étude de l'évaluation de l'effet de la supplémentation des huiles essentielles étudiées avec du carvacrol et/ou du thymol sur la toxicité de ces dernières sur *C. maculatus* en utilisant le test de la toxicité par fumigation ou par inhalation ;

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

- ✓ L'étude de l'évaluation de l'effet de la supplémentation des huiles essentielles étudiées avec du carvacrol et/ou du thymol sur la toxicité par contact de ces HE sur *Callosobrochus maculatus* ;
- ✓ La détermination de l'effet des doses sublétales des huiles essentielles étudiées à l'état brute (seule) et enrichies avec du carvacrol et/ou du thymol sur la fécondité de *Callosobrochus maculatus*.
- ✓ L'étude de l'effet des doses sublétales des huiles essentielles étudiées à l'état brute (seule) et enrichies avec du carvacrol et/ou du thymol sur la fertilité de *Callosobrochus maculatus* ;

I.13.1. Matériels biologiques

I.13.1.1. Matériel végétal

Comme indiqué précédemment au début de ce chapitre, l'activité insecticide a été évaluée pour les huiles essentielles d'*Ammoides atlantica* à l'état brute (seule) et pour celles enrichies avec du thymol ou du carvacrol sur la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*). *Ammoides atlantica* a été précédemment décrites dans le chapitre III de la partie bibliographique.

I.13.1.2. Matériel entomologique

I.13.1.2.1. Élevage de la bruche

L'élevage en masse des adultes de la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus*) a été réalisé sur des grains secs de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) sains et commercialisés au laboratoire de phytopharmacie du département de Zoologie agricole de l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach, Alger). L'espèce a été déterminée par le muséum d'histoire naturelle de Paris (France).

La multiplication de cet insecte ravageur a été réalisée dans des bocaux en verre d'une capacité d'un litre contenant chacun 100 g de grains de pois chiche commercialisés et sains (**Figure 32**). Chaque bocal a été infesté par 20 couples de bruche du niébé dans le but d'assurer une reproduction efficace et rapide. Les bocaux sont ensuite recouverts par de la moustiquaire à maille très fine permettant l'aération du bocal. Ce dernier est ensuite placé dans une étuve

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

obscur, réglée à une température de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ et à une humidité de $70 \pm 5\%$, ce qui correspond aux conditions favorables à la reproduction de cette bruche.



Figure 32 : Élevage en masse de *C. maculatus* dans des bocaux en verre placés dans une étuve obscure à une température de $28 \pm 2^\circ\text{C}$ et à une humidité de $70 \pm 5\%$.

Les adultes de la bruche de niébé utilisés lors de notre expérimentation sont âgés de 24 H. Ils sont obtenus par tamisage quotidien des graines de pois chiches infestées (**Figure 33**).



Figure 33 : Obtention des adultes de bruches âgés de 24 H à partir des tamisages quotidiens des graines secs de pois chiches infestées.

I.13.2. Choix des doses expérimentales

Les doses d'huiles essentielles utilisées dans les différents tests sont choisies sur la base d'essais préliminaires. Ainsi, plusieurs essais ou tests à blanc ont été réalisés avec des répétitions afin de fixer la meilleure gamme de doses à retenir, en tenant compte de la meilleure efficacité réalisée dans les temps les plus courts. Nous notons que la surface des boîtes de Pétri utilisées dans le test contact est de $78,5 \text{ cm}^2$, et que le volume des pots utilisés dans le test d'inhalation est de $69,5 \text{ cm}^3$.

Les doses retenues des échantillons d'huiles essentielles d'*Ammoides atlantica* sont représentées dans le **tableau 9**.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 9 : Doses retenues pour les différents tests des échantillons d'huiles essentielles d'*Ammoides atlantica*.

Échantillons	Doses ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$) dans le cas des tests de la toxicité des HE par contact et doses ($\mu\text{L}/\text{cm}^3$) pour le test de l'inhalation	Doses (μL) dans le cas du test de la toxicité des HE sur la fertilité	Doses (μL) dans le cas du test de la toxicité des HE sur la fécondité
Pour les 3 échantillons d'HE (seule et enrichies)	$D_1 = 0,038 \mu\text{L}/\text{cm}^2$; $D_1 = 0,043 \mu\text{L}/\text{cm}^3$. $D_2 = 0,076 \mu\text{L}/\text{cm}^2$; $D_2 = 0,086 \mu\text{L}/\text{cm}^3$. $D_3 = 0,152 \mu\text{L}/\text{cm}^2$; $D_3 = 0,173 \mu\text{L}/\text{cm}^3$.	-	-
HE d' <i>Ammoides atlantica</i> seule	-	5,8 μL	5,8 μL
HE d' <i>Ammoides atlantica</i> + Thymol	-	3,1 μL	3,1 μL
HE d' <i>Ammoides atlantica</i> + Carvacrol	-	0,078 μL	0,078 μL

I.13.3. Choix du solvant

Le solvant utilisé pour la préparation des solutions d'huile essentielle selon les doses retenues est l'acétone. Ce dernier a été choisi pour les raisons suivantes : son évaporation très rapide ; son inertie chimique (pas d'interaction avec les composants des huiles essentielles) et l'absence d'effet résiduel.

Ce solvant a été utilisé dans les tests de l'effet de la toxicité de l'HE (seule et enrichi) par contact, de l'effet de la toxicité de l'HE (seule et enrichie) sur la fécondité et sur la fertilité de la bruche du niébé. L'objectif de son utilisation est de permettre une meilleure diffusion de l'huile essentielle dans le papier filtre et dans le tégument du grain de pois chiche sain.

I.13.4. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur sa toxicité vis-à-vis de *Callosobrochus maculatus*

La toxicité de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* testée (seule et enrichie) sur *Callosobrochus maculatus* a été évaluée par deux modes de pénétration, à savoir : la toxicité par fumigation ou inhalation et la toxicité par contact.

Nous avons souhaité démontrer à travers ces tests l'effet de l'enrichissement de l'huile essentielle d'*A. atlantica* avec du carvacrol et/ou du thymol sur la toxicité (par contact et par inhalation) de cette huile essentielle vis-à-vis de la bruche du niébé.

I.13.4.1. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur sa toxicité par contact

a. Principe

La méthode utilisée pour évaluer la toxicité de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (seule et enrichie) par contact est celle de l'imprégnation de papier filtre déposé sur une boîte de Pétri. Cette méthode permet ainsi un contact direct entre l'insecte (*C. maculatus*) et la substance active (huile essentielle).

b. Mode opératoire

Après homogénéisation du mélange (solvant + échantillon d'huile essentielle seule ou enrichie), 1 mL de ce dernier est prélevé et réparti uniformément sur un disque de papier filtre épousant la surface du fond de la boîte de Pétri. Ce disque a préalablement été placé au fond de la boîte de Pétri en verre.

Après évaporation totale du solvant à température ambiante, 20 bruches adultes du même âge (0 - 24 h) et de sexe hétérogène sont déposées dans chaque boîte de Pétri.

Chaque boîte de Pétri est rapidement recouverte avec un petit morceau de moustiquaire à maille fine. Cela permet une parfaite aération et empêche toute fuite d'insectes (**Figure 34**).

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

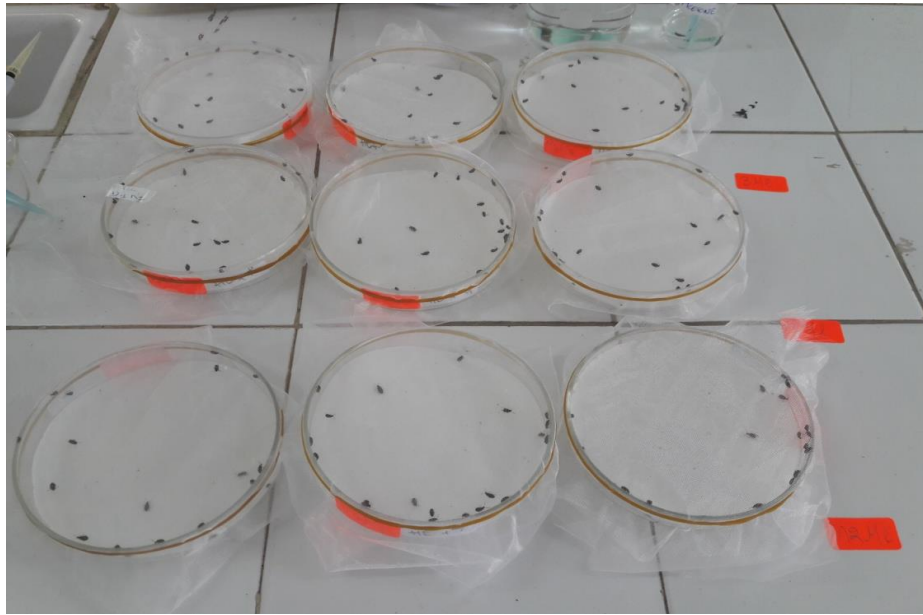


Figure 34 : Évaluation de la toxicité par contact des huiles essentielles d'*Ammoides atlantica* seules et enrichies avec du thymol ou du carvacrol sur la bruche du niébé.

Le comptage des insectes morts est effectué sous une loupe binoculaire après 24 et 48 heures.

Les insectes sont considérés comme étant morts lorsqu'ils ne montrent plus aucun signal de mouvement, même après un léger contact avec une tige de verre ou un chatouillement des pattes.

Trois répétitions sont réalisées pour chaque dose et pour le témoin traité uniquement à l'acétone.

c. Détermination de la DL_{30} et de la DL_{50}

Dans le but de déterminer la toxicité par contact des huiles essentielles d'*Ammoides atlantica* seules et enrichies, les doses ou concentrations qui causent la mort de 30 % (DL_{30}), et de 50 % (DL_{50}) des insectes ont été déterminées à partir des droites de régression tracées à partir de la relation des % des mortalités corrigés transformés en Probits en fonction du Log des doses selon (Finney, 1971).

I.13.4.2. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur sa toxicité par inhalation

a. Principe

Dans le cas de la détermination de l'effet de l'enrichissement de l'huile essentielle d'*A. atlantica* avec du carvacrol et/ou du thymol sur la toxicité de cette huile par inhalation vis-à-vis de la bruche du niébé, les doses ont été fixées mais l'enregistrement de la mortalité a été effectué à des temps variables.

Pour chaque échantillon d'huile essentielle (seule et enrichie), des doses ont été préalablement préparées et fixées grâce à la réalisation de tests à blanc.

b. Mode opératoire

Le test de toxicité par inhalation a été réalisé dans des pots à vis de forme cylindrique dont la base est de 3,67 cm de diamètre et la hauteur est de 6,5 cm, soit un volume de 68,64 cm³. Des demi-bâtonnets de coton-tige de 2 cm de long ont été fixés contre la face interne du couvercle de chaque flacon et imbibés de la dose nécessaire d'huile essentielle seule ou enrichie. Les flacons témoins comportent des bâtonnets non traités.

Dans le but de saturer l'atmosphère interne des flacons, ces derniers contenant les bâtonnets imprégnés de la dose d'huile essentielle sont maintenus fermés pendant 10 min. Ils sont ensuite ouverts pour introduire très rapidement les 20 insectes adultes (du même âge et de sexe hétérogène). Le couvercle est enfin fermement vissé sur chaque flacon (**Figure 35 et 36**).

Trois répétitions ont été réalisées pour l'ensemble des échantillons d'huiles essentielles seules et enrichies avec du thymol ou du carvacrol ainsi que pour l'échantillon témoin.

Quatre temps de lecture ont été choisis : 6 heures, 12 heures, 24 heures et 48 heures. Ces durées d'exposition ont été préalablement déterminées par des tests préliminaires.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

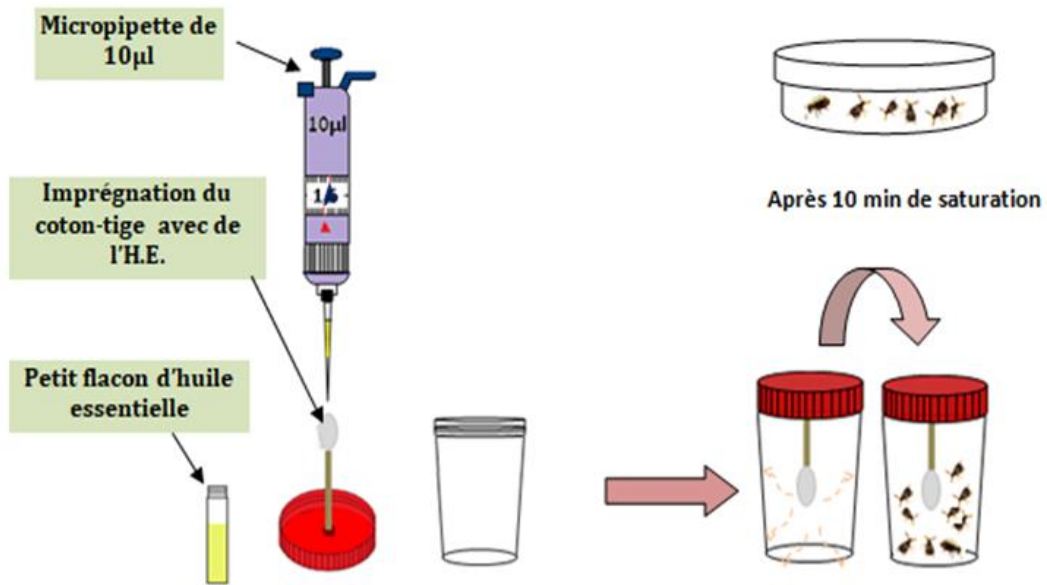


Figure 35 : Traitement des pots par les huiles essentielles (seule et enrichie) pour le test d'évaluation de l'effet de la supplémentation de l'HE sur sa toxicité par inhalation.



Figure 36 : Évaluation de l'effet de la supplémentation avec du thymol ou du carvacrol de l'HE d'*A. atlantica* sur sa toxicité par inhalation (après 6 heures) sur la bruche du niébé.

c. Détermination des temps létaux

Les temps létaux TL30 et TL50 sont les temps correspondant à une mortalité de 30 et de 50 % des insectes pour une dose bien définie.

Les TL30 et TL50 sont déterminés à partir des droites de régression du test d'inhalation

I.13.4.3. Détermination de l'effet des doses sublétales (DL₃₀ et DL₅₀) des HE supplémentées sur des paramètres biologiques

I.13.4.3.1. Effet sur la fécondité

a. Principe

La fécondité des femelles de *Callosobrochus maculatus* exposées aux doses DL₃₀ et DL₅₀ est déterminée par le nombre d'œufs pondus par la femelle au cours de sa vie.

Pour chaque échantillon d'huile essentielle d'*A. atlantica* enrichie et seule, la fécondité des femelles de *Callosobrochus maculatus* a été étudiée sur 30 couples d'adultes, âgés de 0 – 24 heures, répartis dans 6 bocaux en verre d'une capacité de 250 mL, à raison de 5 couples par bocal en verre.

b. Mode opératoire

10 grains sains (environ 200 g) de pois chiche commercialisé ont été placés dans chaque bocal en verre. Le nombre de répétition pour chaque échantillon d'huile essentielle d'*A. atlantica* seule et enrichie a été fixé à six.

Les doses retenues des huiles essentielles testées (seules et enrichies avec du thymol ou du carvacrol) sont déposées et soigneusement réparties à l'aide d'une légère agitation manuelle sur les grains de pois chiche sains disposés dans les bocaux en verre. Ces derniers restent ouverts jusqu'à l'évaporation totale du solvant.

5 couples de bruches adultes âgés de 24 heures sont introduits dans chaque bocal en verre contenant les 10 grains de pois chiche sains et traités. Chaque bocal en verre est ensuite rapidement recouvert avec un petit morceau de mousseline.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

L'observation et le dénombrement des pontes dans toutes les répétitions de l'essai (témoin, huile essentielle seule, huile essentielle enrichie avec du thymol, huile essentielle enrichie avec du carvacrol) sont quotidiens et effectués à la loupe binoculaire jusqu'à la mort de toutes les femelles (les œufs pondus sont comptés et éliminés quotidiennement par grattage à l'aide d'une lime en fer pour éviter toute confusion au cours du dénombrement).

I.13.4.3.2. Effet sur la fertilité

La fertilité est mesurée par le pourcentage d'éclosion qui correspond à la durée de l'embryogénèse et par le pourcentage d'émergence des adultes à partir des œufs pondus.

a. Principe

La détermination de la fertilité de *C. maculatus* a été réalisée sur un total de 200 œufs âgés de 0 – 24 heures. Ces œufs ont été soigneusement récupérés durant l'étude de la fécondité.

b. Mode opératoire

Les œufs pondus par de *C. maculatus* sont récupérés et répartis dans de petites boîtes en verre de Pétri de 9 cm de diamètre à raison de deux œufs par graine de pois chiche. Chaque boîte de Pétri contient ainsi 5 graines de pois chiche ce qui correspond à 10 œufs par répétition. 5 répétitions ont été réalisées soit un total de 50 œufs pour chaque échantillon retenu (témoin, huile essentielle seule, huile essentielle enrichie avec du thymol, huile essentielle enrichie avec du carvacrol). Les boîtes de Pétri ainsi constituées sont introduites dans une étuve soigneusement réglée à une température de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ et à une humidité de $70 \pm 5\%$.

Les éclosions des œufs sont observées et notées quotidiennement.

I.13.4.3.3. Effet sur l'émergence

L'émergence des adultes de *C. maculatus* est surveillée dès le 20^{ème} jour de la mise en place de l'essai. Les adultes nouvellement émergés sont retirés des boîtes de Pétri puis dénombrés au fur et à mesure de leur émergence. L'expérimentation prend fin lorsque l'émergence des adultes est nulle pendant une semaine.

Chapitre I – Matériels et méthodes

Partie II – Étude expérimentale

I.13.4.3.4. Effet sur le sex-ratio

L'observation du sexe des adultes nouvellement émergés est réalisée sous une loupe binoculaire au fur et à mesure des émergences. Un tableau est dressé dans le but de déterminer le nombre total de mâles et de femelles qui ont émergé après traitement des pois chiches avec de l'huile essentielle supplémentée ou non. L'expérimentation prend fin lorsque l'émergence des adultes est nulle pendant une semaine.

I.13.5. Expression des résultats

I.13.5.1. Calcul du pourcentage d'éclosion

Le pourcentage d'éclosion a été calculé selon la formule donnée ci-dessous :

$$\text{Pourcentage d'éclosion} = \frac{\text{Nombre d'oeufs éclos}}{\text{Nombre d'oeufs pondus}} \times 100$$

I.13.5.2. Calcul du pourcentage d'émergence

Le pourcentage d'émergence a été calculé selon la formule donnée ci-dessous :

$$\text{Pourcentage d'émergence} = \frac{\text{Nombre d'insectes émergeant}}{\text{Nombre d'œufs pondus}} \times 100$$

I.13.5.3. Calcul du pourcentage de mortalité corrigée

L'efficacité d'un produit biocide est évaluée par la mortalité de l'organisme cible. Cependant, le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un biocide n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe en effet dans toute population traitée une mortalité naturelle, qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par le toxique. C'est pour cela que les pourcentages de mortalité doivent être corrigés. Ainsi, dans les essais de toxicité par contact et par fumigation (inhalation), les données ont été transformées en utilisant la formule d'**Abbott (1925)** indiquée ci-dessous :

$$M_c (\%) = 100 (M - Mt) / (100 - Mt)$$

Où :

M_c : est le pourcentage de mortalité après correction ;

M : est le pourcentage de mortalité moyenne d'insectes dans l'échantillon traité ;

Mt : est le pourcentage de mortalité moyenne d'insectes dans l'échantillon témoin.

Les résultats obtenus sont représentés dans des tableaux de synthèse. L'évaluation de l'effet de la supplémentation (avec du thymol et du carvacrol) de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur sa toxicité par contact et par inhalation vis-à-vis de la bruche du niébé est démontré à l'aide des courbes indiquant l'évolution des Probits en fonction des variables étudiées (log. Doses et log. Temps).

I.13.5.4. Calcul des doses et des temps létaux

L'efficacité d'un toxique se mesure par les doses létales (DL_{30} , DL_{50}) ou les temps létaux (TL_{30} , TL_{50}) qui représentent la quantité de substance toxique entraînant respectivement l'élimination de 30 %, 50 % et 90 % de la population traitée ; cette quantité est déduite à partir du tracé des droites de régression représentées graphiquement en fonction du logarithme népérien des doses et des mortalité corrigées transformées en Probits selon la méthode de **Finney (1971)**.

I.13.5.5. Evaluation du pourcentage d'émergence

Le taux d'émergence (TE) est déterminé en établissant le rapport entre le nombre total d'adultes émergés et le nombre total d'œufs pondus.

$$TE (\%) = (\text{Nombre d'adultes émergés} / \text{Nombre total d'œufs pondus}) \times 100$$

I.13.5.6. Evaluation du sex-ratio

Le sex-ratio (SR) : représente un rapport donnant une information sur les proportions respectives de mâles et de femelles dans un groupe d'individus donné. Le rapport entre les nombres "n" de mâles et "f" de femelles présents dans le même ensemble d'individus ; dans ce cas $sr = n/f$.

Si $sr = 1$, il y a équilibre entre les deux sexes (autant de mâles que de femelles). S'il est supérieur à ce chiffre, cela dénote une prépondérance de mâles et réciproquement.

I.13.6. Analyse statistique

Toutes les expériences ont été réalisées avec au moins trois répétitions et les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart type.

L'élaboration des graphes a été effectuée en utilisant Excel 2013. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel SPSS (version 17.0). Les comparaisons statistiques ont été réalisées en s'appuyant sur l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) suivi du test de Tukey, avec un niveau de signification fixé à $p < 0,05$.

CHAPITRE II

Résultats et discussion

I. Effet de l'irradiation gamma sur la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut.

I.1. Introduction

Les plantes aromatiques et médicinales sont sujettes à l'infestation par des insectes et à la contamination microbienne par des micro-organismes pathogènes lors de leur collecte, traitement, transport et stockage, cela pourraient provoquer des changements physiques ou chimiques dans leurs propriétés médicinales ou dans leurs métabolites.

Plusieurs méthodes de décontamination des plantes aromatiques et médicinales viennent répondre à cette problématique, mais le traitement le plus versatile est le traitement avec des rayonnements ionisants (Polovka et al., 2007).

L'irradiation gamma comme traitement phytosanitaire s'est avérée sûre et efficace pour améliorer la qualité hygiénique de divers aliments et herbes aromatiques et médicinales afin de prolonger leur durée de conservation (Farkas, 1998 ; IAEA, 1992).

Selon le Codex Alimentarius Général Standard, l'irradiation gamma est autorisée pour la décontamination d'herbes et d'épices aromatiques séchées jusqu'à une dose de 10 kGy (FAO/WHO, 2003). Par ailleurs, cette limitation a été augmentée par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis et par certains pays, tel que l'Argentine, à des doses de 30 kGy pour ces mêmes produits (Code of Federal Regulation, 2004 ; Pérez et al., 2011).

Plusieurs études rapportent que les matériaux (plantes et aliments) irradiés à des doses supérieures à 10 kGy sont décontaminés microbiologiquement sans compromettre leurs valeurs nutritionnelles et leurs propriétés pharmacologiques (Silva et al., 2013 ; Owczarczyk et al., 2000 ; Aziz et Moussa, 2000).

Les principaux objectifs de notre étude sont d'explorer les effets de diverses doses d'irradiation gamma sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* ; sur la teneur totale en composés phénoliques de son extrait éthanolique non volatile ; et sur son activité antioxydante. Les résultats obtenus seront utiles pour savoir si l'on pourrait ou pas utiliser l'irradiation gamma pour allonger la durée de conservation de *T. algeriensis*.

I.2. Effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles

Le **tableau 10** montre les rendements, la classe chimique et les constituants identifiés dans les huiles essentielles des échantillons non irradiés et irradiés de *T. algeriensis* aux doses de 10, de 20 et de 30 kGy.

Le rendement des huiles essentielles du témoin (échantillon non irradié) et des échantillons irradiés se situe entre 1,9 et 2,0 % (v/m), ces valeurs ne montrent aucune différence majeure en fonction du niveau de l'irradiation. Il apparaît donc que le prétraitement de la plante de *T. algeriensis* par les rayons gamma n'a pas d'effet sur son rendement en huile essentielle.

Le chromatogramme représentatif de l'huile essentielle de *T. algeriensis* est présenté dans la **figure 37**.

Comme cela peut être montré dans le **tableau 10** ainsi que sur la **figure 38** qui représente les chromatogrammes superposés des différents échantillons (irradiés et non irradiés), les compositions qualitatives des huiles essentielles obtenues à partir des plantes irradiées et celles non irradiées (témoins) sont identiques. Ces résultats sont en bon accord avec les données de la littérature concernant les compositions chimiques des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* irradié avec des doses de 10 et de 30 kGy (**Haddad et al., 2007 ; El-Shahat et Hamza, 2011 ; Anwar et al., 2015**), et d'autres plantes comme *Origanum vulgare* (**Elizlade et Espinosa, 2011**), *Mentha piperita* (**Fatemi et al., 2014**), *Mentha pulegium* (**Zantar et al., 2015**), *Angélique gigas* (**Seo et al., 2007**), *Ocimum basilicum* (**Antonelli et al., 1998**) ou épices, telles que *Curcuma longa* (**Chatterjee et al., 2000**), *Carum carvi* (**Fatemi et al., 2011**), *Pipernigrum* (**Sádecká, 2010**) et *Zingiber montanum* (**Thongphasuk et al., 2014**).

Par contre, ces résultats sont en désaccord avec ceux rapportés par **Abdeldaim et al., (2009)** qui ont noté que certains composés ont disparu tandis que de nouveaux composés ont fait leur apparition dans les huiles essentielles des échantillons de romarin irradiés à des doses de 3 et de 15 kGy. Nous pouvons citer parmi les composants nouvellement apparus l' α -gurjunene. Les composants qui ont disparu des échantillons d'huiles essentielles de romarin irradiés sont toutefois restés présents dans nos échantillons, tels que le camphène, l' α -terpinéol et l'aromadendrène.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

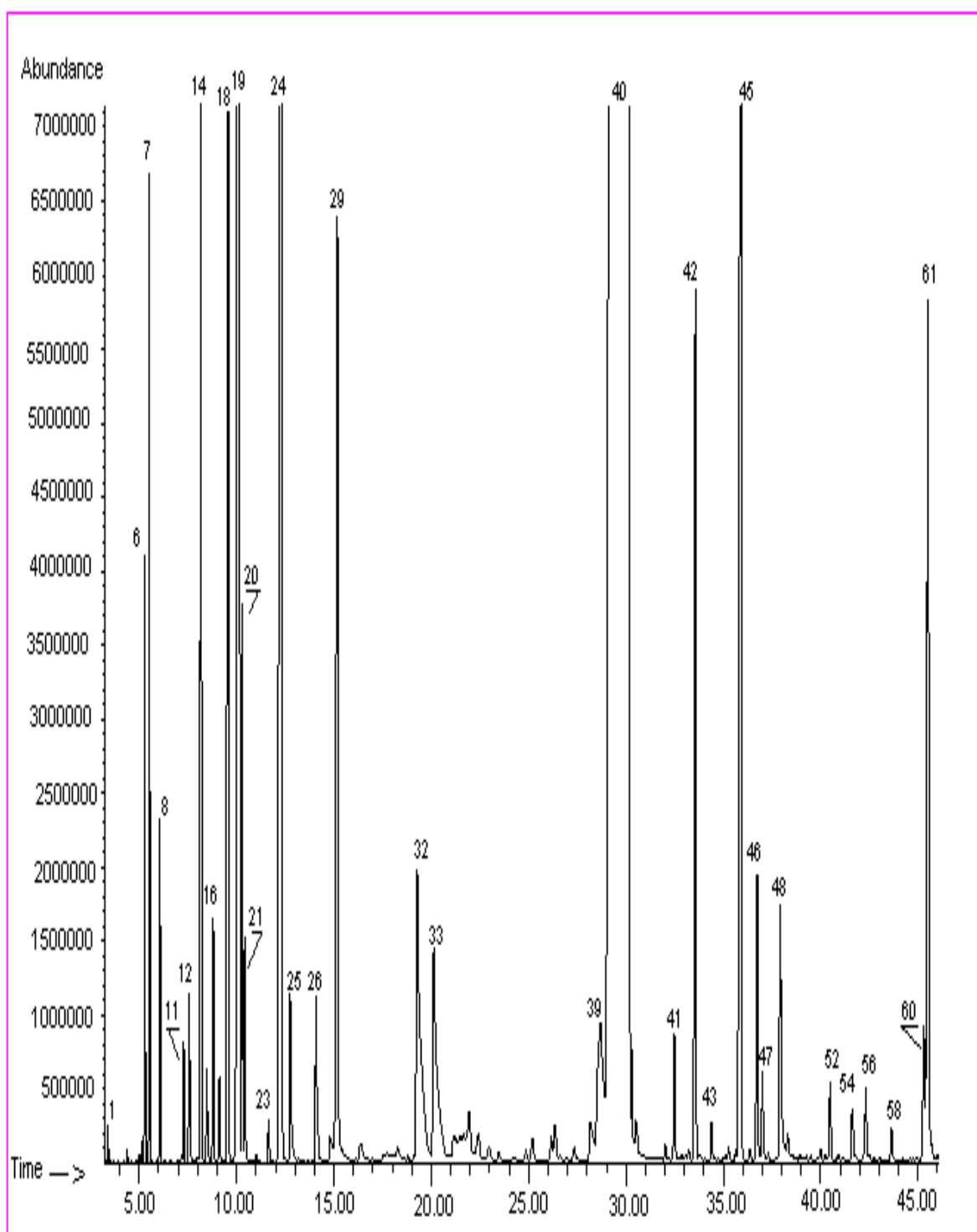


Figure 37 : Chromatogramme GC-MS de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* non irradié. Les numéros des pics correspondent aux numéros d'ordre des composés du tableau

10.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 10 : Composition chimique (%) des huiles essentielles de *T. algeriensis* irradié à des doses de 0, de 10, de 20 et de 30 kGy.

N°	Composés	Indice de Rétention	Doses d'irradiation de <i>T. algeriensis</i>				Identification ^a
			0 kGy	10 kGy	20 kGy	30 kGy	
1	(E)-2-Hexenal	850	t	t	t	t	IR, SM
2	3-Hexen-1-ol	857	t	t	t	t	IR, SM
3	1-Hexanol	870	t	t	t	t	IR, SM, Et.
4	Tricyclene	923	t	t	t	t	IR, SM, Et.
5	Methylhexanoate	924	t	t	t	t	IR, SM
6	α -Thujene	928	0.4	0.3	0.4	0.4	IR, SM
7	α -Pinene	937	0.7	0.6	0.7	0.6	IR, SM, Et.
8	Camphene	952	0.3	0.2	0.3	0.2	IR, SM, Et.
9	Verbenene	963	t	t	t	t	IR, SM
10	Sabinene	975	t	t	t	t	IR, SM, Et.
11	β -Pinene	978	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM, Et.
12	1-Octen-3-ol	981	0.2	0.2	0.2	0.2	IR, SM
13	3-Octanone	986	t	t	t	t	IR, SM
14	β -Myrcene	990	1.3	1.1	1.2	1.2	IR, SM, Et.
15	3-Octanol	993	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM
16	α -Phellandrene	1004	0.3	0.2	0.3	0.2	IR, SM, Et.
17	δ -3-Carene	1010	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM, Et.
18	α -Terpinene	1017	1.8	1.4	1.7	1.5	IR, SM, Et.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

19	p-Cymene	1025	6.8	6.2	6.7	6.9	IR, SM, Et.
20	β -Phellandrene	1030	0.5	0.4	0.5	0.5	IR, SM, Et.
21	1,8-Cineole	1032	0.2	0.2	0.2	0.2	IR, SM, Et.
22	cis- β -Ocimene	1037	t	t	t	t	IR, SM
23	trans- β -Ocimene	1049	0.1	t	t	t	IR, SM
24	γ -Terpinene	1059	6.7	5.9	6.4	6.1	IR, SM, Et.
25	cis-Sabinene hydrate	1068	0.3	0.2	0.2	0.2	IR, SM
26	Terpinolene	1087	0.3	0.2	0.2	0.2	IR, SM, Et.
27	p-Cymenyl	1089	t	t	0.1	t	IR, SM
28	trans-Sabinene hydrate	1098	0.1	0.1	0.1	t	IR, SM
29	Linalool	1200	1.6	1.4	1.5	1.4	IR, SM, Et.
30	p-Menth-2-en-1-ol	1123	t	t	t	t	IR, SM
31	Camphor	1144	t	t	t	t	IR, SM, Et.
32	Borneol	1167	1.1	1.1	1.2	1.1	IR, SM, Et.
33	Terpinen-4-ol	1177	0.8	0.8	0.9	0.8	IR, SM, Et.
34	α -Terpineol	1190	0.2	0.1	0.2	0.1	IR, SM, Et.
35	trans-Dihydrocarvone	1200	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM
36	Nerol	1228	0.1	t	t	t	IR, SM
37	Carvone	1242	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM, Et.
38	Neral	1243	t	t	t	t	IR, SM
39	Thymol	1292	0.9	0.8	0.9	0.8	IR, SM, Et.
40	Carvacrol	1299	64.6	65.9	65.8	65.4	IR, SM, Et.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

41	Eugenol	1358	0.2	0.2	0.2	0.2	IR, SM, Et.
42	cis-Carvacryl acetate	1362	1.2	1.2	1.2	1.2	IR, SM
43	Neryl acetate	1364	0.1	t	t	t	IR, SM
44	α -Gurjunene	1411	t	t	t	t	IR, SM
45	β -Caryophyllene	1418	3.4	3.4	3.4	3.0	IR, SM, Et.
46	β -Gurjunene	1430	t	t	t	t	IR, SM
47	Aromadendrene	1439	0.1	0.2	0.1	0.1	IR, SM
48	1, 6,6-Trimethylbicyclo [3. 3.0] octan-3-one*	1454	0.5	0.5	0.5	0.5	SM
49	allo-Aromadendrene	1460	t	t	t	t	IR, SM
50	γ -Muurolene	1476	t	t	t	t	IR, SM
51	trans- β -Ionone	1485	t	t	t	t	IR, SM, Et.
52	Ledene	1486	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM
53	α -Muurolene	1498	t	t	t	t	IR, SM
54	β -Bisabolene	1509	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM
55	cis- γ -Bisabolene	1513	t	t	t	t	IR, SM
56	δ -Cadinene	1523	0.1	0.1	t	0.1	IR, SM
57	Cadina-1,4-diene	1530	t	t	t	t	IR, SM
58	cis- α - Bisabolene	1540	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM
59	Elemol	1549	T	0.2	t	0.1	IR, SM
60	Spathulenol	1575	0.2	0.3	0.2	0.2	IR, SM, Et.
61	Caryophyllene oxide	1579	1.5	1.8	1.4	1.9	IR, SM, Et.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

62	Caryophylla-4(12), 8(13)-dien-5-beta-ol	1633	0.1	0.1	0.1	0.1	IR, SM
63	Isospathulenol	1635	t	t	t	t	IR, SM
64	α -Muurolol	1643	t	0.1	t	0.1	IR, SM
65	β -Eudesmol	1649	t	0.1	t	0.1	IR, SM
66	α -Eudesmol	1652	t	0.1	t	0.1	IR, SM
67	α -Cadinol	1653	t	0.1	t	0.1	IR, SM
% Identification			97.4	96.3	98.2	96.6	
Classe des composés							
Monoterpènes			19.4	16.7	18.9	18.0	
Monoterpènes oxygénés			71.4	71.7	72.4	71.4	
Sesquiterpènes			3.9	4.0	3.8	3.5	
Sesquiterpènes oxygénés			1.8	2.8	1.7	2.7	
Autres			0.9	1.0	1.4	1.0	
Rendement (%)			1.9	1.9	2.0	2.0	

Indice de rétention par rapport à la colonne HP 5MS ; ^a identification: Et, comparaison de l'indice de rétention par rapport à un étalon ; SM, comparaison du spectre de masse par rapport à ceux de la base de données informatisée et /ou de la bibliographie ; IR, comparaison de l'indice de rétention calculé par rapport à ceux de la bibliographie; * tentative d'identification par spectrométrie de masse; t, trace (<0.05%).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

L'analyse chromatographique des huiles essentielles de *T. algeriensis* a permis d'identifier 67 composés représentant 96,3 % à 98,2 % du total des huiles.

Cette analyse fait apparaître quatre composants principaux : le carvacrol (64,6 - 65,9 %), le p-cymène (6,2 - 6,9 %), le γ -terpinène (5,9 - 6,7 %), et le β -caryophyllène (3,0 - 3,4 %).

Nous notons d'après le **tableau 10** que l'huile essentielle de *T. algeriensis* Boiss. et Reut. non irradié, originaire de Hamdania (Médéa) et récolté en Mai 2014, est dominée par le carvacrol (64 %), le p-cymène (6,8 %), le γ -terpinène (6,7 %), le β -caryophyllène (3,4 %), et le linalool (1,6 %). La composition chimique d'une huile essentielle varie en fonction de nombreux facteurs (citées dans la partie bibliographique de cette étude) tels que la nature de la plante, le moment de la récolte, les conditions d'extraction, l'origine de la plante, etc. En effet, les travaux de **Amarti et al., (2011)** indique que l'huile essentielle de *T. algeriensis* originaire du Maroc est quant à elle dominée conjointement par le camphre (27,7 %) et l' α -pinène (20,5 %). D'autres composés sont également présents mais à des teneurs réduites : α -thujène (9,64 %), β -pinène (8,02%), 1,8-cineole (7,69 %), limonène (4,85 %), sabinène (3,84 %) et borneol (2,53 %). Alors que, les essences de *T. algeriensis* originaires de Khedara et Fatoum Souda (Algérie) présenteraient les mêmes composés majoritaires mais elles seraient plus riches en α -pinène qu'en camphre (**Giordani et al., 2008**). Cependant l'huile essentielle de *T. algeriensis* de la Lybie est dominée par le thymol (36,8 %) et le myrcène (20,2 %) (**Aboutabl et El-Dhamy, 1995**), alors que celle du Maroc étudiée par **Benjilali et al., (1987a, b)** contient le thymol (14,4-65,1%) et le carvacrol (22,8 - 70,3 %) comme constituants majoritaires. De même que **Dob et al., (2006)** ont trouvé que le linalol (43,3 %) et le thymol (29,2 %) sont les constituants prédominants de l'huile essentielle de cette même espèce.

Le grand polymorphisme chimique de cette essence a été confirmé par **Hazzit et al., (2009)**. En effet, l'huile essentielle de *T. algeriensis* collecté à El Asnam (Algérie) est composée majoritairement par le 4-terpineol (10,6%), le camphre (10,1 %) et le p-cymène (9,9 %), alors que celle de *T. algeriensis* du Parc national de Chréa (Algérie) récolté à 800 m d'altitude contient le thymol (29,5 %) comme principal constituant et que celle de *T. algeriensis* récolté à 1500 m d'altitude est dominée par l'acetate de terpenyle (18,0 %), le nerolidol (12,6 %) et l' α -pinène (11,1 %).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

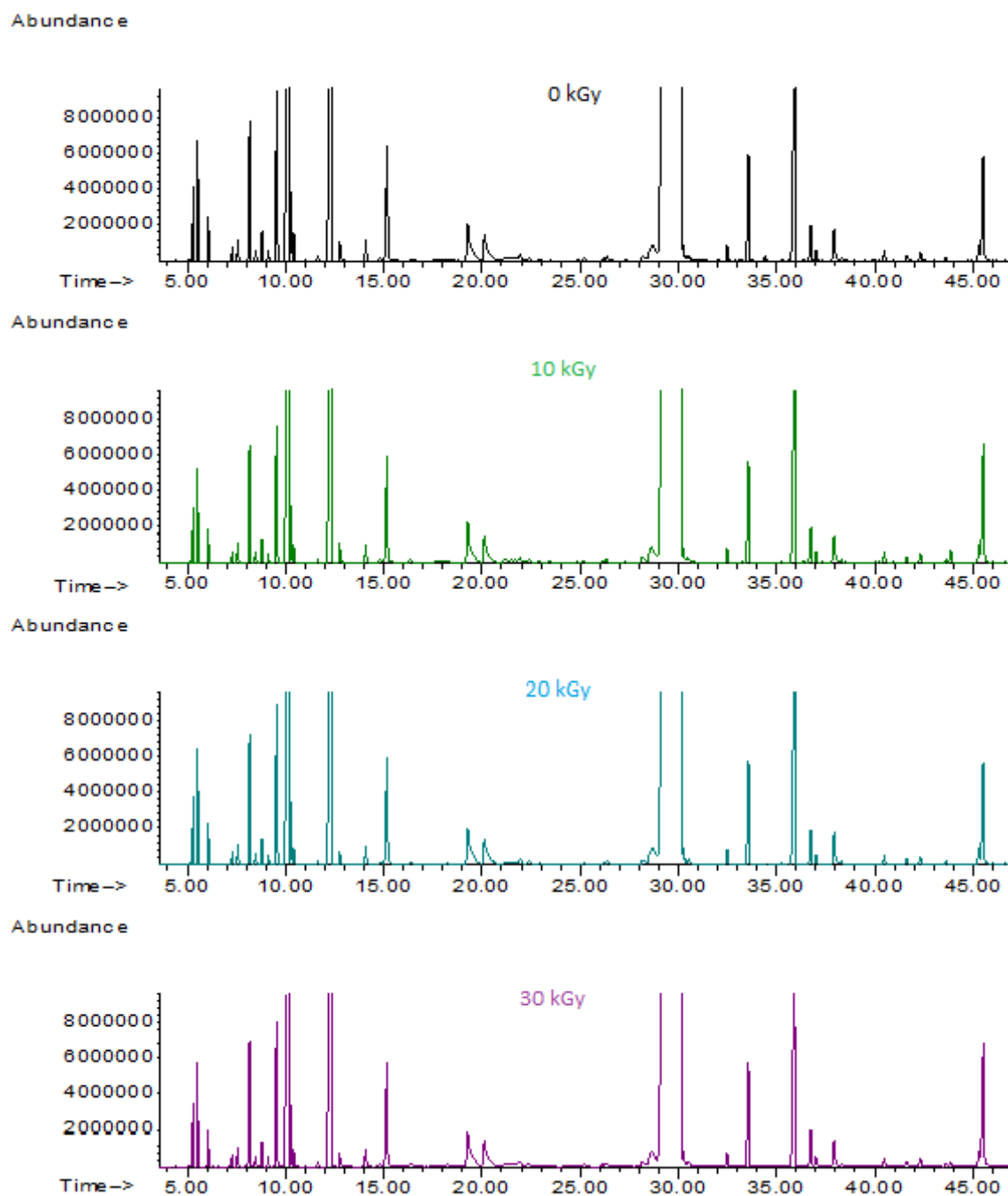


Figure 38 : Chromatogrammes GC-MS superposés des huiles essentielles de *T. algeriensis* irradié à des doses de 0, 10, 20 et de 30 kGy.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Concernant l'effet de l'irradiation gamma sur la composition chimique des huiles essentielles de *T. algeriensis* non irradié et irradié à des doses de 10, 20 et 30 kGy, nous notons que l'irradiation gamma des échantillons (plantes) de *T. algeriensis* a produit des changements mineurs dans la composition quantitative de certains constituants des huiles essentielles obtenues.

Les différences les plus importantes ont été enregistrées pour les constituants les plus importants des huiles essentielles de *T. algeriensis* (**Figure 39**). Ainsi, la teneur en carvacrol augmente pour toutes les doses d'irradiation, elle passe ainsi de 64,6 % (échantillon non irradié) à 65,9 % (pour l'échantillon irradié avec une dose de 10 kGy), mais ces augmentations diminuent de la dose la plus faible comme suit : + 1,3 % pour 10 kGy, 1,2 % pour 20 kGy et 0,8 % pour 30 kGy.

L'échantillon d'huile essentielle de *T. algeriensis* qui a montré la meilleure augmentation est celui qui a été irradié avec une dose de 10 kGy enregistrant une teneur de 65,9 % de carvacrol. Il est suivi par celui qui a été irradié avec une dose de 20 kGy enregistrant une teneur de 65,8 %.

La diminution de la teneur en p-Cymène la plus représentatif a été enregistrée par l'échantillon d'huile essentielle de *T. algeriensis* irradié avec une dose de 10 kGy (- 0,6 %). La teneur en p-Cymène est restée toutefois dans une proportion similaire à celle de l'échantillon témoin (non irradié) pour les deux autres doses de traitement. L'échantillon d'huile essentielle de *T. algeriensis* qui a montré l'augmentation la plus élevée est celui qui a été irradié avec une dose de 30 kGy enregistrant une teneur de 6,9 % de p-Cymène

La teneur en γ -Terpinène diminue pour tous les échantillons d'huiles essentielles de *T. algeriensis* irradié, mais la diminution la plus prononcée est enregistrée pour les échantillons irradiés avec des doses de 10 et de 30 kGy. Ce changement irrégulier est similaire à celui rapporté pour le même composé de *Zingiber montanum* (**Thongphasuk et al., 2014**).

Au vu des différentes observations, nous constatons que la sensibilité des composés chimiques à l'irradiation est variable. Les tendances de variation du carvacrol et du γ -Terpinène sont en accord avec celles rapportées pour le *T. algeriensis* marocain connu pour sa richesse en carvacrol, et irradié avec des doses de 10, 20 et de 30 kGy (**Zantar et al., 2015**). Néanmoins, nous avons trouvé une tendance inverse pour le p-Cymène par rapport aux résultats de ces

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

auteurs. *T. vulgaris* commercial irradié avec une dose de 10 kGy n'a montré aucun changement substantiel dans sa teneur en carvacrol (+ 0,2 %) (**Haddad et al., 2007**).

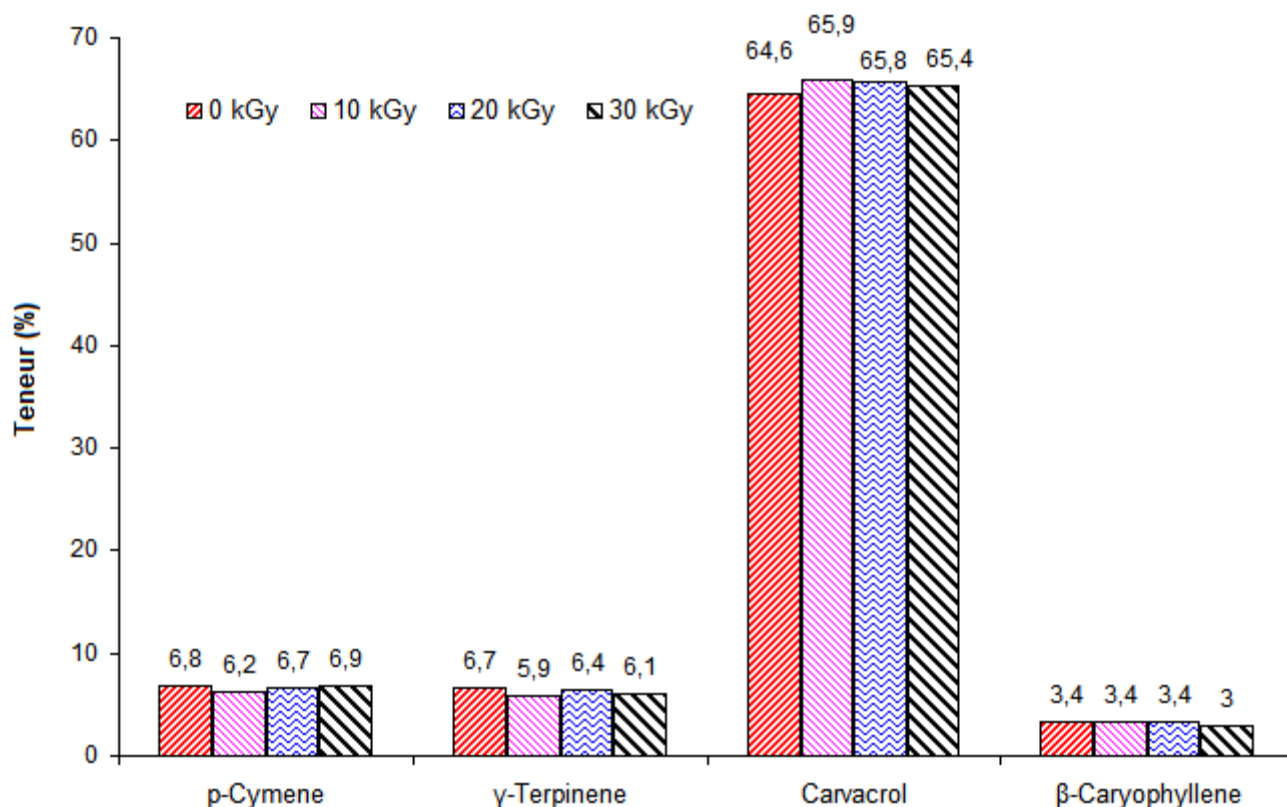


Figure 39 : Variations des teneurs des principaux composés des huiles essentielles de *T. algeriensis* en fonction de la dose d'irradiation.

Il est remarquable de noter que le linalool qui a été signalé comme très sensible à l'irradiation (**Antonelli et al., 1998**) a montré un changement négligeable. Le même composé (3,3 %) disparaît de l'huile essentielle de la menthe poivrée irradiée à faible dose (1 kGy) (**Machhour et al., 2011**).

En ce qui concerne les constituants sesquiterpéniques, le seul changement notable a été observé pour la dose d'ionisation de 30 kGy entraînant une augmentation de l'oxyde de caryophyllène équilibrée par une perte équipollente en β -caryophyllène. Ce dernier effet concernant le β -caryophyllène a été observé par **Sádecká (2010)** pour les huiles essentielles du poivre noir. Les résultats obtenus et ceux de nombreux chercheurs montrent qu'un effet spécifique peut être très souvent observé pour différentes huiles essentielles, et que le même composé présent dans les huiles essentielles de différentes plantes peut se comporter différemment même s'il est soumis au même traitement (**Farag et al., 1995**).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Seo et al., (2007) ont de leur côté démontré que la composition chimique des huiles essentielles de *Nigella* n'avait pas changé après le traitement par irradiation à des doses de 1 à 20 kGy. Une tendance similaire a été observée par **Chatterjee et al., (2000)** sur les composés d'huiles essentielles volatiles du turmeric (*Curcuma longa*) et du gingembre (**Variyar et al., 1997**). **Haddad et al., (2007)** ont conclu que les effets de l'irradiation gamma sur la composition chimique des extraits de plantes dépendent des doses d'irradiation, de l'exposition temporelle, du type de plante et du type d'extraction. Les mêmes auteurs ont également suggéré que le même composé pouvait être affecté différemment selon le type (l'espèce) de plante.

I.3. Effet du rayonnement gamma sur les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes

Différents rapports sur l'effet de l'irradiation par les rayons gamma sur la quantité totale de composés phénoliques et/ou de flavonoïdes dans les plantes aromatiques et médicinales sont disponibles dans la littérature. On retrouve le cas de l'augmentation et/ou de la diminution des phénols totaux, mais également des études qui démontrent que ces quantités ne sont pas affectées par l'irradiation gamma.

Cependant, il convient de noter que ces différents résultats (augmentation, diminution ou absence d'effet sur les quantités totale de composés phénoliques et/ou de flavonoïdes dans les plantes aromatiques et médicinales) peuvent être retrouvés pour une même plante.

L'effet de l'irradiation par les rayons gamma sur la quantité totale de composés phénoliques et/ou de flavonoïdes retrouvés dans les plantes aromatiques et médicinales serait par ailleurs variable en fonction de la dose d'irradiation et ou du solvant d'extraction utilisé. Dans le but d'être plus explicites, nous allons passer en revue quelques exemples représentant ces différentes situations :

Pour des doses d'irradiation de 25 et de 10 kGy, **Fatemi et al., (2014)** et **Thongphasuk et al., (2014)** ont trouvé que l'irradiation par le rayonnement gamma n'affecte pas significativement les teneurs en flavonoïdes et en phénols totaux (PT) des extraits méthanoliques de *Mentha piperta* et de *Zingiber montana*, respectivement. Le même résultat a été rapporté pour les PT des extraits méthanoliques de sauge et d'origan traités avec une dose de 30 kGy (**Pérez et al., 2011**), ainsi que pour les flavonoïdes totaux (FT) de *Thymus vulgaris* (**Pereira et al., 2016**) traités avec une dose de 10 kGy. De plus, une dose de 30 kGy de radiation gamma appliquée aux feuilles de romarin ne modifie pas significativement la teneur en phénols

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

totaux des extraits méthanoliques et éthanoliques, mais augmente celle de l'extrait aqueux (Pérez et al., 2007), suggérant que la nature du solvant peut influencer la teneur totale en flavonoïdes. D'autres considérations, telles que les conditions de prétraitement des PAM et d'extraction des huiles essentielles (Albu et al., 2004 ; Wada et al., 2004) affectent directement la concentration des phénols totaux et des flavonoïdes totaux dans l'extrait final.

Prenons par ailleurs l'exemple de *Cinnamomum zeylanicum* et de *Echinacea purpurea* qui exposés à une irradiation gamma de 10, 15, 20 et de 25 kGy n'ont pas montré de différence significative quant à la teneur des PT des échantillons traités et non traités. De plus, un rayonnement allant jusqu'à 15 kGy n'a pas eu d'effet significatif sur la teneur totale en phénols d'*Echinacea purpurea*, mais l'augmentation de la dose d'irradiation jusqu'à 20 et 25 kGy a montré une augmentation significative de la teneur en PT (Jamshidi et al., 2014).

En revanche, Pereira et al., (2015) ont rapporté que l'irradiation de *Ginkgo biloba* L. à une dose de 10 kGy améliore l'extractibilité des composés phénoliques. Ainsi, les sous-produits formés lors d'une irradiation dépendent de la matrice végétale ou alimentaire et de la dose appliquée. Ce phénomène est généralement attribué à la dégradation de certaines molécules lors de l'irradiation et qui se produit par des mécanismes complexes. Bien qu'il soit considéré que certaines liaisons peuvent être rompues (Stewart, 2001). Cela pourrait expliquer la teneur plus élevée en composés phénoliques qui peut être observée pour certaines matrices et pour certaines doses.

Des augmentations significatives des teneurs en composés phénoliques totaux ont été observées dans l'huile essentielle de gingembre après traitement par irradiation, par rapport à l'échantillon témoin (Suhaj et Horváthová, 2007). Par contre, Minea et al., (2007) ont noté une diminution importante des flavonoïdes chez l'argousier (*Hippophae rhamnoides*) irradié avec une dose de 20 kGy.

Gumus et al., (2011) ont aussi constaté une diminution de la teneur totale en phénols des extraits méthanoliques de *Thymus vulgaris*, de *Satureja hortensis* et de *Tymbra spicata* irradiés à de faibles doses (1, 2, 3 et 5,1 kGy). Ce phénomène pourrait être attribué à :

- ✓ Une possible mutation ;
- ✓ Ou à une transformation de certaines molécules comportant des groupements phénoliques en des molécules dénuées de ces groupements ;

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

- ✓ Ou bien à une transformation partielle de certaines molécules comportant des groupements en d'autres molécules comportant ces groupements mais qui ne peuvent pas être extraites par le solvant utilisé.

Tableau 11 : Phénols totaux (mg EAG/g Extrait), flavonoïdes totaux (mg EQ/g Extrait) et rendements % (g extrait/g de matière sèche) des extraits éthanolique de *T. algeriensis* (moyennes \pm écart type).

Échantillons irradiés (kGy)	Rendement %(g/g MS)	Phénols totaux	Flavonoïdes totaux
0	24,76	213 \pm 1,32 ^c	52,25 \pm 0,79 ^c
10	22,73	236,17 \pm 1,23 ^d	51,40 \pm 0,26 ^c
20	20,41	184,83 \pm 3,01 ^b	38,55 \pm 0,40 ^b
30	19,82	149,33 \pm 0,76 ^a	35,74 \pm 0,44 ^a

Dans la même colonne, les différentes lettres signifient des différences significatives entre les valeurs ($p < 0,05$).

Comme on peut le voir dans le **tableau 11**, la teneur en flavonoïdes totaux de l'échantillon irradié à 10 kGy est restée sensiblement égale à celle du témoin (huile essentielle non irradiée) tandis que sa teneur totale en phénols totaux augmente.

Au contraire, les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux diminuent pour les échantillons irradiés avec des doses de 20 et de 30 kGy. Nous pouvons dire que plus la dose d'irradiation augmente plus les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux des extraits éthanolique de *T. algeriensis* diminuent. **Khattak et al., (2008)** ont rapporté une tendance similaire de la variation des teneurs en PT pour des extraits aqueux de graines de *Nigella sativa* irradiées à des doses de 2, 4, 8, 10, 12 et de 16 kGy. De plus, **Koseki et al., (2002)** ont rapporté une diminution de la quantité des composés phénoliques totaux du romarin irradié avec des doses comprises entre 10 et 30 kGy, par rapport au témoin non irradié.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

De leur côté, **Yalcin et al., (2011)** ont observé une diminution de la teneur en PT pour les extraits de méthanol de la sauge sclérée irradiée à des doses comprises entre 2,5 et 7 kGy. Comme nous l'avons indiqué précédemment, cette diminution peut être attribuée à la modification de certaines structures de composés phénoliques après irradiation qui ne peuvent pas être extraites ou dissoutes dans le solvant utilisé pour l'extraction (**Verma et al., 2016**).

I.4. Effet du rayonnement gamma sur l'activité antioxydante

Les activités antioxydantes des huiles essentielles et des extraits éthanoliques des échantillons irradiés de *Thymus algeriensis* et des témoins (échantillons non irradiés et BHT) ont été réalisées en utilisant différents tests, tels que le test des capacités réductrices du fer ferrique en fer ferreux, de l'inhibition de la peroxydation lipidique et du piégeage des radicaux DPPH[•] et ABTS^{•+}.

Les résultats exprimés par la concentration d'échantillons des extraits éthanoliques et de l'HE de *Thymus algeriensis* (irradié et non irradié) requise pour réduire la concentration préliminaire à 50 % (IC₅₀) comparés à ceux du BHT sont indiqués dans le **tableau 12** et les **figures 40** et **41**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 12 : Activité antioxydante (exprimée en IC_{50} ($mg L^{-1}$)) du BHT, des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *T. algeriensis* irradié par le rayonnement gamma à différentes doses (0, 10, 20 et 30 kGy).

Échantillons	Doses d'irradiation (kGy)	DPPH	Pouvoir réducteur	TBARS	ABTS
Huiles essentielles	0	404,08±5,87 ^c	347,84±3,02 ^h	23,54±0,37 ^b	10,48±0,49 ^c
	10	421,25±2,29 ^d	123,47±1,34 ^e	88,70±0,77 ^c	11,01±0,11 ^c
	20	421,97±0,94 ^d	164,88±3,41 ^f	90,76±0,76 ^d	7,64±0,06 ^b
	30	402,90±8,32 ^c	270,35±5,85 ^g	90,17±0,66 ^{cd}	8,45±0,30 ^b
Extraits éthanoliques	0	22,26±0,07 ^b	59,53±0,70 ^b	Nt	25,29±0,21 ^e
	10	19,28±0,42 ^b	51,48±0,63 ^a	Nt	20,37±0,49 ^d
	20	23,49±0,57 ^b	76,0±1,01 ^d	Nt	30,0±0,30 ^f
	30	25,79±0,67 ^b	79,88±0,76 ^d	Nt	33,16±0,27 ^g
BHT	-	11,59±0,18 ^a	64,83±0,71 ^c	10,4±0,2 ^a	2,81±0,04 ^a

Les données de la même colonne suivies d'une lettre différente sont significativement différentes selon le test de Tuckey ($p < 0,05$). Les valeurs représentent la moyenne des trois répétitions. Nt= non testé.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Les valeurs des IC₅₀ les plus faibles sont indicatrices des potentiels antioxydants les plus élevés. Tous les échantillons testés (huiles essentielles et extraits), à l'exception du pouvoir réducteur des extraits, étaient moins actifs que le standard (BHT). Les extraits étaient significativement plus efficaces en tant qu'antioxydants que les huiles essentielles. Une telle activité peut être due aux polyphénols présents dans ces extraits, absents ou en quantité moindre dans les huiles essentielles de *Thymus algeriensis*.

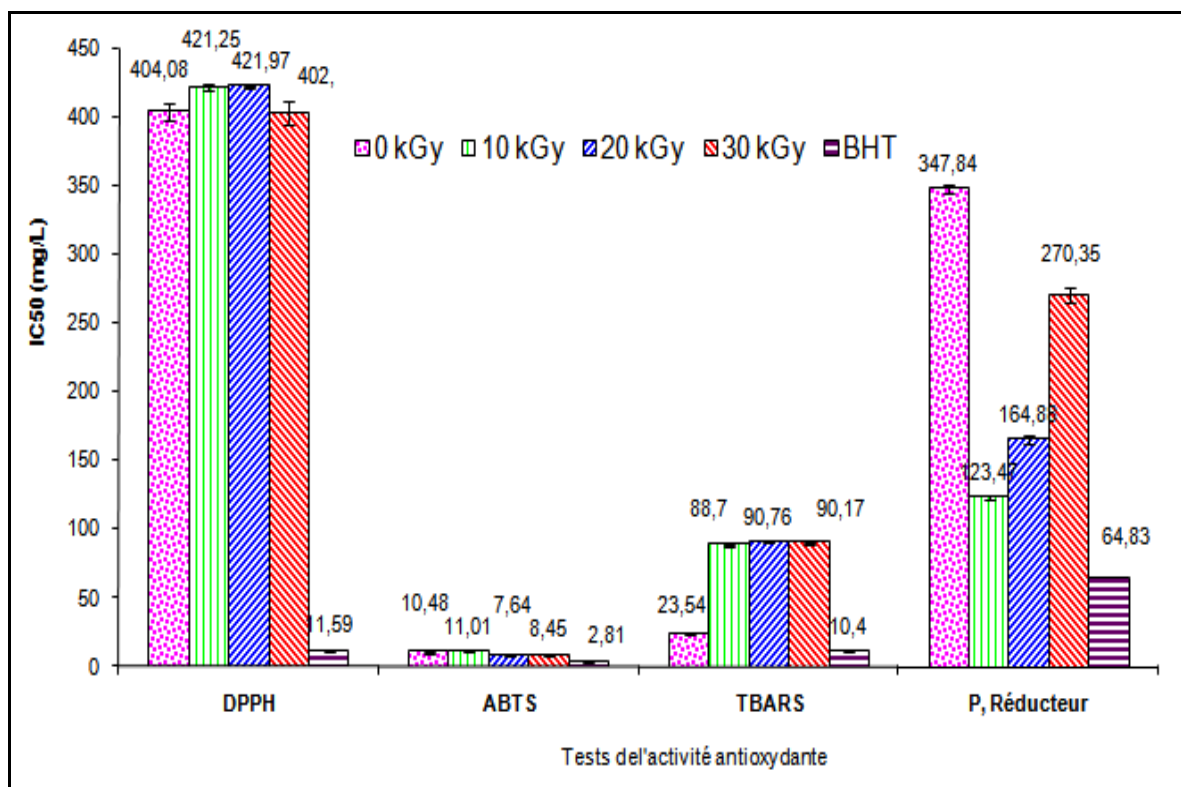


Figure 40 : Activité antioxydante exprimée en IC₅₀ (mg/L) du BHT et des huiles essentielles de *T. algeriensis* irradié aux doses de 0, 10, 20 et de 30 kGy.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

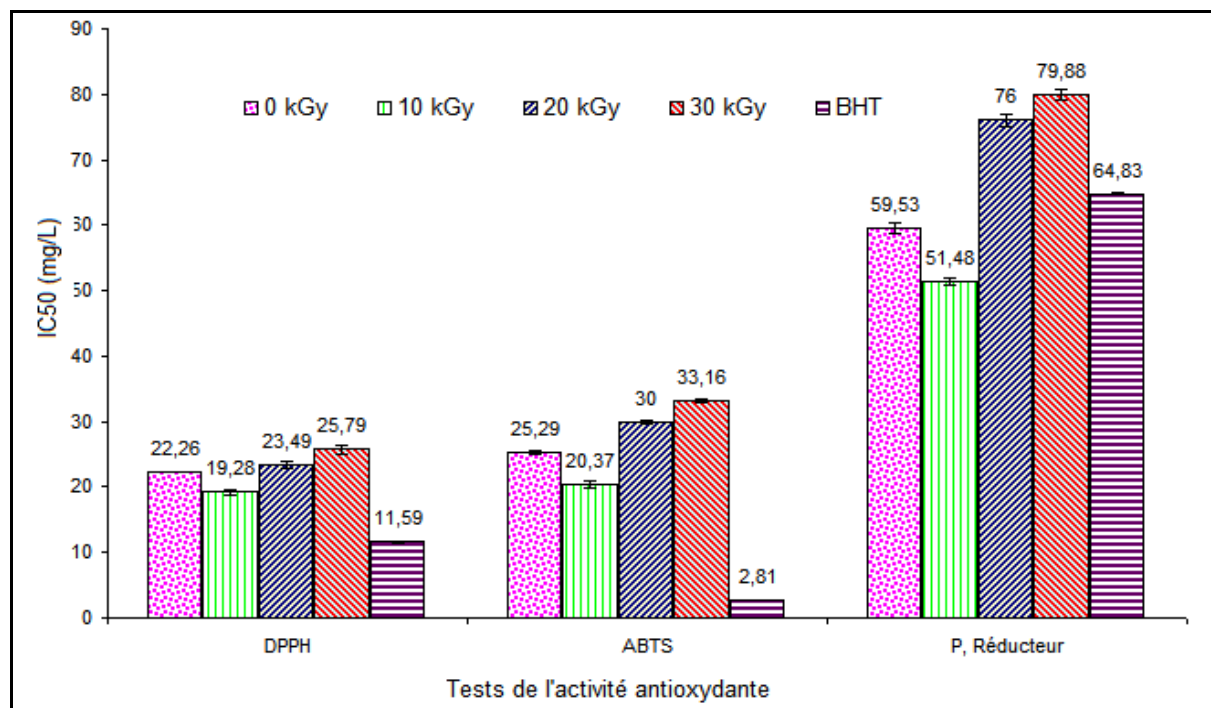


Figure 41 : Activité antioxydante exprimée en IC50 (mg/L) du BHT et des extraits éthanoliques de *T. algeriensis* irradié aux doses de 0, 10, 20 et 30 kGy.

Le comportement des huiles essentielles de *T. algeriensis* varie selon le test utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. Ainsi, l'échantillon irradié à 30 kGy a révélé une importante capacité à inhiber les radicaux DPPH tandis que ceux irradiés à des doses de 20 et de 30 kGy étaient les plus actifs pour piéger le radical ABTS. D'un autre côté, l'huile essentielle de l'échantillon irradié à 10 kGy était la plus efficace comme antioxydant lors du test du pouvoir réducteur.

En conclusion, le pré traitement par irradiation gamma dans le cas de cette étude diminue l'activité de piégeage des radicaux DPPH des huiles essentielles des échantillons de *T. algeriensis* irradiés à des doses de 10 et de 20 kGy. Ce résultat est en partie en désaccord avec celui rapporté pour les huiles essentielles de *T. algeriensis* et de *Mentha pulegium* du Maroc dont l'activité de piégeage des radicaux DPPH n'a pas été affectée par l'irradiation (10, 20 et 30 kGy) (Zantar et al., 2015).

Le pouvoir réducteur de tous les échantillons irradiés aux rayons gamma a significativement augmenté par rapport à celui du témoin (non irradié). Au contraire, l'inhibition de la peroxydation lipidique a fortement diminué par rapport à l'huile essentielle de

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

l'échantillon non irradié pour atteindre une valeur proche pour les huiles essentielles irradiées à des doses de 10, 20 et de 30 kGy.

Nous notons par ailleurs que les activités antioxydantes des huiles essentielles de *T. algeriensis* évaluées par le pouvoir réducteur et par le test de l'inhibition du radical ABTS ont généralement augmentaient avec l'accroissement des doses d'irradiation, cette augmentation (ou appelée aussi effet de stimulation de l'activité antioxydante) a en effet atteint son maximum aux doses de 10 et de 20 kGy d'irradiation.

En ce qui concerne le test de piégeage des radicaux ABTS par les huiles essentielles de *T. algeriensis* (échantillons irradiés et non irradiés), on observe un comportement opposé à celui du test TBARS pour les doses d'irradiation de 20 et de 30 kGy.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes où les effets synergiques et antagonistes peuvent jouer un rôle important et difficilement prévisible au sens de l'efficacité de l'activité antioxydante évaluée par diverses méthodes. Ainsi, bien que les compositions chimiques des différentes huiles essentielles de *T. algeriensis* (échantillons irradiés et non irradiés) étudiées soient plus ou moins similaires, les différences mineures ont des impacts importants sur leur activité antioxydante.

Les rendements d'extraits éthanoliques de *T. algeriensis* dans l'éthanol diminuent avec l'augmentation de la dose du rayonnement gamma. Notre résultat est conforme à celui rapporté pour *T. vulgaris* irradié avec des doses de 1,2 et de 5,1 kGy (**Gumus et al., 2011**). De plus, les rendements des extraits hydro-méthanoliques de *Laurus nobilis* et de *Carum carvi* irradiés à des doses de 5, 10, 20 et de 30 kGy diminuent avec l'augmentation des doses absorbées du rayonnement gamma (**Polovka et al., 2010**).

L'activité antioxydante des extraits obtenus à partir des feuilles de *T. algeriensis* dans les réactions avec le DPPH n'a montré aucune différence statistiquement significative par rapport aux valeurs des IC₅₀ entre les échantillons soumis aux différentes doses de rayonnement gamma. Notre résultat est en accord avec celui rapporté par **Mishra et al., (2006)** pour *Camellia sinensis* irradiée jusqu'à 10 kGy. Par ailleurs, l'activité de piégeage du radical DPPH par l'extrait méthanolique du romarin irradié à 30 kGy est aussi restée identique à celle du témoin. De plus, une dose de rayonnement gamme comprise entre 5 et 30 kGy n'a pas causé de

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

changements dans la capacité des extraits méthanoliques de carvi à inhiber le radical libre DPPH (**Polovka et Suhaj, 2010**).

Le pouvoir réducteur et l'activité de piégeage du radical ABTS ont suivi le même comportement en atteignant une activité maximale pour la dose d'irradiation de 10 kGy, suivie d'une diminution pour les doses de 20 et de 30 kGy. De plus, l'irradiation à un niveau de dose de 10 kGy dans notre cas a augmenté la teneur en phénols totaux sachant que ces composés phénoliques jouent un rôle bien établi dans l'activité antioxydante de tous les extraits.

Sur la base de nos résultats observés dans les différents tests permettant l'évaluation de l'effet de l'irradiation gamma sur l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de *T. algeriensis*, il semblerait que l'irradiation à une dose de 10 kGy soit la plus appropriée pour la décontamination (**Molins, 2001**) tout en conférant à l'extrait éthanolique de *T. algeriensis* une meilleure propriété antioxydante.

I.5. Conclusion

Cette étude a permis de montrer que l'irradiation gamma à 10 kGy, qui est autorisée pour le traitement des aliments plantes et épices et qui est considérée comme suffisante pour la décontamination et la désinfection, a amélioré les propriétés antioxydantes des extraits éthanoliques de *T. algeriensis*. Néanmoins, d'autres recherches sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les effets du traitement par l'irradiation gamma chez les plantes aromatiques et médicinales étant donné que les résultats de la littérature ne sont souvent pas en accord et dépendent d'une matrice à l'autre, et que de nombreux chercheurs ont également trouvé des résultats qui sont en parfait désaccord en étudiant une même plante issue de différentes origines.

II. Effets de l'addition du thymol sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles des baies du genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*)

II.1. Introduction

De nombreux travaux sur les activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, insecticides...) d'une grande variété de PAM indiquent que ces activités sont en relation étroite et directe avec la composition chimique de leurs huiles essentielles, et notamment avec la présence de composés phénoliques dits fortement actifs. A titre d'exemple, les activités antioxydantes des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales seraient dues à la présence de composés comportant un groupement hydroxyle (Shahidi et al., 1992) ; les activités antimicrobiennes quant à elle seraient attribuées à la présence de composés mono terpéniques oxygénés (Carson et Riley, 1995).

Les baies de *Juniperus phoenicea* choisies pour cette étude ont enregistré un rendement élevé en huile essentielle, mais la composition chimique de cette HE n'a révélé la présence d'aucun composants phénoliques connus pour son efficacité biologiques (tels que : le carvacrol, thymol, eugénol, linalol, pulégone, camphre...). Dans le but de valoriser ces baies riches en huile essentielle, nous avons pensé à ajouter une quantité de thymol à cette HE afin d'étudier l'effet (positif ou non) de cette addition sur la composition chimique et les activités biologiques de cette dernière. Nous avons par ailleurs procédé à la comparaison de l'efficacité de cette HE additionnée de thymol avec l'HE de l'origan qui est largement reconnue pour sa richesse naturelle en thymol et qui lui confère d'excellentes propriétés biologiques (Kerbouche et al., 2015).

II.2. Composition chimique des huiles essentielles des baies du genévrier rouge

Les baies de *J. phoenicea* de la région Soummam (Algérie) sélectionnées pour cette études ont enregistré un rendement en huile essentielle de 6,5 % (v/m) (Tableau 13 et Figure 42).

Ce rendement est légèrement inférieur à celui rapporté par Agoune et Yahiaoui (2015) pour les baies de *J. phoenicea* de la région de Bouharoun (6,8 %). Il est par contre très élevé par rapport aux rendements rapportés dans la littérature et obtenus par des chercheurs de différents pays (Figure 42), à l'exception du rendement du genévrier rouge de Tunisie.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

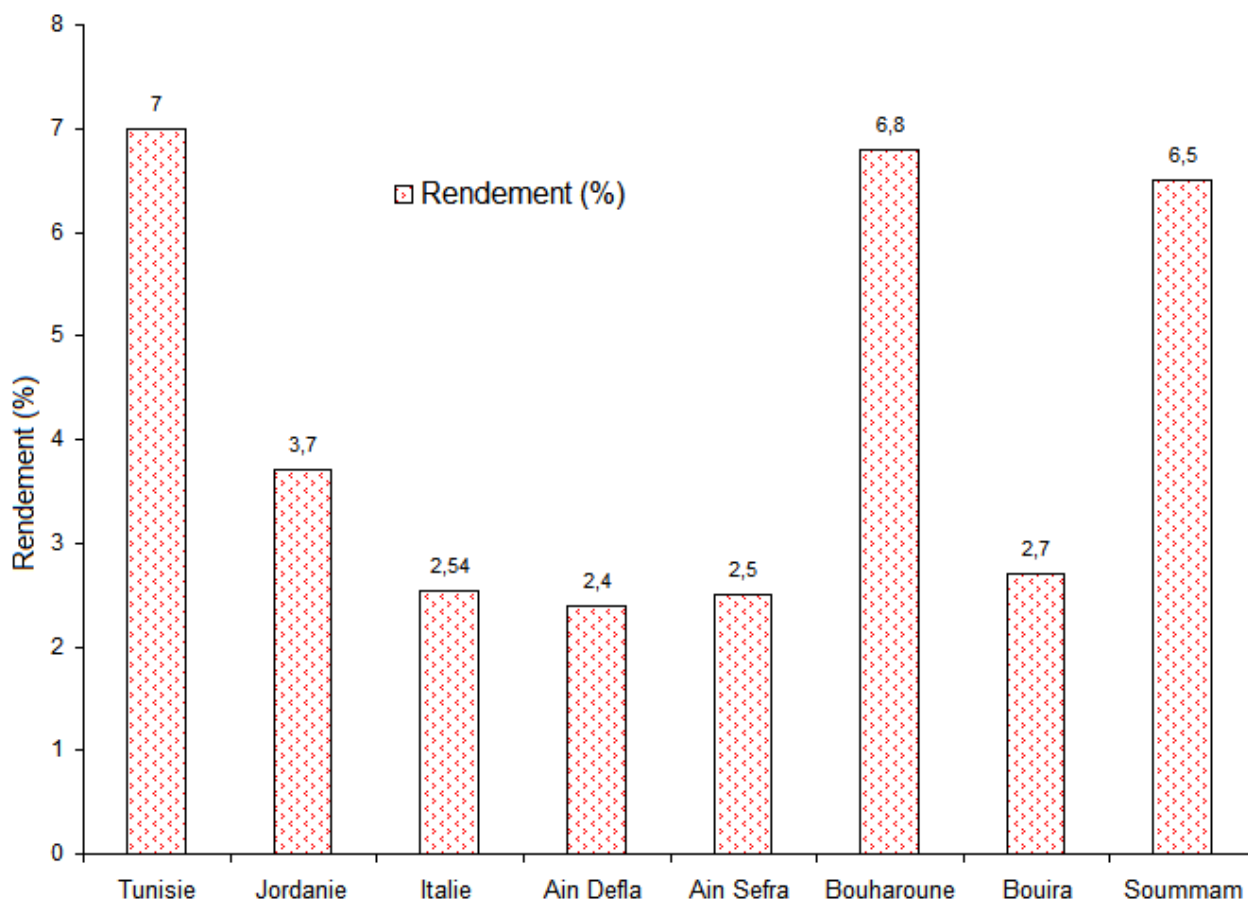


Figure 42 : Rendement % (v/m) en huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* de quelques régions d’Algérie et de certains pays. (Ref. Tunisie : **Medini et al., 2011** ; Jordanie : **Abu-Darwish et al., 2013** ; Italie : **Angionni et al., 2003** ; Ain Defla : **Harhour et al., 2018** ; Ain Sefra : **Bouyahyaoui et al., 2016** ; Bouharoune : **Agoune et Yahiaoui, 2015** ; Bouira : **Menaceur et al., 2013**).

L’analyse chromatographique de la composition chimique de l’huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* de la région Soummam (Algérie) a permis l’identification de 56 composés représentant 89,2 % du total des composés (**Tableau 13**).

Les principaux composants chimiques de cet échantillon sont représentés par l’ α -pinene (43,1 %), le δ -3-carene (6,5 %), le β -phellandrene (7,8 %) et l’ α -Terpinenyl acetate (6,0 %).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 13 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* de la région Soummam (Algérie).

N°	Composés	IR	%	Identification
1	Tricyclene	924	0.4	IR-SM
2	α -Thujene	929	0.1	IR-SM
3	α-Pinene	938	43.1	IR-SM-Etalon
4	α -Fenchene	950	0.4	IR-SM
5	Camphene	952	0.5	IR-SM-Etalon
6	Verbenene	965	t	IR-SM
7	Sabinene	974	0.7	IR-SM-Etalon
8	β -Pinene	979	1.5	IR-SM-Etalon
9	β -Myrcene	990	4.1	IR-SM-Etalon
10	2-Carene	1002	0.2	IR-SM
11	α -Phellandrene	1004	1.7	IR-SM-Etalon
12	δ-3-Carene	1011	6.5	IR-SM-Etalon
13	α -Terpinene	1017	0.1	IR-SM-Etalon
14	p-Cymene	1025	0.3	IR-SM-Etalon
15	β-Phellandrene	1030	7.8	IR-SM-Etalon

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

16	1,8-Cineole	1032	t	IR-SM-Etalon
17	<i>cis</i> - β -Ocimene	1038	t	IR-SM
18	<i>trans</i> - β -Ocimene	1048	t	IR-SM
19	γ -Terpinene	1060	0.4	IR-SM-Etalon
20	<i>cis</i> -Sabinene Hydrate	1067	t	IR-SM
21	Terpinolene	1087	2.4	IR-SM-Etalon
22	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1096	t	IR-SM
23	Linalool	1099	t	IR-SM-Etalon
24	<i>cis</i> -p-2-Ment -1-ol	1124	0.2	IR-SM
25	α -Campholene aldehyde	1125	t	IR-SM
26	Terpinen-1-ol	1137	0.1	IR-SM
27	Camphor	1144	t	IR-SM-Etalon
28	Terpinen-4-ol	1177	0.2	IR-SM-Etalon
29	α -Terpineol	1190	0.2	IR-SM-Etalon
30	Verbenone	1206	t	IR-SM
31	Fenchyl acetate	1220	t	IR-SM
32	Linalyl acetate	1256	t	IR-SM-Etalon
33	Bornyl acetate	1284	0.9	IR-SM-Etalon

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

34	δ -Elemene	1339	0.2	IR-SM
35	α-Terpinenyl acetate	1349	6.0	IR-SM-Etalon
36	α -Copaene	1376	t	IR-SM
37	β -Elemene	1392	0.2	IR-SM
38	Longifolene	1405	0.2	IR-SM
39	β -Caryophyllene	1419	2.6	IR-SM
40	γ -Elemene	1434	0.1	IR-SM
41	α -Humulene	1454	0.5	IR-SM
42	<i>trans</i> - β -Farnesene	1456	t	IR-SM
43	γ -Gurjunene	1473	0.1	IR-SM
44	γ -Muurolene	1477	t	IR-SM
45	Germacrene D	1481	2.8	IR-SM
46	Valencene	1492	0.1	IR-SM
47	α -Muurolene	1498	0.1	IR-SM
48	<i>cis</i> - γ -Bisabolene	1512	0.3	IR-SM
49	γ -Cadinene	1513	0.2	IR-SM
50	δ -Cadinene	1524	0.1	IR-SM

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

51	(Z)-Nerolidol	1544	0.3	IR-SM
52	Elemol	1547	0.4	IR-SM
53	Germacrene B	1556	2.6	IR-SM
54	(E)-Nerolidol	1562	0.1	IR-SM-Etalon
55	Germacrene D-4-ol	1572	0.3	IR-SM
56	Caryophyllene oxide	1581	0.1	IR-SM
Total identifié (%)		89.2		
	Monoterpènes	70.2		
	Monoterpènes oxygénés	7.6		
	Sesquiterpènes	10.2		
	Sesquiterpènes oxygénés	1.2		
	Rendement (%)	6.5		

Le profil chromatographique de l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des baies du genévrier rouge de la région Soummam (Algérie) est représenté par la **figure 43**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

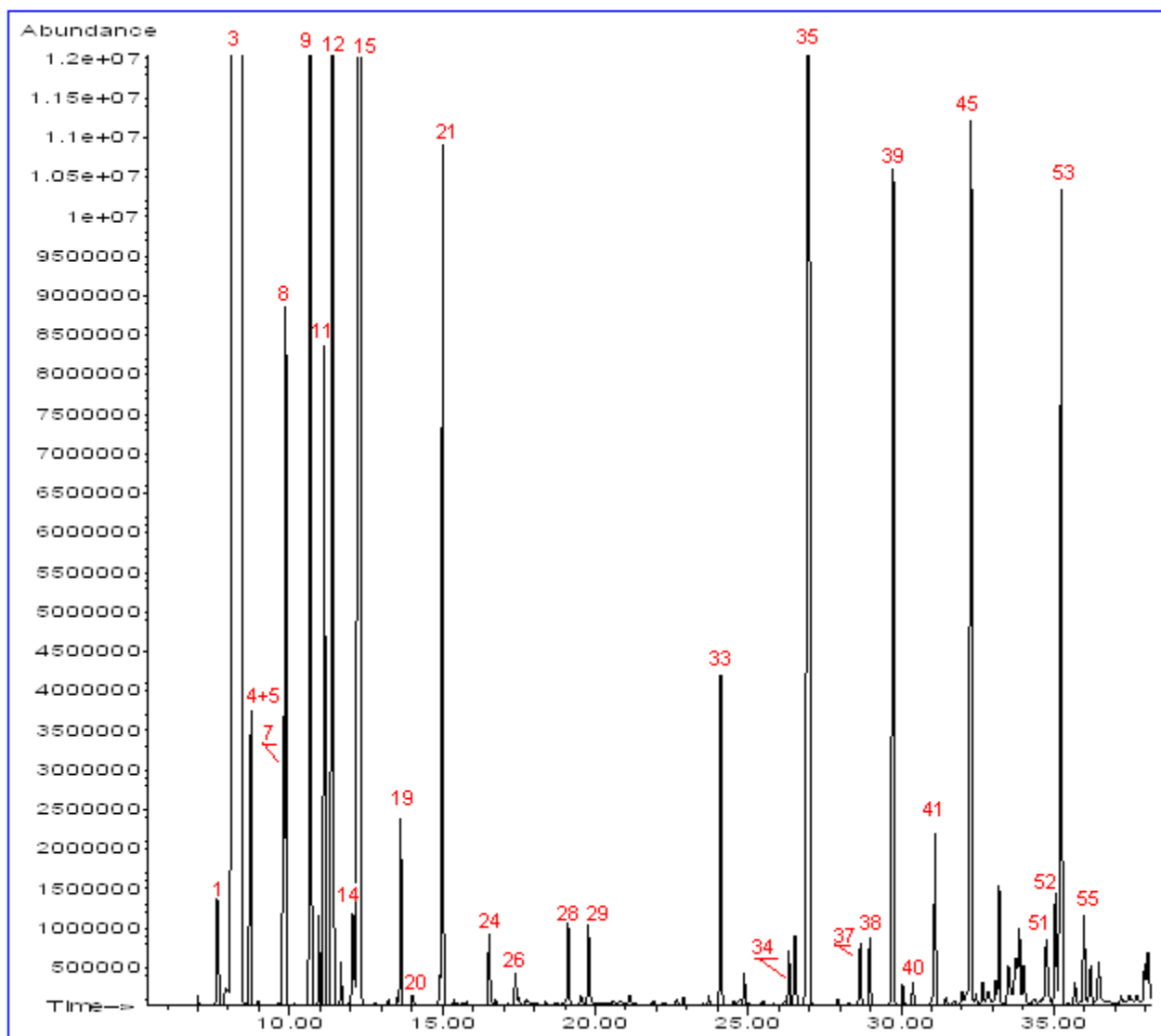


Figure 43 : Chromatogramme de l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* de la région Soummam (Algérie).

Le **tableau 14** regroupe les principaux composés chimiques des huiles essentielles des baies de *J. phoenicea* issu de différents pays et régions d'Algérie indique que toutes les HE des baies de *J. phoenicea* ont en commun l' α -pinène comme composant dominant avec une teneur \geq à 40 %. Les composés chimiques dont la teneur est \geq à 5 % sont toutefois présents de façon variable d'un échantillon à un autre. D'après la littérature, cette variation quantitative de la teneur en composés chimiques est due essentiellement à un grand nombre de paramètres, d'origine intrinsèque (génétique ; cycle végétal ; localisation plante entière, fleurs, racines ou graines ; maturité) ; extrinsèque (nature du sol, ensoleillement, température, pluviométrie, etc.), ou d'ordre technique (mode d'exploitation du matériel végétal). En effet, de profondes

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

modifications peuvent se produire lors de la récolte, du séchage et du stockage des plantes et/ou lors de l'extraction et du conditionnement des HE (Mamouni, 1994 ; Ait Chebi et Baha, 2005). Ces modifications auraient un effet beaucoup plus marqué sur la prépondérance des composants chimiques dits secondaires (présents en faibles teneurs) que sur celle des constituants principaux ou majeurs.

Tableau 14 : Principaux composés ($\geq 5\%$) des huiles essentielles des baies de *J. phoenicea* issu de différents pays et de différentes régions d'Algérie.

Régions	α -Pinene	δ -3-Carene	β -Phellandrene	Limonene	α -Terpinenyl acetate	Références
Soummam (Algérie)	43,1	6,5	7,8	-	6,0	Cette étude.
Italie	84,55	3,61	2,56	-	0,63	Angioni et al., (2003).
Egypte	39,3	1,25	4,13	-	3,36	El-Sawi et al., (2007).
Maroc	79,1	5,7	-	14,6	0,9	Mansouri et al., (2011).
Jordanie	84,2	0,4	-	0,6	0,1	Abu-Darwish et al., (2013).
Tunisie	63,4	10,0	0,9	-	1,7	Medini et al., (2011).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Bouharoune (Algérie)	71,0	3,2	4,1	-	-	Agoune et Yahiaoui (2015).
Ain Défla (Algérie)	40,3	20,1	4,1	-	2,7	Harhour et al., (2018).
Bouira (Algérie)	80,8	1,9	0,1	-	0,8	Menaceur et al., (2013).
Ain Sefra (Algérie)	56,6	0,9	0,7	0,9	0,6	Bouyahyaoui et al., (2016).

II.3. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum*

Nous remarquons d'après le **Tableau 15** indiquant la composition chimique (%) de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum floribundum*) que cette dernière est caractérisée par la prédominance du thymol (34 %), du carvacrol (8,6 %) et de leurs précurseurs biosynthétiques à savoir : le p-cymène (15,3 %) et le γ -terpinène (19,0 %).

Les résultats de la composition chimique de l'origan retenu pour cette étude est en majeure partie en accord avec ceux rapportés par **Kerbouche et al., (2015)** pour un échantillon de la même région (Lakhdaria, Algérie), à l'exception de certains composés mineurs identifiés à l'état de traces ou à de faibles teneurs. Le Chromatogramme (CG-SM) de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* est représenté dans la **figure 44**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 15 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum floribundum*).

N°	Composés	IR	%	Identification
1	3-Heptanone	886	t	IR, SM
2	α -Thujene	928	2.8	IR, SM
3	α -Pinene	937	1.9	IR, SM, Et.
4	Camphene	950	0.1	IR, SM, Et.
6	Sabinene	973	0.2	IR, SM, Et.
7	β -Pinene	978	0.4	IR, SM, Et.
8	1-Octen-3-ol	980	0.9	IR, SM
9	β -Myrcene	990	3.6	IR, SM, Et.
10	α -Phellandrene	1004	0.4	IR, SM, Et.
11	δ -3-Carene	1011	0.1	IR, SM, Et.
12	α -Terpinene	1017	4.9	IR, SM, Et.
13	p-Cymene	1025	15.3	IR, SM, Et.
14	Limonene	1029	0.1	IR, SM, Et.
15	β -Phellandrene	1030	0.7	IR, SM, Et.
16	1,8-Cineole	1032	0.1	IR, SM, Et.
17	cis- β -Ocimene	1038	0.2	IR, SM
18	trans- β -Ocimene	1048	0.1	IR, SM
19	γ-Terpinene	1060	19.0	IR, SM, Et.
20	cis-Sabinene hydrate	1067	0.6	IR, SM

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

21	1-Nonen –3-Ol	1085	t	IR, SM
22	Terpinolene	1087	0.1	IR, SM, Et.
23	p-Cymenyl	1088	t	IR, SM
24	trans-Sabinene hydrate	1098	0.1	IR, SM
25	Linalool	1099	1.6	IR, SM, Et.
26	Borneol	1166	0.1	IR, SM, Et.
27	4-Terpineol	1177	0.2	IR, SM, Et.
28	α -Terpineol	1190	0.1	IR, SM, Et.
29	Thymol methyl ether	1235	t	IR, SM
30	Carvacrol methyl ether	1243	0.2	IR, SM
31	Thymoquinone	1257	t	IR, SM
32	Thymol	1292	34.0	IR, SM, Et.
33	Carvacrol	1300	8.6	IR, SM, Et.
34	α -Gurjunene	1409	0.1	IR, SM
35	β -Caryophyllene	1420	0.6	IR, SM
36	α -Humulene	1453	t	IR, SM
37	Alloaromadendrene	1460	t	IR, SM
38	Germacrene D	1481	0.1	IR, SM
39	Bicyclogermacrene	1495	0.1	IR, SM
40	β -Bisabolene	1508	t	IR, SM
41	γ -Cadinene	1513	t	IR, SM
42	δ -Cadinene	1523	t	IR, SM

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

43	Spathulenol	1576	0.1	IR, SM
44	Caryophyllene oxide	1581	0.3	IR, SM
Total (%)			97.7	
Monoterpènes			49.9	
Monoterpènes oxygénés			45.5	
Sesquiterpènes			0.9	
Sesquiterpènes oxygénés			0.4	
Autres			1.0	
Rendement (%)		3.2		

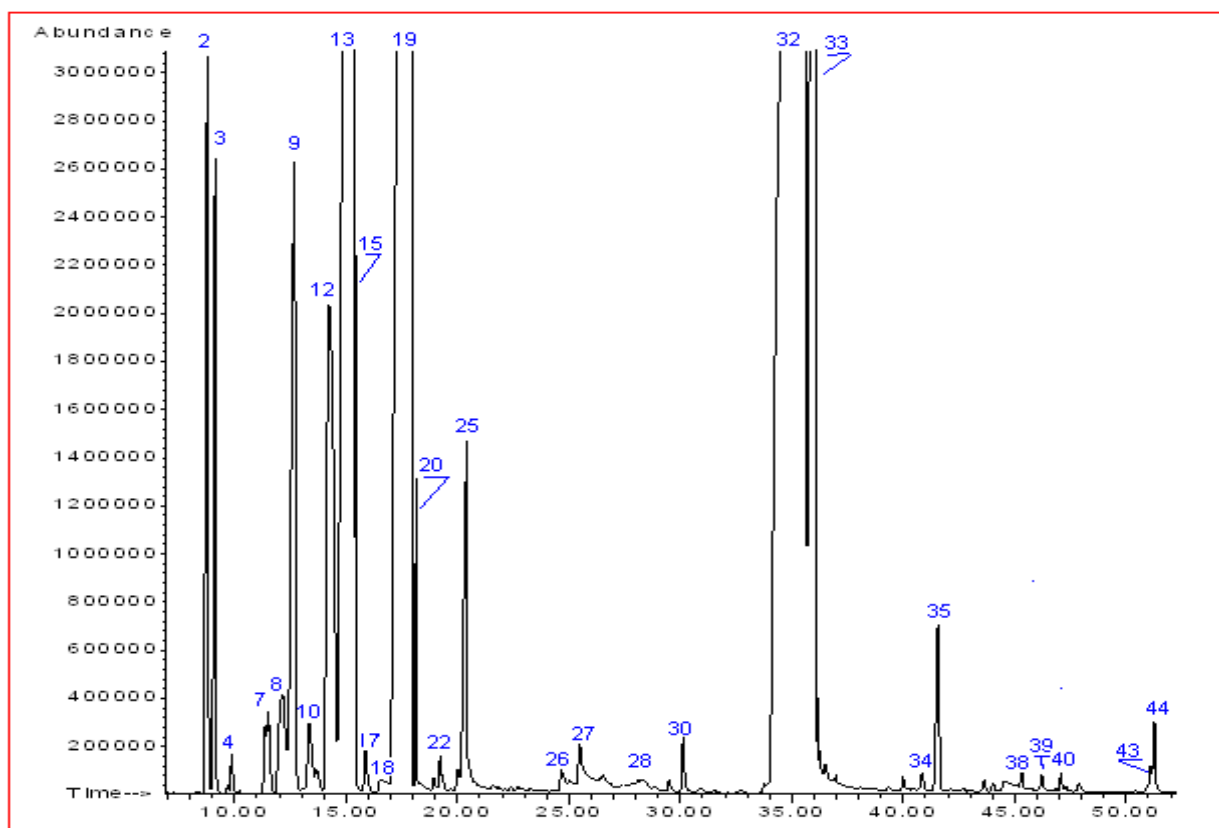


Figure 44 : Chromatogramme (CG-SM) de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum*.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

II.4. Effet de l'addition de thymol sur les activités biologiques de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

II.4.1. Effet de l'addition de thymol sur l'activité antioxydante

II.4.1.1. Effet de l'addition de thymol sur l'activité d'inhibition du radical DPPH

Les résultats de l'activité d'inhibition du radical DPPH par les huiles essentielles des baies du genévrier rouge (HE seule et HE additionnées de thymol) comparés à ceux du thymol et à ceux de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* sont reportés dans le **tableau 16** et la **figure 45**.

Tableau 16 : Activité d'inhibition du radical DPPH (%) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles pures des baies de genévrier rouge et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30, et 50 %).

Concentrations (mg/L)	HE pure du genévrier	HE du genévrier + 10% de thymol	HE du genévrier + 30% de thymol	HE du genévrier + 50% de thymol	Thymol	HE Origan
100	4,0 ± 0,2 ^f	13,1 ± 2,1 ^e	19,2 ± 1,5 ^d	38,1 ± 1,7 ^b	71,9 ± 1,3 ^a	34,8 ± 0,6 ^c
200	ND	15,6 ± 0,9 ^e	28,1 ± 1,6 ^d	50,1 ± 1,9 ^b	80,2 ± 1,0 ^a	46,1 ± 0,5 ^c
400	ND	24,1 ± 0,9 ^d	44,6 ± 1,4 ^c	65,2 ± 0,6 ^b	89,2 ± 0,4 ^a	63,5 ± 1,1 ^b
600	8,0 ± 0,4 ^d	32,3 ± 0,2 ^c	53,1 ± 0,8 ^b	74,4 ± 0,2 ^a	ND	75,7 ± 0,2 ^a
800	ND	36,5 ± 1,2 ^d	65,1 ± 0,9 ^c	80,1 ± 0,9 ^b	ND	90,4 ± 0,1 ^a
1000	3,8 ± 0,3 ^e	44,3 ± 2,1 ^d	67,5 ± 1,8 ^c	85,2 ± 1,1 ^b	ND	91,4 ± 0,2 ^a
1500	4,3 ± 0,4	ND	ND	ND	ND	ND
2000	5,0 ± 0,8	ND	ND	ND	ND	ND

Les valeurs d'une même ligne suivies par des lettres différentes sont significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Comme on s’y attendait, au vue de l’absence de composés phénoliques dans la composition chimique de l’huile essentielle pure de *J. phoenicea*, cette dernière a montré une très faible activité antioxydante et qui n’a guère dépassé les 8 % pour une concentration de 600 mg/L.

Les résultats obtenus dans notre étude sont comparables à ceux rapportés par **Menaceur et al., (2013)**, où le maximum d’activité antioxydante de l’huile essentielle de *J. phoenicea* était égal à 6,35 % pour une concentration de 1000 mg/L.

Dans notre cas, dès que nous avons constaté que l’huile essentielle pure de *J. phoenicea* était très faiblement active, nous avons fait le choix de la tester à des concentrations beaucoup plus élevées (atteignant les 2000 mg/L) afin d’être sûrs que l’activité antioxydante de celle-ci ne continuerait pas à croître avec l’augmentation des concentrations. Cela nous a aussi permis de définir son maximum d’efficacité.

Nous avons ainsi noté que dès que l’on dépassé la dose de 600 mg/L, l’huile essentielle pure des baies de *J. phoenicea* commençait à montrer une baisse d’activité. Ce phénomène indique que la concentration de 600 mg/L (enregistrant une activité de 8 %) représente la limite maximale de concentration à utiliser fournissant le summum de sa puissance antioxydante. Si l’on dépasse ce maximum de concentration, l’activité antioxydante de l’HE pure des baies de *J. phoenicea* reste stable ou diminue. Ce phénomène est très souvent observé pour les huiles essentielles et les extraits non volatils, qu’ils soient peu ou très actifs (**Sahraoui et al., 2017 ; Kerbouche et al., 2015 ; Hazzit et al., 2009 ; Miguel et al., 2004**).

Testé à l’état pur et avec des concentrations de 100, de 200 et de 400 mg/L, le thymol a exhibé une puissante activité d’inhibition du radical DPPH. Il faut noter que celle-ci a quand même débuté avec une forte activité (71,9 %) pour atteindre environ 90 % pour une concentration de 400 mg/L. Les huiles essentielles des baies du genévrier rouge supplémentées ou additionnées avec du thymol (10, 30 et 50 %) ont enregistré quant à elles des activités croissantes pour l’ensemble des concentrations en fonction de l’accroissement des teneurs de thymol ajouté. Ces activités sont très importantes en comparaison avec celles enregistrées par l’HE pure, particulièrement pour les concentrations élevées. A titre d’exemple, pour une concentration de 1000 mg/L, l’activité de l’HE des baies de *J. phoenicea* additionnée de 50 % de thymol a atteint une activité de 85,2 % alors que celle-ci n’était que de 3,8 % pour l’HE pure. Néanmoins, pour une même concentration, aucune HE des baies de *J. phoenicea* additionnée de thymol n’a pu atteindre l’efficacité du thymol seul.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

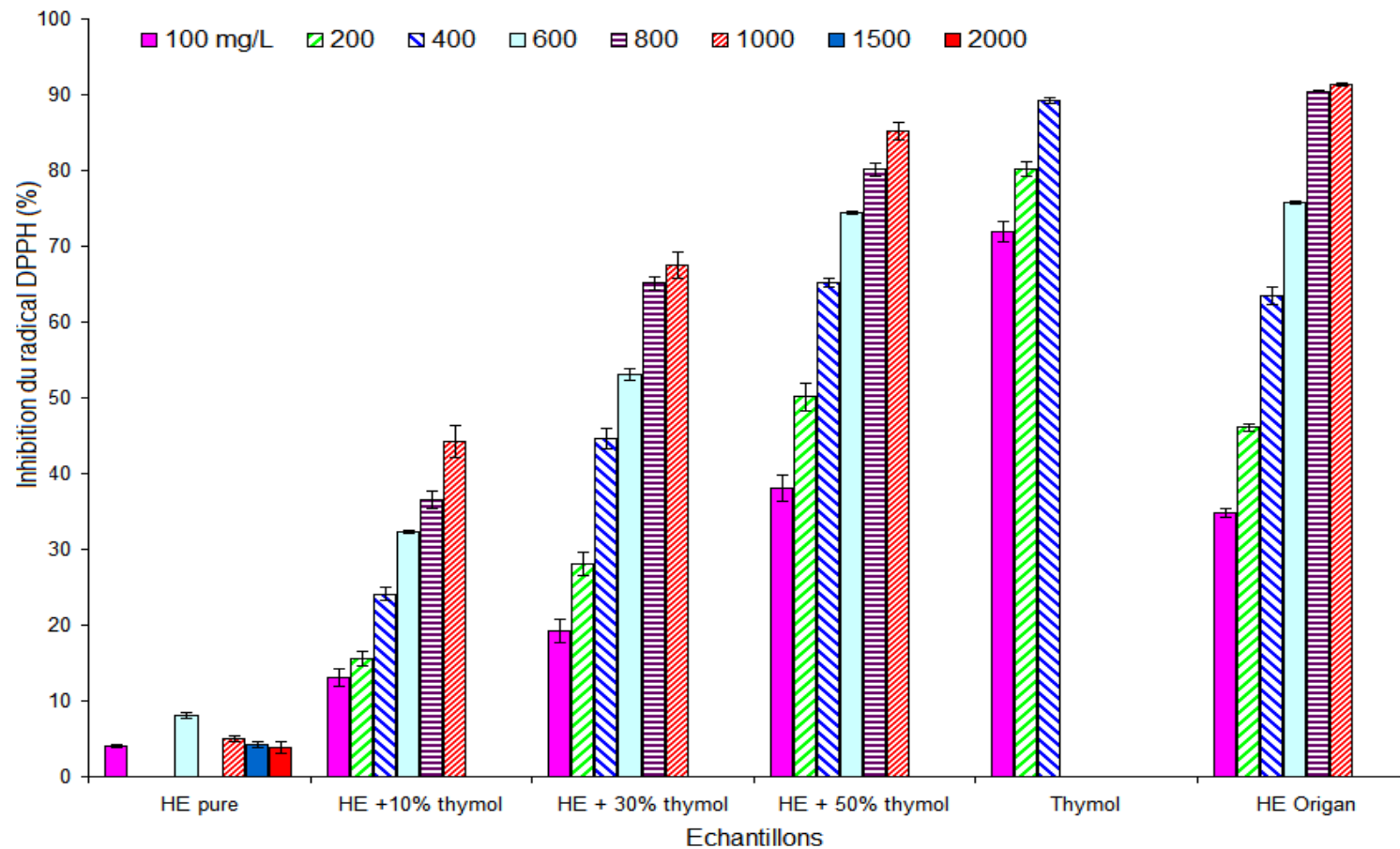


Figure 45 : Activité d'inhibition du radical DPPH (%) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles pures des baies du genévrier rouge et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Nous notons enfin d'après la **figure 45** que l'huile essentielle de l'origan enregistre pour l'ensemble des concentrations une capacité d'inhibition du radical DPPH plus élevée que celle de l'HE pure des baies de genévrier. Toutefois, pour les concentrations allant de 100 à 400 mg/L c'est l'HE des baies de genévrier rouge additionnée de 50 % de thymol qui enregistre d'importantes activités antioxydantes et qui sont plus ou moins similaires à celles de l'HE de l'origan.

L'HE de l'origan reste néanmoins beaucoup plus efficace que celles des HE des baies de genévrier additionnées de 50 % de thymol pour les concentrations dépassant les 600 mg/L. L'activité antioxydante de l'HE de l'origan n'est pas seulement due à sa seule teneur en thymol mais elle est le résultat de l'effet synergique des autres composants chimiques présents dans cette huile, tels que le carvacrol, le p-cymène, et le γ -terpinène.

Conclusion

L'addition de thymol à l'HE des baies de genévrier rouge a eu un effet positif sur la capacité de cette HE à inhiber le radical DPPH. Les combinaisons (HE du genévrier rouge additionnée à des teneurs de 10, 30 et de 50 % de thymol) ont montré un comportement parfaitement synergique. En effet, faiblement active à l'état pur, celle-ci a pu grâce à cet enrichissement :

- ✓ Atteindre une activité de l'ordre de 85,2 % (pour l'échantillon additionné de 50 % de thymol) alors qu'elle n'avait enregistré qu'une activité antioxydante de 3,8 % à l'état pur et pour une concentration de 1000 mg/L ;
- ✓ Et enregistrer des activités équivalentes à celles de l'origan pour des concentrations allant de 100 à 400 mg/L.

Néanmoins, aucune HE seules des baies de *J. phoenicea* ou additionnées de thymol n'a pu atteindre l'efficacité du thymol seul.

II.4.1.2. Effet de l'addition de thymol sur l'activité d'inhibition du radical positif ABTS⁺

L'observation des différences entre les activités antioxydantes évaluées en utilisant le test de piégeage du radical ABTS⁺ par les différentes huiles essentielles étudiées du genévrier rouge (additionnées de 10, de 30 et de 50 % de thymol) comparées à celle du thymol sont illustrées à l'aide d'histogrammes représentés dans la **figure 46**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

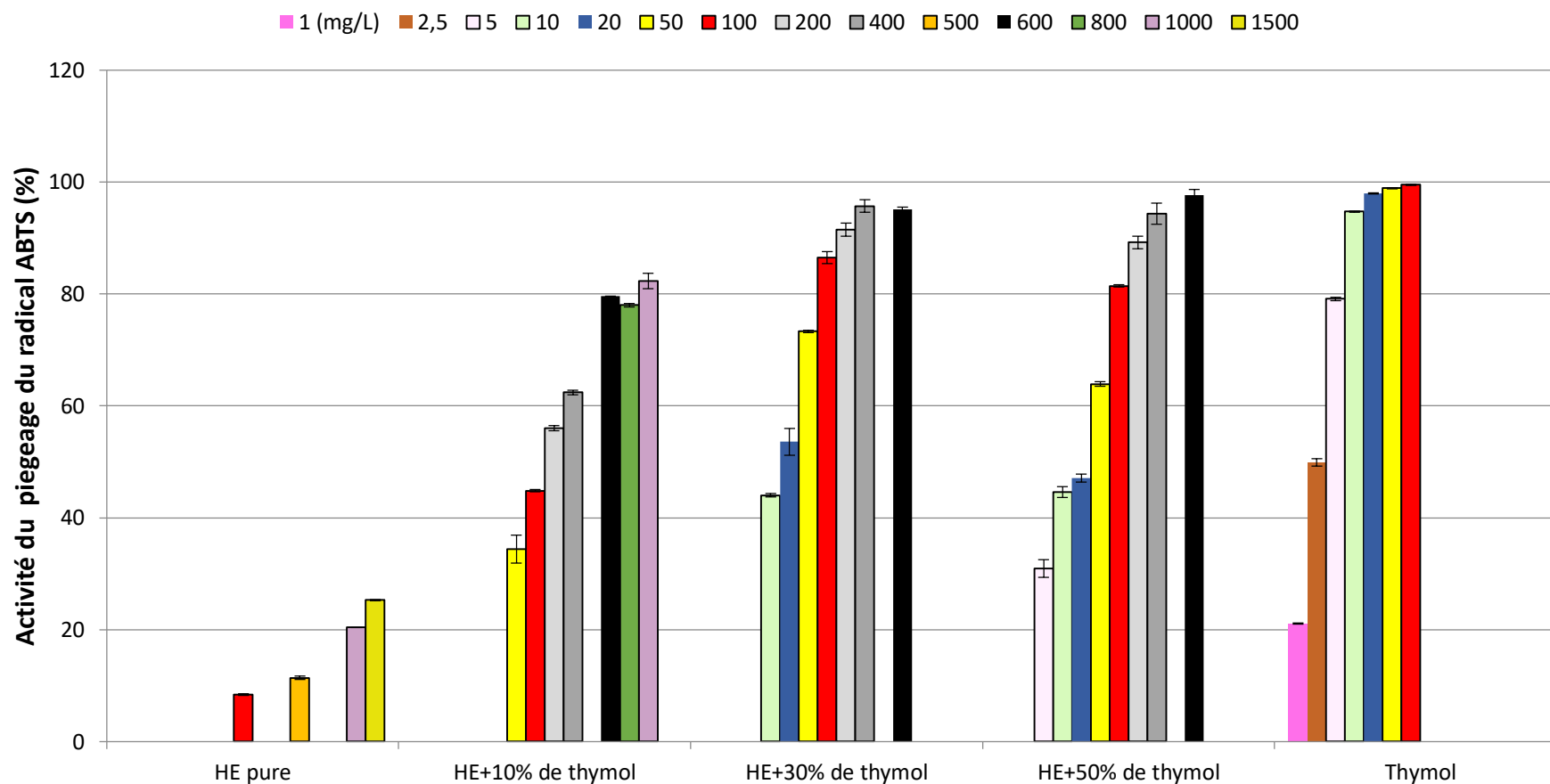


Figure 46 : Activité d'inhibition du radical positif ABTS^{•+} du thymol et des huiles essentielles des baies du genévrier rouge pure et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Nous observons clairement d'après la **figure 46** que l'effet de la supplémentation en thymol sur l'activité d'inhibition du radical ABTS^{•+} par l'HE du genévrier rouge est positif, où les trois échantillons additionnés respectivement de 10, 30 et de 50 % de thymol enregistrent des activités de piégeage beaucoup plus élevées que celles enregistrées par l'HE pure (non supplémentée). Cette dernière n'a commencé à être active qu'à partir des concentrations de 100 mg/L et n'a enregistré pour la plus importante concentration (1500 mg/L) que 25,3 % d'activité de piégeage du radical ABTS^{•+}, alors que celle additionnée de 50 % de thymol s'est révélée être active même à une concentration de 5 mg/L et a même pu atteindre un maximum de 97,6 % d'inhibition pour une concentration de 600 mg/L.

L'addition de 10 % de thymol lui a permis à l'HE pure du genévrier rouge d'être 5 fois plus active pour une concentration de 100 mg/L. Alors que l'addition de 50 % de thymol lui a permis de passer d'un pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{•+} quasiment nul pour les faibles concentrations à une activité de 30,9 % pour une concentration de 5 mg/L. Pour une concentration de 100 mg/L, l'HE de *J. phoenicea* enrichie avec une teneur de 50 % de thymol est 9 fois plus active que celle qui est pure. Nous notons par ailleurs que plus nous avons augmenté la teneur de thymol additionné plus l'HE de *J. phoenicea* s'est montrée active.

Conclusion

Nous pouvons dire ainsi qu'il y'a eu une synergie combinée entre les composants de l'HE pure et le thymol et qui a induit une nette augmentation de l'activité antioxydante de l'HE de *J. phoenicea*, mais que le thymol seul s'est quand même montré plus actif que l'ensemble des échantillons pour l'ensemble des concentrations.

II.4.1.3. Effet de l'addition de thymol sur l'inhibition de la peroxydation lipidique

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante (%) des différentes huiles essentielles du genévrier rouge additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %) comparés à ceux des HE du genévrier rouge pure et à ceux de l'huile essentielle de l'origan en utilisant le test des substances réactives à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont illustrés dans la **figure 47**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

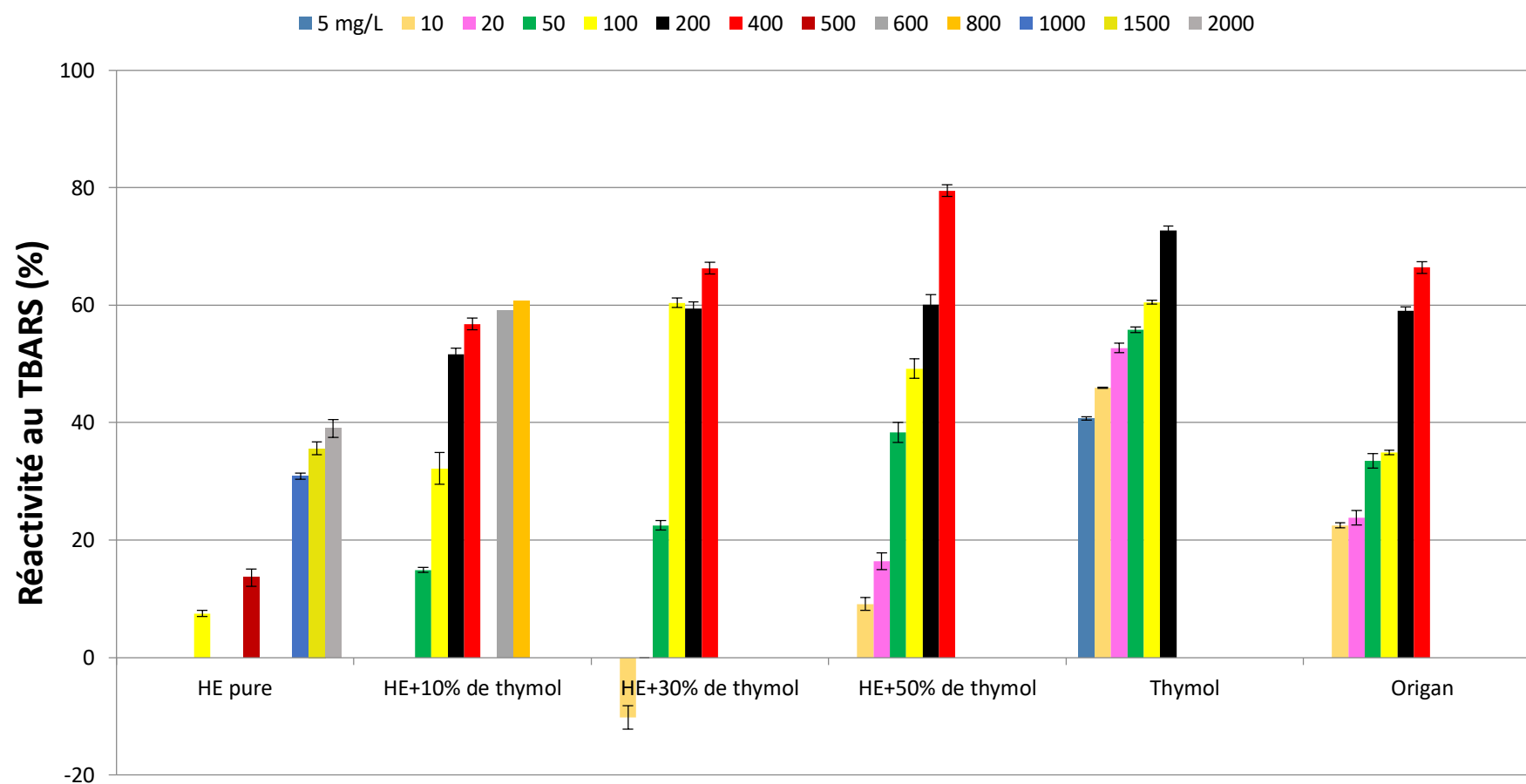


Figure 47 : Inhibition de la peroxydation lipidique évaluée par le test TBARS du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles des baies du genévrier rouge pure et additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Nous remarquons d'après la **figure 47** que l'effet de la supplémentation en thymol sur la réactivité au TBARS (%) des différents échantillons d'HE des baies du genévrier rouge enrichie est positif, cette tendance a également été observée dans le cas du test précédant. En effet alors que l'HE pure des baies du genévrier rouge n'était pas du tout active pour des concentrations allant de 5 à 50 mg/L, l'addition de 10, de 30 et de 50 % de thymol lui a permis d'enregistrer une réactivité au radical TBARS de 14,9 % pour une concentration de 50 mg/L. L'addition de 10 % de thymol lui a permis d'être 4 fois plus active pour une concentration de 100 mg/L. Alors que l'addition de 50 % de thymol lui a permis d'être 6 fois et demi plus active que l'HE pure pour une même concentration.

Il est de plus remarquable d'observer que les trois échantillons d'HE du genévrier rouge enrichis avec 10, 30 et 50 % en thymol ont enregistré pour une concentration de 400 mg/L d'excellentes réactivités au TBARS atteignant respectivement 56,8, 66,3 et 79,5 %, alors que l'HE pure n'a pu atteindre que 13,6 % à 500 mg/L, et un maximum de 39 % à une concentration de 2000 mg/L.

L'HE de l'origan a pour sa part enregistré une réactivité au TBARS (%) plus forte que celle des échantillons d'HE des baies de genévrier rouge pures et supplémentées avec 10 et 30 % de thymol. Nous remarquerons toutefois que l'échantillon d'HE supplémenté avec une teneur de 50 % de thymol s'est montré plus efficace que l'HE de l'origan pour des concentrations de 50, de 100, de 200 et de 400 mg/L.

Conclusion

Nous concluons enfin que malgré un effet clairement positif de la supplémentation des HE des baies de *J. phoenicea* avec du thymol sur sa réactivité au TBARS, le thymol à lui seul enregistre la meilleure efficacité. Une synergie positive et combinée entre les différents composés chimiques de l'HE du genévrier rouge et le thymol additionné a permis en effet une nette amélioration de la réactivité de cette huile au TBARS mais elle n'a pas dépassée celle du thymol seul.

II.4.1.4. Effet de l'addition de thymol sur le pouvoir réducteur

Cette partie du travail s'intéressera à la comparaison de la capacité réductrice du fer ferrique en fer ferreux des HE des baies de *J. phoenicea* seules (à l'état pur) ou additionnées de thymol avec celles du thymol et de l'huile essentielle de l'origan.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Les résultats du pouvoir réducteur du thymol, de l'HE de l'origan (*Origanum floribundum*), de l'HE seule des baies de *J. phoenicea* et de celles additionnées avec des teneurs de 10, de 30 et de 50 % de thymol exprimés en absorbance à 700 nm, sont résumés dans le **tableau 17** et la **figure 48**.

Tableau 17 : Résultats du test du pouvoir réducteur (exprimé en absorbance à 700 nm) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et des huiles essentielles pures du genévrier rouge et de celles additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %).

Concentrations (mg/L)	Absorbances à 700 nm					
	HE pure du genévrier	HE de genévrier +10% de thymol	HE de genévrier +30% de thymol	HE de genévrier +50% de thymol	Thymol	HE Origan
100	0,09 ± 0,01 ^d	0,08 ± 0,00 ^d	0,21 ± 0,01 ^c	0,23 ± 0,01 ^b	0,42 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^e
200	ND	0,19 ± 0,01 ^e	0,34 ± 0,01 ^c	0,46 ± 0,02 ^b	0,76 ± 0,01 ^a	0,23 ± 0,07 ^d
400	ND	0,41 ± 0,02 ^d	0,77 ± 0,01 ^b	0,78 ± 0,01 ^b	1,02 ± 0,02 ^a	0,66 ± 0,06 ^c
600	0,14 ± 0,01 ^f	0,55 ± 0,03 ^e	0,94 ± 0,01 ^d	1,08 ± 0,01 ^b	1,45 ± 0,01 ^a	1,05 ± 0,06 ^c
800	ND	0,67 ± 0,02 ^e	1,23 ± 0,03 ^c	1,14 ± 0,01 ^d	1,75 ± 0,01 ^a	1,28 ± 0,03 ^b
1000	0,12 ± 0,01 ^f	0,69 ± 0,02 ^e	1,33 ± 0,02 ^b	1,28 ± 0,01 ^d	1,98 ± 0,01 ^a	1,31 ± 0,09 ^c
1500	0,10 ± 0,01	ND	ND	ND	ND	ND
2000	0,09 ± 0,01	ND	ND	ND	ND	ND

Les valeurs d'une même ligne suivies par des lettres différentes sont significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

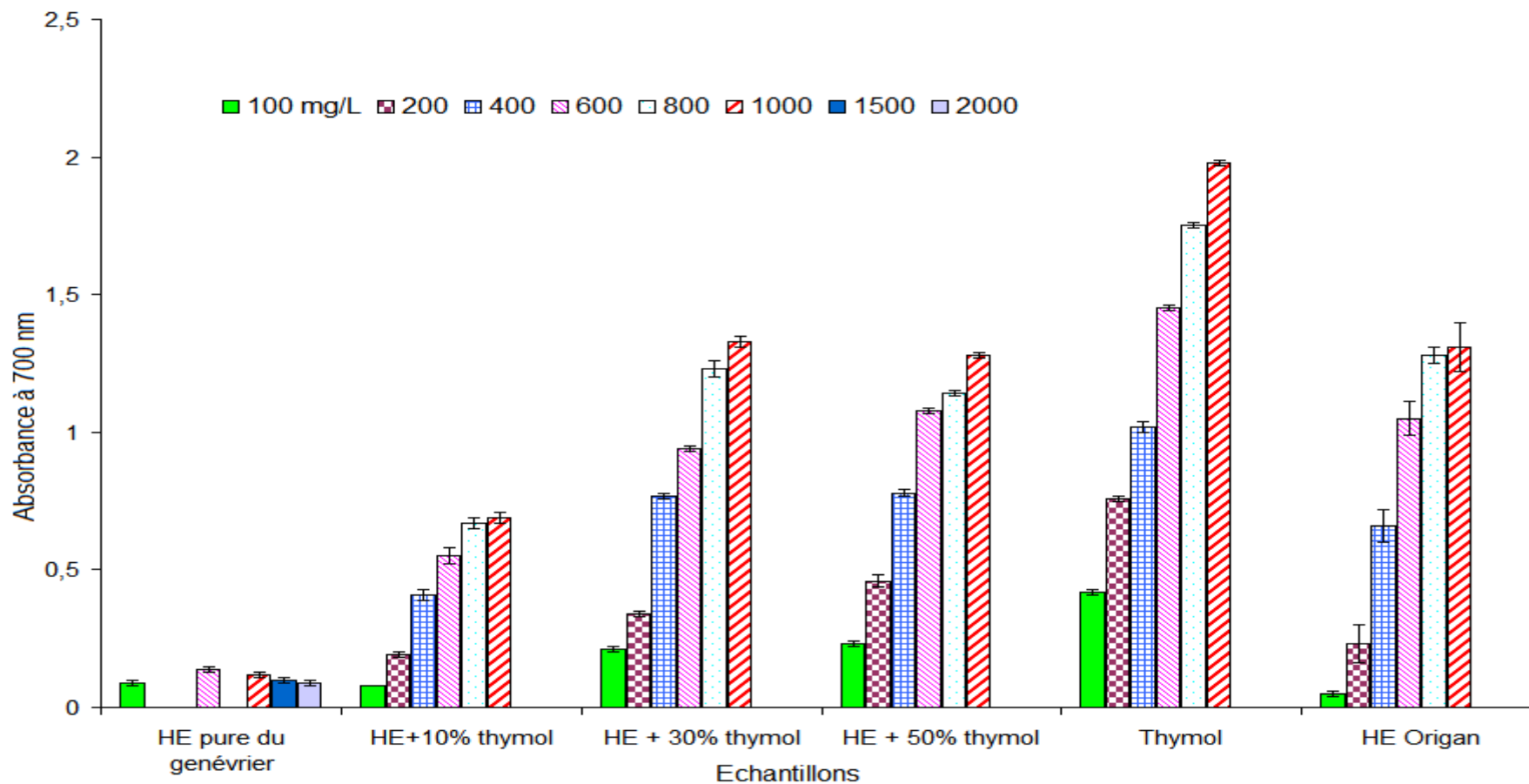


Figure 48 : Pouvoir réducteur (exprimé en absorbance à 700 nm) du thymol, de l'huile essentielle de l'origan, des huiles essentielles pures du genévrier rouge et de celles additionnées de thymol à différentes teneurs (10, 30, et 50 %).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

A première vue, nous pouvons observer d'après la **figure 48**, que plus les concentrations augmentent plus le pouvoir réducteur de l'ensemble des échantillons augmente, sauf dans le cas du pouvoir réducteur de l'HE pure de *J. phoenicea* qui connaît un maximum d'efficacité à une concentration de 1000 mg/L.

Il est de plus clair que c'est le thymol seul qui enregistre le meilleur pouvoir réducteur, cela est essentiellement dû à ses fonctions énols. Selon **Pin-Der-Duh (1998)**, les groupements réductones sont connus pour être des terminators vis-à-vis des réactions en chaînes des radicaux libres. Ces composés 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**).

La **figure 48** indique aussi que l'HE pure des baies de genévrier rouge enregistre des valeurs significativement faibles par rapport aux HE auxquelles nous avons additionné du thymol à différentes teneurs (10, 30 et 50 %). Nous nous attendions par ailleurs à ce que l'échantillon de l'HE pure du genévrier enregistre un très faible pouvoir réducteur par rapport à ceux du thymol et de l'HE d'origan, du moment où cette huile ne contient pas de composés phénoliques auxquels tous les auteurs s'accordent à leur attribuer une très forte contribution à l'activité antioxydante. Elle est ainsi connue dans la littérature pour être très faiblement active alors que le thymol est connu pour son efficacité antioxydante. Nous déduisons ainsi que l'ajout de thymol a eu un effet clairement positif quant à l'amélioration du pouvoir réducteur de l'HE pure des baies de *J. phoenicea*.

Lorsqu'on nous avons comparé les pouvoirs réducteurs des trois HE des baies de genévrier rouge additionnées avec des teneurs respectives de 10, de 30 et de 50 % de thymol, nous avons remarqué que c'est l'échantillon auquel nous avons additionné 10 % de thymol qui a présenté le plus faible pouvoir réducteur.

Concernant les échantillons d'HE de *J. phoenicea* supplémentées avec des teneurs de 30 et de 50 % de thymol, nous constatons d'après le **tableau 17** et la **figure 48** que pour des concentrations de 100 et de 400 mg/L, le pouvoir réducteur de ces deux échantillons est pratiquement équivalent. Alors que pour les concentrations de 200 et de 600 mg/L, c'est nettement l'échantillon additionné de 50 % de thymol qui enregistre le meilleur pouvoir réducteur. Ce constat s'inverse lorsqu'il s'agit des concentrations de 800 et de 1000 mg/L où

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

nous observons clairement que c'est l'échantillon d'HE supplémenté avec 30 % de thymol qui enregistre le pouvoir réducteur le plus efficace.

Pour les concentrations de 100, 200, 400, c'est l'HE additionnée de 50 % de thymol qui s'est révélée être plus efficace que celle de l'origan, elle est suivie respectivement par celles auxquelles nous avons additionné 30 % de thymol. Quant à la concentration de 600 mg/L, nous pouvons dire que les pouvoirs réducteurs de l'HE additionné de 50 % de thymol et de l'origan sont pratiquement équivalents, alors que le pouvoir réducteur enregistré par l'HE additionnée de 30 % de thymol reste plus faible que celui de l'origan. La tendance s'inverse pour les concentrations de 800 et de 1000 mg/L où il est nettement visible sur le **tableau 17** et la **figure 48** que c'est l'HE de l'origan qui enregistre le meilleur pouvoir réducteur. Nous déduisons ainsi que l'ajout de thymol a eu un effet significativement bénéfique jusqu'à une concentration de 600 mg/L.

Conclusion

Nous pouvons conclure suivant les résultats obtenus dans cette partie que l'addition de thymol à des teneurs de 10, de 30 et de 50 % a eu un effet bénéfique quant à l'amélioration du pouvoir réducteur de l'HE de *J. phoenicea*. Nous n'avons par ailleurs pas retrouvé de publication de travaux de recherche portant sur l'évaluation de l'effet de la supplémentation du thymol sur l'activité antioxydante des HE des baies du genévrier rouge pour pouvoir comparer nos résultats. Nous pouvons ainsi uniquement dire que c'est en effet le thymol seul qui a enregistré le meilleur pouvoir réducteur et que c'est l'HE additionnée de 50 % de thymol qui s'est révélée être la plus efficace pour les concentrations de 100, de 200, et de 400 mg/L. Alors que c'est celle supplémentée avec 30 % de thymol qui a enregistré le meilleur pouvoir réducteur pour les concentrations les plus élevées (de 800 et de 1000 mg/L).

II.4.1.5. Effet de l'addition de thymol sur l'activité antioxydante exprimée en IC₅₀

Dans le but de mieux observer l'effet de l'addition du thymol sur l'activité antioxydante de l'HE de *Juniperus phoenicea*, nous avons fait le choix de calculer les IC₅₀ (exprimées en mg/L) requises pour réduire la concentration préliminaire à 50 %. Les IC₅₀ obtenues lors des différents tests pour les échantillons d'huile essentielle de *J. phoenicea* (pure et supplémentée) comparées à celles du thymol seul et à celles de l'HE d'origan sont regroupées dans le **tableau 18** et la **figure 49**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 18 : Activité antioxydante exprimée en IC₅₀ (mg/L) des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* pure et supplémentées avec 10, 30 et 50 % de thymol comparée à celle du thymol et de l'huile essentielle de l'origan.

	IC ₅₀ (mg/L)			
	DPPH	Pouvoir réducteur	ABTS	TBARS
HE de <i>J. phoenicea</i> pure	Na	Na	Na	Na
HE de <i>J. phoenicea</i> +10% de thymol	1158,10 ± 56,43 ^d	544,89 ± 25,01 ^d	178,31 ± 1,61 ^b	200,00 ± 0,00 ^b
HE de <i>J. phoenicea</i>+30 % de thymol	566,63 ± 7,14 ^c	274,22 ± 1,31 ^{bc}	18,68 ± 0,86 ^a	168,27 ± 3,58 ^b
HE de <i>J. phoenicea</i>+50 % de thymol	201,96 ± 7,59 ^a	258,11 ± 4,37 ^b	21,21 ± 0,32 ^a	101,58 ± 3,57 ^{ab}
Thymol	476,08 ± 2,57 ^b	132,04 ± 1,16 ^a	2,50 ± 0,04 ^a	18,96 ± 0,30 ^a
HE Origan	217,14 ± 2,47 ^a	306,03 ± 29,13 ^c	34,00 ± 1,02 ^a	143,25 ± 1,85 ^b

Na : non active. Les valeurs d'une même ligne suivies par des lettres différentes sont significativement différentes selon le test de Tukey (p < 0,05).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

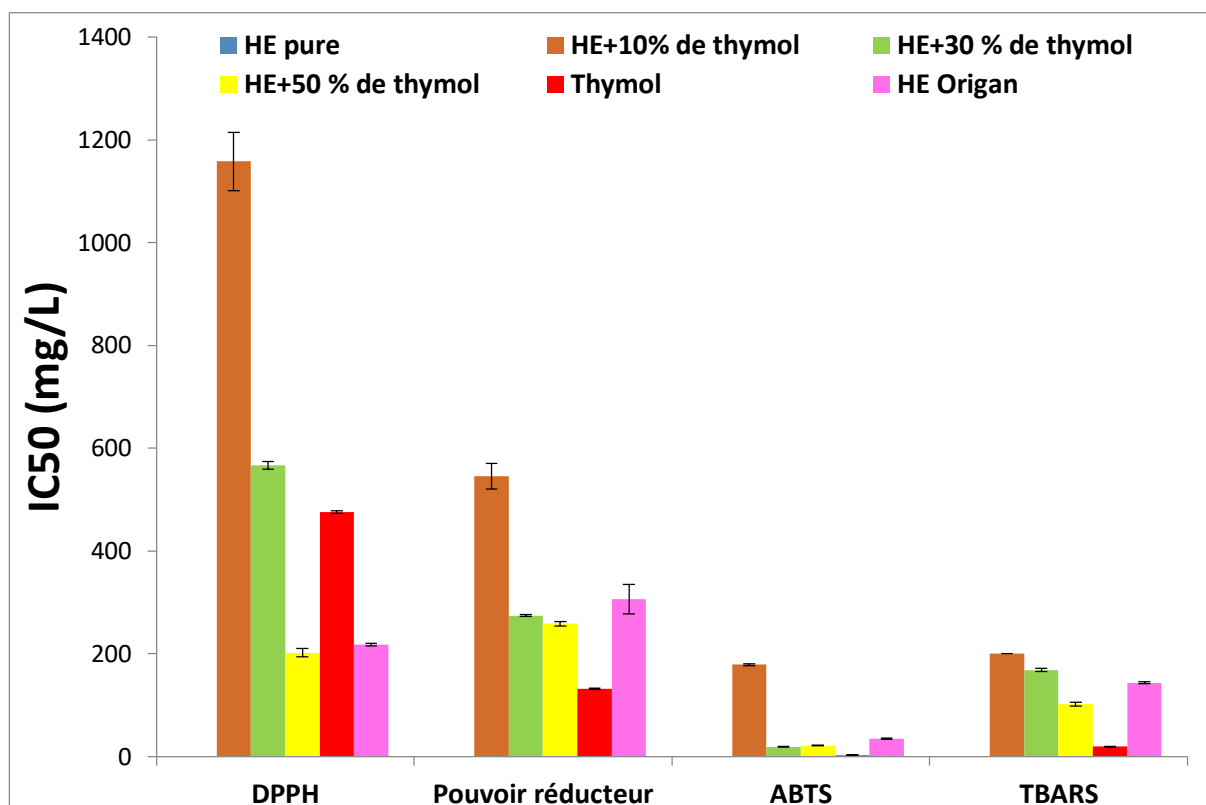


Figure 49 : Activité antioxydante exprimée en IC_{50} (mg/L) des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* supplémentées avec 10, 30 et 50 % de thymol comparée à celle du thymol, de l'huile essentielle de l'origan et de celle de *J. phoenicea* pure.

Nous remarquons d'après le **tableau 18** et la **figure 49** que l'effet de la supplémentation sur l'activité antioxydante de l'HE des baies de *J. phoenicea* est fortement appréciable du moment où celle à l'état pure est très faiblement active et qu'elle n'est même pas arrivée à enregistrer une concentration capable d'inhiber 50 % des radicaux libres.

Nous notons par ailleurs que l'effet de la supplémentation varie d'un test à l'autre. Le thymol seul a enregistré la meilleure IC_{50} pour l'ensemble des tests sauf dans le cas du test d'inhibition du radical DPPH où nous remarquons d'après le **tableau 18** et la **figure 49** que c'est l'échantillon d'HE de *J. phoenicea* qui a été supplémenté avec une teneur de 50 % qui s'est révélée être le plus actif enregistrant une IC_{50} de 201,96 mg/L contre 476,08 mg/L pour le thymol). Nous pouvons dire dans ce cas-là, que la combinaison HE+50% de thymol est 2 fois plus active que le thymol seul.

L'ajout d'une teneur de 50 % à l'HE pure du genévrier rouge lui a permis par ailleurs d'enregistrer une IC_{50} pour l'ensemble des tests (DPPH, ABTS, TBARS et pouvoir réducteur)

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

plus efficace que celle de l'HE de l'origan, alors que celle-ci est reconnue pour son efficacité antioxydante, qui en règle générale dépasse de loin celle enregistrée par l'HE pure du genévrier rouge. Ce phénomène est aussi observable dans le cas des tests de l'ABTS et du pouvoir réducteur où l'addition de 30 % de thymol a permis à l'HE des baies du genévrier rouge d'enregistrer des IC50 plus faibles et donc plus efficaces que celles de l'origan.

Conclusion

L'effet de l'addition de différentes teneurs de thymol (10, 30 et 50 %) sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle des baies de *Juniperus phoenicea* a montré une synergie positive se traduisant par une nette augmentation significative de l'activité antioxydante de cette dernière. Il a été en effet constaté d'après les différents tests réalisés (DPPH, pouvoir réducteur, ABTS, TBARS) que l'activité antioxydante de l'HE de *J. phoenicea* augmente de manière synergique par l'action du thymol, et que plus la teneur additionnée augmentait plus l'activité antioxydante synergique augmentait. Le thymol seul a toutefois enregistré pour l'ensemble des tests une activité antioxydante plus élevée par rapport à l'ensemble des échantillons. Un cas particulier a été toutefois noté dans le cas du test du pouvoir réducteur où c'est la combinaison HE+30 % de thymol qui a enregistré le meilleur pouvoir réducteur pour les concentrations les plus élevées (de 800 et de 1000 mg/L). Nous pouvons ainsi déduire que l'activité antioxydante synergique dépend du type d'antioxydant utilisé pour la supplémentation et de sa structure, de sa teneur, de son temps d'action et du type de test effectué. Cela a été confirmé par les travaux de **Katalinic (2015)**, de **Kurin et al., (2012)** et de **Firuzi et al., (2005)**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

II.4.2. Évaluation de l'effet de l'addition de thymol sur l'activité antimicrobienne de l'HE de *J. phoenicea*

II.4.2.1. Étude qualitative

Dans cette partie de notre étude, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à la mise en évidence de la présence ou non d'une activité antimicrobienne de l'HE pure des baies de *J. phoenicea*.

Nous avons dans un second temps évalué l'effet de l'addition de 30 % de thymol sur l'activité antimicrobienne de l'HE des baies de *J. phoenicea*. L'échantillon d'HE auquel nous avons ajouté 30 % de thym nous a semblé être le plus intéressant à étudier car les résultats obtenus lors des différents tests permettant l'évaluation de l'activité antioxydante ont révélé qu'il présentait une activité intermédiaire (ni trop basse, ni trop élevée) par rapport aux autres échantillons permettant ainsi une meilleure évaluation de l'effet de cette addition ou appelée aussi supplémentation (de thymol) sur l'activité antimicrobienne de l'HE des baies de *J. phoenicea*.

Nous avons enfin comparé les résultats des différents échantillons étudiés (HE pure des baies du genévrier rouge et HE du même genévrier additionné de 30 % de thymol) à l'activité antimicrobienne du thymol (seul) et de l'HE de l'origan (*Origanum floribundum*).

Comme indiqué et détaillé dans le chapitre matériels et méthodes, l'activité antimicrobienne de l'ensemble des échantillons étudiés a été évaluée suivant la méthode des disques dite Aromatogramme.

Les résultats de l'analyse qualitative de l'activité antimicrobienne des HE des baies de *J. phoenicea* (pure et celle additionnée de 30 % de thymol) comparée à celle du thymol seul et de l'huile essentielle de l'origan sont représentés dans le **tableau 19**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 19 : Diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* (pure et additionnée de 30 % de thymol) comparés à ceux du thymol seul et de l'HE de l'origan (*Origanum floribundum*).

Microorganismes	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	HE pure de <i>Juniperus phoenicea</i>	HE de <i>Juniperus phoenicea</i> + 30% de thymol	Thymol seul	HE de l'origan
<i>Bacillus subtilis</i>	15,5 ± 0,1 ^d	43,5 ± 1,1 ^c	58,3 ± 1,3 ^a	55 ± 2,1 ^b
<i>E. coli</i>	-	27 ± 0,3 ^c	33,1 ± 1,1 ^a	31 ± 0,1 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,5 ± 0,2 ^d	52,5 ± 1,1 ^c	79,5 ± 2,1 ^a	75 ± 3,2 ^b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	14 ± 0,1 ^c	34,4 ± 1,6 ^a	31 ± 1,3 ^b
<i>Candida albicans</i>	13 ± 0,1 ^d	48 ± 1,2 ^c	57,4 ± 2,1 ^a	52,7 ± 2,2 ^b

Les valeurs sont les moyennes de trois répétitions ± écart type.

Nous remarquons d'après le **tableau 19**, l'absence de zone d'inhibition dans le cas de l'huile essentielle pure de *J. phoenicea* utilisée pour inhiber *E. coli* et *P. aeruginosa*. Les différents diamètres des zones d'inhibition (mm) enregistrés par les HE de *J. phoenicea* (seule et enrichie avec 30 % de thymol) testées sur l'ensemble des souches restent toutefois inférieurs à ceux enregistrés par le thymol seul et par l'huile essentielle de l'origan.

Suivant l'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne de **Meena et Sethi (1994)** représentée dans le **tableau 20**, nous pouvons classer l'huile essentielle pure de *J. phoenicea* comme étant une HE non inhibitrice d'*E. coli* et de *P. aeruginosa*. Cette huile essentielle pure est par ailleurs légèrement inhibitrice vis-à-vis de *C. albicans*, de *Bacillus subtilis* et de *S. aureus*.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 20 : Échelle de mesure de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle (Meena et Sethi, 1994).

Diamètres (mm)	Interprétation
$\emptyset < 10$	Huile essentielle non inhibitrice
$10 < \emptyset < 16$	Huile essentielle légèrement inhibitrice
$16 < \emptyset < 28$	Huile essentielle modérément inhibitrice
$\emptyset > 28$	Huile essentielle fortement inhibitrice

La composition chimique de l'HE testée à l'état pur et qui enregistre une teneur en α -pinène de 43,1 %, et de faibles teneurs en δ -3-carene, en β -phellandrene et en α -Terpinenyl acetate contribuerait de façon directe au classement de cette dernière parmi les huiles essentielles légèrement inhibitrices. Cela rejoint les travaux de **Cosentino et al., (1999)** ; de **Alessandra et al., (2005)** ; de **Yang et al., (2007)** ; et de **Demirci et al., (2007)** qui indiquent que l' α -pinène, le terpinyl acetate, le bornyl acetate, le caryophyllene oxyde et le β -phellandrene sont connus pour leurs contribution à l'activité antimicrobienne.

Derwich et al., (2010) ont évalué l'activité antimicrobienne de l'HE des feuilles du genévrier rouge de la région de Fès (Maroc). Extraites à partir des feuilles, cette HE est elle aussi composée essentiellement de l' α -pinène, mais en quantité relativement plus élevée que celle de l'HE de *J. phoenicea*. Ce qui lui confère une activité antimicrobienne plus importante que celle de notre échantillon (HE pure), mais bien moins importante que celle enregistrée par l'échantillon d'HE qui a été enrichi avec 30 % de thymol. Ces auteurs ont attribué l'activité antimicrobienne de leur échantillon à la dominance de l' α -pinène. La présence du reste des composés chimiques (tel que le linaool) même en faibles teneurs jouerait aussi un rôle important dans la manifestation de l'activité antimicrobienne de cette HE.

Comparé à l'HE pure de *J. phoenicea* testée dans notre étude, l'échantillon de cette même huile mais qui a été enrichi (additionné) avec une teneur de 30 % de thymol a montré une très bonne activité antimicrobienne vis-à-vis de l'ensemble des souches testées.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

L'échantillon de l'HE de *J. phoenicea* enrichi (additionné) avec une teneur de 30 % de thymol a manifesté une légère activité d'inhibition vis-à-vis de *P. aeruginosa*, il a par ailleurs enregistré une activité antimicrobienne modérément inhibitrice dans le cas d'*E. coli*.

La **figure 50** illustre à titre d'exemple la différence entre les zones d'inhibition (exprimées en mm) de l'HE seule (ou pure) du genévrier rouge et de celle enrichie (avec une teneur de 30 % de thymol) enregistré dans le cas de *Bacillus subtilis*

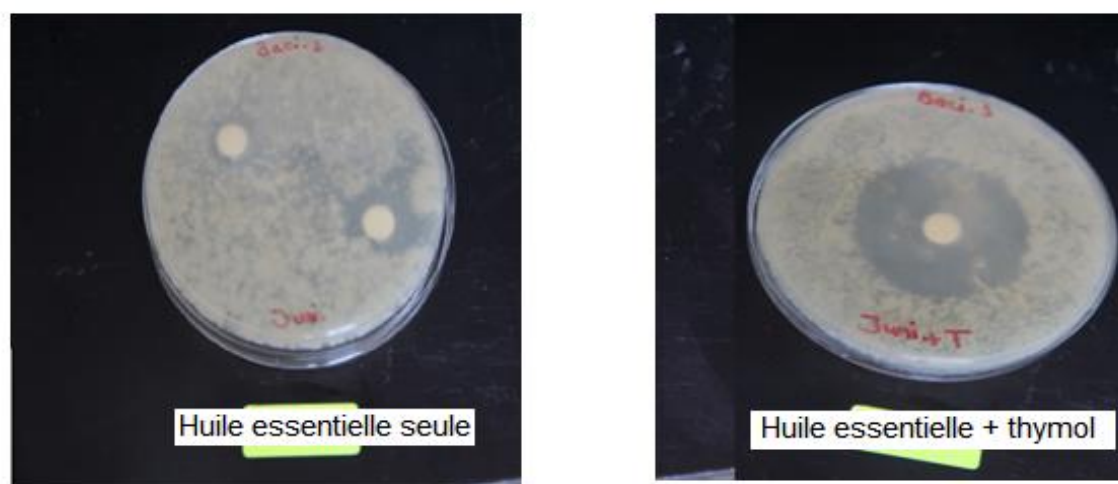


Figure 50 : Zones d'inhibitions (mm) des HE de *J. phoenicea* (seule et enrichie avec 30 % de thymol) dans le cas de *Bacillus subtilis*.

Le thymol seul ainsi que l'huile essentielle de l'origan ont enregistré pour l'ensemble des souches testées un diamètre d'inhibition supérieur à 28 mm (**Tableau 19**). Elles sont donc classées selon l'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle de **Meena et Sethi (1994)** présentée dans le **tableau 20** comme étant des substances fortement inhibitrice de l'ensemble des souches testées. Leurs activités antimicrobiennes restent toutefois plus ou moins équivalentes.

Nous remarquons aussi que quelle que soit l'HE utilisée, les bactéries Gram⁻ présentent une plus grande résistance par rapport aux bactéries Gram⁺ et aux levures, ce qui est en accord avec les résultats de différents chercheurs (**Smith-Palmer et al., 2001 ; Burt, 2004 ; Cristiani et al., 2007**). Cette plus grande résistance des Gram⁻ est attribuée par **Cristiani et al., (2007)** à la différence de composition entre les deux types de bactéries. En effet, la richesse des Gram⁻ en lipopolysaccharides confère à ces dernières une certaine imperméabilité vis-à-vis des composants hydrophobes des HE réduisant ainsi leur potentiel de nuisances. Les travaux de

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Souza et al., (2006) et **de Oussalah et al., (2006)** expliquent cela en affirmant que l'un des modes d'action des huiles essentielle est la perturbation de l'équilibre chémo osmotique de la cellule microbienne et le changement de conformation de la membrane après pénétration à travers cette dernière.

Conclusion

Connue pour être une HE dotée d'une faible activité antimicrobienne, l'enrichissement de l'huile essentielle des baies de *J. phoenicea* avec une teneur de 30 % de thymol lui a conféré une très bonne activité antimicrobienne vis-à-vis de certaines souches (*Bacillus subtilis*, *S. aureus* et *C. albicans* en particulier). Nous n'avons pas retrouvé de publications internationales de travaux de recherche portant sur l'évaluation de l'effet de la supplémentation du thymol sur l'activité antimicrobienne des HE pour pouvoir comparer les résultats obtenus dans notre étude. Nous pouvons ainsi uniquement dire que grâce au fort pouvoir antimicrobien du thymol avéré et démontré par plusieurs auteurs (**Adams et al., 1996 ; Adam et al., 1998 ; Kalemba et al., 2003 ; Bendahou et al., 2007**), son addition peut ainsi accroître l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle peu active. Cependant cette activité antimicrobienne (dite améliorée) reste inférieure à celle du thymol seul et à celle de l'huile essentielle de l'origan.

II.4.2.2. Étude quantitative

Après confirmation de l'efficacité antimicrobienne du thymol seul, de l'huile essentielle de l'origan, des HE des baies du genévrier rouge enrichies avec une teneur de 30 % de thymol par la méthode de l'Aromatogramme, nous avons procédé à un test quantitatif permettant en premier lieu la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice dite CMI (**Tableau 21**) et en second lieu l'évaluation de la CMB connue pour être la Concentration Minimale Bactéricide (**Tableau 26**) des échantillons étudiés.

II.4.2.2.1. Détermination des CMI

On remarque d'après l'ensemble des résultats obtenus (**Tableau 21**) une nette amélioration de l'activité d'inhibition des souches testées après enrichissement de l'HE des baies de *J. phoenicea* avec une teneur de 30 % de thymol.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 21 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI en %) des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* (pure et additionnée de 30 % de thymol) comparées à celle du thymol seul et de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum*.

Souches	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) (%)			
	HE pure de <i>J. phoenicea</i>	HE de <i>J. phoenicea</i> + 30 % de Thymol	Thymol	HE d'origan
<i>Bacillus subtilis</i>	≤ 0,03	≤ 0,03	≤ 0,03	≤ 0,03
<i>Escherichia coli</i>	> 2	0,5	< 0,25	< 0,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 2	0,25	< 0,25	< 0,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abs	0,5	< 0,125	≤ 0,25
<i>Candida albicans</i>	> 2	0,5	< 0,25	< 0,25

Les CMI enregistrées par le thymol seul et par l'huile essentielle de l'origan restent toutefois équivalentes, sauf pour le cas de *Pseudomonas aeruginosa* où c'est le thymol qui s'est révélé être le plus efficace enregistrant une CMI de 0,125 % (contre une valeur de 0,25 % dans le cas de l'HE de l'origan).

Le thymol et l'HE de l'origan enregistrent particulièrement des CMI (%) beaucoup plus intéressantes que celles enregistrée par l'HE de *J. phoenicea* seule (pure) pour l'ensemble des souches testées.

En effet, la CMI dans le cas de *Bacillus subtilis* est inférieure ou égale à 0,03 % pour l'ensemble des échantillons, ce qui indique que cette souche est très sensible à notre HE même sans enrichissement avec du thymol. L'ajout de thymol est toutefois nécessaire pour améliorer l'activité antimicrobienne de l'HE des baies de *J. phoenicea* vis-à-vis des autres souches testées où l'on remarque une diminution de la CMI pour *Escherichia coli* et pour *Candida albicans* passant de plus de 2 % à 0,5 % ; et de plus de 2 % à 0,25 % pour *Staphylococcus aureus*. Nous notons enfin l'absence totale d'inhibition pour une CMI de 0,5 % dans le cas de l'HE pure de *J. phoenicea* testée sur *Pseudomonas aeruginosa*, celle-ci apparaît comme étant la souche la plus résistante lors cette étude.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Les figures 51 et 52 illustrent respectivement les résultats du test de la détermination de la CMI de l'huile essentielle des baies de *J. phoenicea* seule (pure) et de celle enrichie avec une teneur de 30 % de thymol testées sur quatre souches microbiennes.

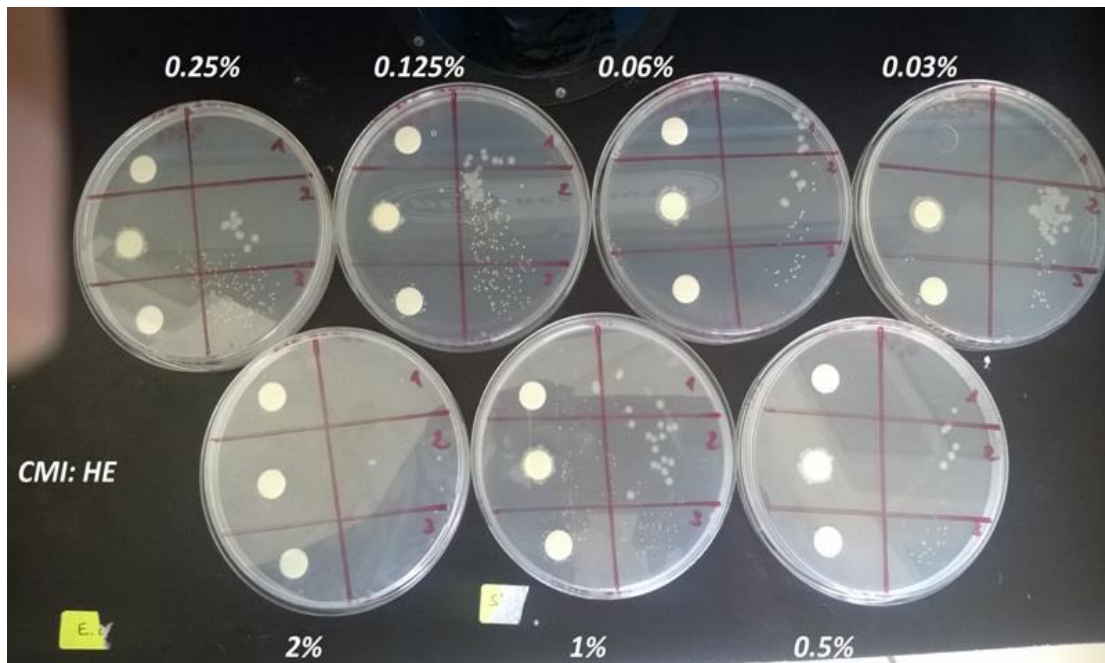


Figure 51 : Résultats de la CMI (%) de l'huile essentielle pure des baies de *J. phoenicea* testée sur quatre souches bactériennes.

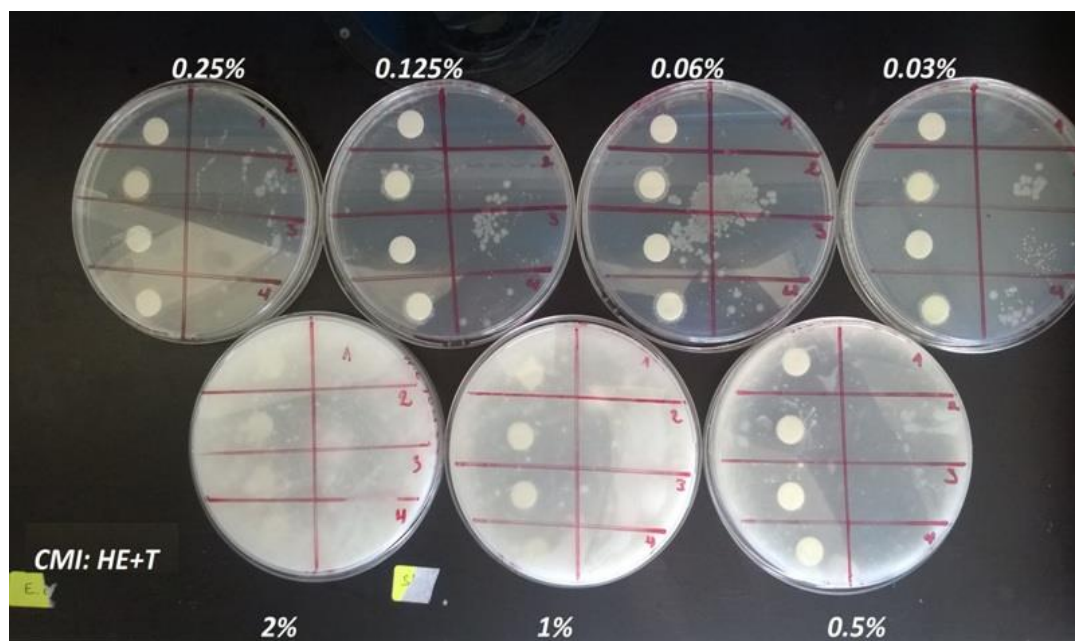


Figure 52 : Résultats de la CMI (%) de l'huile essentielle des baies de *J. phoenicea* enrichie avec une teneur de 30 % de thymol testée sur quatre souches bactériennes.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Les résultats de la CMI (%) des différents échantillons d'HE des baies de *J. phoenicea* confirment eux aussi la plus grande sensibilité des Gram+ vis-à-vis de ces HE, et où nous avons noté une CMI (%) plus faible dans le cas de *Bacillus subtilis* et de *Staphylococcus aureus* avec des valeurs respectives de 0,03 % et de 0,25 % en comparaison avec une CMI de 0,5 % pour les trois autres souches utilisées.

II.4.2.2.2. Détermination des CMB

La deuxième partie de l'étude qualitative entamée précédemment consiste à déterminer les Concentration Minimale Bactéricide (CMB exprimée en %) à partir des disques utilisés pour la détermination des CMI, les résultats sont représentés dans le **tableau 22**.

Tableau 22 : Concentrations Minimales Bactéricides (CMB en %) de l'HE seule de *Juniperus phoenicea* et de celle additionnée de 30 % de thymol comparées à celles du thymol et de l'HE d'*Origanum floribundum*.

Souches	CMB (%)			
	HE seule de <i>J. phoenicea</i>	HE de <i>J. phoenicea</i> + 30 % de thymol	Thymol	HE d'origan
<i>Bacillus subtilis</i>	≤ 0,03	≤ 0,03	≤ 0,03	≤ 0,03
<i>Escherichia coli</i>	>2	1	0,125	0,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	>2	0,25	≤ 0,03	≤ 0,03
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abs	1	0,25	0,5
<i>Candida albicans</i>	>2	1	0,06	0,25

Nous remarquons d'après le **tableau 22** que *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée être la souche la plus résistante. Cette observation confirme la tendance notée lors des tests précédents. Les résultats de cette étude montrent l'existence d'un pouvoir antimicrobien certain de l'ensemble des échantillons.

L'effet de l'addition d'une teneur de 30 % de thymol à l'HE de *J. phoenicea* a nettement amélioré l'activité antimicrobienne de cette huile (connue pour être faiblement active). Nous remarquons cela surtout pour le cas de *Staphylococcus aureus* où la CMB de cette HE est

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

passée d'une CMB supérieure à 2 % à une CMB de 0,25 % ; et pour celui de *Pseudomonas aeruginosa* où nous sommes passé d'une absence totale d'inhibition de la souche en question par l'HE seule de *J. phoenicea* à une CMB de 1 % permettant l'inactivation de cette souche par cette même huile mais qui a été additionnée de 30 % de thymol.

L'huile essentielle de l'origan, et qui est naturellement riche en thymol, s'est révélée plus active que l'HE de *J. phoenicea* additionnée d'une teneur de 30 % de thymol. Elle reste toutefois moins efficace que le thymol seul, qui a enregistré des CMB (%) les plus faibles par rapport à l'ensemble des échantillons, et qui lui confèrent donc la meilleure activité antimicrobienne.

Conclusion

L'effet de l'addition d'une teneur de 30 % de thymol à l'HE des baies de *J. phoenicea* se traduit par une amélioration nettement observable de son activité antimicrobienne sur l'ensemble des souches testées. L'ajout ou la supplémentation d'uniquement 30 % de thymol a permis à cette huile de passer d'un statut dit non active, ou parfois très faiblement active, à un statut la classant parmi les HE les plus actives.

III. Effets de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité antioxydante et insecticide de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf.

III.1. Introduction

Restant dans la même optique que la partie précédente de ce travail, et qui est de pouvoir valoriser une plante médicinales et aromatique endémique en Algérie ayant un rendement en huile essentielle intéressant mais connue dans la littérature pour être faiblement active biologiquement. Notre choix s'est ainsi porté sur *Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. qui est très connue en Algérie et largement utilisée, nous l'avons présenté et décrite dans le chapitre III de la partie I (Recherche bibliographique) du document. Nous avons alors pensé compléter l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du thymol et/ou du carvacrol afin d'étudier l'effet de cette addition sur les propriétés antioxydantes et insecticides de cette huile. L'ensemble des résultats ont été comparés à ceux obtenus pour le thymol (seul), le carvacrol (seul) et le BHT, du moment où nous savons par avance que ces derniers sont connus et reconnus par de nombreux chercheurs pour leurs efficacités antioxydante, antimicrobienne et insecticide.

III.2. Rendement et composition chimique

L'huile essentielle *Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. retenue dans notre étude a été obtenue avec un rendement de 31,1 % (v/m). Nous remarquons donc que *A. atlantica* étudiée dans le cas de ce travail présente un rendement fort intéressant, ce qui fait d'elle une plante a fort potentiel d'utilisation.

L'analyse chromatographique représentée dans le **tableau 23** a permis l'identification de 21 composés, représentant 95,9 % du total des composés chimiques de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Tableau 23 : Composition chimique (%) de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf.

N°	Composés	IR	%	Identification
1	α -Thujene	930	0.2	IR-SM
2	α -Pinene	937	1.6	IR-SM-Etalon
3	Camphene	951	t	IR-SM-Etalon
4	Sabinene	973	t	IR-SM
5	β -Pinene	977	0.2	IR-SM-Etalon
6	β -Myrcene	990	0.5	IR-SM
7	α -Phellandrene	1004	t	IR-SM-Etalon
8	δ -3-Carene	1011	0.1	IR-SM
9	α -Terpinene	1017	0.5	IR-SM-Etalon
10	p-Cymene	1024	20.4	IR-SM
11	Limonene	1030	8.9	IR-SM-Etalon
12	1,8-Cineole	1032	0.2	IR-SM-Etalon
13	γ-Terpinene	1060	6.5	IR-SM
14	Terpinolene	1087	0.2	IR-SM-Etalon
15	p-Cymenene	1089	t	IR-SM
16	4-Terpineol	1177	1.1	IR-SM
17	p-Cymen-8-ol	1183	0.1	IR-SM
18	α -Terpineol	1189	0.2	IR-SM-Etalon
19	Carvacrol methyl ether	1240	t	IR-SM

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

20	Thymol	1291	48.5	IR-SM-Etalon
21	Carvacrol	1299	8.5	IR-SM-Etalon
Total (%)			95.9	
Monoterpènes			40.3	
Monoterpènes oxygénés			55.6	
<i>Rendement (%)</i>			5,3	

Le chromatogramme CG/SM de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. est représenté dans la **figure 53**.

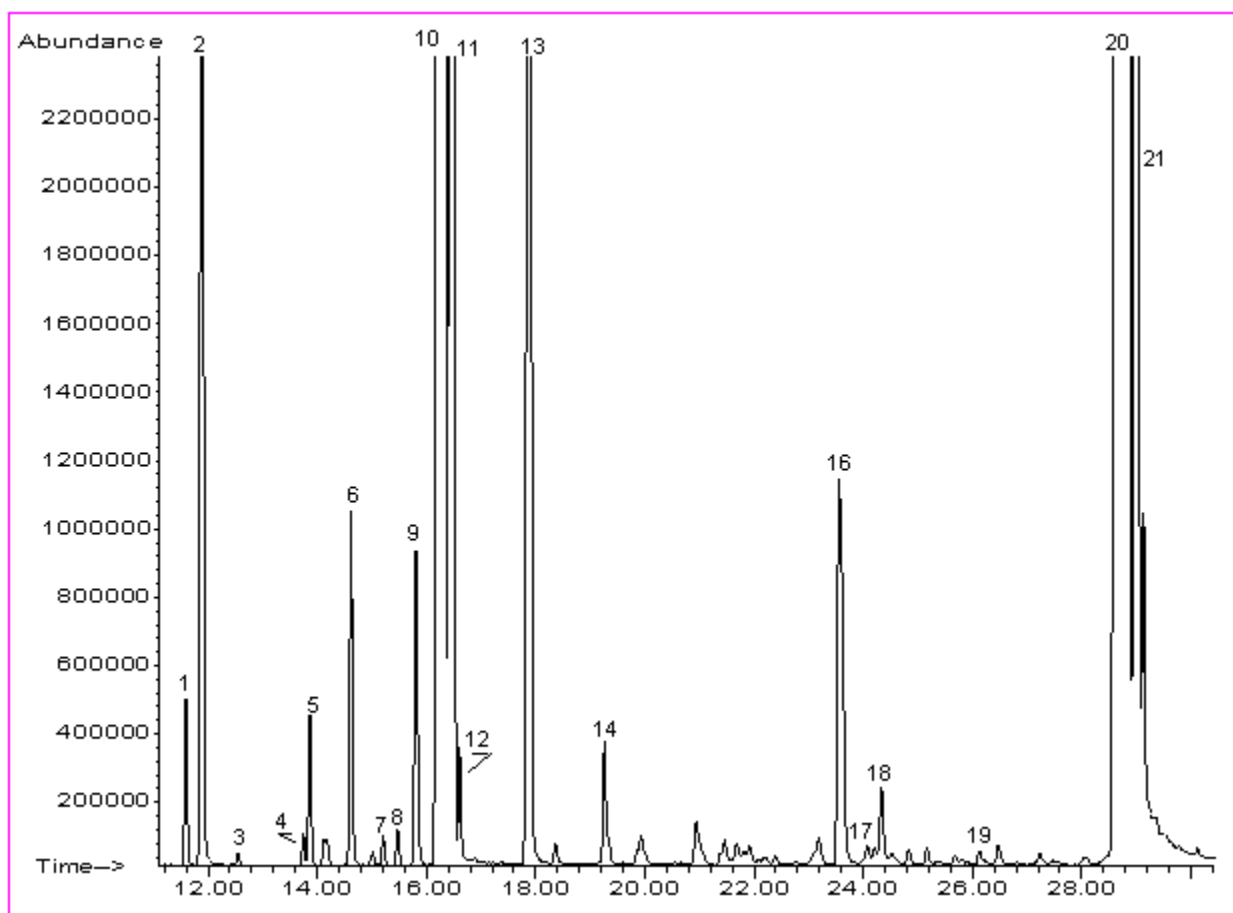


Figure 53 : Chromatogramme CG/SM de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Les principaux composés chimiques de notre échantillon sont particulièrement représentés par : le thymol (48,5 %), le p-cymène (20,4 %), le limonène (8,9 %), le carvacrol (8,5 %) et le γ -terpinène (6,5 %). La composition chimique d'une huile essentielle varie en fonction de nombreux facteurs (citées dans la partie bibliographique de cette étude) tels que la nature de la plante, le moment de la récolte, les conditions d'extraction, l'origine de la plante, etc. Pour illustrer cette variation, nous avons choisi de représenter les principaux composés chimiques (%) de l'huile essentielle d'espèces d'*Ammoides* issues de différentes origines d'Algérie dans le tableau ci-dessous.

Tableau 24 : Principaux composés chimiques (%) des huiles essentielles d'espèces d'*Ammoides* issues de différentes origines d'Algérie.

Espèces	Origines	p-Cymene	Limonene	γ -Terpinene	Thymol	Carvacrol	Réf.
<i>A. atlantica</i>	Herboriste	20,4	8,9	6,5	48,5	8,5	Cette étude
<i>A. atlantica</i>	Sétif (Montagne Megress)	10,6	2,0	19,4	53,2	2,9	Laouer et al. (2008)
<i>A. pusilla</i>	Sétif (Ouled Faid)	13,5	0,2	32,9	44,5	0,6	Laouer et al. (2003)
<i>A. verticillata</i>	Ouest algérien	20,19	15,70	8,42	45,77	3,3	Attou et al. (2017)

Nous remarquons d'après le tableau 24, que les principaux composés chimiques (%) de l'huile essentielle des différentes espèces d'*Ammoides* issues de différentes origines d'Algérie sont représentés par le thymol, le γ -Terpinene, le p-Cymene, le Limonene, et le carvacrol. Nous notons que l'échantillon d'*Ammoides* étudié dans notre cas enregistre des teneurs particulièrement appréciables en carvacrol et en limonene.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Nous notons de plus que c'est l'espèce d'*Ammoides* qui est originaire de la région de Sétif (Montagnes Megress) qui enregistre la plus forte teneur en thymol. L'ensemble des HE représentées dans le **tableau 24** sont dites à chémotype thymol, du moment où il est le composé majoritairement présent.

Nous notons par ailleurs que nous pouvons retrouver d'autres principaux chimiques hormis ceux retrouvés dans les HE citées dans le **tableau 24**. En effet, la composition chimique d'*Ammoides atlantica* collectée par **Boudiar et al., (2011)** dans la région de Jijel (Algérie) révèle la présence de safranal (17,9 %), d'endo-borneol (17,6 %), de chrysanthène (15,5 %), de filifolone (12,1 %) et de camphor (1,8 %). La composition chimique d'une huile essentielle varie avec le terroir et le climat. Il importe donc, à défaut de la composition, de connaître l'origine géographique de la plante. Une même plante suivant son biotope donne des chémotypes différents (**Viaud, 1993**). De nombreux auteurs confirment par ailleurs, que de nombreux autres facteurs de variabilité de cette composition chimique interviennent, tels que la partie de la plante utilisée (feuilles, fruits, racine...) pour extraire l'HE ; la météorologie au moment de la récolte ; l'heure de la récolte ; la période de végétation ; le type de culture (plantes sauvages donnant des produits généralement plus actifs) ainsi que le procédé d'extraction (**Lahlou, 2004**).

III.3. Effet de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica*

III.3.1. Effet de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité d'inhibition du radical DPPH

Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH (exprimée en %) par les HE d'*Ammoides atlantica* seules et additionnées de thymol et de carvacrol sont illustrés dans la **figure 54**. Ces résultats ont été comparés à ceux du thymol, du carvacrol et du BHT.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

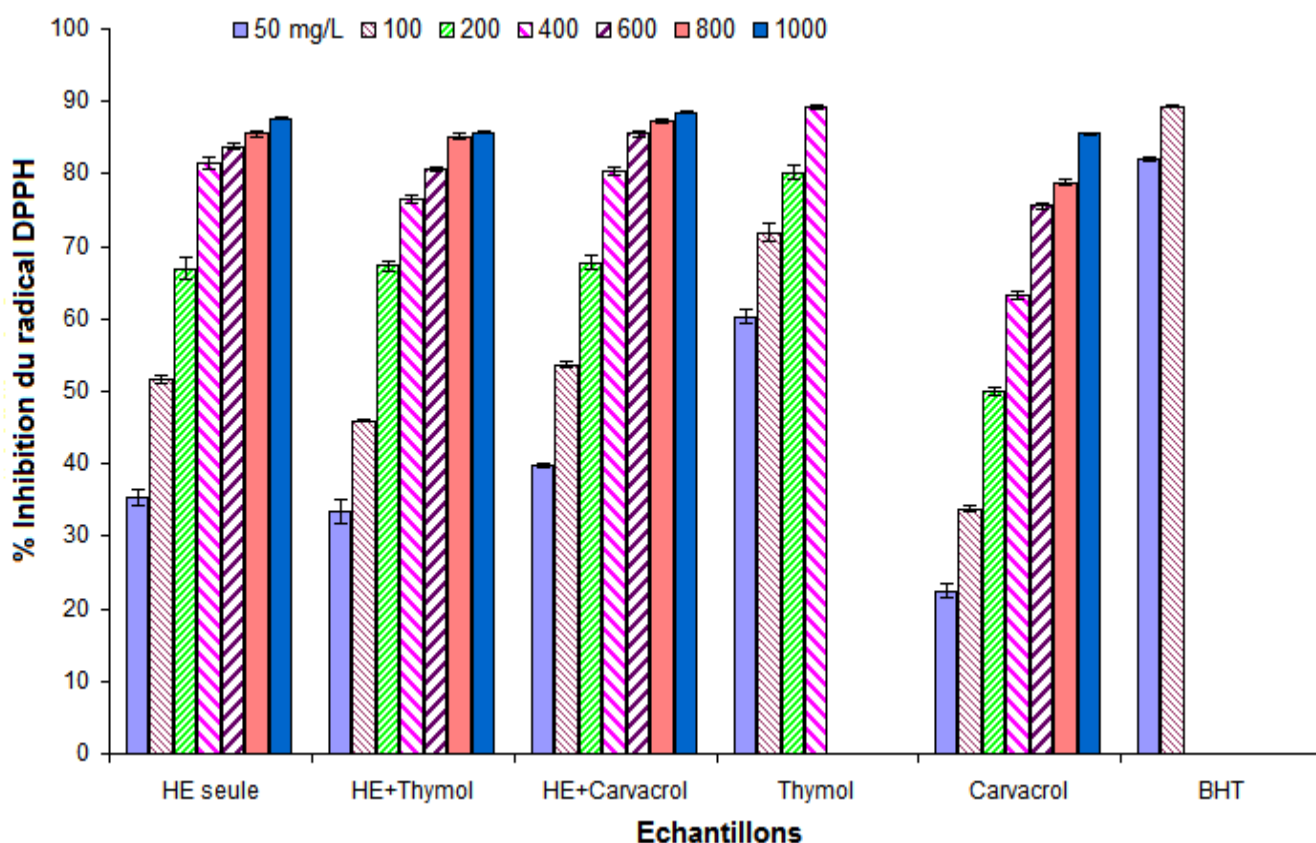


Figure 54 : Inhibition du radical DPPH (%) par le BHT, le thymol, le carvacrol et par l’huile essentielle d’*Ammoides atlantica* seule et additionnée de thymol ou de carvacrol.

Nous observons d’après la **figure 54** que plus les concentrations augmentent plus le pourcentage d’inhibition du radical DPPH de l’ensemble des échantillons augmente.

Nous remarquons en premier lieu que le BHT enregistre dès le départ (pour les plus petites concentrations de 50 et de 100 mg/L) les pourcentages d’inhibition du radical DPPH les plus élevés. Il est suivi par le thymol seul qui est particulièrement beaucoup plus actif que son isomère de position le carvacrol.

Le thymol seul présente également une meilleure efficacité d’inhibition du radical DPPH par rapport aux échantillons d’HE d’*A. atlantica* (seule et additionnées). Alors que le carvacrol reste pour l’ensemble des concentrations moins efficace que ces derniers.

Pour les concentrations de 50 et de 100 mg/L, c’est la combinaison HE+carvacrol qui enregistre le pourcentage d’inhibition du radical DPPH le plus élevé. Il est suivi par celui de l’HE seule et enfin par la combinaison HE+thymol.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Les trois échantillons d'HE d'*Ammoides atlantica* (seule, HE+carvacrol et HE+thymol) enregistrent toutefois un pourcentage d'inhibition du radical DPPH équivalent pour une concentration de 200 mg/L. Alors que pour les concentrations de 400, 600, 800 et 1000 mg/L, c'est l'échantillon d'HE auquel nous avons ajouté du carvacrol qui enregistre la meilleure efficacité antioxydante.

Nous n'avons retrouvé dans la littérature aucune publication scientifique (nationale ou internationale) ou étude qui traite de l'effet de la supplémentation (enrichissement ou ajout) du carvacrol ou du thymol sur les activités biologiques d'une huile essentielle (aucune étude portant sur l'enrichissement de l'HE d'*A. atlantica*), nous n'avons donc pas pu comparer nos résultats avec les résultats d'autres chercheurs. Nous pouvons uniquement dire qu'en effet, pour une concentration de 200 mg/L d'une solution de thymol seul on atteint une activité de 82 % équivalente à celle obtenue pour une concentration de 1000 mg/L d'une solution de carvacrol seul, soit une efficacité 5 fois plus importante.

Conclusion

Nous notons enfin que d'une façon globale, c'est la combinaison HE+carvacrol qui s'est révélé être la plus efficace pour toutes les concentrations. La supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du carvacrol a donc eu un effet positif.

III.3.1.1. Détermination des IC₅₀

Les concentrations inhibitrices de 50 % du radical DPPH (mg/L) des HE d'*Ammoides atlantica* étudiées (seule, HE+carvacrol et HE+thymol) sont illustrées à l'aide d'histogrammes dans la **figure 55**.

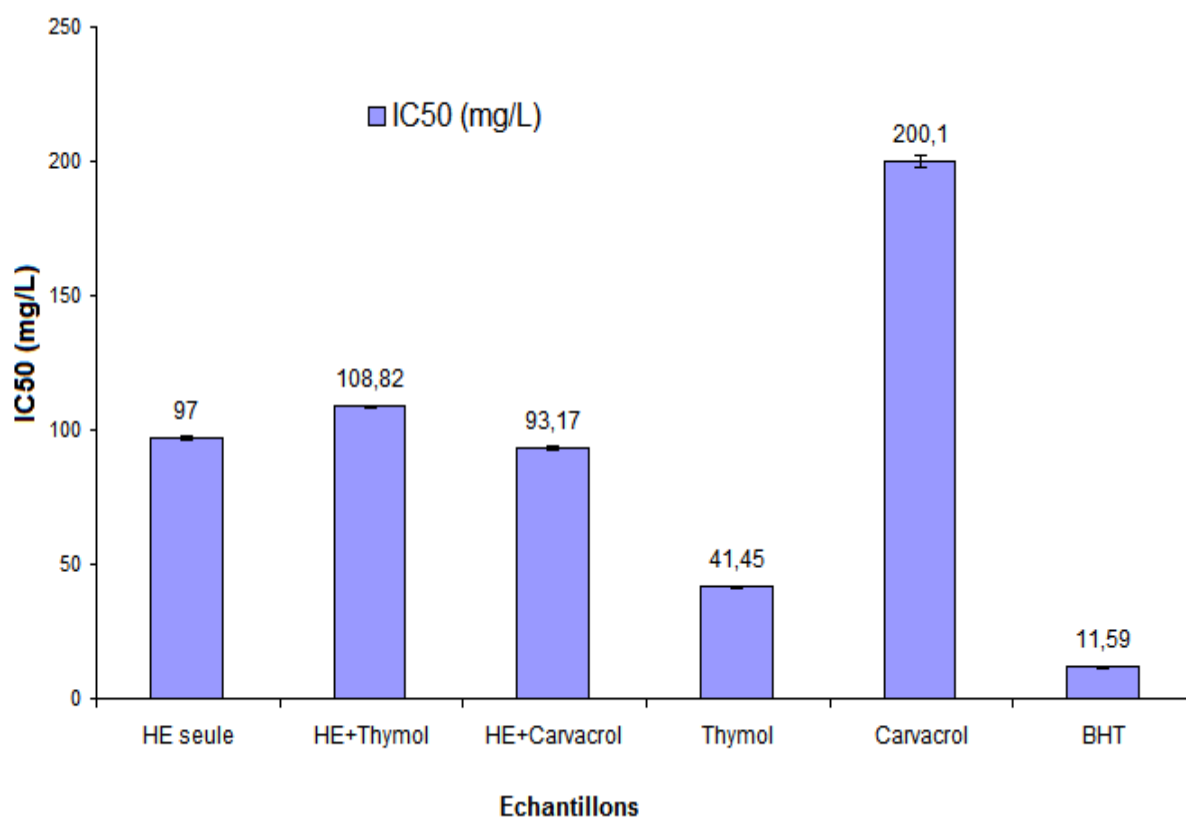


Figure 55 : Concentrations inhibitrices de 50 % du radical DPPH (mg/L) des huiles essentielles seules d'*Ammoides atlantica* et additionnées de thymol ou de carvacrol comparées à celles du BHT, du thymol seul et du carvacrol seul.

Nous constatons clairement que les résultats illustrés dans la **figure 55** confirment ceux des % d'inhibition du radical DPPH des différents échantillons, où c'est le BHT qui marque l'IC₅₀ la plus basse (11,59 mg/L) et qui fait de lui le meilleur inhibiteur. Il est suivi par le thymol seul, qui est à peu près 5 fois plus efficace que le carvacrol seul.

Le thymol seul est suivi par l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol, l'HE seule, l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du thymol et enfin le carvacrol seul.

L'ensemble des échantillons d'HE d'*A. atlantica* se sont révélées être plus efficaces que le carvacrol seul.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

III.3.2. Effet de l'addition du thymol ou du carvacrol sur l'activité de piégeage du radical ABTS^{•+}

Les résultats de l'activité de piégeage du radical ABTS^{•+} (exprimée en %) par l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (seule et celles supplémentées avec du thymol ou du carvacrol) comparés à ceux du thymol, du carvacrol, et du trolox sont illustrés dans la **figure 56**.

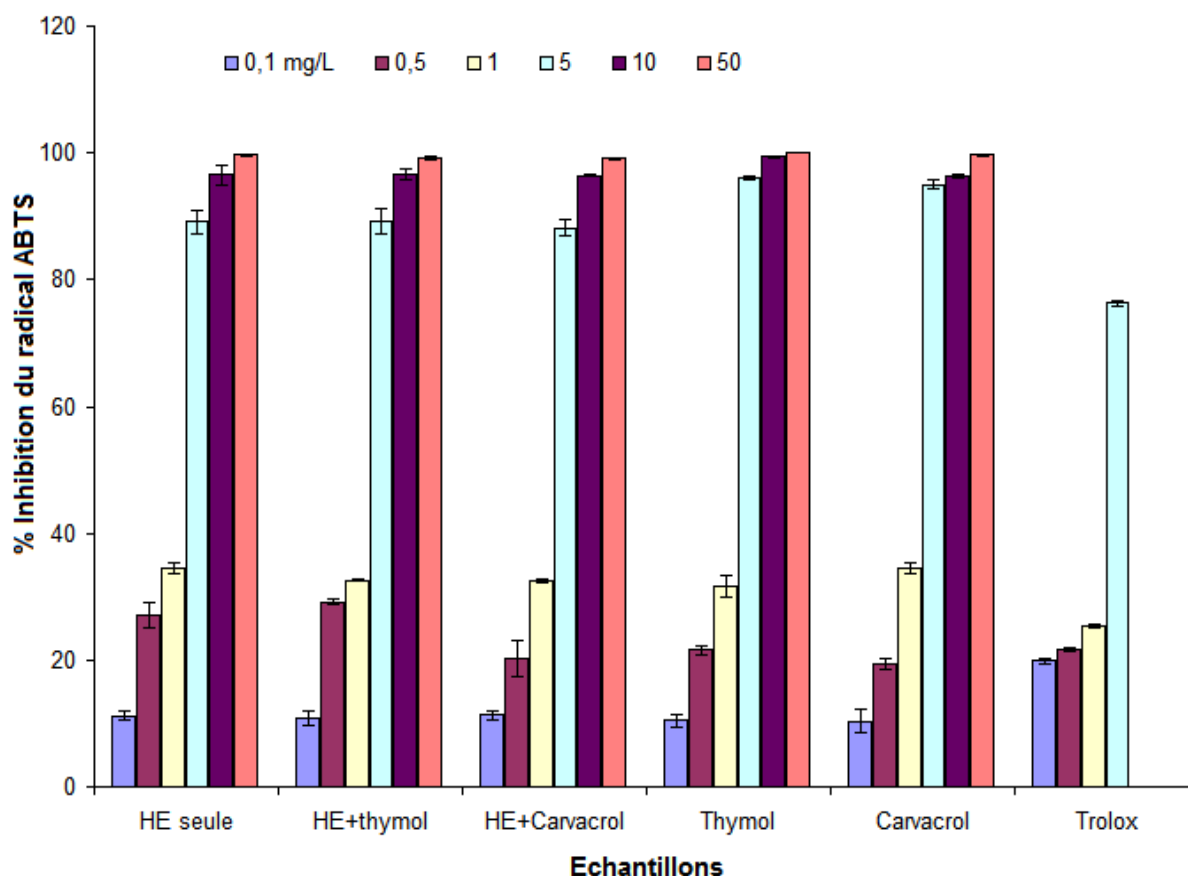


Figure 56 : Activités de piégeages du radical ABTS^{•+} (%) par l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* seule et celles supplémentées avec du thymol ou du carvacrol comparées à celles du thymol seul, du carvacrol seul et du trolox.

Nous observons d'après la **figure 56** que plus les concentrations augmentent plus l'activité de piégeage du radical ABTS^{•+} (%) de l'ensemble des échantillons augmente. C'est le trolox qui enregistre la meilleure activité de piégeage du radical ABTS^{•+} (%) pour les petites concentrations (0,1 mg/L). Pour une concentration de 0,5 mg/L, la meilleure activité est enregistrée par la combinaison HE+thymol, qui est suivie par l'HE seul, vient ensuite le thymol, le trolox, l'HE+carvacrol et enfin le carvacrol seul. Pour une concentration de 1 mg/L, l'activité

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

de piégeage du radical $ABTS^{*+}$ (%) des échantillons étudiés est plus ou moins équivalente et dépasse de loin celle du trolox.

Conclusion

Mise à part le trolox, l'ensemble des échantillons étudiés enregistrent un pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{*+}$ supérieur à 80 % pour les concentrations de 5, de 10 et de 50 mg/L. Le thymol atteint un pourcentage d'inhibition de 100 % pour une concentration de 10 mg/L. C'est donc le thymol qui se révèle être l'échantillon le plus efficace, il est suivi de très près par le reste des échantillons d'HE.

III.3.2.1. Détermination des IC_{50}

Dans le but de mieux observer les différences entre les % d'inhibition du radical $ABTS^{*+}$ induites par l'ajout de thymol ou de carvacrol à l'HE d'*A. atlantica*, nous avons fait le choix de calculer les IC_{50} exprimée en mg/L des différents échantillons étudiés. Les résultats de l'activité de piégeage du radical $ABTS^{*+}$ exprimée en IC_{50} (mg/L) par le thymol, le carvacrol, le trolox, l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* seule et celles supplémentées avec du thymol ou du carvacrol sont illustrés dans la **figure 57**.

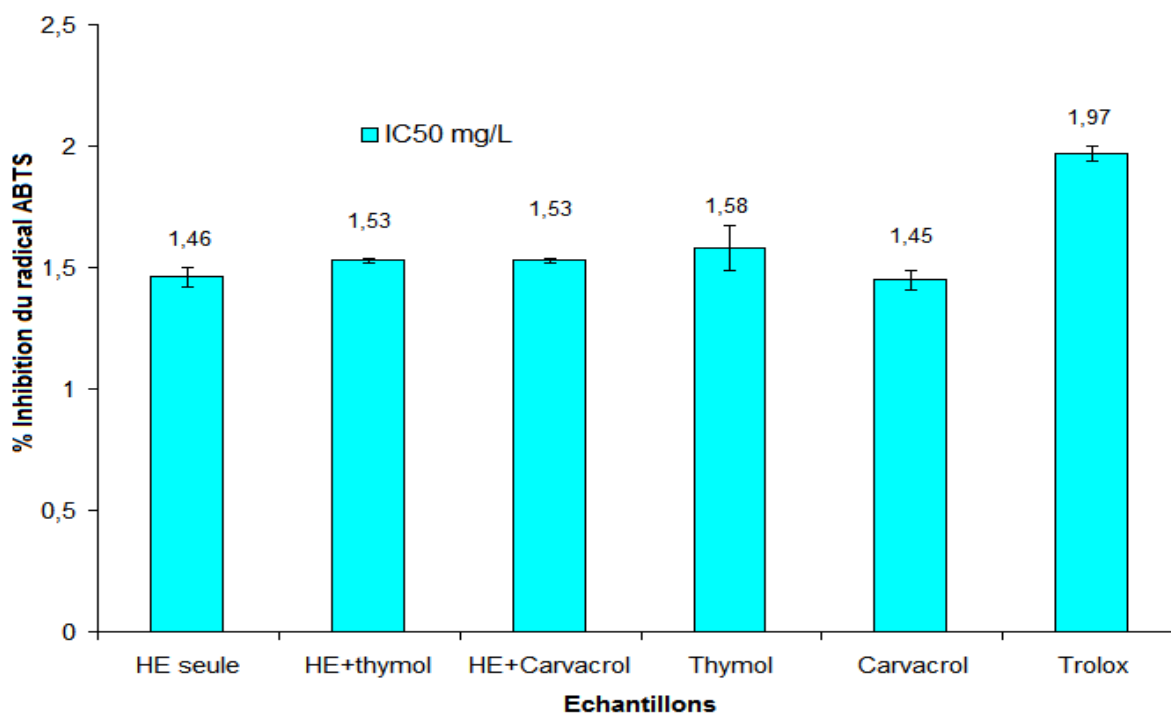


Figure 57 : Activités de piégeage du radical $ABTS^{*+}$ exprimées en IC_{50} (mg/L) par l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* seule et celles supplémentées avec du thymol ou du carvacrol comparées à celles du thymol seul, du carvacrol, et du trolox.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

La **figure 57** nous permet de classer les valeurs des IC_{50} (mg/L) de l'ensemble des échantillons comme suit : carvacrol seul (1,45 mg/L) ; HE seule (1,46 mg/L) ; HE+thymol équivalente à celle de l'HE+carvacrol (1,53 mg/L) ; thymol seul avec (1,58 mg/L) ; et enfin le trolox avec une IC_{50} de 1,97 (mg/L).

Nous observons ainsi clairement que c'est le carvacrol qui a enregistré l'activité de piégeage du radical $ABTS^{++}$ exprimée en IC_{50} (mg/L) la plus efficace marquant une valeur de 1,45 mg/L. Il est suivi de très près par l'échantillon d'HE seule d'*Ammoides atlantica* (1,46 mg/L). Cette dernière s'est en effet révélée être plus active que les combinaisons HE+carvacrol et HE+thymol.

Le trolox a pour sa part enregistré la IC_{50} la plus élevée (1,97 mg/L) ce qui le classe en dernier et fait de lui un mauvais piégeur du radical $ABTS^{++}$.

L'activité de piégeage du radical $ABTS^{++}$ exprimée en IC_{50} (mg/L) de l'HE additionnée de thymol semble être équivalente à celle de l'HE d'*A. atlantica* où nous avons ajouté du carvacrol. Ces deux combinaisons (HE+carvacrol et HE+thymol) enregistrent par ailleurs une IC_{50} d'inhibition du radical $ABTS^{++}$ supérieure à celle de l'HE d'*A. atlantica* auquel nous n'avons rien ajouté (HE seule ou dite aussi pure). Nous déduisons ainsi que l'ajout de carvacrol ou de thymol n'a pas eu d'effet appréciable quant à l'accroissement de l'efficacité de piégeage du radical $ABTS^{++}$ par l'HE d'*A. atlantica* puisque la valeur de la IC_{50} est passée de 1,46 pour l'HE seule à 1,53 mg/L pour les échantillons supplémentés avec du carvacrol ou du thymol.

Conclusion

A l'issu du test de piégeage du radical $ABTS^{++}$, le carvacrol seul s'est révélé être légèrement plus efficace que le thymol seul. L'ajout de carvacrol ou de thymol n'a pas eu d'effet appréciable quant à l'accroissement de l'efficacité de piégeage du radical $ABTS^{++}$ par l'HE seule d'*A. atlantica*. Il semblerait par contre que l'ajout du carvacrol ou du thymol à l'HE ait provoqué le rééquilibrage de la capacité inhibitrice du thymol et du carvacrol, où l'on remarque une équivalence entre l'activité de piégeage du radical $ABTS^{++}$ des combinaisons HE+carvacrol et HE+thymol. Ce résultat s'explique par l'existence d'une synergie entre le carvacrol, le thymol et les composants chimiques de l'HE pure d'*A. atlantica*.

IV. Évaluation de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. avec du thymol ou du carvacrol sur son activité insecticide

IV.1. Introduction

Toujours dans le but de valoriser une plante aromatique endémique en Algérie, et qui de plus possède un rendement intéressant en huile essentielle, nous avons fait le choix de compléter notre étude en s'intéressant cette fois-ci à l'évaluation de l'effet de l'enrichissement de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) avec du thymol et/ou du carvacrol sur son activité insecticide. De plus, aucune publication scientifique (nationale ou internationale) traitant ce sujet n'a été rapportée dans la littérature, notre travail est donc précurseur pour ce domaine d'application.

L'activité insecticide des huiles essentielles d'*Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. pures (ou dites aussi seules) et celles enrichies (supplémentées ou additionnées) avec du thymol ou du carvacrol a été évaluée en se basant sur la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* F. selon deux divers modes de traitement : l'inhalation et le contact, et sur deux paramètres biologiques : la fécondité et la fertilité mesurées aux doses sublétales représentées par la DL₃₀ et la DL₅₀. La fécondité est exprimée par le nombre d'œufs pondus par femelle et la fertilité évaluée par le pourcentage (%) d'éclosion et le % d'émergence.

IV.2. Test de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle sur la mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* F. par contact

IV.2.1. Observation de l'effet du traitement par contact avec les différents échantillons d'HE seules et enrichies sur la symptomatologie de l'intoxication de *C. maculatus*

Dès le dépôt des insectes adultes de *C. maculatus* F. dans les boîtes de Pétri traitées avec les différentes doses d'HE d'*Ammoides atlantica* (seules et enrichies), nous avons remarqué que ces derniers étaient fortement agités, désorientés. Nous avons noté par ailleurs, que ceux que l'on avait déposés dans les boîtes de Pétri traitées avec la combinaison HE supplémentée avec du carvacrol (HE+carvacrol) étaient plus agités que les autres insectes. Après un temps d'exposition de 24 H, les insectes survivants se déplaçaient lentement et avaient parfois des

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

difficultés à se déplacer alors que ceux qui étaient considérés morts (aucun mouvement même après chatouillement) se sont mis sur le dos.

IV.2.2. Effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* sur la mortalité de *C. maculatus* traité par contact

Les résultats du test de l'effet de la supplémentation (avec du thymol et/ou du carvacrol) de l'HE d'*Ammoides atlantica* sur la mortalité des adultes de *C. maculatus* traités par contact direct sur papier filtre comparés aux résultats du témoin (non traité) et de l'HE seule (non supplémente) sont représentés dans la **figure 58**.

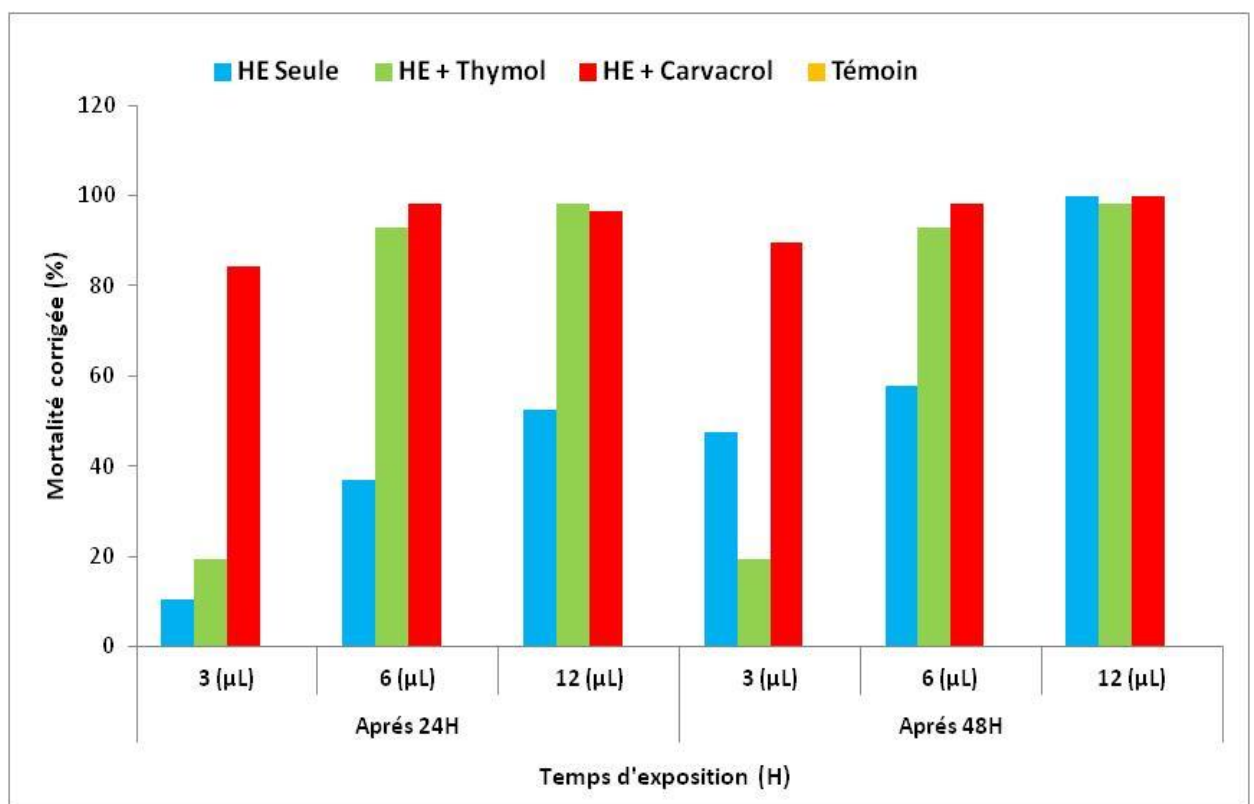


Figure 58 : Effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du thymol et/ou du carvacrol à différentes doses et durées d'exposition sur l'évolution du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de *C. maculatus* traités par contact.

Nous constatons d'après la **figure 58** que les trois échantillons d'HE d'*Ammoides atlantica* (seule, supplémente avec du thymol, supplémente avec du carvacrol) sont efficaces à l'égard de l'insecte *C. maculatus*. Plus la dose des échantillons augmente et plus le temps d'exposition est important (passant de 24 à 48H) plus le pourcentage corrigée de mortalité des insectes est élevé. Par ailleurs, la mortalité naturelle de *C. maculatus* dans les boites témoins

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

(sans HE) est absolument nulle, les insectes gardent toujours leur dynamisme ce qui dévoile l'action toxique de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* observé dans les boîtes test. Nous notons toutefois que l'HE seule (non supplémentée) a enregistré les plus faibles pourcentages de mortalité de *C. maculatus* pour l'ensemble des concentrations et des temps d'exposition (24 et 48H). Elle n'arrive à atteindre un pourcentage de mortalité équivalent à ceux des combinaisons HE+thymol et HE+carvacrol qu'après 48H d'exposition à une concentration de 12 µL. Alors que l'HE d'*A. atlantica* qui a été enrichie avec du carvacrol enregistre le meilleur pourcentage de mortalité corrigée des insectes (84,21 %) pour la plus faible dose (3 µL) et pour le plus faible temps d'exposition (24H), contre 10,52 % de mortalité corrigée après une exposition de 24H à la même dose (3 µL) dans le cas de l'HE seule.

Il faut signaler que la combinaison HE+carvacrol atteint même 98,24 % de mortalité corrigée de *C. maculatus* pour seulement 24H d'exposition et pour une dose de 6 µL.

Un cas particulier est observé dans le cas de l'HE d'*Ammoides atlantica* supplémentée avec du thymol, où nous remarquons que cet échantillon enregistre le maximum de son efficacité après 24H d'exposition, et que même si nous augmentons la durée d'exposition à 48H, les pourcentages corrigés de mortalité de *C. maculatus* restent les mêmes, à savoir 19 %, 29 % et 92,98 % pour des doses respectives de 0,038, de 0,076 et de 0,152 µL/cm² quelle que soit la durée d'exposition étudiée (24 et 48H). Nous notons par ailleurs que l'HE d'*A. atlantica* seule ne s'est révélée être plus efficace que la combinaison HE+thymol que pour une dose de 3µL et après 48H d'exposition. Mise à part ce cas-là, nous pouvons dire que les combinaisons HE+carvacrol et HE+thymol sont nettement plus efficaces que l'HE seule d'*A. atlantica*.

Conclusion

La combinaison HE+carvacrol est 8 fois plus efficace que l'HE seule pour une dose de 3 µL et un temps d'exposition de 24H. La supplémentation d'*A. atlantica* avec du carvacrol ou du thymol a eu un effet positif sur l'évolution du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de *C. maculatus* traités par contact.

IV.2.3. Effet des doses sublétales lors de l'essai contact

Dans le but d'évaluer l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol aux doses sublétales DL₃₀, et les DL₅₀ sur la descendance de *C.*

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

maculatus traité lors de l'essai contact. Les résultats obtenus sont illustrés dans les **figures 59** et **60**.

IV.2.3.1. Effet de la DL₃₀

Les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* (avec du thymol ou du carvacrol) sur sa dose sublétales DL₃₀ utilisée lors de l'essai contact sont illustrés dans la **figure 59**.

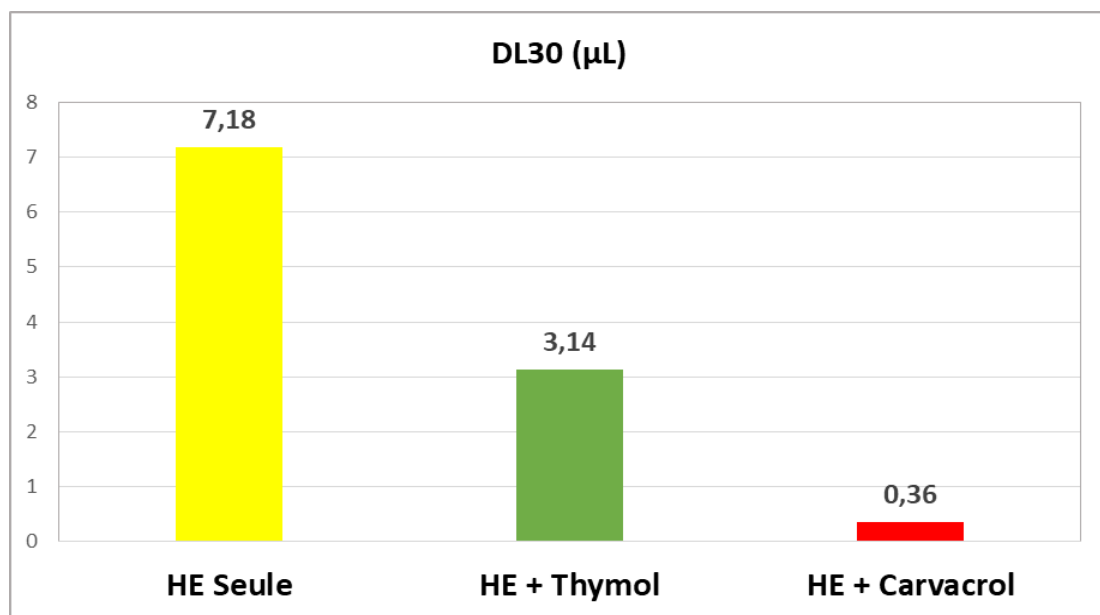


Figure 59 : Doses sublétales (DL₃₀) de l'HE d'*Ammoides atlantica* supplémentée avec du thymol et de celle supplémentée avec du carvacrol comparée à la DL₃₀ de l'HE seule utilisées lors du traitement par contact vis-à-vis de *C. maculatus*.

IV.2.3.2. Effet de la DL₅₀

Les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* (avec du thymol ou du carvacrol) sur sa dose sublétales DL₅₀ utilisée lors de l'essai contact sont illustrés dans la **figure 60**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

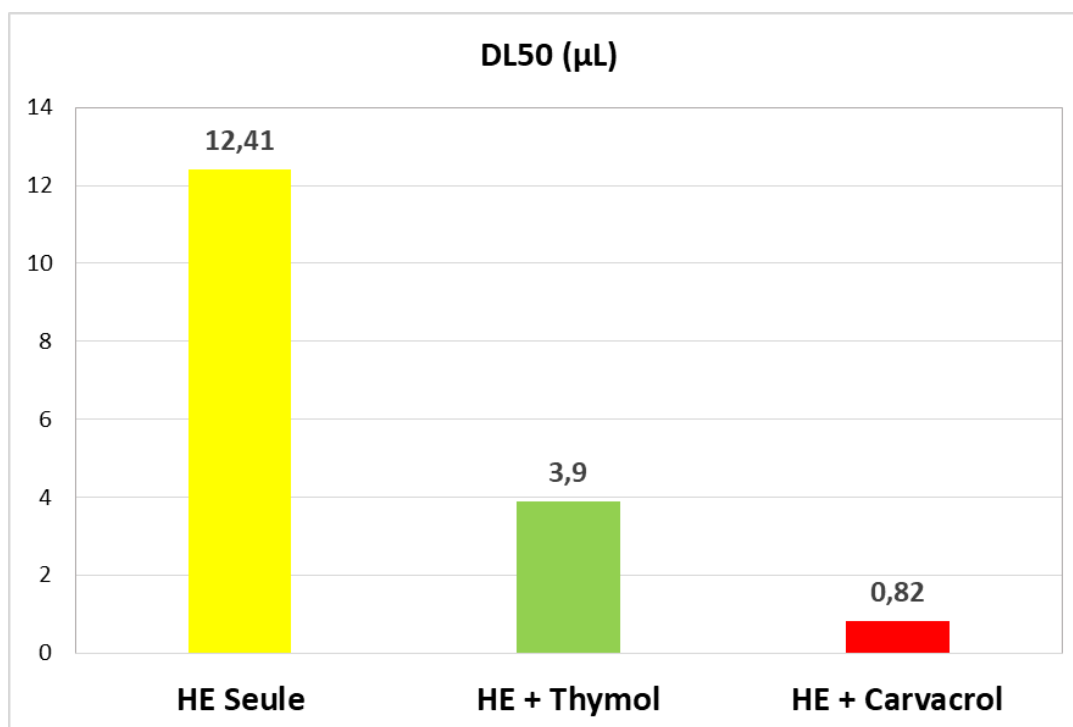


Figure 60 : Doses sublétales (DL_{50}) de l'HE d'*Ammoides atlantica* supplémentée avec du thymol et de celle supplémentée avec du carvacrol comparée à la DL_{50} de l'HE seule utilisées lors du traitement par contact vis-à-vis de *C. maculatus*.

Nous remarquons d'après la **figure 60** que c'est l'HE d'*Ammoides atlantica* enrichie avec du carvacrol qui a enregistré la DL_{50} la plus efficace, en effet, celle-ci n'est que de 0,82 µL, elle est suivie par celle de l'HE supplémentée avec du thymol. L'HE seule a par contre enregistré la DL_{50} la plus élevée et donc la moins efficace avec une valeur de 12,41 µL.

Les huiles essentielles exercent leur activité bio insecticide en interagissant avec diverses cibles du système nerveux, y compris :

- ✚ les récepteurs tyramine et octopamine (Enan, 2001 ; Kostyukovsky et al., 2002 ; Enan, 2005^{a,b} ; Price et Berry, 2006) ;
- ✚ les récepteurs GABA inotropes (Priestley et al., 2003 ; Tong et Coats, 2010) ; l'acétylcholinestérase (Grundy et Still, 1985 ; Ryan et Byrne, 1988 ; Keane et Ryan, 1999 ; Abdelgaleil et al., 2009 ; Lopez et Pascual-Villalobos, 2010) ;
- ✚ et le cytochrome P450 mono oxygénase (De-Oliveira et al., 1997).

Conclusion

L'efficacité des échantillons évaluée par les DL_{30} , DL_{50} indique que c'est la combinaison HE d'*Ammoides atlantica* enrichie avec du carvacrol qui est la plus efficace sur la bruche du pois chiche commercialisé, elle est suivie par la combinaison HE+thymol. L'enrichissement de l'huile essentielle d'*A. atlantica* a donc eu un effet considérable sur son efficacité biocide évaluée par contact vis-à-vis de *C. maculatus*. L'ajout de carvacrol a permis à l'HE d'*A. atlantica* d'avoir une DL_{50} 15 fois plus efficace que celle de l'HE seule (non supplémentée).

IV.3. Effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus* traités par inhalation

Dans le cas de la détermination de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de *C. maculatus* traités par inhalation, la dose des échantillons d'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* a été fixée à $0,173 \mu\text{L}/\text{cm}^3$ mais l'enregistrement de la mortalité a été effectué à des temps variables (6 ; 12 ; 24 et 48 heures).

IV.3.1. Résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée

Lors du test d'inhalation, les HE se volatilisent rapidement dans l'atmosphère confinée et atteignent les insectes pour exercer leur action. Les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* (avec du thymol ou du carvacrol) sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de *C. maculatus* traités par inhalation comparés aux résultats des témoins et de l'HE seule sont illustrés à l'aide d'histogrammes dans la **figure 61**.

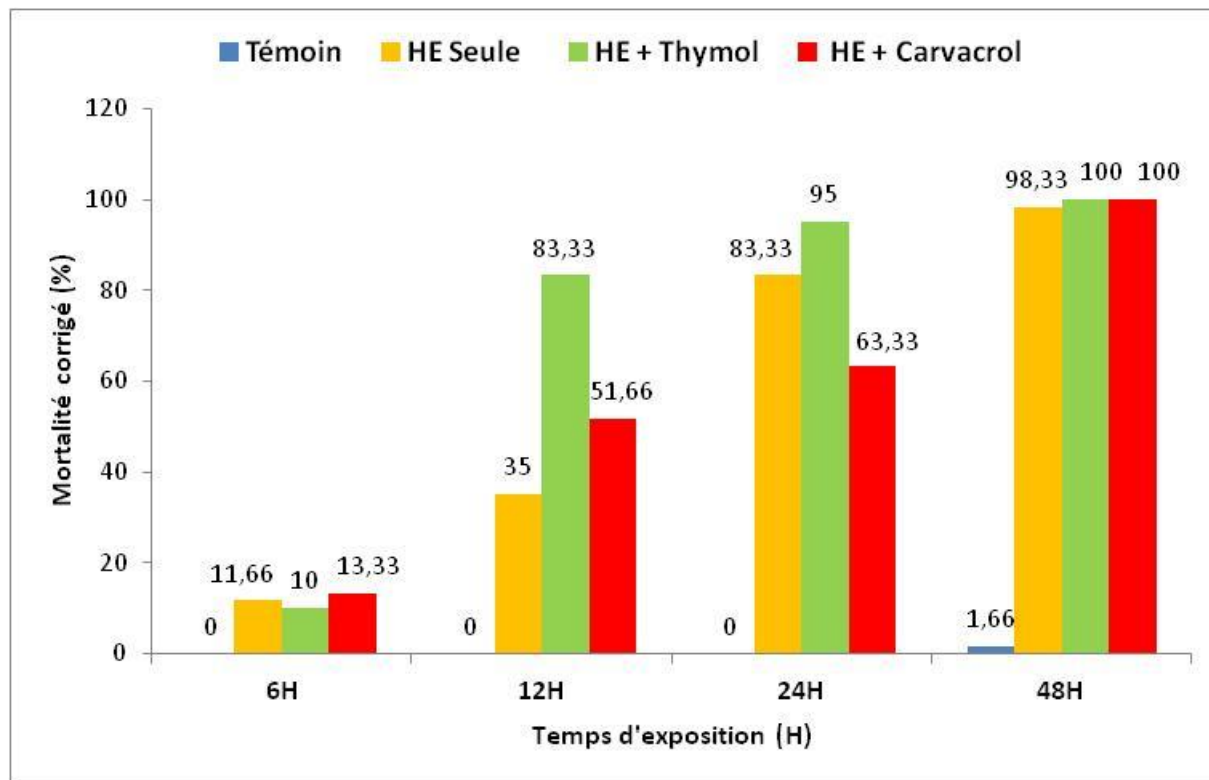


Figure 61 : Effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des adultes de *C. maculatus* traités par inhalation.

Nous observons d'après la **figure 61** que les trois échantillons d'HE d'*Ammoides atlantica* (HE seule ; HE+thymol ; HE+carvacrol) sont dotés d'une activité insecticide par effet d'inhalation après 6, 12, 24 et 48 heures d'exposition. Nous remarquons de plus que plus le temps d'exposition augmente, plus le pourcentage de la mortalité moyenne corrigée des insectes augmente. Toutefois, l'échantillon témoin n'a enregistré un pourcentage de mortalité presque insignifiant (1,66 %) qu'après 48 H d'exposition.

IV.3.2. Observation du comportement des adultes de *C. maculatus* traités par l'inhalation d'HE d'*A. atlantica* supplémentées avec du thymol ou du carvacrol

En plus de présenter les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* sur l'évolution dans le temps du pourcentage de la mortalité moyenne corrigée sous la forme d'histogrammes (**Figure 62**), nous nous sommes aussi intéressés à l'observation sous une loupe binoculaire et à l'œil nu du comportement des adultes de *C. maculatus* présents dans les différents pots traités après 6, 12, 24 et 48H d'exposition.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Ainsi, nous avons clairement observé d'une façon globale que tous les insectes ont manifesté un comportement d'agitation en essayant de fuir dans toutes les directions dès leur introduction dans les pots traités avec les différents échantillons d'HE (seule et supplémentées). Ce phénomène peut être considéré comme étant une « symptomatologie d'intolérance » et ou « une réaction de survie ».

IV.3.2.1. Après 6H d'exposition

Dans le cas de la combinaison HE+thymol : nous avons observé que les insectes étaient particulièrement assommés après 6H d'exposition, aucun individu n'arrivait à se déplacer, il était comme étourdi et retombé sur ses pattes en se mettant sur le côté. Alors que les insectes présents dans les pots témoins étaient en pleine forme et se déplaçaient très vite (**Figure 62**). Les insectes présents dans les pots traités avec l'HE seule étaient dans un état similaire à ceux présents dans les pots traités avec l'HE+thymol mais n'avaient pas pour autant la vitalité de ceux présents dans les pots témoins.

Les individus présents dans les pots traités avec de l'HE supplémentée avec du carvacrol semblaient quant à eux un peu plus assommer que les autres (sur le dos, ailes vers l'extérieur...). Nous déduisons d'après ces différentes observations et d'après les résultats obtenus et illustrés dans la **figure 62** que pour un temps d'exposition de 6H, et pour une dose de $0,086 \mu\text{L}/\text{cm}^3$, l'ensemble des échantillons ont enregistré un effet de toxicité par inhalation presque équivalent.



Figure 62 : Illustration de la différence de comportement entre les insectes de *C. maculatus* non traités (pots témoins) et ceux traités par inhalation avec de l'huile essentielle seule d'*Ammoides atlantica* après 6 heures d'exposition.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

IV.3.2.2. Après 12H d'exposition

Les insectes présents dans les pots témoins ont gardé leur vitalité, alors que ceux traités avec l'HE seule étaient dans un état d'inactivité totale (placés sur leurs dos au fond des pots et bougeaient à peine leurs pattes et leurs ailes). Les adultes de *C. maculatus* présents dans les pots traités avec l'HE supplémentée avec du thymol étaient quant à eux pratiquement tous morts et collés au fond des pots (**Figure 63**). Nous avons d'ailleurs remarqué précédemment dans la **figure 62** que c'est la combinaison HE+thymol qui a enregistré le pourcentage de mortalité corrigée le plus élevé avec une valeur de 83,33 %, elle est suivie par celle enrichie avec le carvacrol qui enregistre 51,66 % de mortalité et enfin par l'HE seule (35 %). Nous pouvons dire à ce moment-là que c'est la combinaison HE d'*Ammoides atlantica* additionnée de thymol qui est la plus toxique par inhalation (elle est 7 fois plus efficace que l'HE seule). L'effet de la supplémentation est donc très intéressant dans ce cas-là.



Figure 63 : Illustration de la différence de comportement entre les insectes de *C. maculatus* non traités (pots témoins) et ceux traités par inhalation avec de l'HE d'*Ammoides atlantica* supplémentée avec du thymol après 12 heures d'exposition.

IV.3.2.3. Après 24H d'exposition

Nous notons toujours d'après la **figure 63** représentée plus haut que les pourcentages de mortalité corrigée des différents échantillons continuent d'augmenter en fonction de l'augmentation du temps, sauf qu'après 24H d'exposition, le pourcentage de mortalité corrigée de l'HE seule (83,33 %) dépasse de loin celui de l'HE additionnée de carvacrol (63,33 %) mais n'atteint pas celui de l'HE+thymol (95 %). Nous pensons que cela est dû au fait que la combinaison HE+carvacrol soit plus volatile que l'HE seule (composée principalement de 48,5 % de thymol et de 20,4 % de p-Cymène) et qu'après 24H d'exposition son efficacité par

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

inhalation soit amoindrie. Cela est aussi justifié par la littérature où de nombreux chercheurs confirment la volatilité du carvacrol par apport au thymol et à d'autres composés chimiques présents dans les HE. Considérés comme étant morts dans la majorité des cas, les adultes de *C. maculatus* présents dans les pots traités avec l'HE seule ou avec l'HE+thymol étaient tous collés au fond des pots et que certains d'entre eux commençaient même à se dessécher.

IV.3.2.4. Après 48H d'exposition

Nous remarquons clairement d'après la **figure 63** représentée plus haut que l'ensemble des échantillons utilisés ont enregistré un pourcentage de mortalité corrigée maximal au bout de 48H d'exposition avec une valeur de 100 % pour les combinaisons HE+thymol et HE+carvacrol, et de 98,33 % dans le cas de l'HE seule. Alors que nous avons enregistré qu'un seul insecte mort dans le cas des pots témoins (non traités), le reste des insectes étaient encore actifs mais semblaient avoir un poids plus léger, nous pensons que cela serait nécessairement dû à leur perte en poids occasionnée par leur déshydratation (**Figure 64**).

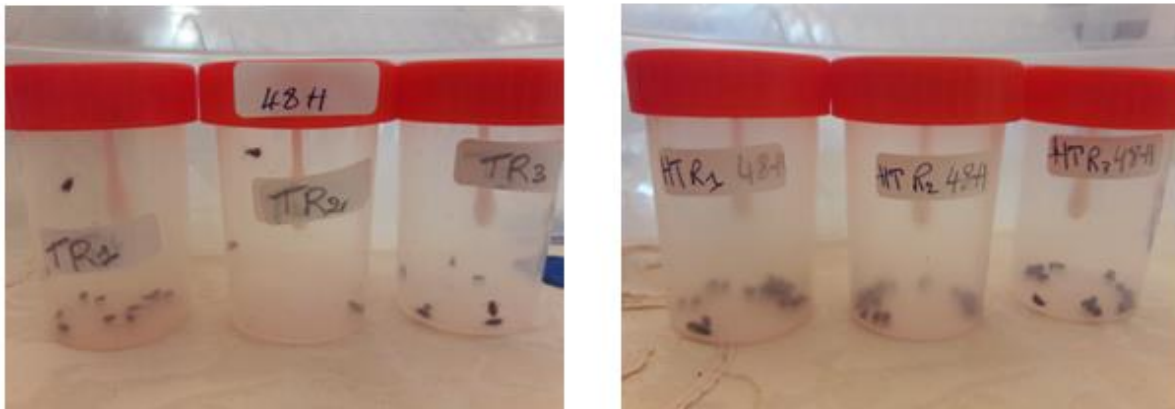


Figure 64 : Illustration de la différence de comportement entre les insectes de *C. maculatus* non traités (pots témoins) et ceux traités par inhalation avec de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* supplémentée avec du thymol après 48 heures d'exposition.

Conclusion

Nous avons remarqué lors du test d'inhalation que la combinaison HE+thymol était beaucoup plus odorante que l'HE seule et que celle supplémentée avec du carvacrol, cela pourrait peut-être expliquer le fait que ce soit la combinaison (HE+thymol) qui a été la plus efficace pour l'ensemble des doses et des durées d'exposition. Alors, que nous avons remarqué

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

que la combinaison HE+carvacrol étaient plus piquante (au touché et à force de la manipuler) que l'HE supplémentée avec du thymol, c'est ce qui justifie peut être son efficacité lors du test contact.

IV.3.3. Détermination des temps létaux

Les temps létaux TL_{30} et TL_{50} sont les temps (exprimés en heure) correspondant à une mortalité de 30 et de 50 % des insectes pour une dose bien définie.

IV.3.3.1. TL_{30}

Les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* (avec du thymol ou du carvacrol) sur son temps létaux TL_{30} (exprimé en heure) permettant de réduire 30 % de la population de *C. maculatus* comparé au temps létaux de l'HE seule sont illustrés dans la **figure 65**.

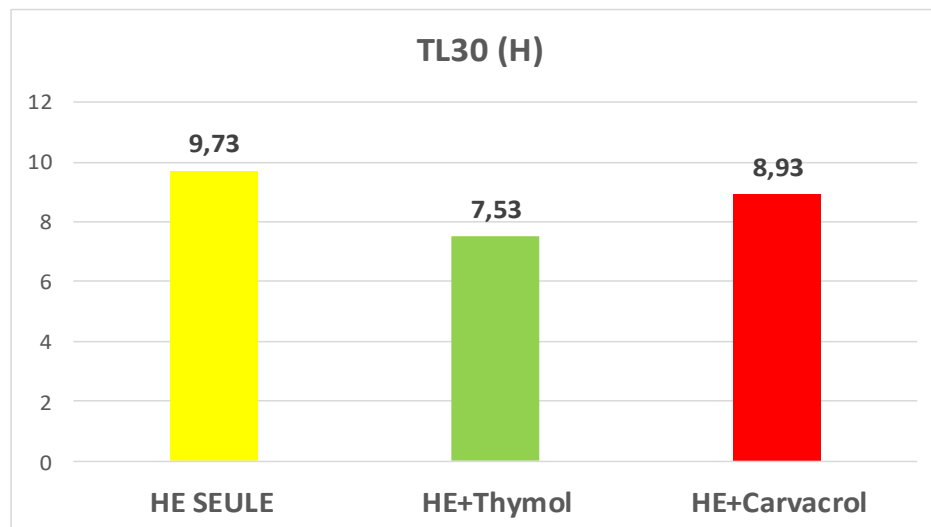


Figure 65 : Effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur les temps létaux (TL_{30}) exprimés en heure.

IV.3.3.2. TL_{50}

Les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* (avec du thymol ou du carvacrol) sur son temps létaux (exprimé en heure) permettant de réduire 50 % de la population de *C. maculatus* comparé au temps létaux de l'HE seule sont illustrés dans la **figure 66**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

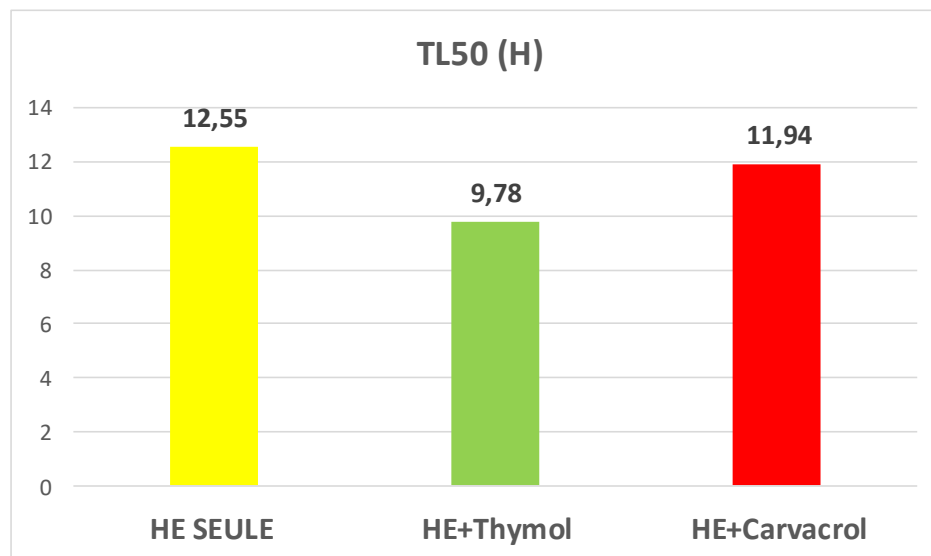


Figure 66 : Effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* sur les temps létaux (TL₅₀) exprimés en heure.

Nous remarquons d'après les **figures 65** et **66** que c'est la combinaison HE+thymol (HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du thymol) qui a enregistré les temps létaux (TL₃₀ et TL₅₀) les plus efficaces permettant la réduction de 30 et de 50 % de la population de *C. maculatus* traitée par inhalation avec des valeurs respectives de 7,35 H et de 9,78 H, elle est suivie par la combinaison HE+carvacrol et enfin par l'HE seule (non supplémentée). Nous notons toutefois que la supplémentation de l'HE avec du carvacrol n'a permis à cette huile de réduire ses temps létaux (TL₃₀ et TL₅₀) que de 1 heure seulement.

Discussion

En règle générale, la toxicité des HE et de leurs constituants chez les insectes provoquerait une action neurotoxique induisant une hyperactivité, une hypertension des jambes et de l'abdomen ainsi qu'un effet Knock-down ou d'immobilisation rapide (**Prowse et al., 2006 ; Mann et al., 2012 ; Zhao et al., 2013**). Cet effet choc s'est traduit par une immobilité instantanée des bruches adultes dès leur contact avec les vapeurs des HE supplémentées présentées dans les pots hermétiques, particulièrement dans le cas de la combinaison HE+thymol pour une dose de 12 µL et un temps d'exposition de 12 H. Il serait lié à la libération de l'acétylcholine (neuromédiateur).

Enan (2002) explique par ailleurs que l'effet des HE serait dû aux composés terpéniques qui agiraient comme des neurotoxines. En effet, l'HE seule d'*A. atlantica* est essentiellement

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

composée de monoterpènes oxygénés (55,6 %) et de monoterpènes (40,3 %). Ces composés ont été souvent caractérisés par leur activité biocide et répulsive contre de nombreux insectes ravageurs des denrées stockées (Keita *et al.*, 2000 ; Ketoh *et al.*, 2002 ; Papachristos et Stamoupolos, 2002 ; Kellouche et Soltani, 2004 ; Kellouche *et al.*, 2010). Les monoterpènes, tels que le thymol, le carvacrol et le α -terpinéol, reconnus par les récepteurs de la tyramine (un précurseur de l'octopamine) influenceraient la production de l'AMPc et du calcium au niveau cellulaire ou intracellulaire (Enan, 2005^b).

Don Pedro (1989) indique que l'activité insecticide des huiles essentielles est essentiellement due à la toxicité directe des composés phénoliques présents dans leurs compositions. Coats (1991) a indiqué pour sa part que cet effet toxique provenait des monoterpènes oxygénés et non oxygénés. Le limonène ainsi que le linalol sont deux monoterpènes connus pour leur toxicité en vers les insectes, ils ont été ajoutés à la liste des insecticides botaniques commerciaux (Abdelgaleil, 2010). Le limonène (monoterpènes hydrocarboné) entraînerait une augmentation de l'activité des nerfs sensoriels, provoquant ainsi un déficit de coordination et une convulsion de l'insecte (USEPA, 1994). Alors que le linalol (alcool monoterpénique) agirait sur le système nerveux affectant ainsi le transport ionique et la libération d'acétylcholine estérase chez les insectes (Re *et al.*, 2000).

Conclusion

Nous déduisons enfin que la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol a donc eu un effet énergiquement important par rapport au témoin quant à l'augmentation du pourcentage de mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* F. lors des tests de contact et d'inhalation. Nous pouvons expliquer les différences entre les pourcentages de mortalité corrigée enregistrés dans les tests contact et inhalation par : la différence de sexe entre les insectes (nous n'avons pas fait de distinction entre les mâles et les femelles dans ces tests-là) ; la vigueur des individus ; et la composition chimique de l'HE étudiée.

IV.4. Effet de la supplémentation de l'huile essentielle avec du thymol ou du carvacrol sur la fécondité des femelles

Nous nous sommes intéressés dans cette partie de l'étude à l'évaluation de l'effet de la supplémentation (enrichissement avec du thymol ou du carvacrol) de l'HE d'*A. atlantica* sur la fécondité des femelles de *C. maculatus*, nous avons pour cela estimé cet effet sur : le nombre

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

d'œufs total pondus jusqu'à la mort des femelles et sur le nombre d'œufs total pondus par chaque femelle, nous avons terminé par l'estimation de l'effet de cette supplémentation sur l'évolution dans le temps de la fécondité des femelles de *C. maculatus*. L'ensemble des résultats ont été discuté conjointement à la fin de cette partie tout en les comparant à ceux obtenus pour les femelles non traitées (témoins) et traitées avec l'HE seule (non supplémentée).

IV.4.1. Résultats de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle sur le total des œufs pondus

Les résultats de l'étude de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur le total des œufs pondus jusqu'à la mort des femelles de *C. maculatus* F. comparés au nombre total d'œufs pondus par *C. maculatus* non traités (témoins) et traités avec l'HE seule (non supplémentée) sont illustrés dans la **figure 67**.

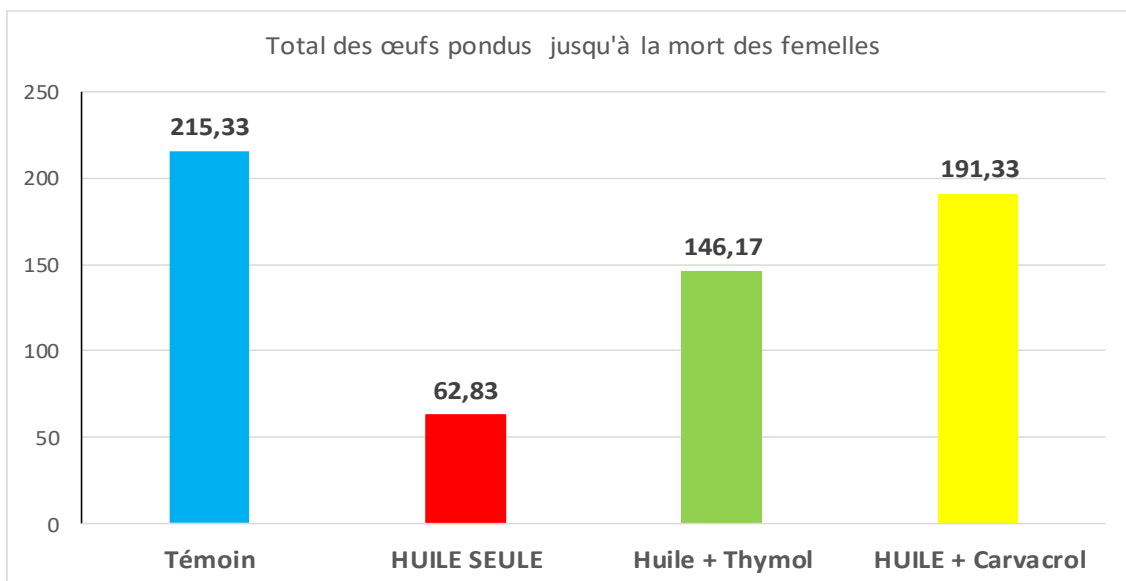


Figure 67 : Effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur le total des œufs pondus jusqu'à la mort des femelles.

IV.4.2. L'effet de la supplémentation sur le nombre d'œufs pondus par femelle

Les résultats de l'étude de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur le nombre total d'œufs pondus par femelle traitée comparés au nombre total d'œufs pondus par femelle non traitée (témoins) et traitée avec l'HE seule (non supplémentée) sont illustrés dans la **figure 68**.

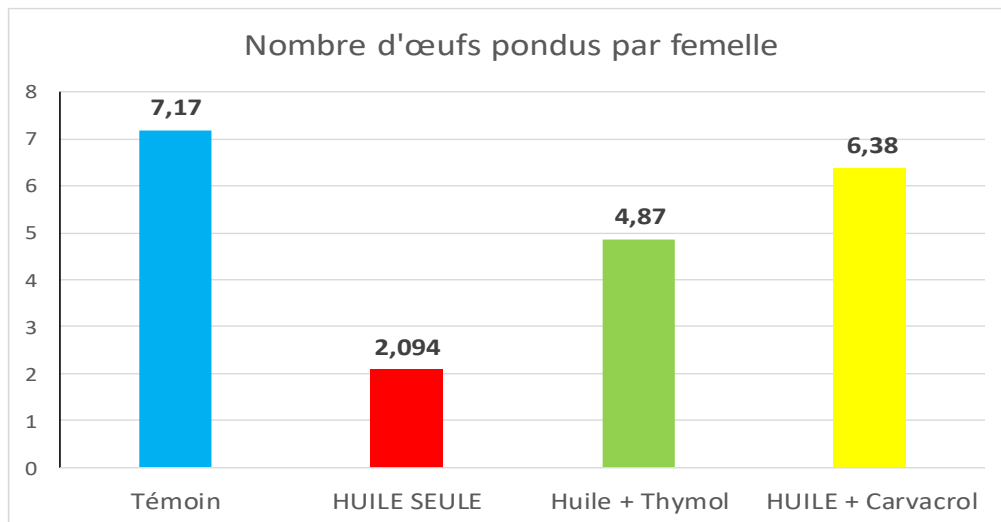


Figure 68 : Effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur le nombre d'œufs pondus par femelle.

IV.4.3. Effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* sur l'évolution dans le temps de la fécondité des femelles de *C. maculatus*

La comparaison de l'évolution dans le temps de la fécondité des femelles de *C. maculatus* dans le lot témoin et dans les différents lots traités à la DL_{30} des différents échantillons d'huile essentielle d'*Ammoides atlantica* seule et supplémentation avec du carvacrol ou du thymol est illustrée dans la **figure 69**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

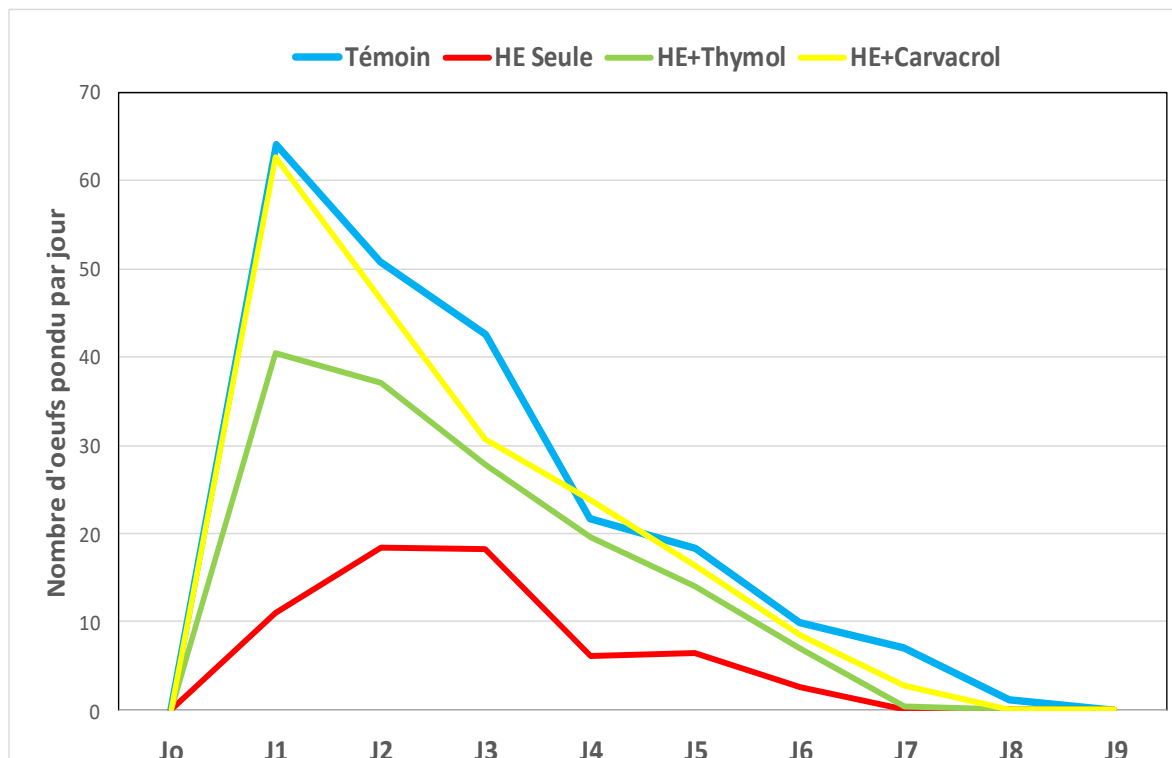


Figure 69 : Comparaison de l'évolution dans le temps de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur la fécondité des femelles dans le lot témoin et le lot traité avec l'HE seule à la DL₃₀ des échantillons.

Discussion

Les résultats obtenus dans les **figures 67, 68 et 69** nous permettent de relever clairement que tous les échantillons étudiés de l'HE d'*A. atlantica* affectent la fécondité des femelles adultes de *Callosobruchus maculatus*. On note en effet une brusque diminution de la fécondité des femelles dans les trois lots traités à la dose sub létale (DL₃₀) d'HE d'*Ammoides atlantica* (seule et supplémentée).

Il est important d'indiquer d'après la **figure 69** que c'est l'HE seule d'*Ammoides atlantica* qui a donné les meilleurs résultats, elle est suivie par celle enrichie avec du thymol (146,17 œufs pondus) puis par celle enrichie avec du carvacrol (191,33 œufs pondus). En effet, les femelles traitées avec de l'HE seule d'*A. atlantica* n'ont pu pondre qu'un maximum de 18 œufs au courant du 2^{ème} et du 3^{ème} jour. Alors que, les femelles présentes dans le lot témoin (non traité) sont celles qui ont donné le plus grand nombre d'œuf pondu jusqu'à la mort des femelles enregistrant 215,33 œufs (dont 50 œufs lors du 2^{ème} jour) contre 62,83 œufs pondus dans le

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

cas de l'HE seule. Nous déduisons ainsi que les femelles traitées avec de l'HE seule ont pondu 3 fois moins d'œufs que celles qui n'ont pas été traitées.

L'observation essentielle qui ressort ainsi de ce test est que les HE étudiées contiennent des composants biochimiques qui agissent négativement sur la fécondité des femelles de *C. maculatus* et que la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol n'a pas eu d'effet énergétique du moment où c'est l'HE pure qui a enregistré les meilleurs résultats. Les HE peuvent réduire l'appétit des insectes par altération des protéines disponibles (ce qui induirait l'inhibition de leur croissance) ou agir par action directe (**Harborne, 1993**).

L'HE supplémentée avec du thymol s'est toutefois montrée plus toxique que celle additionnée de carvacrol. L'association HE d'*A. atlantica* avec le thymol s'est donc montrée plus toxique que la combinaison HE+carvacrol. On pourrait croire ainsi que le thymol associé à d'autres composants chimiques présents dans l'HE pure d'*A. atlantica* a formé une association qui s'est révélée être plus toxique lors du test de l'inhalation et du test de l'évaluation de la fécondité des femelles de *C. maculatus* alors que c'est la combinaison HE associée au carvacrol qui s'est montré beaucoup plus toxique lors du test contact. **Regnault-Roger et Hamraoui (1995)** ont observé l'effet du binalool, du thymol et du carvacrol sur la fécondité de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*).

La réduction drastique de la ponte observée dans le cas de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol résulterait de la mort précoce de certaines femelles ou de l'inhibition de l'accouplement chez les adultes. De nombreux chercheurs ont rapporté des résultats similaires. Une étude a révélé que des extraits d'une *Zygophyllaceae* pourraient constituer un biopesticide efficace pour le contrôle des populations de *Schistocerca gregaria*. Elle indique que l'existence de certains composés toxiques ayant induit l'accumulation de l'acétylcholine au niveau des synapses provoquerait une paralysie, une ataxie et même la mort de l'insecte (**Ghoneim et al., 2012**). L'inhibition de la ponte des femelles de *C. maculatus* serait liée également à une perturbation de l'oviposition due aux vapeurs des HE.

Nyamador (2009) suggère que les huiles essentielles provoqueraient la rétention des œufs par incapacité physique d'oviposition chez les femelles de la bruche. Les interventions des huiles essentielles sur les pars intercerebralis perturberaient fortement l'activité ovarienne et induiraient une accumulation du neurosécrétat. Ce blocage provoquerait chez la femelle de bruches la non contraction des sphincters susceptibles de pousser les œufs de la bourse

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

copulatrice vers l'orifice génital pour leur émission. Par ailleurs, selon **Cassier et al., (1997)**, la non sécrétion des neurohormones par les *Corporaallata* (hormones stimulatrices de la ponte) empêcherait les contractions spontanées des oviductes latéraux et l'activation du dernier ganglion abdominal, réglant par voie humorale l'émission finale des œufs.

Seri Kouassi et al., (2004) ont expliqué l'inhibition de l'oviposition par les huiles essentielles chez *C. maculatus* par la présence d'ovocytes mûrs dans les oviductes et dans la bourse copulatrice de l'insecte ce qui inhiberait le contrôle du système gonadotrope sur la libération de l'hormone de la ponte. La rétention des œufs induirait ainsi une inhibition de l'activité ovarienne.

IV.5. Effet de la supplémentation de l'huile essentielle sur la fertilité des femelles de *Callosobruchus maculatus*

IV.5.1. Résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* sur le taux d'éclosion

La fertilité est le pourcentage d'œufs éclos par rapport aux œufs pondus par femelle. Dans le but d'être plus précis nous avons fait le choix de représenter le taux d'éclosion maximale des œufs (exprimé en %) au 8^{ème} jours. Les résultats de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur le taux d'éclosion moyen des œufs des femelles de *Callosobruchus maculatus* traitées ont été comparés à ceux obtenus par les femelles non traitées (témoin) et par celles traitées avec l'HE seule (non supplémentée), ces résultats sont illustrés dans la **figure 70**.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

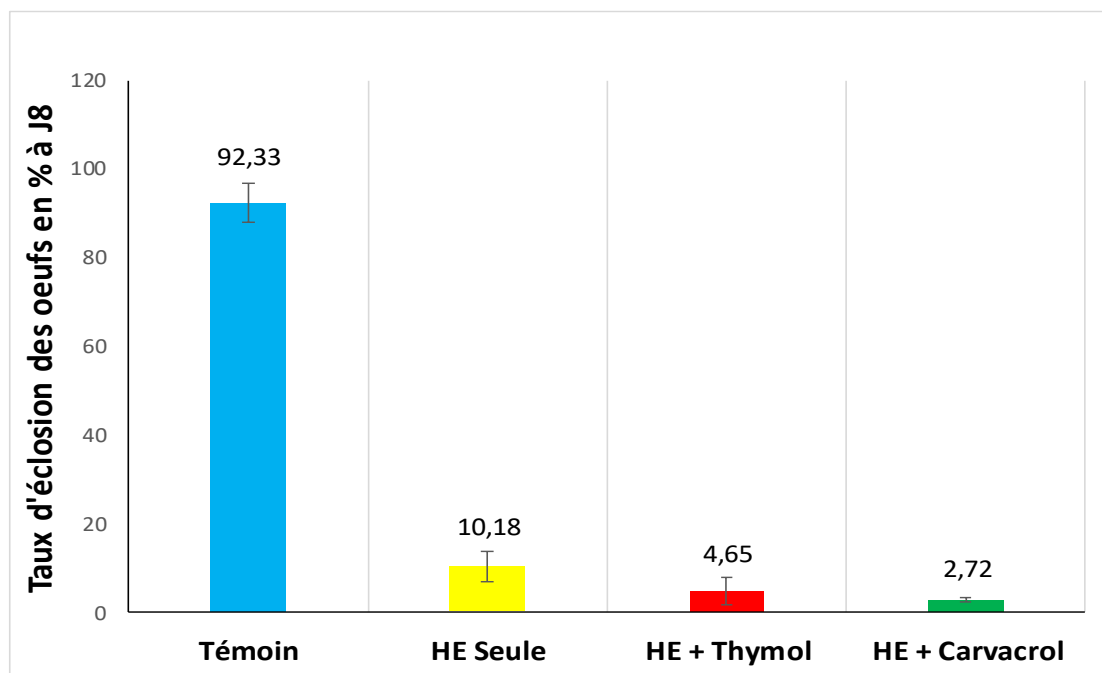


Figure 70 : Taux d'éclosion maximale des œufs (en %) de *Callosobruchus maculatus* dans le lot témoin et les lots traités à la DL₃₀ des différents échantillons d'HE (seule et supplémentée).

Lors de la comparaison des taux d'éclosion maximale des œufs (%) du lot témoin et des différents échantillons d'HE d'*A. atlantica* (seule et supplémentée), nous avons clairement remarqué d'après la **figure 70** que l'HE seule d'*Ammoides atlantica* a permis une importante diminution du taux d'éclosion maximale des œufs (%). D'autre part, la supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* a eu un effet énergiquement important en réduisant d'une manière drastique le taux d'éclosion des œufs de *C. maculatus* et en retardant l'apparition des larves néonates. Ainsi, le taux d'éclosion maximale a été enregistré par l'échantillon témoin (non traité) avec une valeur de 92,33 %. Ce résultat confirme la forte fécondité ainsi que la très bonne fertilité de la souche de *C. maculatus* F. sélectionnée pour notre étude.

Au 8^{ème} jour, le taux d'éclosion maximale des œufs est passé d'un taux de 10,18 % enregistré par l'échantillon traité avec la DL₃₀ de l'HE seule à un taux de 4,65 % pour les femelles traitées avec la DL₃₀ de l'HE supplémentée avec du thymol pour arriver enfin à un taux de 2,72 % pour celles traitées avec la DL₃₀ de l'HE additionnée de carvacrol.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Conclusion

Nous déduisons enfin que c'est l'association (ou appelée aussi combinaison) HE+carvacrol qui est la plus toxique vis-à-vis du taux d'éclosion moyen des œufs de *C. maculatus*. Elle est suivie par l'association HE+thymol et enfin par l'HE seule d'*A. atlantica*.

IV.5.2. Observations de l'effet de l'enrichissement de l'HE d'*A. atlantica* sur l'évolution des œufs de *C. maculatus*

En plus d'évaluer l'effet de la supplémentation des HE d'*A. atlantica* sur la fertilité des femelles de *Callosobruchus maculatus* estimée à travers le calcul du taux d'éclosion maximale des œufs (en %) des différents échantillons étudiés, nous avons procédé à différentes observations sous une loupe binoculaire (G x 40) de l'effet de cet enrichissement sur l'évolution des œufs au cours de leur cycle de développement (de la **figure 71** jusqu'à la **figure 81**).



Figure 71 : Œufs fraîchement pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec différents échantillons d'HE d'*A. atlantica* (seule ou supplémentées avec du thymol ou du carvacrol) (Gr. x 40).



Figure 72 : Œuf en phase d'avortement au 4eme jour pondu par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol (Gr. x 40).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

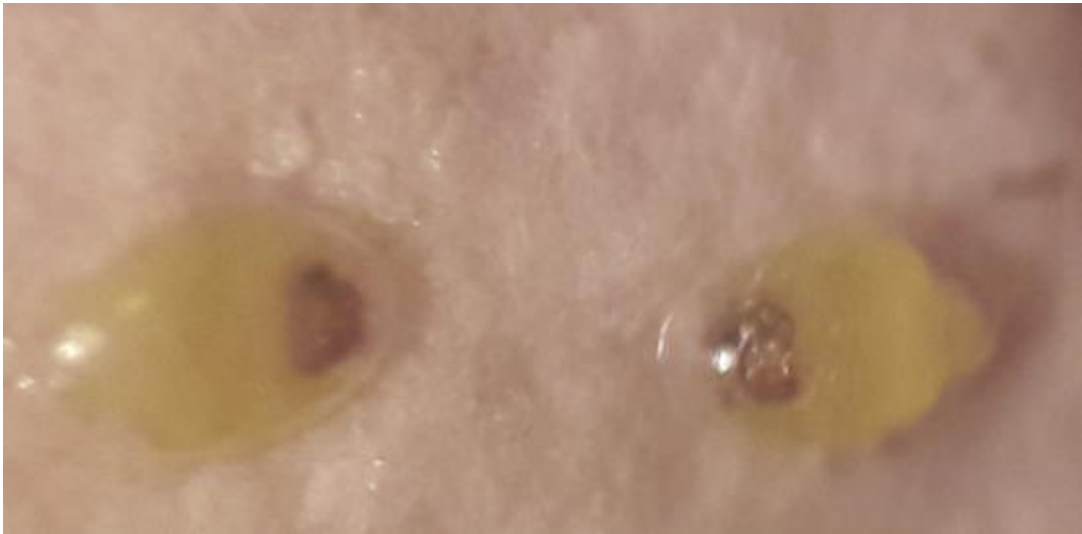


Figure 73 : Éclosion au 5eme jour des œufs pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du thymol (Gr. x 40).



Figure 74 : Œufs au 7ème jour pondu par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE seule d'*A. atlantica* (Gr x 40).



Figure 75 : Œufs au 7ème jour pondu par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du thymol (Gr x 40).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale



Figure 76 : Éclosion au 22ème jour d’œufs pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l’HE seule d’*A. atlantica* (Gr. x 40).



Figure 77 : Eclosion d’un œuf et avortement de l’autre au 22ème jour d’œufs pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l’HE d’*A. atlantica* supplémentée avec du thymol (Gr. x 40).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale



Figure 78 : Avortement au 22^{ème} jour des œufs pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol (Gr. x 40).



Figure 79 : Œufs au 20^{ème} jour pondus par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol (Gr. x 40).



Figure 80 : Œuf au 20^{ème} jour pondu par une femelle de *C. maculatus* traitée avec l'HE seule d'*A. atlantica* (Gr. x 40).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Nous remarquons d'après les figures (allant de la **figure 71** à la **figure 80**) que l'état morphologique des œufs au courant du même jour du cycle de développement est différent pour chaque échantillon d'HE d'*A. atlantica* (seule et supplémentées). Nous notons aussi des différences importantes entre les œufs pondus par des femelles traitées avec la combinaison HE+thymol et ceux pondus par celles traitées avec la combinaison HE+carvacrol. Des cas d'avortement (**Figure 78 et 77**) ont aussi été enregistrés.

Les œufs éclos viables sont reconnus, soit par la présence de la larve visible à travers le chorion (**figure 73 ; 76**), ou bien par leur aspect blanc opaque dû à l'accumulation d'une poudre blanche (**figure 74**) résultant de l'activité de la larve néonate qui creuse sa galerie dans la graine (**Kellouche et al., 2004**).

Discussion

Ketoh et al., (2002) affirment que les œufs de *C. maculatus* sont plus sensibles aux substances insecticides que les adultes. Les vapeurs des huiles essentielles agissent à travers le tube respiratoire de l'œuf de *C. maculatus* (**Wightman et Southgate, 1982 ; Credland, 1992**). L'activité respiratoire des œufs de *C. maculatus* est six fois plus faible que celle des larves néoformées, ce qui engendre une faible activité des mono oxygénases. Le positionnement des œufs à la surface des graines augmenterait la sensibilité des ces derniers aux vapeurs toxiques des HE au contraire des larves néonates qui n'ont pas de barrière imperméable et qui sont directement exposées à ces vapeurs. Le stade œuf de *C. maculatus* est toujours très sensible à l'air qui entoure les œufs fraîchement pondus.

Ketoh et al., (2006) ont montré que l'huile essentielle de *O. basilicum* a un effet inhibiteur sur les canaux sodiques. Des changements peuvent alternativement se produire au cours de l'embryogenèse et faciliter la diffusion des huiles essentielles dans les œufs, affectant ainsi les processus vitaux et physiologiques de l'embryogenèse.

L'effet ovicide mis en évidence dans notre étude serait probablement la conséquence de la pénétration de la fraction volatile de l'huile essentielle (notamment le carvacrol) dans les œufs à travers le chorion bloquant ainsi l'embryogenèse. **Don Pedro (1996)** avance ainsi l'hypothèse selon laquelle l'activité des HE serait due à la toxicité directe de leurs composés qui inhiberaient l'activité métabolique des œufs par pénétration à travers le tube respiratoire.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Conclusion

Nous déduisons enfin que la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol a eu un effet clairement observable sous la loupe binoculaire sur l'état des œufs au cours de leur développement.

IV.6. Test de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur l'émergence des adultes de *Callosobruchus maculatus*

IV.6.1. Evaluation du pourcentage d'émergence

Le taux d'émergence (TE) en % est déterminé en établissant le rapport entre le nombre total d'adultes émergés et le nombre total d'œufs pondus. Les résultats de l'effet de la dose sub létale (DL₃₀) de l'huile essentielle d'*A. atlantica* seule et enrichie avec du carvacrol et/ou du thymol sur le taux d'émergence (TE) des adultes de *C. maculatus* sont illustrés dans la **figure 81**.

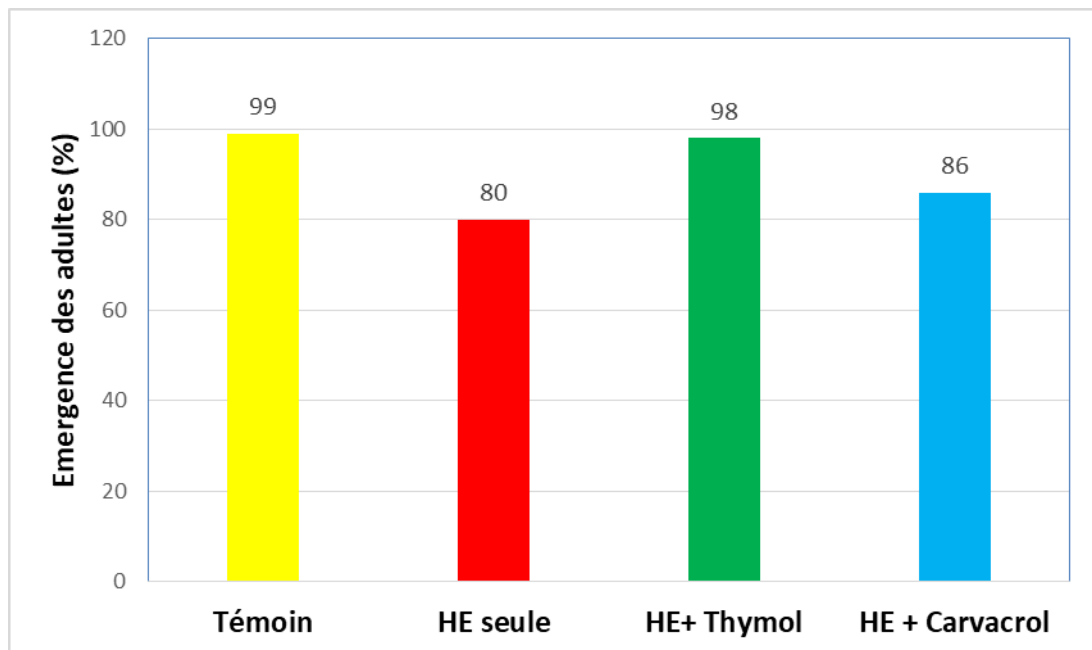


Figure 81 : Résultats de l'effet de la supplémentation de l'huile essentielle d'*A. atlantica* sur le pourcentage de l'émergence des adultes de *C. maculatus*.

D'après la **figure 81**, le traitement des graines de pois chiche (sains) avec la DL₃₀ de l'HE d'*A. atlantica* (HE seule et HE supplémentée) n'a pas eu d'effet important sur l'émergence des adultes de *C. maculatus*, le pourcentage de l'émergence dans le cas de l'HE supplémentée

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

avec du thymol (98 %) est en effet très proche de celui du témoin (99 %). L'HE seule non supplémentée a toutefois enregistré le pourcentage d'émergence le plus bas (80 %) par rapport aux restes des échantillons, mais ce dernier reste quand même élevé. Lors de nos observations, nous avons toutefois remarqué que le traitement avec l'HE d'*A. atlantica* avait retardé l'émergence, nous avons donc fait le choix d'évaluer l'émergence moyenne des adultes par jour.

IV.6.2. Evaluation de la moyenne des émergences par jour

Dans le but de mettre en évidence le retard de l'émergence des adultes de *C. maculatus* F., nous avons fait le choix de présenter les résultats de l'émergence moyenne des adultes par jour dans le cas des échantillons traités avec l'HE d'*A. atlantica* (seule et supplémentée) sous la forme d'histogrammes et de les comparer avec ceux obtenus dans les lots témoins (**Figure 82**).

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

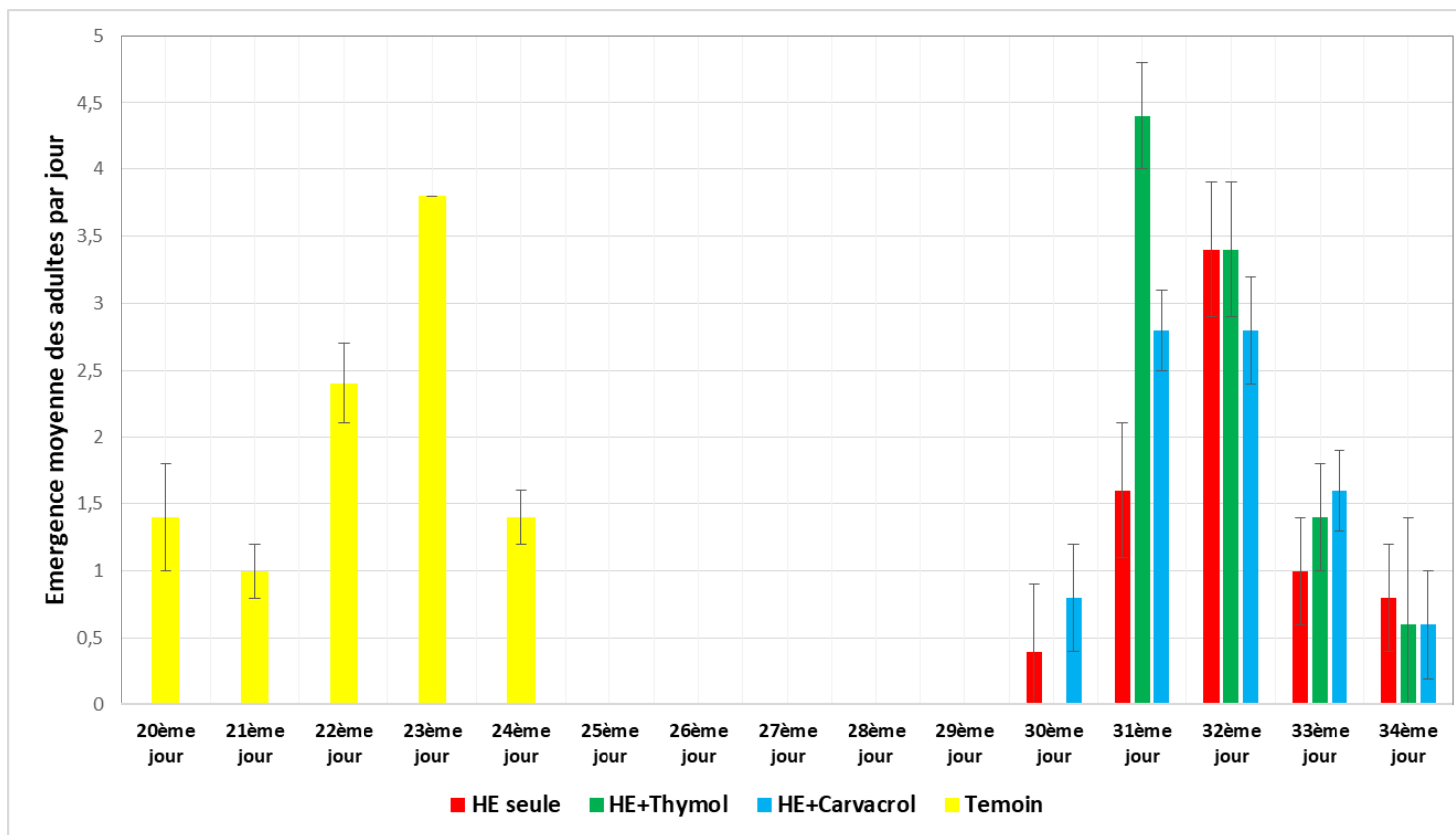


Figure 82 : Effet de la supplémentation avec du carvacrol ou du thymol de l'HE d'*A. atlantica* sur l'émergence moyenne des adultes de *C. maculatus* par jour.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

Il est intéressant d'indiquer qu'il y'a eu un retard d'émergence des adultes dans le cas des échantillons traités avec l'HE d'*A. atlantica* seule ou supplémentée (avec du thymol ou du carvacrol), nous remarquons en effet d'après la **figure 82** que l'émergence des adultes dans les lots témoins a débuté le 20ème jour et s'est étalée jusqu'au 24ème jour, alors qu'elle n'a débuté qu'à partir du 30ème jour pour s'arrêter au 34^{ème} jour dans le cas des échantillons traités avec HE seule ou enrichie.

Discussion

Nous n'avons pas retrouvé de publications scientifiques (nationale ou internationale) abordant l'effet insecticide de l'HE d'*Ammoides atlantica* (ou d'autres espèces d'*Ammoides*) sur *C. maculatus* F. pour pouvoir comparé nos résultats. La retard de l'émergence des adultes enregistré dans le cas des échantillons étudiés pourrait s'expliquer en partie par la diffusion des vapeurs des huiles essentielles à travers le chorion ou le siphon respiratoire des œufs et qui affecterait (ou retarderait) les processus physiologiques et biochimiques associés au développement embryonnaire (**Raja et al., 2001**). La DL₃₀ de l'HE d'*A. atlantica* (seule et supplémentée avec du thymol ou du carvacrol) n'a pas eu d'effet important sur l'émergence des adultes de *C. maculatus*. **Ajayi et al., (2014)** affirment en effet que seuls certains monoterpènes tels que l'eugénol et la menthone inhiberaient complètement l'émergence des adultes de *C. maculatus*. Alors que **Ketoh et al., (2002)** affirment que les œufs de *C. maculatus* sont plus sensibles aux substances insecticides que les adultes. Ces chercheurs ont ainsi indiqué que l'exposition des œufs de *C. maculatus* aux huiles essentielles de *C. nardus* et de *O. basilicum* à faibles doses a généré des taux de mortalité importants, et que ce même traitement a limité la survie des larves dans les graines. **Loni et Panahi (2014)** indiquent par ailleurs que cette sensibilité pourrait aussi être due au fait que le tégument de la graine agit comme barrière à la pénétration des HE.

Conclusion

Les échantillons d'HE d'*Ammoides atlantica* utilisés lors de cette étude (HE seule, HE+thymol et HE+carvacrol) ont retardé l'émergence mais ne l'ont pas réduite, nous déduisons ainsi que l'HE d'*A. atlantica* utilisée seule ou supplémentée avec du thymol ou du carvacrol a eu effet sur l'émergence des adultes de *C. maculatus* en retardant leur apparition.

Chapitre II – Résultats et discussion

Partie II – Étude expérimentale

IV.6.3. Evaluation du sex-ratio

Le sex-ratio noté SR représente un rapport donnant une information sur les proportions respectives de mâles et de femelles dans un groupe d'individus donné. Dans le but de mieux apprécier l'effet que pourrait avoir la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du carvacrol ou du thymol sur la détermination du sex-ratio de *C. maculatus* F., nous avons fait le choix de regrouper l'ensemble des résultats obtenus dans un tableau comparatif (**tableau 25**).

Tableau 25 : Comparaison des sex-ratio (SR) obtenus pour les différents échantillons étudiés.

	Echantillons étudiés			
	Témoin	HE Seule	HE+Thymol	HE+ Carvacrol
Sex-ratio (SR)	1,33	1,25	0,88	0,87

Discussion

Le sex-ratio (SR) est le rapport entre le nombre de mâles et de femelles présents dans le même ensemble d'individus. Lorsque $SR = 1$, nous pouvons dire qu'il y a un équilibre entre les deux sexes (autant de mâles que de femelles). S'il est supérieur à ce chiffre, cela dénote une prépondérance de mâles et réciproquement.

Nous remarquons d'après le **tableau 25** que les sex-ratios de l'échantillon témoin et de l'HE seule d'*A. atlantica* sont supérieurs à 1, cela signifie qu'il y a eu plus de mâles émergés que de femelles, alors que c'est le cas contraire qui s'est produit lorsque nous avons enrichi les deux autres échantillons d'HE d'*A. atlantica* avec du thymol et/ou du carvacrol.

Conclusion

Nous pouvons ainsi dire que la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du carvacrol ou du thymol a eu un effet positif sur la réduction du nombre de femelle de *C. maculatus*, il semblerait donc qu'elle agisse en faveur des femelles, cela entrainerait ainsi un déséquilibre du sex-ratio qui engendrera une diminution du potentiel reproducteur de l'espèce.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le prétraitement de la plante de *T. algeriensis* par les rayons gamma n'a pas d'effet sur son rendement en huile essentielle. Par contre, les rendements d'extraits éthanoliques de *T. algeriensis* diminuent avec l'augmentation de la dose du rayonnement gamma. L'irradiation à une dose de 10 kGy a augmenté la teneur en phénols totaux. L'irradiation gamma des échantillons (plantes) de *T. algeriensis* a produit des changements mineurs dans la composition quantitative de certains constituants des HE obtenues. Les différences les plus importantes ont été enregistrées pour les constituants les plus importants des HE de *T. algeriensis*.

Le prétraitement par irradiation gamma dans le cas de cette étude diminue l'activité de piégeage des radicaux DPPH des huiles essentielles des échantillons de *T. algeriensis* irradiés à des doses de 10 et de 20 kGy. Le pouvoir réducteur de tous les échantillons irradiés aux rayons gamma a significativement augmenté par rapport à celui du témoin (non irradié). Par contre, l'inhibition de la peroxydation lipidique a fortement diminué par rapport à l'HE de l'échantillon non irradié. Les activités antioxydantes des HE de *T. algeriensis* évaluées par le test de l'inhibition du radical ABTS⁺ ont généralement augmenté avec l'accroissement des doses d'irradiation. Cette augmentation a atteint son maximum aux doses de 10 et de 20 kGy. En ce qui concerne l'inhibition de la peroxydation lipidique évaluée par le test TBARS des HE de *T. algeriensis* (échantillons irradiés et non irradiés), on observe un comportement opposé à celui du test ABTS⁺ pour les doses d'irradiation de 20 et de 30 kGy.

L'irradiation à une dose de 10 kGy est la plus appropriée pour la décontamination tout en conférant à l'extrait éthanolique de *T. algeriensis* une meilleure propriété antioxydante. Cette étude a permis de montrer que l'irradiation gamma à 10 kGy a amélioré les propriétés antioxydantes des extraits éthanoliques de *T. algeriensis*. Néanmoins, d'autres recherches sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes impliqués dans les effets du traitement par l'irradiation gamma chez les PAM étant donné que les résultats de la littérature ne sont souvent pas en accord et dépendent d'une matrice à l'autre, et que de nombreux chercheurs ont également trouvé des résultats qui sont en parfait désaccord en étudiant une même plante issue de différentes origines.

L'effet de l'addition de différents teneurs de thymol (10, 30 et 50 %) sur l'activité antioxydante de l'HE des baies de *Juniperus phoenicea* a montré une synergie positive se traduisant par une nette augmentation de l'activité antioxydante de cette dernière.

Généralement, le thymol seul a toutefois enregistré pour l'ensemble des tests une activité antioxydante plus élevée par rapport à l'ensemble des échantillons.

L'effet de l'addition d'une teneur de 30 % de thymol à l'HE des baies de *J. phoenicea* se traduit par une amélioration nettement observable de son activité antimicrobienne sur l'ensemble des souches testées.

La supplémentation de l'HE d'*Ammoides atlantica* avec du carvacrol a eu un effet positif. En effet, la combinaison HE+carvacrol s'est révélé être la plus efficace pour toutes les concentrations. Le BHT a enregistré l'IC₅₀ la plus basse, il est suivi par le thymol seul, qui est à peu près 5 fois plus efficace que le carvacrol seul. Le thymol seul est suivi par l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du carvacrol, l'HE seule, l'HE d'*A. atlantica* supplémentée avec du thymol et enfin le carvacrol seul. A l'issue du test de piégeage du radical ABTS^{•+}, le carvacrol seul s'est révélé être légèrement plus efficace que le thymol seul. L'ajout de carvacrol ou de thymol n'a pas eu d'effet appréciable quant à l'accroissement de l'efficacité de piégeage du radical ABTS^{•+} par l'HE seule d'*A. atlantica*.

La supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol a donc eu un effet énergiquement important par rapport au témoin quant à l'augmentation du pourcentage de mortalité des adultes de *Callosobruchus maculatus* F. lors des tests de contact et d'inhalation. La combinaison HE+carvacrol est 8 fois plus efficace que l'HE seule pour une même dose et un même temps d'exposition.

L'efficacité des échantillons évaluée par les DL₃₀, DL₅₀ indique que c'est la combinaison HE d'*Ammoides atlantica* enrichie avec du carvacrol qui est la plus efficace sur la bruche du niébé, elle est suivie par la combinaison HE+thymol. L'enrichissement de l'HE d'*A. atlantica* donc eu un effet considérable sur son efficacité biocide évaluée par contact vis-à-vis de *C. maculatus*. L'ajout de carvacrol a permis à l'HE d'*A. atlantica* d'avoir une DL₅₀ 15 fois plus efficace que celle de l'HE seule (non supplémentée). Lors du traitement par inhalation, c'est la combinaison HE+thymol qui a été la plus efficace pour l'ensemble des doses et des durées d'exposition.

L'HE seule d'*A. atlantica* qui a donné les meilleurs résultats concernant l'évolution dans le temps de l'effet de la supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol sur la fécondité des femelles, elle est suivie par celle enrichie avec du thymol puis par celle enrichie avec du carvacrol.

L'association HE d'*A. atlantica*+carvacrol s'est révélée être la plus toxique vis-à-vis du taux d'éclosion moyen des œufs de *C. maculatus*. Elle est suivie par l'association HE+thymol et enfin par l'HE seule. La supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du thymol ou du carvacrol a eu de plus un effet clairement observable sous la loupe binoculaire sur l'état des œufs au cours de leur développement.

Les échantillons d'HE d'*A. atlantica* (HE seule, HE+thymol et HE+carvacrol) ont retardé l'émergence mais ne l'ont pas réduite. L'HE d'*A. atlantica* utilisée seule ou supplémentée avec du thymol ou du carvacrol n'a pas eu d'effet sur l'émergence des adultes de *C. maculatus*.

La supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* avec du carvacrol ou du thymol a eu un effet positif sur la réduction du nombre de femelle émergé de *C. maculatus*, cela a entraîné un déséquilibre du sex-ratio qui engendrera une diminution du potentiel reproducteur de l'espèce.

L'étude détaillée des HE est un travail qui peut être constamment amélioré par les techniques d'extraction, de séparation et d'identification. Ce travail est lié au fait que la composition de ces essences dépend énormément des parties de la plante utilisée, de son potentiel génétique, ainsi que de divers facteurs écologiques.

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait intéressant d'étudier les possibilités d'incorporation des HE supplémentée et/ou irradiées en tant qu'antioxydant et antimicrobien naturel dans les aliments élaborés et comme additif en pharmacologie et en cosmétologie.

On peut aussi penser à compléter les HE des PAM avec d'autres composés actifs, hormis le carvacrol et le thymol. Il serait enfin intéressant de développer des pesticides à base d'HE enrichies et/ou irradiées pour la maîtrise de la lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Aafi A., et al., 2000. Les groupements végétaux du milieu dunaire de Mehdiya : état actuel et propositions de restauration. *Ann. Rech. For. Maroc*, 33: 12-20.

Aafi A., 2003. Écosystèmes naturels des zones semi-arides, arides et hyper-arides du Maroc. Dakar: Édition Enda Maghreb.

Abbott W.S., 1925. A method for computing effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-268.

Abdeldaiem M.H., Mohamed H.G., Abdel-Khalek H.H., 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of rosemary essential oil treated by gamma irradiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 2(4): 819-837.

Abdelgaleil S.A.M., 2010. Molluscicidal and insecticidal potential of monoterpenes on the white garden snail, *Theba pisana* (Muller) and the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Applied Entomology and Zoology*, 45(3): 425-43.

Abdelgaleil S.A.M., Badawy M.E.I., Mohamed M.I.E., El-Arami S.A.A., 2009. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology*, 35: 518-525.

Aboutabl E.A., and El-Dahmy S.I., 1995. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 33: 87-90.

Abu-Darwish M.S., Gonçalves M.J., Cabral C., Cavaleiro C., Salgueiro L., 2013. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Juniperus phoenicea* subsp. *Phoenicea berries* from Jordan. *Acta Alimentaria*, 42(4): 504–511.

Adam K., Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., and Arsenakis M., 1998. Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. Laboratory of General Microbiology, Section of Genetics, Development and Molecular Biology, School of Biology, and Laboratory of Systematic Botany and Phytogeography, Section of Botany, School of Biology, Aristotle University, Thessaloniki 54006, Greece.

Adams R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th edition. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.

- Adams R.P., Barrero A.F., Lara A., 1996.** Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. eu-mediterranea Lebr. & Thiv. and *J. phoenicea* var turbinata (Guss.) Parl. Journal of Essential Oil Resource, 8: 367-371.
- Adams R.P., Mumba L.E., James S.A, Pandey R.N., Gauquelin T., et Badri W., 2003.** Geographic variation in the leaf oils and DNA fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* from Morocco and Europe. Journal of Essential Oil Research, 15(3): 148-154.
- Adams S., Kunz B., Weidenbörner M., 1996.** Mycelial deformations of *Cladosporium herbarum* due to the application of eugenol and carvacrol. Journal of Essential Oil Research, 8: 535-540.
- AFNOR, 2000.** Huile essentielle. Association française de normalisation, Paris, p.p. 559-563.
- Agoune L., Yahiaoui F.I., 2015.** Extraits volatils et non volatils des fruits de *Juniperus Phoenicea* L. : composition chimique, activité biologique et étude de l'influence de la supplémentation de l'huile essentielle par du thymol sur l'activité biologique. Mémoire de Master, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), El-Harrach, Alger.
- Ahmed Z.F., Hammoud F.M., Rizk A.M., and Ismail S.I., 1970,** Phytochemical studies of certain *Centaurea* species, General Analysis and Alkaloids. *Planta Medica*, 18(3): 227-231.
- Ait Chebib M., Baha L., 2005.** Les huiles essentielles de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*) et du cumin (*Cuminum cyminum*) analyse et évaluation de l'activité antioxydante sur l'huile de soja. Mémoire d'ingénieur, Institut National Agronomique (INA), El-Harrach, Alger, 74 p.
- Ajayi O.E., Appel A.G., and Fadamiro H.Y., 2014.** Fumigation Toxicity of Essential Oil Monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Journal of Insects*, Volume 2014, Article ID 917212, 7 p.
- Akrout A., 1999.** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des régions arides de Médenine, Tunisie.
- Alan L., Miller N.D., 1996.** Antioxidant flavonoids: Structure, function and clinical usage. *Alternative Medicine Review*, 1(2): 103-111.
- Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J.P., Mason T.J., 2004.** Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3-4): 261-2655.
- Alessandra L.O., Roberta B.L., Fernando A.C., Marcos N.E., 2005.** Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). *Food Chemistry*, 99 :1-5.
- Alfaïz C., 2006.** Plante du mois origan. Maroc-PAM, n.7, p. 4.

- Ali R., and Muzquiz M., 1998.** ANFs in tropical legume seeds for human nutrition. In Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapeseed. Jansman A.J.M., Hill G.D., Huisman J., and van der Poel A.F.B. edition, p.p. 207-213.
- Alibert G., Ranjeva R., et Boudet A.M., 1977.** Organisation subcellulaire des voies de Synthèse des composés phénoliques. *Physiologie Végétale*, 15: 279-301.
- Allain H., 1999.** Pharmacologie des radicaux libres, application à la dégénérescence. Laboratoire de Pharmacologie Expérimentale et Clinique, Rennes.
- Allali H., Benmehdi H., Dib M.A., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N., 2008.** Phytothérapie of diabete in west Algeria. *Asian Journal Chimistry*, 20: 2701-2710.
- Alzouma I., 1981.** Observations on the ecology of *Bruchidius atrolineatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in Niger. In *The ecology of bruchids attacking legumes (Pulses)*. Labeyrie Edition Junk The Hague, p.p. 205-213.
- Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Aafi A., Farah A., Aarab L., El Ajjouri M., Guedira A., Chaouch A., 2011.** Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 158(4): 513-523.
- Amer M.M.A., Wasif M.M., Abo Aytta A.M., 1994.** Chiminal and evaluation of *Juniperus phoenicea* as a hypoglycaemic agent. *Journal of Agriculture Resource*, 21: 1077-1091.
- Angioni A., Barra A., Russo M.T., Coroneo V., Dessiä S., Cabras P., 2003.** Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 51: 3073-3078.
- Anon, 2003.** Major groups, families and Genera *Lamiaceae* (Labiatae). *Science and Horticulture*, Royal Botanic Garden. Kew UK.
- Antonelli A., Fabbri C., Boselli E., 1998.** Modications of dried basil (*Ocinum basilicum*) leaf oil by gamma and microwave irradiation. *Food Chemistry*, 63(4): 485-489.
- Anwar M.M., Nasr E.H., Ali S.E., 2015.** Effect of gamma irradiation on chemical constituents, antimicrobials and antioxidants of Thyme and Cinnamon volatile oils. *Isotope and Radiation Research*, 47(1): 125-142.
- AOCS, 1989.** Peroxide value using chloroform Official method Cd-8-53. In *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist' Society*, 4th edition.
- Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Mahari S., 2006.** Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 10(2): 67-71.

Arvanitoyannis I.S., Stratakos A., Mente E., 2009. Impact of irradiation on fish and seafood shelf life : a comprehensive review of applications and irradiation detection. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 68-11.

Asili J., Emami S.A., Rahimizadeh M., Fazly-Bazzaz B.S., Hassanzadeh M.K., 2008. Chemical and Antimicrobial Studies of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* and *Juniperus oblonga* essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(1): 96-105.

Attou A., Davenne D., Benmansour A., Lazouni H.A., 2017. Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de l'Ouest algérien. *Phytothérapie*, p.p. 1-7.

Auclair L., 1993. Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera*) : géant de l'Atlas. *Forêt Méditerranéenne*, 14(4) : 306-314.

Aziz N.H., and Moussa L.A.A., 2002. Influence of gamma-irradiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits. *Food Control*, 13: 281-288.

B

Baba A.F., 1999, Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition Edas, 368 p.

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(4): 043101-1-043101-47.

Bachelot C., Blaise A., Corbel T., Le Guernic A., 2006. Les huiles essentielles. Licence 2 Biologie, Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, France, 26 p.

Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J., 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21: 33-42.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological effects oils. A review *Science Direct. Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.

Balachowsky A.S., 1962. Entomologie appliquée à l'agriculture, les coléoptères, Edition Masson et Cie, Paris, Tome I : 484-489.

Balouiri M., Sadiki M., and Ibensouda S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): 71-79.

Barel S., Segal R., Yashphe J., 1991. The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 33: 187-191.

- Barrero A.F., and al., 2004.** Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *Africana*. *Phytochemistry*, 65: 2507-2515.
- Barrero A.F., Herrador M.M., Arteaga P., Quílez del Moral J.F., Sánchezfernández E., Akssira M., Aitigri M., Mellouki F., and Akkad S., 2006.** Chemical composition of the Essential Oil from the leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2): 168-169.
- Basil A., Jimenez-Carmona M.M., Clifford A.A., 1998.** Extraction of rosemary by super heated water. *Journal of Food Chemistry*, 46: 5205-5209.
- Bassene E., Mahamat B., Lo M., Boye C.S, Faye B., 1995.** Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides*. *Fitoterapia*, 66(1) : 86-87.
- Beck C.W., and Blumer L.S., 2007.** Bean beetles, *Callosobruchus maculatus*, a model system for inquiry-based undergraduate laboratories, in *Tested Studies for Laboratory Teaching*, Volume 28 (M.A. O'Donnell, Editor). *Proceedings of the 28th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*, p. 403.
- Bedel, 1901.** A propos du genre *Pseudomyrmecion* Bed. *Bulletin de la société entomologique de France*, p. 358.
- Belaiche P., 1979.** *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Tome 1 : L'aromatogramme, Edition Maloine, Paris, 204 p.
- Bellakhder J., 1997.** *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Édition Ibis Press, Paris, p.p. 271-272.
- Belmain S.R., Neal G.E., Ray D.E., and Golob P., 2001.** Insecticidal and vertebrate toxicity associated with ethnobotanicals used as post-harvest protectants in Ghana. *Food and Chemical Toxicology*, 39(3): 287-291.
- Belmonte K.E., 2005.** Cholinergic pathways in the lungs and anticholinergic therapy for chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2(4): 297-304.
- Beloued A., 1998.** *Plantes médicinales d'Algérie*. Office de Publications Universitaires, 277 p.
- Benabid A., 2000.** *Flora and Ecosystems Morocco, Evaluation and Conservation of Biodiversity*. Ibis Press, Paris.
- Benarba B., Belabid L., Righi K., Bekkar A., Elouissi M., Khaldi A., Hamimed A., 2015.** Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of Ethnopharmacology*, 175: 626-637.

Benayad N., 2007. Rapport d'activité utilisation des huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines comme insecticides pour lutter contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées (blé, maïs, riz...) et ceci sans altérer la qualité nutritive de ces denrées et surtout pour minimiser l'utilisation des insecticides chimiques dangereux. Université Mohammed V, Rabat, 7 p.

Benazzeddine S., 2010. Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et de *Tribolium confusum* (Coleoptera ; Tenebrionidae). Mémoire d'ingénieur, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), El-Harrach, Alger, 102 p.

Benchabane O., Hazzit M., Mouhouche F., Baaliouamer A., 2015. Influence of extraction duration on the chemical composition and biological activities of essential oil of *Thymus palleescens* de Noé. Arabian Journal for Science and Engineering, 40: 1855-1865.

Bendahou M., Muselli A., Grignon-Dubois M., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernardini A.F., Costa J., 2007. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extracts obtained by microwaves extraction: comparison with hydrodistillation. Food Chemistry, 106: 132-139.

Benhouhou S., 2005. A brief overview on the historical use of medicinal plants in Algeria. International Union for Conservation of Nature, North Africa Biodiversity Programme, Special Feature : Medicinal plants in north africa, april 2005, n. 17.

Benjilali B., Hammouni M., M'Hamedi A., and Richard H., 1987^a. Essential oil composition of different Moroccan Thyme varieties: principal component analysis. Sciences des Aliments, 7: 275-299.

Benjilali B., Hammouni M., and Richard H., 1987^b. Chemical polymorphism of Moroccan Thyme essential oils: compounds characterization. Sciences des Aliments, 7: 77-91.

Bennis S., Chami F., Chami N., Bouchikhi T., Remmal A., 2004. Surface alteration of *Saccharomyces cereviceae* induced by thymol and eugenol. Letters in Applied Microbiology, 38(6): 454-458.

Bernard T., Perinau F., Bravo R., Delmas M., Gaset A., 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie, Information chimie, 298: 179-184.

Berset C., 2006. Pigments phénoliques : structures, stabilité, marché des colorants naturels et effets sur la santé. In : Sarni-Manchado P., Cheynier V. (coord.), Les polyphénols en agroalimentaire. Paris : Lavoisier, 2006.

Berset C., Cuvelier M.E., 1996. Méthode de mesure du pouvoir antioxydant et d'évaluation du degré d'oxydations des lipides. Science des aliments, 16: 219-245.

- Beta T., 2003.** Anti-nutrients or anti-oxidants in cereal grains: an evaluation of the composition and functionality of phenolic compounds with special reference to sorghum and barley. In: Belton P.S. & Taylor J.R.N. Editions. Conference proceedings of the AFRIPRO Workshop on the proteins of sorghum and millets: enhancing nutritional and functional properties for Africa, 2-4 April, Pretoria, South Africa, paper n.11, p.p. 1-9.
- Beta T., Nam S., Dexter J.E., Sapirstein H.D., 2005.** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Journal of Cereal Science*, 82(4): 390-393.
- Biémont J.C., Chauvin G., et Germain J.F., 1982.** L'œuf de *Bruchidius atrolineatus* (Pic) et son système de fixation. *Canadian Journal of Zoology*, 60: 2610-2615.
- Bnouham M., Merhfour F.Z., Legssyer A., Mekhfi H., Maallem S., Ziyya A., 2007.** Antihyperglycemic activity of *Arbutus unedo*, *Ammoides pusilla* and *Thymelaea hirsute*. *Pharmazie*, 62: 630-632.
- Bockelée-Morvan A., Gillier P., 1979.** La protection des stocks d'arachide contre les insectes. *Oléagineux*, 34 (3): 131-137.
- Bohlmann F., Burkhardt T., and Zdero C., 1973.** Naturally Occuring Acetylenes. Academic Press, London, 547 p.
- Bonthoux B., Lebreton C., Perrissin O., 2007.** Profession kinésithérapeute. Le magazine des masseurs-kinésithérapeutes passionnés, n.17, 18 p.
- Booth R.G., Cox M.L., Madge R.B., 1990.** IIE guides to insects of importance to man: Coleoptera. London, UK: International Institute of Entomology: Natural History Museum, 384 p.
- Borowiec L., 1987.** The genera of seed-beetles (Coleoptera: Bruchidae). *Polskie Pismo Entomologiczne*, 57: 3-207.
- Bouchet N., Barrier L., Fauconneau B., 1998.** Radical scavenging activity and antioxydant proprieties of tannins from *Guiera senegalensis* (*Combretaceae*). *Phytotherapy Research*, 12(3): 159-162.
- Boudiar T., Bensouici C., Safaei-Ghomi J., Kabouche A., Kabouche Z., 2011.** GC-MS Analysis of *Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. from Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(2): 172-174.
- Boudy P., 1950^a.** Economie forestière Nord Africaine. Tome II, monographie et traitement des essences forestières. Fasc. I. Edit. Larousse, Paris.
- Boudy P., 1952^b.** Guide du forestier en Afrique du Nord. Edition La Maison Rustique, Paris. 478 p.

Bouhdid S., Idomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., and Abrini J., 2006. *Thymus* essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc.

Boukef K., 1986. Médecine traditionnelle et pharmacopée, les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique, p.p. 317-319.

Bouyahyaoui A., Bahri F., Romane A., Höferl M., Wanner J., Schmidt E., Jirovetz, L., 2016. Antimicrobial activity and chemical analysis of the essential oil of Algerian *Juniperus phoenicea*. Natural Product communication, 11(4): 519-522.

Bowles B.L., Sackitey S.K., and Willams A.C., 1995. Inhibitory effects on flavor compounds on *Staphylococcus aureus* WRRC B 124. Journal of Food Safety, 15: 337-347.

Bremer B., Bremer K., Chase M.W., Fay M.F., Reveal J.L., Soltis D.E., Soltis P.S., and Stevens P.F., 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.

Brown J.E., Khodr H., Hider R.C., Rice-Evans C., 1998. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions. Biochemical Journal, 330: 1173-1178.

Bruneton J., 1995. Pharmacognosy, Phytochemistry and Medicinal Plants. Lavoisier Publishing, Paris, 265 p.

Bruneton J., 1999. Les tanins. Editions médicales internationales, p. 369-404.

Bu-Abbas A., Clifford M.N., Ioannides C., Walker R., 1995. Stimulation of rat hepatic UDP glucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. Food and Chemical Toxicology, 33(1) : 27-30.

Burt S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.

C

Caillet S., et Lacroix M., 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, Université de Laval, Québec, Canada, p.p. 1-8.

Combarnous Y., 2017. Endocrine Disruptor Compounds (EDCs) and agriculture : The case of pesticides. Comptes Rendus Biologies, 340(9-10): 406-409.

Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A., Akpulat H.A., 2003. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea*

millefolium subsp. *millefolium* Afan. (*Asteraceae*). Journal of Ethnopharmacology, 87: 215-220.

Cardona C., and Kornegay J., 1999. Bean germplasm resources for insect resistance. Global Plant Genetic Resources for Insect Resistant Crops, (edited by S. Clement and S. Quisenberry). CRC Press, Boca Raton, FL, p.p. 85-99.

Carson C.F., Riley T.V., 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Applied Bacteriology, 78(3): 264-269.

Carter P., 1971. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). Analytical Biochemistry, 40: 450-458.

Cassier P., Lafont R., Deschaps M., Porchet M., Souyez D., 1997. La reproduction des invertébrés, Stratégies, modalités et régulation. Intérêt fondamental et appliqué, Edition Masson, Paris, p.p. 193-268.

Caswell G.H., 1960. Observations on an abnormal form of *Callosobruchus maculatus* (F.). Bulletin of entomological research, 50: 671-680.

Caswell G.H., 1961. The infestation of Cowpeas in the Western region of Nigeria. Tropical Science, 3: 154-158.

Caswell G.H., 1981. Damage to stored cowpea in the Northern part of Nigeria. Samaru Journal of Agricultural Research, 1: 11-19.

Cavalli J-F., 2002. Caractérisation par C.P.G., C.P.G./S.M. et R.M.N. du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat, Université de Corse, France, p. 261.

Center A., Johnson C., 1974. Coevolution of some seed beetles (Col. Bruchidae) and their host. Ecology, 55: 1096-1103.

Chabrier J.Y., 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1, France, 165 p.

Chambers, 1997. Methicillin-resistance in staphylococci : molecular and biochemical basis and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews, 10 : 781-791.

Chatened du Gaetan, 1990. Guide des Coléoptères d'Europe. Délacrois et Niestlé, Paris.

Chatterjee S., Variyar P.S., Gholap A.S., Padwal-Desai S.R., Bongirwar D.R., 2000. Effect of γ -irradiation on the volatile oil constituents of turmeric (*Curcuma longa*). Food Research International. 33(2): 103-106.

Chevolleau S., 1990. Etude de l'activité antioxydante des plantes : importance de l'alpha tocophérol. Thèse de doctorat, Faculté des sciences et techniques de Saint-Jérôme, Aix-Marseille, 186 p.

Chiasson H., Beloin N., 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides « nouveau genre ». *Antennae*, 14(1): 3-5.

Cillard J., et Cillard P., 2006. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. Laboratoire de biologie cellulaire et végétale « Groupe de Recherche en Thérapeutique Anticancéreuse, G.R.E.T.A.C. », Faculté de pharmacie, Rennes, 13(1).

Coats J.R., Karr L.L., and Drewes C.D., 1991. Toxicity and Neurotoxic Effects of Monoterpenoids in Insects and Earthworms. *Naturally Occurring Pest Bioregulators*, 449(20): 305-316.

Code of Federal Regulation 21CFR179 (Revised as of April 1), 2004. Food and drugs, Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food. U.S. Food and Drug Administration, Title 21, Volume 3.

Conner D.E., 1993. Naturally Occurring Compounds. Davidson P., and Branen A.L. Eds., *Antimicrobials in Foods*, Marcel Dekker, Inc., New York, p.p. 441-468.

Cordoliani Y.S., 2002. Grandeurs et unités en radioprotection. *Feuillets Radiologie* 42: 248-252.

Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F., 1999. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, 29: 130-135.

Cox S.D., and Mann C.M., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1): 170-175.

Crapiste G.H., Bredan M.I.V., Caralli A., 1999. Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 76: 1437-1443.

Credland P.F., 1992. The structure of bruchids eggs may explain the ovicidal effect of oils. *Journal of Stored Products Research*, 28(1): 1-9.

Cristiani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D., 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6300-6308.

Cseke L.J., and Kaufman P.B., 1999. How and why these plants are synthesized by plants. *Natural Products from Plants*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA. pp. 37-90.

Cseke L.J., Lu C.R., Korrnfeld A., Kaufman P.B., Kirakosyan A., Warber S.L., Duke J.A., and Briemann H.L., 1999. *Natural products from Plants* 2nd Edition, Taylor and Francis, p. 611.

D

Da Silva E.J.A., Oliveira A.B., Lapa A.J., 1994. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and dauriquinone, in rats and mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(2): 118-122.

Daira N. E.H., Maazi M.C., Chefrou A., 2016. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85: 276-290.

Das N.P., Pereira T.A., 1990. Effects of flavonoids on thermal auto oxidation of Palm oil: structure- activity relationship. *Journal American Oil Chemists Society*, 67: 255- 258.

Davidson P.M., and Parish M.E., 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*, 43: 148-155.

Dawidar A.M., Ezmirly S.T., Abdel-Mogib M., 1991. Sesquiterpenes and diterpenes from *Juniperus phoenicea* L. *Pharmazie*, 46: 472-473.

De Billerbeck V.G., 2007. Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5 (5): 249-253.

De Groot I., 2004. Protection des céréales et des légumineuses stockées. Fondation Agromisa, 74 p. ISBN : 90-77073-88-4. Imprimé par : Digigrafi, Wageningen, Pays Bas.

De Whalley C.V., Rankin S.M., Hoult J.R.S., Jessup W., Leake D.S., 1990. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochemical Pharmacology*, 39(11): 1743-50.

Deans S.G., and Ritchie G., 1987. Antimicrobial properties of plants essential oils. *Journal of Food Microbiology*, 5: 162-180.

Debuigne G., 1974. Larousse des plantes qui guérissent. Edition Larousse.

Decelle J., 1981. Bruchidae related to grain legumes in the Afro-Tropical area, *The Ecology of Bruchids Attacking Legumes*, Edited by V. Labeyrie, Junk Publishers, p.p. 193-198.

Decelle J., 1987. Les Coléoptères Bruchidae nuisibles aux légumineuses alimentaires cultivées dans la région afrotropicale. In « Les légumineuses alimentaires en Afrique », Colloque, Niaey, Montmagny, pp. 188-200.

Delobel A., et Tran M., 1993. Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. ORSTOM Edition, Paris, 424 p.

Demirci B., Kosar M., Demirci F., Dinc M., Baser K.H.C., 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food Chemistry*, 105: 1512-1517.

- De-Oliveira A.C., Ribeiro-Pinto L.F., Paumgarten J.R., 1997.** In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpenoid compounds. *Toxicology Letters*, 92: 39-46.
- Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2010.** Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12: 199-204.
- Di Pasqua R., and al., 2005.** In vitro antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean Apiacea, Verbenaceae and lamiaceae against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Annals of Microbiology*, 55(2): 139-143.
- Dicko M.H., Gruppen H., Voragen A.G.J., and Van Berkel W.J.H., 2006.** Biochemical characterization of major sorghum grain peroxidase. *FEBS Journal*, 273: 2293-2307.
- Djerrari A., Crouzet J., 1985.** Influence du mode d'extraction sur la composition de l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*). Journée scientifique internationale, Digne-les-bains, France.
- Dob T., Dahmane D., Chelghoum C., 2008.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 20(1): 15-20.
- Dob T., Darhmane D., Benabdelkader T., Chelgoum T.C., 2006.** Studies on the essential oils and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. *International Journal of Aromatherapy*, 16(2): 95-100.
- Dobarganes M.C., Velasco J., 2002.** Analysis of lipid hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 420-428.
- Don Pedro K.N., 1989.** Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Pest Management Science*, 26(2): 107-115.
- Don Pedro K.N., 1996^a.** Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of Citruspeel oil Components. *Pesticide Science*, 46: 79-84.
- Don-Pedro K.N., 1996^b.** Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of Citruspeel essential oils. *Pesticide Science*, 46: 71-78.
- Dorman D.H.G., Bachmayer O., Kosar M., Hiltunen R., 2004.** Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *Lamiaceae* species grown in Tuekey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 762-770.
- Dorman H.J., and Deans S.G., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2): 308-16.

- Doumma A., Liman Abass I., Toudou A., Alzouma I., 2006.** Comportement de vingt variétés de niébé (*V. unguiculata* L. Walp.) vis-à-vis de *B. atrolineatus* Pic. et *C. maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). Cahiers Agricultures, 15(2): 187-193.
- Draglant S., Senoo H., Wake K., Blomhoff R., 2003.** Several culinary and medicinal herbs are important source of dietary antioxidants. The Journal of Nutrition, 133: 1286.
- Duckett C.N., 1997.** The scientific method and the predictive value of classification. Chrysomela, 34: 3-4.
- Duckett C.N., Gillespie J.J., Kjer K.M., 2003.** Relationships among the subfamilies of *Chrysomelidae* inferred from small subunit ribosomal DNA and morphology, with special emphasis on the relationship among the flea beetles and the Galerucinae. New contributions in *Chrysomelidae* biology (Jolivet P., Schmitt M., Santiago-Blay J., eds.), SPB Academic Publishing, The Netherlands, p.p. 3-18.
- Dumortier D., 2006.** Contribution à l'amélioration de la qualité de l'huile essentielle d'ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lamarack) Hooker J.D. et Thomson, variété genuina) des Comores. Mémoire d'ingénieur, Faculté universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique, 91 p.
- Dykes L., and Rooney L.W., 2006.** Sorghum and millet phenols and antioxidants. Journal of Cereal Science, 44: 236-251.

E

- El Atyqy M., 2007.** Qualité et Sécurité des Aliments : Réactions d'altérations chimiques des aliments. Techniques de l'ingénieur, Paris.
- Ela M.A., and al., 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. Pharmazie, 51: 993-995.
- Elizalde J.J., Espinoza M., 2011.** Effect of ionizing irradiation on *Origanum* leaves (*Origanum vulgare* L.) essential oil composition. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 14: 164-171.
- Elmastaş M., Gülçin İ., Işildak Ö., Küfrevioğlu Ö.İ., İbaoglu K., Aboul-Enein H.Y., 2006.** Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. Journal of the Iranian Chemical Society, 3: 258-266.
- El-Sawaf S.K., 1956.** Some factors affecting the longevity, oviposition, and rate of development in the southern cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. Bulletin of the Entomological Society of Egypt, 40: 29-95.

- El-Sawi S.A., Motawae H.M., Ali A.M., 2007.** Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. African Journal of Traditional and Complementary Alternative Medicines, 4: 417-426.
- El-Shahat A.N., Hamza R.G., 2011.** Effect of gamma irradiated thyme as natural antioxidant on hypercholesterolemic senile rats. Isotope and Radiation Research, 43(2): 495-510.
- Enan E., 2001.** Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 130: 325-337.
- Enan E., 2002.** Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology and Pharmacology, Part C130, 3: 325-337.
- Enan E.E., 2005^a.** Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 35: 309-321.
- Enan E.E., 2005^b.** Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 59: 161-171.
- Eymard S., 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat, Ecole polytechnique de l'Université de Nantes, France, 125 p.

F

- Fabian D., Sabol M., Domaracké K., Bujněková D., 2006.** Essential oils - their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. Toxicology in vitro, 20: 1435-1445.
- Fabricius J.C., 1775.** Systema entomologiae : sistens insectorvm classes, ordines, genera, species, adiectis synonymis, locis, descriptionibvs, observationibvs. Flensbvirgi et Lipsiae, Officina Libraria Kortii.
- FAO, 2012.** L'état des ressources génétiques forestières mondiales. Rapport national Algérie.
- FAO, IAEA, WHO, 1997.** High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy: report of a Joint FAO/IAEA/WHO study group. WHO technical report series, 197 p.
- FAO, IAEA, WHO, 1999.** High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Report of a Joint FAO/IAEA/WHO study group, World Health Organ, Tech. Rep. Ser. 890, p.p. 1-197.

- FAO, IAEA, WHO, ICGFI, 1992.** Irradiation of spices, herbs and other vegetables seasonings - A compilation of technical data for its authorization and control. International Atomic Energy Agency TECDOC, 639 p.
- FAO/WHO, 2003.** Revised Codex General Standard for Irradiated Foods. 1983, Rev. (2003).
- Farag S.A., Aziz N.H., Attia A., 1995.** Effect of irradiation on the microbiological status and flavouring materials of selected spices. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 201: 283-298.
- Farkas J., 1998.** Irradiation as a method for decontaminating food. *International Journal of Food Microbiology*, 44: 189-204.
- Farrell B.D., 1998.** Inordinate fondness explained: Why are there so many beetles? *Science*, 281: 555-559.
- Farrell B.D., and Sequeira A.S., 2004.** Evolutionary rates in the adaptive radiation of beetles on plants. *Evolution*, 58: 1984-2001.
- Fatemi F., Allameh A., Khalafi H., Rajaei R., Davoodian N., Rezaei M.B., 2011.** Biochemical properties of γ -irradiated caraway essential oils. *Journal of Food Biochemistry*, 35(2): 650-662.
- Fatemi F., Dini S., Bagher Rezaei M., Dadkhah A., Dabbagh R., Najj S., 2014.** The effect of γ -irradiation on the chemical composition and antioxidant activities of peppermint essential oil and extract. *Journal of Essential Oil Research*, 26(2): 97-104.
- Faurie C., Ferrà C., Medori P., Devaux J., et Hemptinne J.I., 2003.** *Ecologie, Approche scientifique et pratique* 5ème édition. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 407 p.p.
- Felidj M., Bouazza M., Ferouani T., 2010.** Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila (verticillata)* dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale). *Revue Geo-Eco-Trop*, 34: 147-154.
- Ferreira D., Bekker R., 1996.** Oligomeric Proanthocyanidins : Naturally Occuring O-Heterocycles. *Natural Product Reports*, 13: 411-433.
- Fesen M.R., Pommier Y., Leteurtre F., Hiroguchi S., Yung J., Kohn K.W., 1994.** Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochemical Pharmacology*, 48(3): 595-608.
- Finney D.J., 1971.** *Probit analysis: 3d Edition.* Cambridge University Press.
- Firuzi O., Lacanna A., Petrucci R., Marrosu G., Saso L., 2005.** Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1721(1-3):174-84.

Flamini G., Bulleri C., Bulleri C., Morelli I., and Manunta A., 2000. A New Flavonoid Glycoside from *Centaurea horrida*. Journal Natural Product, 63: 622-663.

Fleurat Leussard F., 1980. Enquête sur l'état sanitaire des stocks de grains en France. Deuxième partie : Les résultats, bulletin technique d'information du Ministère de l'Agriculture, Numéro 349, p. 271-280.

Florians G., Wingler K., Schmehl K., and al., [...], 2001. Cellular and subcellular localization of gastro intestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. Free Radical Research, 35: 655-663.

Fortuna A.M., Riscala E.C., Catalan C.A.N., Gedris T.E., and Herz W., 2001, Sesquiterpene lactones from *Centaurea tweediei*. Biochemical Systematics and Ecology, 29: 967-971.

Fournier D., and Mutero A., 1994. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 108(1): 19-31.

Franchomme P. et Péroël D., 1990^a. Clefs pour l'aromathérapie - La molécule aromatique : matière, énergie, information. L'aromathérapie exactement, Editeur Roger Jollois, Limoge, 2: 73-227.

Franchomme P. et Péroël D., 1990^b. Matière médicale aromatique fondamentale. L'aromathérapie exactement, Editeur Roger Jollois, Limoge, 4: 317-446.

Franciosca H., and Bergé J.B., 1995. Glutathione S-transférase in housefly (*Musca domestica*): location of GST-1 and GST2 families. Insect biochemistry, Molecular and Biology, 25: 311-317.

Frankel E.N., 1998. Lipid oxidation. The oily press, Volume 10.

Fuerst F., 1976. Microbiologie Clinique. Editions HRW, Quèbec. 507 p.

G

Gain E., 1897. La germination des grains de légumineuses habitués par les bruches. Comptes Rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences, Paris, p.p. 195-197.

Gakuru S., Fouabi K., 1995. Effet comparé des huiles essentielles de quatre espèces végétales contre la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fab.) et le charançon du riz (*Sitophilus oryzae* L.). Tropicultura, 13(4): 143-146.

Galati E.M., Monforte M.T., Kirjavainen S., Forestieri A.M., Trovato A., Tripodo M.M., 1994. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. Farmaco, 40(11): 709-712.

- Garnero M.J., 1977.** Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles. Parfums – cosmétiques – arômes, 14: 31-40.
- Gbolade A.A., and Adebayo T.A., 1993.** Fumigant effects of some volatile oils on fecundity and adult emergence of *Callosobruchus maculatus* (F.). International Journal of Tropical Insect Science, 14(5-6): 631-636.
- Georges D., 1961.** Plantes médicinales et principes actifs : La notion de race chimique. Bulletin de la Société Botanique de France, 108: 30-38.
- Gerhard R., 1993.** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. Lavoisier Tec and Doc, p. 333-339.
- Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. 4: 162-169.
- Ghoneim K.E., Hamadah K.C., and El Hela A.A., 2012.** Acetylcholinesterase activity in the desert locust *Schistocerca gregaria* (Acrididae) (Forsk) as a response to the action of the wild herb *Fagonia bruguieri* D.C (Zygophyllaceae) extracts. Journal Entomology Research Society, 14(2) : 87-97.
- Giamperi L., Fraternali D., Ricci D., 2002.** The in vitro action of essential oils on different organisms. Journal of Essential Oil Research, 14(4): 312-318.
- Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J., 2008.** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia, 79: 199-203.
- Glitho I.A., et Amevoïn K., 1996.** Compétition interspécifique entre deux parasitoïdes sympatriques, *Dinarmus basalis* Rond. (*Pteromalidae*) et *Eupelmus vuilleti* Craw. (*Eupelmidae*) et leur rôle dans le contrôle des populations de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) en zone Guinéenne. Annales Université Bénin, Sciences, Tome XII, p.p. 183-192.
- Gómez-Zurita J., Hunt T., Koplíku F., Vogler A.P., 2007.** Recalibrated tree of leaf beetles (*Chrysomelidae*) indicates independent diversification on angiosperms and their insect herbivores. Plos One, 2(4) : e360.
- Gorger C., Scholz E., Rimpler H., 1994.** Ellagitannins from *Alchemilla xanthochlora* and *Potentilla erecta*. Planta Medica, 6: 384-385.
- Gray J.I., 1978.** Measurement of lipid oxidation a review. Journal of the American Oil Chemists Society, 55: 539-545.
- Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L., Leach D.N., 1999.** The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. Flavour and Fragrance Journal, 14: 322-332.

Grundy D.L., Still C.C., 1985. Inhibition of acetylcholinesterases by pulegone-1,2-epoxide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 23: 383-388.

Gueguen J., and Cerletti P., 1994. Proteins of some legumes seeds: soybean, pea, fababeans and lupin. In: B.J.F. Edition HDSON, *New and Developing Sources of Food Proteins*, Hudson, B.J.F., Edition Chapman and Hall, London, U.K., p.p. 145-183.

Guenther E., 1952. *The Essential Oils*. Krieger Publishing Company, New York, 5: 507.

Guenther E., 1972. *The Essential Oils*. Krieger Publishing Company, New York, p. 453-454.

Gueye M., Seck D., Wathelet J., et Lognay G., 2010. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, p.p. 183-194.

Guignard J.L., 1996. *Biochimie végétale*. Masson, Paris, 255 p.

Guinochet M., et Vilmorin R., 1975. *Flore de France fascicules*. Centre national de la recherche scientifique, France.

Gumus T., Albayrak S., Sagdic O., Arici M., 2011. Effect of gamma irradiation on total phenolic contents and antioxidant activities of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 14: 830-839.

Gupta S., Nadarajan N., Gupta D.S., 2014. *Legumes in the Omic Era*. Springer-Verlag, New York, 348 p.

Gutteridge J.M.C., Halliwell B., 1994. *Antioxidants in Nutrition, health and disease*. Oxford University Press, London, p. 1-141.

Gwinner J., Harmisch R., et Muer, 1996. *Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte*. Edition GT2 Esehborn, 368 p.

H

Habibi T., 1998. L'inventaire et évaluation des dégâts des principaux insectes ravageurs des céréales stockés au niveau de la wilaya de Tiaret. Mémoire Ingénieure, Université de Tiaret, 108 p.

Haddad M., Herent M.F., Tilquin B., Quetin-Leclercq J., 2007. Effect of gamma and e-beam radiation on the essential oils of *Thymus vulgaris* thymoliferum, *Eucalyptus radiata* and *Lavandula angustifolia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6082-6086.

Hadi M., 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, 155 p.

- Hamdi-Pacha Y., Benyache F., Benayache, S., Benazzouz M., Smati F., Benchouala C., 1993.** Le moléculaire et l'effet de caractérisation antibactérien de quelques plantes algériennes : *Viscosa L. d'Inula et pullata de Centaurea L.* Journal Algérien de Médecine, 3(3): 183-186.
- Hammer K.A., Carson C. F., Riley T.V., 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86(6): 985-990.
- Hamraoui A., et Regnault-Roger C., 1997.** Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. Acta Botanica Gallica, 144(4): 401-412.
- Hannan R., Açikgöz N., Robertson L.D., 2001.** Chickpeas (*Cicer L.*). Plant genetic resources of legumes in the Mediterranean, Nigel Maxted Sarita Jane Bennett, p.p. 115-124.
- Haraguchi H., and al., [...], 1996.** Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. Planta Medica, 62(3): 217-212.
- Harborne J.B., 1989.** Methods in plant biochemistry. Plant phenolics, Academic Press, London.
- Harborne J.B., 1993.** Introduction to Ecological Biochemistry Fourth edition, Elsevier Academic Press, 318 p.
- Harhour A., Brada M., Fauconnier M-L., Lognay G., 2018.** Chemical composition and antioxidant activity of Algerian *Juniperus Phoenicea* essential oil. Natural Product Sciences, 24(2): 125-131.
- Haubruge E., Amichot M., 1998.** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, 2(3) : 161-174.
- Hazzit M., 2008.** Étude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse de doctorat, Chimie, option chimie organique appliquée, Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumediène (USTHB), Alger.
- 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.
- Hegarty V.M., and al., [...], 2000.** Tea Drinking and bone mineral density in older women. The American Journal of Clinical Nutrition, 71(41): 3-7.
- Heim E.K., Tagliaferro A.R., and Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry, 13: 572-584.

- Helle L., Carsten O., 2007.** Unsustainable collection and unfair trade? Uncovering and assessing assumptions regarding Central Himalayan medicinal plant conservation. *Biodiversity Conservation*, 16(3): 1679-1697.
- Hendrich A.B., 2006.** Flavonoid-membrane interactions: possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacologica Sinica*, 27: 27-40.
- Hermal C., 1993.** Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles. Thèse, Faculté de pharmacie, Université Montpellier I, 87 p.
- Hoffmann A., 1945.** Faune de France, Coléoptères Bruchides et Anthribides. Edition Pierre André, Paris, p. 187.
- Hoffmann A., Labeyrie V., Balachowsky A.S., 1962.** Les Bruchidae. Entomologie appliqué à l'agriculture A.S. Balachowsky, Edition Masson, 1: 434-494.
- Hollman P.C., Bijsman M.N., Van-Gameren V., Gnossen E.P., De Vris J.H., Hatan M.B., 1999.** The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoids glycosides in man. *Free Radical Research*, 31: 569-573.
- Houël E., 2011.** Étude des substances bioactives issues de la flore amazonienne. Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de *Quassia amara* L. (*Simaroubaceae*) et *Psidium acutangulum* D.C. (*Myrtaceae*) utilisées en Guyane Française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolique d'huiles essentielles à activité antifongique. Thèse de doctorat en chimie des substances, Université des Antilles et de la Guyane, 220 p.
- Hui Dong, Chen S.X., Manjunatha Kini R., XU M.X., 1998.** Effects of tannins from *Geun japonicum* on the catalytic activity of Thrombin and factor X of blood coagulation cascade. *Journal of Natural Products*, 61(11): 1356-1360.
- Huignard J., Dugravot S., Ketoh G.K., Thibout E., Glitho I.G., 2008.** Utilisation de composés secondaires des végétaux pour la protection des graines d'une légumineuse, le niébé. Conséquences sur les insectes ravageurs et parasitoïdes. Biopesticides d'origine végétale, Renault-Roger C., Phylogène B.J.R., Vincent C., 2ème édition, Lavoisier, Technique & Documentation, Paris, p.p. 187-206.
- Huignard J., Leroi B., Allzouma I., Germain J.F., 1985.** Oviposition and development of *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in *Vigna unguiculata* (Walp.) cultured in Niger. *Insect Science*, 6: 691-699.

Huis A.V., and Rooy, 1998. The effect of leguminous plant species on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its egg parasitoid *Uscana lariophaga* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Bulletin of entomological research, 88(1).

Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L., 1998. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. Sciences des aliments, 18: 563-582.

Hultin H.O., 1992. Advances in seafood biochemistry lipid oxidation in fish muscle. Flick G.J. And Martin R.E. Editions, Lancaster, p. 99-122.

Hultin H.O., 1994. Oxidation of lipids in seafoods. Seafoods Chemistry, Processing Technology and Quality, Blackie Academic & Professional, New York, p. 49-74.

I

IAEA (International Atomic Energy Agency), 1992. Irradiation of spices, herbs and other vegetables seasoning. A Compilation of Technical Data for Its Authorization and Control; IAEATECDOC- 639; IAEA: Vienna, Austria.

Ietswaart, 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). PhD Thesis, Leiden University Press, The Hague, 153 p.

Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A., Chailan C., 2016. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Montpellier : CIHEAM/FranceAgriMer, 2016. 222 p. (Options Méditerranéennes, Série B : Études et Recherches, n.73).

J

Jäger K., and Holm Freiesleben S., 2014. Correlation between plant secondary metabolites and their antifungal mechanisms. Medicinal and Aromatic Plants, 3(2).

Jalas J., 1971. Note of *Thymus* L. (Labiatae) in Europe Supraspecific classification and nomenclature. Botanical Journal of the Linnean Society, 64: 199-215.

Jamshidi M., Barzegar M., Sahari M.A., 2014. Effect of gamma and microwave irradiation on antioxidant and antimicrobial activities of *Cinnamomum zeylanicum* and *Echinacea purpurea*. International Food Research Journal, 21(4): 1289-1296.

Jansen D.H., Juster H.B., Bell E.A., 1977. Toxicity of secondary compounds to the seed-eating larvae of the bruchidae beetle *Callosobruchus maculatus*. Phytochemistry, 16: 223-227.

Jay J.M., and Rivers G.M., 1984. Antimicrobial activity of some food flavoring compounds. Journal Food Safety, 6: 129-139.

Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brulé G., 2006. L'eau. Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique, Edition Technique & Documentation, Lavoisier, Paris, p.p. 95-151.

Judde A., 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanisme, conséquences, moyens de mesure. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 11(6): 414-418.

Julies A., Christin M., 2002. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22: 19-44.

K

Kabera J.N., Semana E., Mussa A.R., and He X., 2014. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2: 377-392.

Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabed K., 2005. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromathérapie*, 15: 129-133.

Kalemba D., Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.

Karel M., 1989. The future of irradiation : applications on Earth and in Space. *Food Technol*, 41(7):95-97.

Katalinic V., 2015. Investigation of the potential synergistic effect of resveratrol with other phenolic compounds: A case of binary phenolic mixtures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 38: 13-18.

Kato R., Nakadate T., Yamamoto S., Sugimura T., 1983. Inhibition of 12-tetradecanoylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition. *Carcinogenesis*, 4(10): 1301-1305.

Kaweckhi T.J., 1995. Adaptative plasticity of egg size in response to competition in the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), *Oecologia*, 102: 81-85.

Keane S., Ryan M.F., 1999. Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* (L.). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29: 1097-1104.

Keita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Arnason J.T., Belanger A., 2001. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant

and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 37 (4): 339-349.

Keita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Belanger A., 2000^a. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea. Flavour and Fragrance Journal, 15: 339–341.

Keita S.M., Vincent C., Schmit J.P., Ramasway S., Belanger A., 2000^b. Effect of various essentials oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 36: 335-364.

Kellouche A., Soltani N., 2004. Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elle sur *Callosobruchus maculatus* (F.) International Journal of Tropical Insect Science, 24(1): 184-191.

Kellouche A., Soltani N., Huignard J., 2004. Reproductive activity and offspring development of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) in seeds of different cultivars of *Vigna unguiculata* (Walp.) and *Cicer arietinum* (L.). International Journal of Tropical Insect Science, 24: 304-310.

Kellouche A., 2005. Etude de la bruche du pois chiche, *Callosobruchus muculatus* (Coleoptera: Bruchidae) : Biologie, physiologie, reproduction et lutte. Thèse de doctorat d'état, Université de Tizi-Ouzou, Algérie. 154 p.

Kellouche A., Ait Aider F., Labdaoui K., Moula D., Hamadi N., Ouramdane A., Frerot B., Mellouk M., 2010. Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidea). International Journal of Integrative Biology, 10: 86-89.

Kerbouche L., Hazzit M., Ferhat M.A., Baaliouamer A., Miguel M.G., 2015. Biological Activities of Essential Oils and Ethanol Extracts of *Teucrium polium* subsp. capitatum (L.) Briq. and *Origanum floribundum* Munby. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(5): 1197-1208.

Kerem Z., Lev-Yadun S., Gopher A., Weinberg P., Abbo S., 2007. Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. Journal of Archaeological Science, 34(8): 1289-1293.

Kessler M., Ubeau G., Jung L., 2002. Anti-and pro-oxydant activity of rutine and quercetin derivatives. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 55: 1-11.

Ketoh G.K., 1998. Utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus*. Thèse de Doctorat, Université du Bénin, Lomé (Togo).

- Ketoh G.K., Glitho A.I., Huignard J., 2002.** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. *Journal of Economic Entomology*, 95(1): 174-82.
- Ketoh K.G., Glitho I.A., Koumaglo H.K., 2004.** Activité comparée des huiles essentielles de trois espèces du genre *Cymbopogon* (Poaceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 18: 21-34.
- Ketoh G.K., Koumaglo H.K., Glitho I.A., Huignard J., 2006.** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitotherapia*, 77: 506-510.
- Khattak K.F., Simpson T.J., Ihasnullah, 2008.** Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed. *Food Chemistry*, 110: 967-972.
- Kim W.K., Patterson P.H., 2003.** In situ evaluation of hen mortality meal as a protein supplement for dairy cows. *Journal Dairy Science*, 86(10): 3337-3342.
- Kingsolver J.M., 1995.** On the family Bruchidae. *Chrysomela*, 30(3).
- Klančnik S., Piskernik B., Jeršek and Možina S.S., 2010.** Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2): 121-126.
- Kolodzie J., Kayser O., Latte K.P., Ferreira D., 1999.** Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution both method. *Planta Medica*, 65(5): 444-446.
- König M., Scholz E., Hartmann R., Lehmann W., Rimpler H., 1994.** Ellagitannins and Complex Tannins from *Quercus petraea* Bark. *Journal of Natural Products*, 57: 1411-1415.
- Koseki P.M., Villavicencio A.L.C.H., Brito M.S., Nahme L.C., Sebastiao K.I., Rela P.R., 2002.** Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Radiation Physics and Chemistry*, 63: 681-684.
- Koskas J.P., Cillard J., Cillard P., 1983.** Direct high performance liquid Chromatographic separation of hydroperoxyde isomers of linoleic acid. *Journal of Chromatography*, 258: 280-283.
- Kossou D.K., et Aho N., 1993.** Stockage et conservation des grains alimentaires tropicaux : Principes et pratiques. Editions du Flamboyant, 125 p.
- Kostyukovsky M., Rafaeli A., Gileadi C., Demchenko N., Shaaya E., 2002.** Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science*, 58: 1101-1116.

Küçük M., Kolayli S., Karaoglu S., Ulusoy E., Baltaci C., Candan F., 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100: 526-534.

Kurin E., Mučaji P., Nagy M., 2012. In vitro antioxidant activities of three red wines polyphenols and their mixtures: an interaction study. *Molecules*, 17(12): 14336-48.

L

Lafon-Casadebaig J., 1987. Réalisation d'extraits secs nébulisés et optimisation de formes galéniques d'origine végétale à activité diurétique. Thèse de doctorat d'état. Montpellier, p.p. 57-60.

Lahlou M., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.

Lamaison J. L.C., and Carnet A., 1990. Contents in main flavonoid compounds of *Crataegus monogyna* Jacq. and *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. flowers at different development stages. *Pharmaceutica Acta Helvetica*, 65: 315-320.

Lambert R.J.W., and Skandamis P.N., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3): 453-462.

Laouer H., Boulaacheb N., Akkal S., Singh G., Marimuthu P., De Heluani C., Catalan C., Baldovini N., 2008. Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ammoides atlantica* (Coss. et Dur.) Wolf. *Journal of Essential Oil Research*, 20: 266-269.

Laouer H., Zerroug M.M., Sahli S., Chaker A.N., Valentini G., Ferretti G., Grande M., Anaya J., 2003. Composition and antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 15: 135-138.

Laughton M.J., Halliwell B., Evans P.J., Hoult J., Robin S., 1989. Antioxydant and pro-oxydantactions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology*, 38(17): 2859-2865.

Lawrence J.F., 1982. Coleoptera. Synopsis and Classification of Living organisms, S.P. Parker edition, New York, 2: 482-553.

Le Corre F., et Venaille L., 1989. Traitements ionisants. *Microbiologie Alimentaire. Technique & Documentation*, Lavoisier, Paris, p. 345-368.

Le Floch E., 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Imprimerie officielle de la République tunisienne, Radès ville, Tunisie.

- Le Louarn P., 1994.** Guide pratique de l'aromathérapie : mieux être, mieux vivre par l'aromathérapie. Editions De Vecchi, France, 138 p.
- Lea C.H., 1946.** The determination of the peroxide values of edible fats and oils the iodometric method. Journal of the Society of Chemical Industry, 65: 286-291.
- Leaman D.J., 2009.** Soulager la pression. Planète conservation, 39(1): 8-10.
- Lecointre G., Le Guyader H., 2001.** Classification phylogénétique du vivant. Edition Belin, Paris, 543 p.
- Lee S-J., Umamo K., Shibamoto T., Lee K-G., 2005.** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry, 91: 131–137.
- Lepesme P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Edition Paul lechevalier, Paris, 335 p.
- Lewis K., Ausubel F.M., 2006.** Prospects for plant derived antibacterials. Natural Biotechnology, 24: 1504-1507.
- Licina B. Z. and al., 2013.** Biological activities of the extracts from wild growing *Origanum vulgare* L.. Food Control, 33: 498-504.
- Lienard V., Seck D., 1994.** Review of methods used to combat *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), destroyer of storage cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) in tropical Africa. Insect Science and its application, 15(3): 301-311.
- Lingafelter A., Pakaluk J., 1997.** Comments on the Bruchinae and Chrysomelidae. Chrysomela, 33: 3-4.
- Lis-Balchin M. and Hart S.L., 2000.** Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils, originating in Australia and New Zealand. Phytotherapy Research, 14: 623-629.
- Loni A. et Panahi O., 2014.** Control of stored grain pest, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), using the essential oils isolated from *Zingiber officinale* (L.) and *Mentha pulegium* (L.) in laboratory condition. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 48(5): 434-440.
- Lopez M.D., Pascual-Villalobos M.J., 2010.** Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. Industrial Crops and Products, 31: 284-288.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta Biologica Szegediensis, 47(1-4): 119-125.

M

- Machhour H., El Hadrami I., Imzilh B., Mouhib M., Mahrouz M., 2011.** Microbial decontamination by low dose gamma irradiation and its impact on the physico-chemical quality of peppermint (*Mentha piperita*). Radiation Physics and Chemistry, 80: 604-607.
- Mafart P., 1995.** Génie Industriel Alimentaire Tome I, Technique & Documentation, Lavoisier, Paris, p.p. 137-144.
- Mahamat B., 1990.** Contribution à l'étude des Combretaceae du Sénégal. Comparaison de l'activité anti-bactérienne de trois espèces. Thèse de doctorat d'état en Pharmacie.
- Mahmood N., Pizza C., Aquino R., De Tommasi N., Piacente S., Colman S., Burke A., Hay A.J., 1993.** Inhibition of HIV infection by flavanoids. Antiviral Research, 46(7): 1257-1271.
- Mailhebiau P., 1994.** La nouvelle aromathérapie biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Editions Jakin, Milan, 635 p.
- Mallamaire A., 1962.** Les Bruches des légumineuses au Sénégal. Communiqué présenté au 2em congrès des spécialistes des denrées emmagasiné, CCTA/FAO, Freetown (Sierra Leone), p. 8.
- Mamouni H., 1994.** Application des différents procédés d'extraction des grains de coriandre. Mémoire d'ingénieur, Institut National Agronomique (INA), El- Harrach, Alger.
- Mann R.S., Tiwari S., Smoot J.M., Rouseff R.L., Stelinski L.L., 2012.** Toxicity and repellency of essential oils and their constituents on *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Journal of Applied Entomology, 136: 87-96.
- Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El Ghadraoui L., Aafi A., 2011.** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. lycia et *Juniperus phoenicea* ssp. turbinata du Maroc. Biotechnologie, Agronomie, Société et environnement, 15: 415-424.
- Marfak A., 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes : Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat de l'Universités de Limoges, p. 24-42.
- Martin-Cabrejas M.A., Esteban R.M., Waldron K.W., Maina G., Grant G., Bardoz S. et Pusztai A., 1995.** Hard to cook phenomenon in beans: Changes in antinutrient factors and nitrogenous compounds during storage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 69: 429-435.
- Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C., Xavier Fernandez, 2010.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens*. Medicinal Plants Research, 4(10): 959-964.

- Medini H., and al., 2006.** Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. In : Acte du séminaire international « Les plantes à parfum, aromatiques et médicinales », SIPAM, Tunisie.
- Medini H., Elaissi A., Larbi Khouja M., Piras A., Porcedda S., Falconieri D., Marongiu B., Chemli R., 2011.** Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Juniperus phoenicea* L. berries. *Natural Product Research*, 25(18): 1695-1706.
- Meena M.R., Sethi V., 1994.** Antimicrobial activity of the essential oil from spices. *Journal of Food Sciences and Technology-Mysore*, 31: 68-70.
- Menaceur F., Benchabane A., Hazzit M., Baaliouamer A., 2013.** Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. Extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(1): 87-96.
- Menz J., Winkelmann R.K., 1987.** Sensitivity to wild vegetation. Contact dermatitis, 16(3): 169-173.
- Meydani M., 2000^a.** Effect of Functional Food Ingredients: Vitamin E Modulation of Cardiovascular Disease and Immune Function in Elderly. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6): 1665-1668.
- Meydani M., 2000^b.** Vitamin E and Prevention of Heart Disease in High-risk Patients. *Nutrition Reviews*, 58(9): 278-281.
- Meyer A.S., Yi O.S., Person D.A. et al., [...], 1997.** Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 1638-1643.
- Middleton E., Kandaswami C., and Theoharides T., 2000.** The effect of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Review*, 52: 673-751.
- Middleton E.J., 1996.** Biological properties of plant flavonoids: An overview. *Pharmaceutical Biology*, 34: 344-348.
- Middleton E.J., Drzewiecki G., 1984.** Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochemical Pharmacology*, 33(21): 3333-3338.
- Miguel G., Simoes M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Carvalho L., 2004.** Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chemistry*, 86: 183-188.
- Mila I., Scalbert A., 1994.** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, 381(2): 749-755.

- Milane H., 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur, p.p. 13-36.
- Minea R., Nemptanu M.R, Manea S., Mazilu E., 2007.** Use of electron beam irradiation to improve the microbiological safety of *Hippophae rhamnoides*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, 580: 792-794.
- Mishra B.B., Gautam S., Sharma A., 2006.** Microbial decontamination of tea (*Camellia sinensis*) by gamma radiation. Journal of Food Science, 71: 151-156.
- Mitsuda H., Yasumoto K., Iwami K., 1966.** Antioxidation action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. Japan Society of Nutrition and Food Science, 19: 210-214.
- Miyazawa T., Fujimoto K., Kinoshita M., Usuki R., 1994.** Rapid estimation of peroxide content of soybean oil by measuring thermoluminescence. Journal of the American Oil Chemists' Society, 71(3): 343-345.
- Mokkadem A., 1999.** Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Revue Vie et Nature, (7): 24-26.
- Mokkedem O., 2004.** Les plantes médicinales et aromatiques en Algérie: situation et perspectives. Actes du séminaire international sur le développement du secteur des plantes aromatiques et médicinales dans le bassin méditerranéen, Djerba, 1-3 juin 2004, IRA-ICARDA, ARS-USDA, p. 28-36.
- Moleyar V., and Narasimham P., 1992.** Antibacterial activity of essential oils components. Journal of Food Microbiology, 16: 337-342.
- Molins R.A. 2001.** Food Irradiation: Principles and Applications. Edited by Ricardo Molins, Wiley-Interscience, USA, 488 p.
- Monnier C., 2002.** Les plantes médicinales : Vertus et traditions. Edition Privat, 160 p.
- Mookerjee B.K., Lee T.P., Logue G.P., Lippes H.A., Middleton E., 1986.** The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. Progress in Clinical and Biological Research, 213: 511-20.
- Morales R., 1997.** Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. Lagascalia, 19: 249-262.
- Morris C.J., Earl J.R., Trenam C.W., Blake D.R., 1995.** Reactive oxygen species and iron- a dangerous partnership in inflammation. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 27(2): 109-122.
- Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J.M., 1985.** Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. Journal of Ethnopharmacology, 13(3): 289-300.

Mucsi I., Pragai B.M., 1985. Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia*, 41(7): 930-931.

Multon J.L., 1992. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Lavoisier, Paris, 792 p.

Murdock L.L., Seck D., Ntoukam G., Kitch L., Shade R.E., 2003. Preservation of cowpea grain in sub-Saharan African-Bean/Cowpea CRSP contributions. *Field Crops Research*, 82(2-3): 169-178.

N

Namgoong S.Y., Son K.H., Chang H.W., Kang S.S., Kim H.P., 1994. Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sciences*, 54(5): 313-20.

Nataro J.P., and Kaper J.B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11: 142-201.

Naves Y.R., 1964. Qu'est-ce qu'une huile essentielle. Masson, Paris.

Nessrien M.N.Y., and Mohamed A.T., 2007. Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 2(1): 01-09.

Nestle M., 2003. Safe Food : Bacteria, Biotechnology, and Bioterrorism. Presse de l'Université de Californie, p. 122.

Ngamo T.S.L., Kouninki H., Ladang Y.D., Ngassoum M.B., Mapongmestsem P.M., Hance T., 2007. Potential of *Anisopteromalus calandrae* (hymenoptera: pteromalidae) as biological control agent of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *African journal of agricultural research*, (2): 168-172.

Niokhor Diouf P., 2003. Étude comparative de méthodes de mesure de l'activité antioxydante. Thèse de doctorat en sciences et technologies industrielles. Université Henry Poincaré, Nancy I.

Nonaka G.I., Nishioka I., Nishizawa A., Yamagishi T., Kashiwada Y., Dutschman G.E., Bodner A.J., Kilkuskie R.E., Cheng Y.C., Lee K.H., 1990. Inhibitory effects of tannins on HIV reverse transcriptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells. *Journal of natural products*, 53(3): 587-595.

Nyamador S.W., 2009. Influence des traitements à base d'huiles essentielles sur les capacités de reproduction de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. Et de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) : Mécanisme d'action de l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus*

chiov. Thèse de doctorat en sciences de la vie. Biologie de développement. Entomologie appliquée. Université de Lomé, Togo, 177 p.

Nyamador W.S., Ketoh G.K., Amévoïn K., Nuto Y., Koumaglo H.K., 2010. Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. *Journal of Stored Products Research*, 46: 48-51.

O

Odoul M., 2003. Les huiles essentielles. La lettre de l'Institut Français de Shiatsu, p.p. 1-12.

Ohemeng K.A., Schwender C.F., Fu K.P., Barrett J.F., 1993. DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3(2): 225-30.

Oinonen P.P., Jokela J., Hatakka A., Vuorela P.M., 2006. Linarin, a selective acetylcholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis*. *Fitoterapia*, 77(6): 429-434.

Omulokoli E., Khan B., Chhabra S.C., 1997. Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 56: 133-137.

Ouedraogo A.P., and Huignard J., 1981. Polymorphism and ecological reaction in *Callosobruchus maculatus* in Upper Volta. *The Ecology of Bruchids Attacking Legumes (Pulses)*, 19: 175-184.

Ouedraogo A.P., 1978. Etude de quelques aspects de la biologie de *Callosobruchus maculatus* F., Coléoptère Bruchidae et de l'influence des facteurs externes stimulants (plante hôte et copulation) sur l'activité reproductrice de la femelle. Thèse de 3ème cycle, Toulouse, 101 p.

Ouedraogo A.P., 1991. Le déterminisme du polymorphisme imaginal chez *Callosobruchus maculatus* F., Coléoptère Bruchidae. Importance des facteurs climatiques sur l'évolution des populations de ce Bruchidae dans un système expérimental de stockage des graines de *Vigna unguiculata* (Walp.). Thèse de doctorat d'état, 117 p.

Ouedraogo A.P., Monge J.P., and Huignard J., 1991. Importance of temperature and seed water content on the induction of imaginal polymorphism in *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 59: 59-66.

Ouedraogo A.P., Sou S., Sanon A., Monge J.P., Huignard J., Tran M.D., Credland P.F., 1996. Influence of temperature and humidity on populations of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two zones of Burkina Faso. *Bulletin of Entomological Research*, 86: 695-702.

Organisation Mondiale de la Santé, 1989. L'irradiation des produits alimentaires : Une technique pour conserver et améliorer la salubrité des aliments. 89/7914, Darantiere, 2000, France, 92 p.

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control, 18: 414-420.

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2006. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 69(5): 1046-1055.

Owczarczyk H.B., Migdal W., Kedzia B., 2000. The pharmacological activity of medicinal herbs after microbiological decontamination by irradiation. Radiation Physics and Chemistry, 57: 331-335.

Oyaizu M., 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japan Journal of Nutrition, 44: 307-315.

Oyediji O., and al., 2011. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. Journal of Medicinal Plants Research, 5(7): 1192-1199.

Ozkan M., and Chalchat J.C., 2003. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. Bulgarian Journal of plant physiology, 30(4): 68-73.

P

Papachristos D.P., and Stamopoulos D.C., 2002. Reppellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 38(2): 117-128.

Pauli A., 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journal of Aromatherapy, 11(3): 126- 133.

Pellerin P., 2001. Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique, 94 : 51-62.

Pereira E., Barros L., Antonio A.L., Verde S.C., Santos-Buelga C., Ferreira Isabel C.F.R., 2016. Infusions from *Thymus vulgaris* L. treated at different gamma doses: effects on antioxidant activity and phenolic composition. Food Science and Technology, 74: 34-39.

- Pereira E., Barros L., Duenas M., Antonio A. L., Santos-Buelga C., Ferreira Isabel C.F.R., 2015.** Gamma irradiation improves the extractability of phenolic compounds in *Ginkgo biloba* L. *Industrial Crops and Products*, 74: 144-149.
- Pereira J. et Wohlgemuth R., 1982.** Neem (*Azadirachta indica*) of West African origin as a protectant of store maize. *Journal of Applied Entomology*, 94 : 208-214.
- Pérez M.B., Banek S.A., Croci C.A., 2011.** Retention of antioxidant activity in gamma irradiated Argentinian sage and oregano. *Food Chemistry*, 126: 121-126.
- Pérez M.B., Calderon N.L., Croci C.A., 2007.** Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry*, 104: 585-592.
- Pharmacopée Européenne, 2002.** Conseil de l'Europe, 4ème édition, Strasbourg.
- Pharmacopée Européenne, 2008.**, Conseil de l'Europe, 6eme édition, Lavoisier, Paris.
- Philogene B.J.R., Regnault-Roger C., Vincent C., 2002.** Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. *Biopesticide d'origine végétale*, Technique & Documentation Éditions, Lavoisier, France, p.p. 1-16.
- Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale, Lausanne, 161 p.
- Pieri F., Kirkiacharian S., 1992.** *Pharmacologie et Thérapeutique*. Editions Ellipses, Paris, 463 p.
- Pieron A., Janiak V., Dürr C.M., Lüdeke S., Trachsel E., Heinrich M., 2002.** In vitro antioxidant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in Southern Italy. *Phytotherapy Research*, 16: 467-473.
- Pietta P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O., 1998.** Stress oxydant, antioxydants nutritionnels et vieillissement. *Act. Méd. Int. - Métabolismes - Hormones - Nutrition*, 5(4), juillet-août, 2001.
- Pin-Der-Duh P.D., 1998.** Antioxidant activity of Budrok (*Arctium lappa* L.): its scavenging effect on free radical and active oxygen. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 75(4): 455-461.
- Pokorny J., 1991.** Natural antioxidants for food use. *Trends in food science and technology*, 9: 223-227.
- Polovka M., Brezová V., Šimko P., 2007.** EPR spectroscopy: A tool to characterize the gamma irradiated foods. *Food & Nutrition Research*, 46: 75-83.

Polovka M., Suhaj M., 2010. Detection of caraway and bay leaves irradiation based on their extracts antioxidant properties evaluation. *Food Chemistry*, 119: 391-401.

Porter L.J., 1988. Flavans and proanthocyanidins. *The Flavonoids Edition* J.B. Harborne Chapman and Hall, London, p. 21.

Possenti M., Baima S., Raffo A., Durazzo A., Giusti A.M., Natella F., 2016. Glucosinolates in Food. *Glucosinolates*, p.p. 1-46.

Pouget J.P., 2000. Effet du rayonnement ionisant sur l'adn cellulaire : mesure des bases puriques et pyrimidiques modifiées. Thèse de doctorat en Radiobiologie, Paris.

Pradeau D., Cohen Y., 1992. L'analyse pratique du médicament. *Médicales internationales*, p. 418-428.

Prevett P.F., 1971. The larvae of some Nigerian Bruchidae (Coleoptera). *Transactions of the Entomological Society*, London, 123: 247-312.

Price D.N., Berry M.S., 2006. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut, and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. *Journal of Insect Physiology*, 52: 309-319.

Priestley C.M., Williamson E.M., Wafford K.A., Sattelle D.B., 2003. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA(A) receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, 140(8): 1363–1372.

Prowse G.M., Galloway T.S., Andrew Foggo A., 2006. Insecticidal activity of garlic juice in two dipteran pests. *Agricultural and Forest Entomology*, 8(1): 1-6.

Puškárová A., Bučková M., Kraková L., Pangallo D., Kozics K., 2017. The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. *Scientific Reports*, 7(1): 8211-8218.

Puppo A., 1992. Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, 31(1): 85-88.

Purchon N., 2001. La bible de l'aromathérapie. Marabout, Paris, 41 p.

Q

Qnais E.Y., Abdulla Y.Y., Abu Ghlyun P., 2005. Antidiarrheal effect of *Juniperus phoenicea* L. leaves extract in rats. *Journal of Biological Sciences*, 8(6): 867-871.

Quezel P., et Gast M., 1998. Genévrier. *Encyclopédie berbère*. Edition Sud, 20: 3016-3023.

Quezel P., et Gast M., 2011. Genévrier. *Encyclopédie berbère*, 20 p.

Quezel P., et Santa S., 1962. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales Tome I. Editions Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 565 p.

Quezel P., et Santa S., 1963. Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales

Tome II. Editions Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 663 p.

R

Rafiul Islam, 1991. In vitro organogenesis of chickpea (*Cicer arietinum*) and its transformation by agrobacterium. Thèse de doctorat, Université du Punjab, Lahor, Pakistan, 217 p.

Raghuveer I., Anurag K., Anumalik Y., Nitika G., Swadesh K., Nikhil G., Santosh K., Vinay Y., Anuj P., and Himanshu G., 2014. Metabolites in plants and its classification. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4(1): 287-305.

Raja N., Albert S., Ignacimuthu S., Dorn S., 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Products Research, 37(2): 127-132.

Rajapakse R.H.S., and Van Emden H.F., 1996. The pesticidal effect of ten botanical and four vegetable oils in the management of three *Callosobruchus* species. European Journal of Plant Pathology, Netherlands, Volume 1226.

Rajnerayanama K., Reddy M., Charluvadi M.R., Krishna D.R., 2001. Bioflavonoids: Classification, pharmacological, biochemical effect and therapeutic potential. Indian Journal of Pharmacology, 33: 2-16.

Ramarathnam N., Osawa T., Ochi H., Kawakishi S., 1995. The contributions of plant food antioxidants to humans health. Trends in Food Science & Technology, 6(3): 75-82.

Ramzan M., 1994. Efficacy of edible oils against pulse beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.). Journal of Insect Science, 7(1): 37-39.

Rashid A., Qureshi M.Z., Raza S.A., William J., and Arshad M., 2010. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. Analele Universitatii din Bucuresti, 19(1): 23-30.

Re L., Barocci S., Sonnino S., Mencarelli A., Vivani C., Paolucci G., Scarpantonio A., Rinaldi L., Mosca E., 2000. Linalool Modifies the Nicotinic Receptor-Ion Channel Kinetics at the Mouse Neuromuscular Junction. Pharmacological Research, 42: 177-182.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26: 1231-1237.

- Redden R., Berger J., 2007.** History and origin of Chickpea. In: Yadav S.S., Redden R., Chen W., Sharma B. editors, Chickpea Breeding & Management, CABI, Wallingford, UK, p.p. 1-13.
- Rees S.B., and Harborne J.B., 1985.** The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochemistry*, 24: 2225-2231.
- Regnault-Roger C., 2002.** De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire ? Biopesticides d'origine végétale, Technique & Documentation, Editions Lavoisier, Paris, p.p. 19-40.
- Regnault-Roger C., Hamraoui A., 1993.** Efficiency of plants from the south of France used as traditional protectants of *Phaseolus vulgaris* L. against its bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 29(3): 259-264.
- Regnault-Roger C., Hamraoui A., 1995.** Fumigant toxic activity and reproduction inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, 1: 291-299.
- Reid C.A.M., 1995.** A cladistic analysis of subfamilial relationships in the Chrysomelidae sensu lato (*Chrysomeloidea*). *Biology, Phylogeny and Classification of Coleoptera: Papers celebrating the 80th birthday of R.A. Crowson.* (J. Pakaluk, S.A. Slipinski, eds.), Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa, p.p. 559-631.
- Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Régerat F., 1996.** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et Nutrition*, 32: 17-27.
- Ribera A., and Zuñiga G., 2012.** Induced plant secondary metabolites for phytopatogenic fungi control. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(4).
- Richard H., 1992.** Epices et aromates. Lavoisier, Paris, 339 p.
- Richard H., Benjilali B., Banquour N., Baritaux O., 1985.** Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. *Lebensm-Wiss U-Technol*, p. 105-110.
- Ridet J.M., 1992.** Des protozoaires aux échinodermes. Edition Marketing, Paris, 223 p.
- Robert K., and al., 1992.** Anti-AIDS agents 8 HIV and reverse transcriptase inhibition by tannins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2(12): 1529-1534.
- Roeder T., 1999.** Octopamine in invertebrates. *Progress in Neurobiology*, 59: 533-561.
- Roeding-Penman A., Gordon M. H., 1998.** Antioxidant properties of Myricetin and Quercetin in oil and emulsions. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 75: 169-180.
- Rossignol-Castera A., 2006.** Oxydation et rancissement des matières grasses conséquences sur la qualité nutritionnelle et la durée de vie des produits alimentaires. Colloque Silliker Sécurité et Qualité des Aliments, Paris.

Rouessac F., Rouessac A., 1995. Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes. Masson, Paris, 302 p.

Ruberto G., Baratta M.T., Sari M., Kaabeche M., 2002. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. Flavour and Fragrance Journal, 17: 251-254.

Ruberto G., Biondi D., Cianci P., Geraci C., 1993. Antimicrobial Activity and chemical composition of Essential oils from Sicilian Aromatic Plants. Flavour and Fragrance Journal, 8: 331-337.

Rubinstein J.P., 2009. La famille des Ombellifères (Apiaceae ou Umbelliferae). Biologie et Multimédia - Université Pierre et Marie Curie - UFR des Sciences de la Vie.

Ryan M.F., Byrne O., 1988. Plant–insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. Journal of Chemical Ecology, 14: 1965-1975.

S

Sádecká J., 2010. Influence of two sterilisation ways, gamma-irradiation and heat treatment, on the volatiles of black pepper (*Piper nigrum* L.). Czech Journal of Food Sciences, 28(1): 44-52.

Sahraoui N., Hazzit M., Boutekedjiret C., 2017. Effects of microwave heating on the antioxidant and insecticidal activities of essential oil of *Origanum glandulosum* Desf. obtained by microwave steam distillation. Journal of Essential Oil Research, 29(5): 420-429.

Saidia B., and Hammond E., 1989. Quantification of Carbonyls produced by the decomposition of hydroperoxydes. Journal of American Oil Chemist's Society, 66: 1097-1102.

Salem N., Bachrouch O., Sriti J., Msaada K., Khammassi S., Hammami M., Selmi S., Boushah E., Koorani S., Abderraba M., Marzouk B., Limam F. & Ben Jemaa J.M., 2018. Fumigant and repellent potentials of *Ricinus communis* and *Mentha pulegium* essential oils against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricornis*. International Journal of Food Properties, 20(3): 2899-2913.

Sanago R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université de Bamako (Mali): 10ème Ecole d'été de l'IEPF et du SIFEE. Du 6 au 10 juin.

Sano-Fujii I., 1984. Effect of bean water content on the production of active form of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 20(3): 153-161.

- Sanon A., and al., 2005.** Combining *Boscia senegalensis* Lamarck (Capparaceae) leaves and augmentation and the larval parasitoid *Dinarmus basalis* Rondani (Hymenoptera: Pteromalidae) for bruchids control in stored cowpea. *Journal Entomology*, 2(1): 40-45.
- Sanon A., et Ouedraogo A.P., 1998.** Etudes de variations démographiques de *Callosobruchus maculatus* (F.) et de ses parasitoides, *Dinarmus basalis* (Rond.) et *Eupelmus vuilleti* (Crawf.), sur le niébé dans une perspective de lutte biologique. *Insect Science and Its Application*, 3: 241-250.
- Sanon A., Garba M., Auger J., and Huignard J., 2002.** Activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 129-138.
- Sanon A., Ilboudo Z., Dabire B.L.C., Nebie C.H R., Dicko O.I., Monge J-P., 2006.** Effects of *Hyptis spicigera* Lam. (Labiatae) on the behaviour and development of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), a pest of stored cowpeas. *International Journal of Pest Management*, 52(2): 117-123.
- Sato M., Tsuchiya H., Takase I., Kureshiro H., Tanigaki S., Iinuma M., 1995.** Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics. *Phytotherapy Research*, 9(7): 509-512.
- Savelev S.U., Okello E.J., Perry E.K., 2004.** Butyryl and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of salvia species and their constituents. *Phytotherapy Research*, 18: 315-324.
- Schippmann U., Leaman D., Cunningham A., 2002.** Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues. FAO, Biodiversity and the Ecosystem Approach in Agriculture, Forestry and Fisheries, Satellite event on the occasion of the Ninth Regular Session of the Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Rome, 12-13 October, 2002, Rome: FAO Inter-Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture, 21 p.
- Schmitt M., 1998.** Again, bruchid classification. *Chrysomela*, 36: 3-4.
- Schwarz K., et Ternes W., 1992.** Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung*, 195: 99-103.
- Seck D., Lognay G., Haubruge E., wathelet J.P., Marlier M., Gaspar C., Severin M., 1993.** Biological activity of the shurd *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. Ex Poir. *Journal of Chemical Ecology*, 19(2): 377-389.

- Seo H.Y., Kim J.H., Songb H.P., Kim D.H., Byun M.W., Kwon J.H., Kim K.S., 2007.** Effects of gamma irradiation on the yields of volatile extracts of *Angelica gigas* Nakai. *Radiation Physics and Chemistry*, 76: 1869-1874.
- Seri-Kouassi B.P., Kanko C., Nondenot Aboua L.R., Bekon K.H., Glitho A. I., Koukoua G., N'Guessan Y.T., 2004.** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *Comptes Rendus de Chimie*, 10(11): 1043-1046
- Shaaya E., Kostjukovski M., Eilerg J., Sukprakarn C., 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33: 7-17.
- Shaaya E., Ravid E., Paster N., Juven B., Zisman U., Pissarau V., 1991.** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored product insects. *International Journal of Tropical Insect Science*, 21: 61-66.
- Shaheen FA, Khaliq A., and Aslam M. 2006.** Resistance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars against pulse beetles. *Pakistan Journal of Botany*, 38: 1224-1244.
- Shahidi F., Janitha D.K., Wanasandura P.D., 1992.** Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32: 67-103.
- Silva T.M., Miranda R.R.S., Ferraz V.P., Pereira M.T., De Siqueira E.P., Alcântara A.F.C., 2013.** Changes in the essential oil composition of leaves of *Echinodorus macrophyllus* exposed to γ -radiation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(4): 600-607.
- Silvain J.-F., Delobel A., 1998.** Phylogeny of West African Caryedon (Coleoptera: Bruchidae): congruence between molecular and morphological Data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9: 533-541.
- 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*, 54(1): 174-181.
- Singh M., Upadhyaya H.D., Bisht I.S., 2013.** Genetic and genomic resources of grain legume improvement. *Newnes Elsevier*, 322 p.
- Singh R., Jauhar P., 2005.** Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement. *Grain Legumes*, Volume 1, CRC Press, 390 p.
- Singh S.R., Allen D.J., 1979.** Les insectes nuisibles et les maladies du Niébé. *Manuel n°2*, IITA, 113 p.

- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., 1996.** Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of Food Chemistry*, 44: 1202-1205.
- Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonic M., and Knez Z., 2005.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89: 191–198.
- Slinkard K., and Singleton V., 1977.** Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49-55.
- Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L., 1998.** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 26: 118-122.
- Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L., 2001.** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18(4): 463-70.
- Somta P., Talekar N.S. and Srinives P., 2006.** Characterization of *Callosobruchus chinensis* (L.) resistance in *Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & Ohashi. *Journal of Stored Products Research*, 42: 313-327.
- Southgate B. J., 1978.** The importance of the Bruchidae as of, theirs grains legums: Ecologie and control. Ed. S. R. Singh, VAN Eden H. F., and Tylor T.A., p.p. 219-229.
- Southgate B.J., 1979.** Biomorphology of the Bruchidae. *Annual Review of Entomology*, 24: 449-473.
- 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. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(1): 22-25.
- Stassi V., Verykokidou E., Loukis A., Harvala C., Philianos S., 1996.** The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. *Flavour Fragrance Journal*, 11: 71-74.
- Stewart E.M., 2001.** Food irradiation chemistry. *Food Irradiation: Principles and Applications*, Edited by Molins R., John Wiley & Sons, p.p. 37-76.
- Strateva T., and Yordanov D., 2009.** *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 58: 1133-1148.
- Suhaj M., and Horváthová J., 2007.** Changes in antioxidant activity induced by irradiation of clove (*Syzygium aromaticum*) and ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of Food and Nutrition Research*, 46 (3): 112-122.

Suresh Kumar K., Ganesan K., Subba Rao P.V., 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed. Food Chemistry, 107: 289-295.

Surk K.I., and Nielsen P.V., 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal Applied Microbiology, 99: 665-674.

Svoboda K.P., Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

Szent-Györgyi A., 1938. Therapeutic properties of vitamins. Presse Medicale, 46(995): 1893-1971.

T

Tago D., Andersson H., Treich N., 2014. Pesticides and Health: A Review of Evidence on Health Effects, Valuation of Risks, and Benefit-Cost Analysis, in (ed.) Preference Measurement in Health (Advances in Health Economics and Health Services Research, Volume 24) Emerald Group Publishing Limited, p.p. 203-295.

Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A., Cliver D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food control, 21: 1199-1218.

Talukder F., Malik M., Khanam L. A. M., Dey K.C., 1998. Toxicity of some indigenous plant seed against *Tribolium confusum* Duval. Journal of Bio-Science, 15: 133-138.

Tania D.S., Agostini C., Roberto F.V., Humberto R.B., Damaris S., Marcos A.G., 2012. Secondary Metabolites. Chromatography and Its Applications, p.p. 131-164.

Tapondjou A.L., Adler C., Fontem D.A., Bouda H., 2003. Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* et d'*Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Collosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae). Cahier d'étude et de recherches francophones/agriculture, 12(6): 401-407.

Tauber M.J., and Tauber C.A., 1981. Insect seasonal cycles: genetics and evolution. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 12: 281-308.

Tauber M.J., Tauber C.A., Masaki S., 1984. Adaptation to hazardous seasonal conditions: dormancy, migration and polyphemism. Ecological Entomology, Huffaker C.B. and Raab R.L. Editions Wiley, New York, pp. 149-183.

Taylor T.A., 1981. Distribution, Ecology and importance of Bruchids attacking grain legumes. Ed. by Laberyrie V., Junk, The Hague, p.p.199-203.

Tegos G., Stermitz F.R., Lomovskaya O., Lewis K., 2002. Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrob Agents Chemother*, 46: 3133-3141.

Tepe B., Sokmen M., Akpulat A., Sokmen A., 2006. Screening of the antioxidant potential of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, 95: 200-204.

Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles.* Lavoisier, Paris, 522 p.

Thongphasuk P., Thongphasuk J., Bavovada R., Chamulitrat W., 2014. Effects of gamma irradiation on active components, free radicals and toxicity of *Cassumunar ginger* rhizomes. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(7): 432-436.

Tofel Katamssadan H., Nukenine E. N., Stähler M., Adler C., 2015. Insecticidal efficacy of *Azadirachta indica* powders from sun- and shade-dried seeds against *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(1): 100-108.

Tong F., and Coats J.R., 2010. Effects of monoterpenoid insecticides on [³H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and ³⁶C¹⁻ uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 317-324.

Trease G.E., and Evans W.C., 1989. *Pharmacognosy.* 13th Edition, Ballière-Tindall, p.p. 436-445.

Trease G.F., and Evans W.C., 1983. *Textbook of pharmacognosy.* 12th Edition, Tindall and Co., London, p. 343-383.

Turgeon M., 2001. *Profil des produits forestiers - première transformation des huiles essentielles.* Ministère des Ressources naturelles - Direction du développement de l'industrie des produits forestiers, Québec, 16 p.

U

Ultee A., Kets E.P.W., Smid E.J., 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10): 4606-4610.

Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B., Sokmen A., 2002. Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, 83: 117-121.

USEPA, 1994. Reregistration Eligibility Decision (RED) - Limonene. United States Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances (EPA 738-R-94-034), Washington, DC.

Utida S., 1954. Phase dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil *Callosobruchus quadrimaculatus*. *Journal of Applied Zoology*, 18: 161-168.

Utida S., 1972. Density-dependent polymorphism in the adult of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 8: 111-126.

V

Valnet J., 1979. Aromathérapie traitement des maladies par les essences des plantes. Brodar et Taupin, France, p. 525.

Valnet J., 1980. Aromathérapie traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine, Paris, 542 p.

Van Acker S., Tromp M., Haenen G.R.M.M., Van Der Vijgh W., Bast A., 1995. Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 214(3): 755-759.

Van Alebeek, 1996. Natural suppression of bruchid pests in stored cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in West Africa. *International Journal of Pest Management*, 42: 55–60.

Van Driesche R.G., and Bellows T.S., 1996. Biological control. Chapman & Hall, New York, 539 p.

Vansant G., 2004. Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentations », 23 octobre, Louvain (Belgique), Université de Leuven UZ Gasthuisberg, Institut Danone.

Vardar-Unlu G., Candan F., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen M., Donmez E., Tepe B., 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 63–67.

Variyar P.S., Gholap A.S., Thomas P., 1997. Effect of gamma irradiation on the volatile oil constituents of fresh ginger (*Zingiber officinalis*) rhizome. *Food Research International*, 30: 41-43.

Vasseur J.P., 1991. Ionisation des produits alimentaires. *Technique & Documentation*, Lavoisier, Paris, 444 p.

Venkateshappa S.M., and Sreenath K.P., 2013. Sreenath, Potential Medicinal Plants of Lamiaceae. *Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, 13(239): 2328-3777.

Verma A.K., Johnson J.A., Gould M.N., Tanner M.A., 1988. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz (a)anthracene- and N-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by the dietary flavonol quercetin. *Journal Cancer Ressourch*, 48(20): 5754-5758.

- Verma K.K., and Saxena R., 1996.** The status of Bruchidae as a family. *Chrysomela*, 32:3.
- Verma M., Sharma P., Gour V.S., Kothari S.L., 2016.** Moisture-mediated effects of γ -irradiation on antioxidant properties of mung bean (*Vigna radiate* L.) cultivars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 34: 59-67.
- Vermin G., 1982.** Arôme alimentaire et développement récents, Apria, Paris.
- Viaud H., 1993.** Huiles essentielles hydrolats. Présence, Lyon, France, 39 p.
- Vincent C., et Coderre D., 1992.** La lutte biologique. Gaëtan Morin Editeur (Montréal) et Tec Doc, Lavoisier, Paris, 671 p.
- Vincent C., 1998.** Les biopesticides. *Antennae* 5(1): 7-29.
- Vrijzen R., Van Hoof L.M., Vlietinck A.J., Vanden Berghe D.A., Boeye A., 1987.** The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3-methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antiviral Research. Journal*, 7(1): 35-42.
- W**
- Wada M., Kido H., Ohyama K., Kishikawa N., Ohba Y., Kuroda N., Nakashima K., 2004.** Evaluation of quenching effects of nonwater- soluble and water-soluble rosemary extracts against active oxygen species by chemiluminiscent assay. *Food Chemistry*, 87: 261-267.
- Walsh S.E., and Maillard J.Y., 2003.** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2): 240-247.
- Watt O.M., Breyer-Brandwijk M.G., 1962.** The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. Edinburgh, E. & S. Livingstone Ltd, London.
- Wattenberg Lee W., 1983.** Anticarcinogenic effects of several minor dietary components. *Food Processing, International Conférence*, p. 157-166.
- Weidner H., and Rack G., 1984.** Table de détermination des principaux ravageurs des denrées entreposées dans les pays chauds. GTZ Edition, Eschborn, Allemagne, p.p. 83-89.
- Wichtl M., Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Lavoisier, Paris, p. 692.
- Wightman J.A., and Southgate B.J., 1982.** Egg morphology, host, and probable regions of origin of the bruchids (Coleoptera: Bruchidae) that infest stored pulses – an identification aid. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 10: 95-99.
- Willem J.P., 2002.** Les huiles essentielles médecine d'avenir. Santé et Mieux Etre, Dauphin Paris, 311 p.

X

Xavier-Filho J., 1993. Sementes e suas defesas contra insectos. Projeto Multinacional de Biotecnologia e alimentos, Organizacao dos Ectados Americanos, Imprensa universitaria : Fortaleza, Brazil, p.p. 1-31.

Y

Yahi N., Benhouhou S., 2010. Algérie. In : Radford E.A, Catullo G., Montmollin B. de (dir.). Zones importantes pour les plantes en méditerranée méridionale et orientale. Sites prioritaires pour la conservation. UICN. p. 27-30.

Yalcin H., Ozturk I., Tulukcu E., Sagdic O., 2011. Effect of γ -Irradiation on Bioactivity, Fatty Acid Compositions and Volatile Compounds of Clary Sage Seed (*Salvia sclarea* L.). Journal of Food Science, 76(7): 1056-1061.

Yang J.K., Choi M.S., Seo W.T., Rinker D.L., Han S.W., Cheong G.W., 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of *Chamaecyparis obtusa* leaf essential oil. Fitoterapia, 78: 149-152.

Yen G.C., Chen H.Y., Peng H.H., 1997. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: 30-34.

Yildirim F., Memis Y., Ozturk A., Caliskan Z., Savran A. & Abdullah M.I., 2017. Antimicrobial Activity of the Essential Oil and the Extracts of *Kitaibelia balansae* Species. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 20(3): 809-819.

Yoshida T., Hatano. T., Miyamoto K., Okuda T., Brouillard R., Jay M., 1995. Antitumor and related activities of ellagitannin oligomers. Polyphenols 94, Brouillard R., Jay M., Scalbert A., Editions, INRA Editions, Paris, p.p. 123-132.

Z

Zaika L.L., 1988. Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. Journal of Food Safety, 9: 97-117.

Zannou E.T., 2000. Analyse de quelques paramètres biologiques pour meilleure connaissance des capacités reproductrices d'une souche béninoise de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) : Caractérisation et importance de la diapause reproductrice chez les femelles du morphe voilier. Thèse de doctorat Université de Lomé, 150 p.

Zantar S., Haouzi R., Chabbi M., Laglaoui A., Mouhib M., Boujnah M., Bakkali M., Zerrouk M.H., 2015. Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and

antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. Radiation Physics and Chemistry, 115: 6-11.

Zhao N.N., Zhang H., Zhang X.C., Luan X.B., Zhou C., Liu Q.Z., Shi W.P., Liu Z.L., 2013. Evaluation of acute toxicity of essential oil of garlic (*Allium sativum*) and its selected major constituent compounds against overwintering *Cacopsylla chinensis* (Hemiptera : Psyllidae). Journal of Economic Entomology, 106(3): 1349-1354.

Zhiri A., Baudoux D., 2006. Huiles Essentielles Chémotypées et leurs synergies. Pranarôm, Paris.

Sites internet

Commodity Trade Statistics Database (Comtrade), 2015. <http://comtrade.un.org/>. Consulté en 2015.

FAO, 2006. <http://faostat.fao.org>. Consulté en 2006.

FAO, 2009. Special report FAO/WFP Crop and Food security assessment Mission to Ethiopia (Phase 1). <http://www.fao.org/giews>. Consulté le 04 octobre 2009.



Effect of Gamma Irradiation on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Thymus algeriensis* Extracts

Sabrina Douar-Latreche, Otmane Benchabane, Naima Sahraoui, Mohamed Hazzit, Fazia Mouhouche & Aoumeur Baaliouamer

To cite this article: Sabrina Douar-Latreche, Otmane Benchabane, Naima Sahraoui, Mohamed Hazzit, Fazia Mouhouche & Aoumeur Baaliouamer (2018) Effect of Gamma Irradiation on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Thymus algeriensis* Extracts, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21:2, 449-461, DOI: [10.1080/0972060X.2017.1421869](https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1421869)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1421869>



Published online: 16 May 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 7



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Effect of Gamma Irradiation on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Thymus algeriensis* Extracts

Sabrina Douar-Latreche ^{1,2*}, Otmane Benchabane ¹, Naima Sahraoui ³,
 Mohamed Hazzit, ¹ Fazia Mouhouche ⁴, Aoumeur Baaliouamer ⁵

¹ Department of Technology of Agricultural and Food Industries,
 High National School of Agronomy, El-Harrach, Algiers, Algeria

² High School of Food Sciences and Food Industries (ESSAIA), Algiers, Algeria

³ Laboratory of Transfer Phenomena, Department of Process Engineering,
 University of Science and Technology Houari Boumediene (USTHB),
 BP 32, El alia, 16111 Bab-Ezzouar. Algiers, Algeria

⁴ Department of Agriculture and Forestry Zoology, High National
 School of Agronomy (ENSA), El-Harrach, Algiers, Algeria

⁵ Laboratory of Functional Organic Analysis, Faculty of Chemistry, University of Science
 and Technology Houari Boumediene (USTHB), Bab Ezzouar, Algiers, Algeria

Received 24 April 2017; accepted in revised form 22 December 2017

Abstract: *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. pretreated with gamma irradiation at the doses of 0, 10, 20 and 30 kGy were submitted to hydrodistillation and the resulted essential oils were analyzed for their chemical composition by GC and GC-MS and for their antioxidant activity evaluated by inhibition of lipid peroxidation, ferric reducing antioxidant power and scavenging of radicals DPPH[•] and ABTS^{•+}. On the other hand, the non volatile ethanol extracts obtained by Soxhlet, were analyzed in terms of the dosage of total phenols and flavonoids and for their antioxidant activity. Although there were no qualitative changes in the chemical composition of the essential oils of the irradiated samples, minor quantitative changes were observed for some compounds for some irradiation doses, especially for the three main components: carvacrol for all the doses in addition to p-cymene and γ -terpinene for 10 kGy and γ -terpinene for 30 kGy. The antioxidant activity of the oils was dependent on the method employed to determine such activity. Total phenolics content (149.33-236.17 mg GAE/g Extract) and flavonoids (35.74 - 52.25 mg QE/g Extract) as well as the antioxidant activities decrease for the samples irradiated at 20 and 30 kGy. Contrariwise, the irradiation at 10 kGy increases total phenolic content and antioxidant activity. The results suggest that gamma-irradiation of *T. algeriensis* up to 10 kGy could be used as beneficial decontamination process.

Key words: Lamiaceae, *Thymus algeriensis*, gamma-irradiation, essential oil, ethanol extracts.

Introduction

The genus *Thymus* (Lamiaceae) contains more than 250 species of perennial aromatic, evergreen or semi-evergreen herbaceous plants with many subspecies, varieties, subvarieties and forms ¹.

Thymus oils and extracts are widely used in pharmaceutical, cosmetic, and perfume industry, also for flavoring and preservation of several food products ². *T. algeriensis* Boiss. et Reut. is the most widespread North African species, endemic to

*Corresponding author (Sabrina Douar-Latreche)
 E-mail: <latreche.sabrina@gmail.com >

Algeria, Tunisia, Libya and Morocco. In Algeria, fresh or dried, it is the most used and commercialized *Thymus* species as culinary herb. Also, it is the only *Thymus* cultivated year round. In traditional medicine, *T. algeriensis* is essentially used in respiratory disorders³.

Aromatic and medicinal plants are prone to insect infestation and microbial contamination by pathogenic microorganisms during their collection, treatment, transport and storage which are able to cause physical or chemical changes in the drug or in their metabolites. Several decontamination methods exist but the most versatile treatment among them is processing with ionizing radiation⁴. Gamma irradiation as a phytosanitary treatment has been proven to be safe and effective in improving the hygienic quality of various foods and herbal materials in order to extend their shelf life^{5,6}. According to Codex Alimentarius General Standard⁷ gamma irradiation is allowed for the decontamination of dried aromatic herbs and spices up to a dose of 10 kGy, but this limitation has been raised by the US Food and Drug Administration (FDA) and some countries to doses of 30 kGy for these products⁸⁻¹⁰. The dose of 10 kGy is enough to guarantee product disinfection and microbial decontamination¹¹. Some studies report that irradiated materials at doses higher than 10 kGy are microbiologically decontaminated without compromising their nutritional capacities and pharmacological properties¹²⁻¹⁴.

The main objectives of this study are to investigate the effects of various gamma irradiation dose levels on the chemical composition of the essential oils and on total phenolic content and consequently on their *in vitro* antioxidant activity.

Experimental

Plants material and irradiation

The aerial parts of wild *T. algeriensis* (about 2 Kg) were collected in April 2016 before flowering stage from Médéa region (60 Km south-west of Algiers). The taxonomic identity of the plant was confirmed by comparison with specimen of known identity already deposited in the herbarium of the National High School of Agronomy (ENSA), Algiers. In addition to this, Professor H. Abdelkrim, department of botany in the previous

school, authenticated the plant. Afterwards, the plants were dried in the shade at room temperature and only the leaves were packed into four polyethylene bags of 150 g each. Three samples (bags) were irradiated at room temperature using gamma rays from a cobalt-60 radiation source type COP-4 (ORIS industries, France). The irradiation was carried out in a single experiment at CRNA (Nuclear Research Centre of Algiers). Doses of gamma radiation from ⁶⁰Co applied to plant material were 10, 20, and 30 kGy ($\pm 20\%$) at the dose rate of 6.91 Gy/min as determined with a Fricke dosimeter. The batch of non-irradiated plant material was kept and used as a control.

Essential oil and ethanol extracts preparation

Ethanol extracts

After irradiation, the samples of dried leaves were immediately submitted to isolation of ethanol extracts and essential oils. 25 g of the dried and powdered leaves were extracted in a Soxhlet apparatus for 4 hours with 200 ml of ethanol (95 %). The solution of extract was concentrated using a rotary evaporator and then lyophilized. Finally, the residue was weighed and kept in the dark until further analysis.

Isolation of the essential oils

100 g of irradiated and non irradiated leaves were submitted to isolation of essential oils by hydrodistillation in a Clevenger-type apparatus for 2 hours and the collected oils were dried with anhydrous Na₂SO₄ and stored at 4°C and analyzed within seven days of post- irradiation.

GC and GC-MS analysis of the essential oils

GC analyses

A Hewlett-Packard 6890 GC-FID system was used for gas chromatography analysis fitted with a fused-silica-capillary column with apolar stationary phase HP5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m film thickness). GC conditions were as follows: carrier gas, N₂ (0.5 mL/min); injector temperature: 250°C, injector mode: split (split ratio 1:20); injected volume: 0,2 μ L; detector temperature: 250°C, column temperature programming: 8 min

at 60°C, then increased up to 250°C at 2°C/min, and then held isothermal for 15 min. Flame ionization detection was performed at 320°C. Quantitative analysis was performed using electronically obtained data from FID area data without using correction factors.

GC-MS analyses

Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis was performed with a Hewlett-Packard computerized system comprising a 6890 gas chromatograph coupled to a quadrupole mass spectrometer (model HP 5973) equipped with a HP5 MS capillary column (5 % phenyl methylsiloxane, 30 m x 0.25 mm, 0.25 µm film thickness). Helium was the carrier gas at flow rate of 0.5 mL/min; 0.2 µL as injected volume; split mode (1:25); and 250°C as injection temperature. Temperature program of the oven is same as described above for GC analysis. For detection we used an ionization mode with electronic impact at 70 eV over a scan range of 30-550 atomic mass units.

Components identification was based on the comparison of their retention indices relative to C₈-C₁₇ n-alkanes with those in the literature¹⁵⁻¹⁷ and by matching their mass spectra against those of commercial mass spectra library (Wiley 7N and NIST (2002)) and other published spectral data¹⁵.

Total phenols (TPC) and total flavonoids contents (TFC)

Total phenolics contents (TPC) of ethanol extracts were determined using Folin-Ciocalteu reagent¹⁸. Thus, each extract (0.25 ml) dissolved in ethanol was mixed with 1.25 ml of Folin-Ciocalteu reagent previously diluted 10 times with distilled water. 1 ml of solution of sodium carbonate (75 g/l) was added and after 30 min of incubation in the dark at room temperature the absorbance was measured at 765 nm. Gallic acid was used as standard for the calibration curve. Total phenols content was expressed as milligrams Gallic acid equivalent (GAE) per gram of extract. The experiment was carried out in triplicate and average value recorded (mean value ±SD).

Total flavonoids (TFC) were identified as de-

scribed by Kerbouche *et al.*¹⁹. 1 mL of trichloride aluminum (2 % w/ v) was added to 1 mL of sample or standard. After incubation for 1 h at room temperature, the absorbance was measured at 420 nm. Quercetin was used as standard for the construction of calibration curve. The flavonoids contents were expressed as milligrams of quercetin equivalent (QE) per gram extract.

Antioxidant activity

Free radical scavenging activity (DPPH)

Volumes of 1.950 mL of ethanolic solution of DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (60 µM) were mixed with 50 µL of the test samples constituted by essential oil or ethanol extract or positive control at different concentrations and incubated in the dark for 30 min.^{20, 21}. Absorbances were measured at 517 nm against a blank. The percentage inhibition of the DPPH• radical by the samples was calculated according to the formula:

$$\% \text{ Inhibition} = [1 - (\text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{blank}})] \times 100$$

Where Abs_{blank} is the absorption of the blank sample (t = 0 min) and Abs_{sample} is the absorption of the test sample (t = 30 min). Sample concentration able to inhibit 50 % of radicals (IC₅₀) was determined from the graph plotting inhibition percentage against oil concentration. Tests were carried out in triplicate and BHT (butyl hydroxytoluene) was used as positive control.

ABTS •+ Free radical scavenging activity

ABTS [2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] radical scavenging assay was carried out on the basis of the method of Re *et al.*²². ABTS radical cation (ABTS•+) was prepared by reacting a solution of ABTS (7 mM) with potassium persulphate 2.45 mM and allowing the mixture to stand in the dark at room temperature for 12-16 h before use. The ABTS•+ solution was diluted with ethanol to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. After the addition of 25 µL of sample solution to 1.0 mL of ABTS•+ solution, absorbance was measured after 7 min at 734 nm. Tests were carried out in triplicate. ABTS•+ solution was used as blank sample, and BHT was used as positive probe. The values of IC₅₀ were determined as reported above.

Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) assay

The capability of samples to inhibit lipid peroxidation was determined by using a modified thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay as previously described elsewhere^{20,21}. Egg yolk homogenates were used as a lipid-rich medium. The absorbance of the organic upper layer was measured at 532 nm. The percentage inhibition was calculated by the formula:

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

where A_0 is the absorbance of the fully oxidized control (containing ethanol instead of essential oil) and A_1 the absorbance of the test sample. IC_{50} values were determined as previously described above. BHT was used as positive control and tests were carried out in triplicate.

Ferric reducing power assay

The reducing antioxidant power was assayed according to the method of Oyaizu²³. The upper layer (5 ml) was mixed with 5 ml deionized water and 1 ml of 0.1 % of ferric chloride, and the absorbance was measured at 700 nm. IC_{50} value corresponding to the absorbance of 0.5 was calculated from the graph plotting absorbance against oil concentration.

Statistical analysis

Results obtained were subjected to statistical analysis with the SPSS 18.0 soft-ware (SPSS Inc.). Statistical comparisons of bioassays were made with one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparisons. The level of significance was set at $P < 0.05$.

Results and discussion

Effect of gamma irradiation on essential oils

Table 1 shows the yields, chemical class and GC data of the constituents identified in essential oils of the unirradiated and the irradiated samples of *T. algeriensis* at the dose level of 10, 20 and 30 kGy. The yield of volatile oils from control and irradiated samples ranged from 1.9 to 2.0 % (v/w) showing no major difference with the level of irradiation. As it can be shown in table 1 as well as in figure 1 which represent the overlaid chro-

matograms of all the samples, the qualitative compositions of the volatile oils obtained from the control and the irradiated plants were identical. These results are in good agreement with the literature data regarding the essential oils compositions of *Thymus vulgaris* irradiated between 10 and 30 kGy²⁴⁻²⁶ and other plants like *Origanum vulgare*^{27, 28}, *Mentha piperita*²⁹, *Mentha pulegium*³⁰, *Angelica gigas*³¹, *Ocinum basilicum*³² or spices like *Curcuma longa*³³, *Carum carvi*³⁴, *Piper nigrum*³⁵ and *Zingiber montanum*³⁶. On the other side, these results are not in agreement with those reported by Abdeldaim *et al.*³⁷ who have noticed that some components disappeared and some new components appeared in the oils of rosemary samples irradiated from 3 to 15 kGy. The components which disappeared from the irradiated samples of rosemary, are present in our samples, mention may be made of camphene, α -terpineol and aromadendrene; while among the new components was α -gurjunene.

Chromatographic analysis of the oils of *T. algeriensis* highlighted four main components representing 96.3 % to 98.2 % of the total oils: p-cymene (6.2-6.9 %), γ -terpinene (5.9-6.7 %), carvacrol (64.6-65.9 %) and β -caryophyllene (3.0-3.4 %). Gamma irradiation produced minor changes in the quantitative composition of some components and the most important differences were recorded for the most prominent constituents of the oils. Thus, carvacrol amount increase for all irradiation doses, but these increases diminished from the lowest dose as follow: +1.3 % for 10 kGy, 1.2 % for 20 kGy and 0.8 % for 30 kGy. Then, p-cymene showed a decrease for the dose of 10 kGy (-0.6 %), but remained in similar amount with control for the two other treatment doses. γ -Terpinene decreases for all the irradiated samples, but the lowering was most pronounced for 10 and 30 kGy. This irregular change is similar to that reported for the same compound from *Zingiber montanum*³⁶. Thus, the response of compounds for irradiation was found variable. The trends of variation of carvacrol and γ -terpinene are in accordance with those reported for Moroccan *T. vulgaris* carvacrol-rich, irradiated for 10, 20 and 30 kGy³⁰. Nevertheless, we found an opposite trend for p-cymene. It is re-

Table 1. Chemical composition (%) of essential oils of wild growing *T. algeriensis* irradiated for 0, 10, 20 and 30 kGy

No.	Component	Retention index	Doses of gamma irradiation of <i>T. algeriensis</i>				Identification ^a
			0 kGy	10 kGy	20 kGy	30 kGy	
1	(E)-2-Hexenal	850	t	t	t	t	RI, MS
2	3-Hexen-1-ol	857	t	t	t	t	RI, MS
3	1-Hexanol	870	t	t	t	t	RI, MS, co-GC
4	Tricyclene	923	t	t	t	t	RI, MS, co-GC
5	Methylhexanoate	924	t	t	t	t	RI, MS
6	α -Thujene	928	0.4	0.3	0.4	0.4	RI, MS
7	α -Pinene	937	0.7	0.6	0.7	0.6	RI, MS, co-GC
8	Camphene	952	0.3	0.2	0.3	0.2	RI, MS, co-GC
9	Verbenene	963	t	t	t	t	RI, MS
10	Sabinene	975	t	t	t	t	RI, MS, co-GC
11	β -Pinene	978	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS, co-GC
12	1-Octen-3-ol	981	0.2	0.2	0.2	0.2	RI, MS
13	3-Octanone	986	t	t	t	t	RI, MS
14	β -Myrcene	990	1.3	1.1	1.2	1.2	RI, MS, co-GC
15	3-Octanol	993	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS
16	α -Phellandrene	1004	0.3	0.2	0.3	0.2	RI, MS, co-GC
17	δ -3-Carene	1010	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS, co-GC
18	α -Terpinene	1017	1.8	1.4	1.7	1.5	RI, MS, co-GC
19	p-Cymene	1025	6.8	6.2	6.7	6.9	RI, MS, co-GC
20	β -Phellandrene	1030	0.5	0.4	0.5	0.5	RI, MS, co-GC
21	1,8-Cineole	1032	0.2	0.2	0.2	0.2	RI, MS, co-GC
22	<i>cis</i> - β -Ocimene	1037	t	t	t	t	RI, MS
23	<i>trans</i> -Ocimene	1049	0.1	t	t	t	RI, MS
24	γ -Terpinene	1059	6.7	5.9	6.4	6.1	RI, MS, co-GC
25	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1068	0.3	0.2	0.2	0.2	RI, MS
26	Terpinolene	1087	0.3	0.2	0.2	0.2	RI, MS, co-GC
27	p-Cymenyl	1089	t	t	0.1	t	RI, MS
28	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1098	0.1	0.1	0.1	t	RI, MS
29	Linalool	1200	1.6	1.4	1.5	1.4	RI, MS, co-GC
30	p-Menth-2-en-1-ol	1123	t	t	t	t	RI, MS
31	Camphor	1144	t	t	t	t	RI, MS, co-GC
32	Borneol	1167	1.1	1.1	1.2	1.1	RI, MS, co-GC
33	Terpinen-4-ol	1177	0.8	0.8	0.9	0.8	RI, MS, co-GC
34	α -Terpineol	1190	0.2	0.1	0.2	0.1	RI, MS, co-GC
35	<i>trans</i> -Dihydrocarvone	1200	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS
36	Nerol	1228	0.1	t	t	t	RI, MS
37	Carvone	1242	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS, co-GC
38	Neral	1243	t	t	t	t	RI, MS
39	Thymol	1292	0.9	0.8	0.9	0.8	RI, MS, co-GC
40	Carvacrol	1299	64.6	65.9	65.8	65.4	RI, MS, co-GC

table 1. (continued).

No.	Component	Retention index	Doses of gamma irradiation of <i>T. algeriensis</i>				Identification ^a
			0 kGy	10 kGy	20 kGy	30 kGy	
41	Eugenol	1358	0.2	0.2	0.2	0.2	RI, MS, co-GC
42	<i>cis</i> -Carvacryl acetate	1362	1.2	1.2	1.2	1.2	RI, MS
43	Neryl acetate	1364	0.1	t	t	t	RI, MS
44	α -Gurjunene	1411	t	t	t	t	RI, MS
45	β -Caryophyllene	1418	3.4	3.4	3.4	3.0	RI, MS, co-GC
46	β -Gurjunene	1430	t	t	t	t	RI, MS
47	Aromadendrene	1439	0.1	0.2	0.1	0.1	RI, MS
48	1,6,6-Trimethylbicyclo [3.3.0] octan-3-one*	1454	0.5	0.5	0.5	0.5	MS
49	Allo-aromadendrene	1460	t	t	t	t	RI, MS
50	γ -Muurolole	1476	t	t	t	t	RI, MS
51	<i>trans</i> -Ionone	1485	t	t	t	t	RI, MS, co-GC
52	Ledene	1486	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS
53	α -Muurolole	1498	t	t	t	t	RI, MS
54	β -Bisabolene	1509	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS
55	<i>cis</i> - γ -Bisabolene	1513	t	t	t	t	RI, MS
56	δ -Cadinene	1523	0.1	0.1	t	0.1	RI, MS
57	Cadina-1,4-diene	1530	t	t	t	t	RI, MS
58	<i>cis</i> - α -Bisabolene	1540	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS
59	Elemol	1549	t	0.2	t	0.1	RI, MS
60	Spathulenol	1575	0.2	0.3	0.2	0.2	RI, MS, co-GC
61	Caryophyllene oxide	1579	1.5	1.8	1.4	1.9	RI, MS, co-GC
62	Caryophylla-4(12), 8(13)-dien-5-beta-ol	1633	0.1	0.1	0.1	0.1	RI, MS
63	Isospathulenol	1635	t	t	t	t	RI, MS
64	α -Muurolol	1643	t	0.1	t	0.1	RI, MS
65	β -Eudesmol	1649	t	0.1	t	0.1	RI, MS
66	α -Eudesmol	1652	t	0.1	t	0.1	RI, MS
67	α -Cadinol	1653	t	0.1	t	0.1	RI, MS
	Identification		97.4	96.3	98.2	96.6	
	Grouped components						
	Monoterpene hydrocarbons		19.4	16.7	18.9	18.0	
	Oxygenated monoterpenes		71.4	71.7	72.4	71.4	
	Sesquiterpene hydrocarbons		3.9	4.0	3.8	3.5	
	Oxygenated sesquiterpenes		1.8	2.8	1.7	2.7	
	Others		0.9	1.0	1.4	1.0	
	Oil yield % (v/w)		1.9	1.9	2.0	2.0	

Retention index relative to C₈-C₁₇ n-alkanes on HP 5MS column^a identification: co-GC, comparison with authentic compounds; MS, comparison of mass spectra with MS libraries and bibliography; RI, comparison of retention index with bibliography

* tentative identification by MS only; t, trace (<0.05 %)

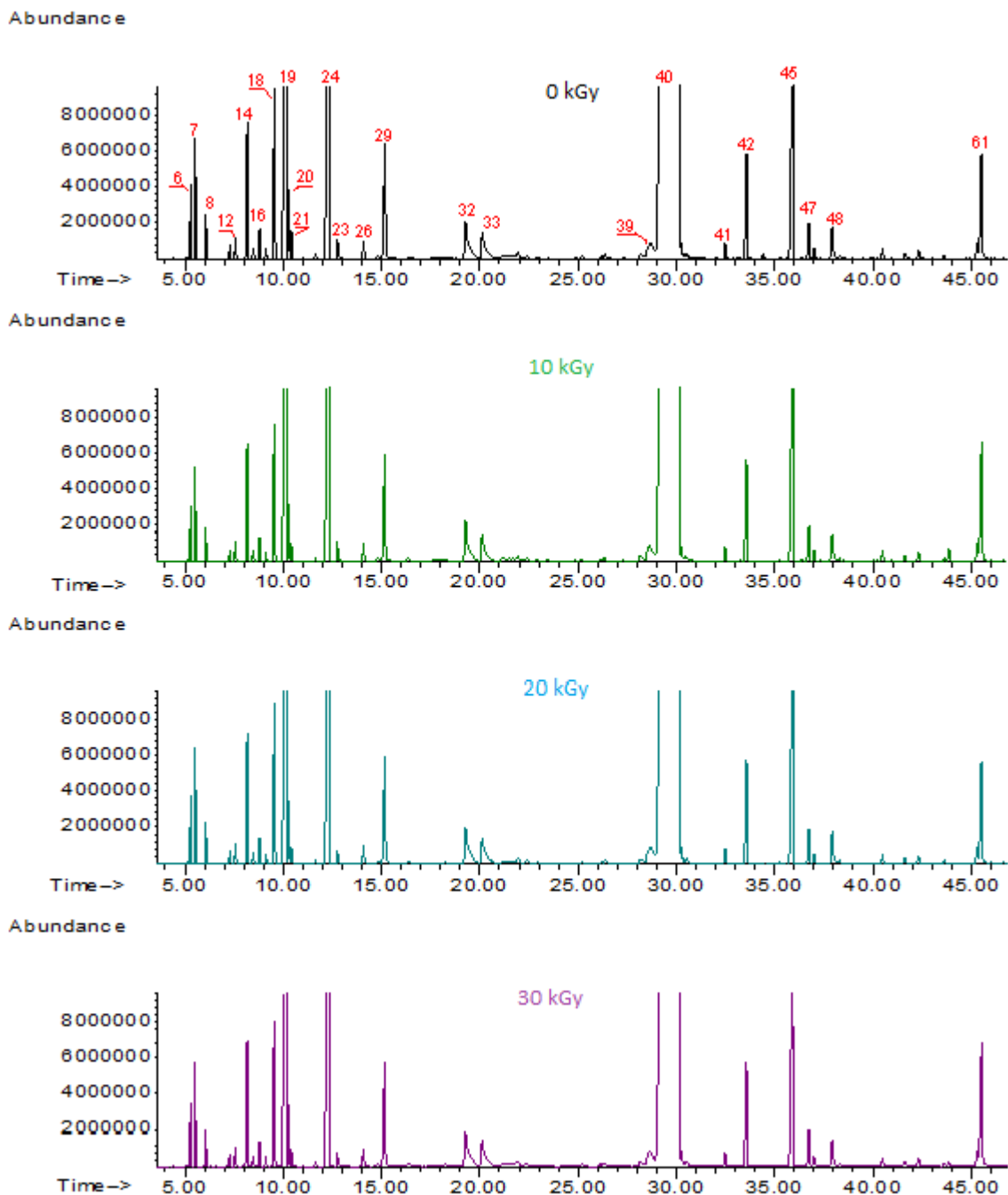


Figure 1. Overlaid chromatograms of the essential oils of *T. algeriensis* irradiated for 0, 10, 20 and 30 kGy, respectively. Peak numbers correspond to ordinal numbers of the main components in Table 1.

markable to note that linalool which has been reported as very sensitive to irradiation³² has shown a negligible change. Commercial *T. vulgaris* irradiated up to 10 kGy showed no substantial changes in carvacrol (+0.2 %) ²³. The same compound (3.3 %) disappears from the peppermint essential

oil irradiated with a low dose (1kGy)³⁸. Regarding the sesquiterpene constituents the only noticeable change was observed for the ionization dose of 30 kGy resulting in increase of caryophyllene oxide balanced by an equipollent loss of β -caryophyllene. This effect was observed for

volatiles of black pepper³⁵. These results show that specific effect could be observed very often for different essential oil extracts and that the same compound present in essential oils from different plants may behave differently even if submitted to the same treatment³⁹.

Effects of gamma irradiation on total phenolic and flavonoids contents

Different reports on the effect of γ -irradiation on the amount of total phenolic and/or flavonoids in aromatic and medicinal plants are available in the literature. We find the case of the increase and / or decrease of the total phenols and the case where they are not affected by irradiation. However, it should be noted that these different cases can be found for the same plant, depending on the dose of irradiation or the extraction solvent used. Thus, for irradiation dose of 25 and 10 kGy, Fatemi *et al.*²⁹ and Thongphasuk *et al.*³⁶ found that γ -irradiation does not affect significantly total phenolic and flavonoids of methanolic extracts of *Mentha piperta* and *Zingiber montana*, respectively. The same result was found for TPC of methanol extracts of sage and oregano treated with 30 kGy⁴⁰ as well as for TFC of *Thymus vulgaris*⁴¹ treated with 10 kGy. Also, 30 kGy dose of gamma radiation applied to rosemary leaves does not significantly change total phenolic content of both methanolic and ethanolic extract but increase that of water extract⁴², suggesting that the nature of solvent may influence the content of total phenolic and flavonoids. Other considerations, such as the pre-extraction processing and extraction conditions^{43,44} directly affect the concentration of these compounds in the final extract.

Cinnamomum zeylanicum and *Echinacea purpurea* exposed to gamma irradiation at doses 10, 15, 20 and 25 kGy showed no significant difference of γ -irradiation on TPC of treated and untreated samples of cinnamon. Also, radiation up to 15 kGy did not have significant effect on total phenolic content of *Echinacea purpurea*, but increasing the irradiation dose up to 20 and 25 kGy showed a significant increase in total phenolic content⁴⁵. On the other hand, Pereira *et al.*, reported that γ -irradiation of *Ginkgo biloba* L. at 10 kGy improve the extractability of phenolic

compounds⁴⁶. So, the subproducts formed during an irradiation depend on the plant or food matrix and dose. The degradation of some molecules during irradiation occurs by complex mechanisms. Although it is considered that some bonds can be broken resulting in smaller molecules⁴⁷. This could explain the higher content of phenolic compounds which can be observed for some matrix and for some doses. Significant increases in the contents of total phenolic compounds were observed in ginger after irradiation, compared to the control sample⁴⁸. Minea *et al.*⁴⁹ noted an important decrease of flavonoids in the irradiated *Hippophae rhamnoides* with 20 kGy irradiation dose. Gumus *et al.*⁵⁰ found a decrease in total phenol content of methanolic extracts of Turkish *Thymus vulgaris*, *Satureja hortensis* and *Tymbra spicata* irradiated at low doses (1.2, 3 and 5.1 kGy).

As can be seen from table 2, the total flavonoids of the sample irradiated at 10 kGy remained approximately equal to that of the control while its total phenolic content increase. Contrariwise, total phenolic and flavonoids contents decrease under γ -irradiation doses of 20 and 30 kGy. Similar trend of variation of total TPC was reported by Khattak *et al.*⁵¹ for water extracts of *Nigella sativa* seed irradiated at 2, 4, 8, 10, 12 and 16 kGy. Moreover, Koseki *et al.*⁵² reported a decrease in the amount of total phenolic compounds of rosemary after irradiation doses between 10 and 30 kGy, with respect to controls. Yalcin *et al.*⁵³ observed a decrease of TPC for clary sage methanol extracts of samples irradiated between 2.5 and 7 kGy. This decrease may be attributed to the change of some phenolic compounds structures after ir-radiation that can't be extracted or not dissolve in the used solvent for the extraction⁵⁴.

Antioxidant activity

The antioxidant activities of the essential oils and the ethanol extracts of irradiated and controls samples were performed using the reducing capabilities and the inhibition of lipid peroxidation and scavenging of radicals DPPH \cdot and ABTS $^{+\cdot}$. The results expressed by the sample concentration required to reduce preliminary concentration to 50 % (IC₅₀) are shown in table 3. Lowest IC₅₀

Table 2. Total phenol content (mg GAE/g Extract), flavonoids (mg QE/g Extract) and yields % (g/DW) of plant extracts (Mean \pm standard error)

Irradiated samples (kGy)	Yield % (g/DW)	Total phenols	Flavonoids
0	24.76	213 \pm 1.32 ^c	52.25 \pm 0.79 ^c
10	22.73	236.17 \pm 1.23 ^d	51.40 \pm 0.26 ^c
20	20.41	184.83 \pm 3.01 ^b	38.55 \pm 0.40 ^b
30	19.82	149.33 \pm 0.76 ^a	35.74 \pm 0.44 ^a

In the same column different letters mean significant differences between values ($p < 0,05$)

Table 3. Antioxidant activity (expressed in IC₅₀ (mg l⁻¹) of essential oils and ethanol extracts of *T. algeriensis* irradiated by gamma ray at different doses (0, 10, 20 and 30 kGy)

Samples	Irradiation dose (kGy)	DPPH	Reducing power	TBARS	ABTS
Essential oils	0	404.08 \pm 5.87 ^c	347.84 \pm 3.02 ^h	23.54 \pm 0.37 ^b	10.48 \pm 0.49 ^c
	10	421.25 \pm 2.29 ^d	123.47 \pm 1.34 ^e	88,70 \pm 0.77 ^c	11.01 \pm 0.11 ^c
	20	421.97 \pm 0.94 ^d	164.88 \pm 3.41 ^f	90.76 \pm 0.76 ^d	7.64 \pm 0.06 ^b
	30	402.90 \pm 8.32 ^c	270.35 \pm 5.85 ^g	90.17 \pm 0.66 ^{cd}	8.45 \pm 0.30 ^b
Ethanol extracts	0	22.26 \pm 0.07 ^b	59.53 \pm 0.70 ^b	Nt	25.29 \pm 0.21 ^e
	10	19.28 \pm 0.42 ^b	51.48 \pm 0.63 ^a	Nt	20.37 \pm 0.49 ^d
	20	23.49 \pm 0.57 ^b	76.0 \pm 1.01 ^d	Nt	30.0 \pm 0.30 ^f
	30	25.79 \pm 0.67 ^b	79.88 \pm 0.76 ^d	Nt	33.16 \pm 0.27 ^g
BHT	-	11.59 \pm 0.18 ^a	64.83 \pm 0.71 ^c	10.4 \pm 0.2 ^a	2.81 \pm 0.04 ^a

Data in the same column followed by different letter are significantly different by the Tuckey's multiple range test ($p < 0.05$). Values are the mean of at least three replicates

values lead to the highest antioxidant potential. All the tested samples (oils and ethanol extracts), except for reducing power of the extracts, were less active than the standard (BHT). The extracts were significantly more effective as antioxidants than the essential oils. Such activity may be due to the phenols present in these extracts, which are absent or in less amounts in the essential oils. The behavior of essential oils varies according to the test used to evaluate antioxidant activity. Thus, the sample irradiated at 30 kGy showed the great ability to inhibit the DPPH radicals while those irradiated at 20 and 30 kGy were the most active to scavenge the ABTS radical. On another side, the oil of the sample irradiated at 10 kGy was the most effective as antioxidant in the reducing

power method. Irradiation reduced DPPH radical-scavenging activity of essential oils of the samples irradiated at 10 and 20 kGy. This result partly disagrees with that reported for Moroccan *T. vulgaris* and *Mentha pulegium*³¹ whose essential oils DPPH radical scavenging was not affected by γ -irradiation (10, 20 and 30 kGy). The reducing power of all gamma irradiated samples, significantly increased compared to that of the control. Contrariwise, inhibition of lipid peroxidation decreases sharply beside the oil of unirradiated sample to reach a close value for oils irradiated at 10, 20 and 30 kGy. The antioxidant activities of the oils evaluated by ferric reducing power and inhibition of radical ABTS, increased generally as the irradiation dose increased and this

stimulation reached to its maximum at the dose levels of 10 and 20 kGy, respectively. With regard to the ABTS radical scavenging of the oils a behavior opposite to that of the TBARS test is observed for doses 20 and 30 kGy. Essential oils are complex mixtures where synergistic and antagonistic effects may play an important and hardly predictable role in the direction of the effectiveness of the antioxidant activity evaluated by various methods. Thus, although the chemical compositions of the different oils are more or less similar, the effects of the minor differences have important impacts on the antioxidant activity.

Yields of extracts of *T. algeriensis* in ethanol (table 2) decrease in the dry weight with the increase of the gamma radiation dose. Our result is in accordance with that reported for irradiated Turkish *T. vulgaris* (1.2 - 5.1 kGy)⁵⁰. Also, the yields of the hydro-methanolic extracts of *Laurus nobilis* and *Carum carvi* irradiated at 5, 10, 20 and 30 kGy decreased upon the absorbed doses of γ -radiation⁵⁵. The antioxidant activity of extracts obtained from *T. algeriensis* leaves in the reactions with DPPH showed no statistically differences in the IC₅₀ values among samples subjected to the different radiation doses. Our finding is in accordance with that reported by Mishra *et al.*⁵⁶ for *Camellia sinensis* irradiated up to 10 kGy. DPPH radical scavenging of methanol extracts of rosemary irradiated at 30 Kgy remained

the same⁴². Also, γ -radiation dose in a range from 5 up to 30 kGy did not cause any significant changes in the ability of caraway methanolic extracts to quench the DPPH free radical⁵⁵. Reducing power and ABTS scavenging activity followed the same behaviour by achieving a maximum activity for the dose of irradiation of 10 kGy, followed by a decrease for the doses of 20 and 30 kGy. Furthermore, the irradiation at dose level of 10 kGy enhances TPC since these phenolic compounds have a well-established role in the antioxidant activity of any extract.

Based on these results of the antioxidant activity of the ethanolic extracts, it would appear that the irradiation at 10 kGy is the most suitable for decontamination¹¹ while giving the extract of *T. algeriensis* better antioxidant property.

Conclusion

This study allowed us to show that the gamma irradiation at 10 kGy which is permitted for food treatment and considered sufficient for microbial decontamination and desinfestation enhanced the antioxidative properties of the ethanol extracts of this plant. Nevertheless, further researches are needed for better understand of the mechanisms involved in the irradiation processing effects in plants given that the results found in literature are often not in agreement and depend from one matrix to another and even for the same one it can be found disagreements.

References

1. **De Martino, L., Bruno, M., Formisano, C., De Feo, V., Napolitano, F., Rosselli, S., Senatore, F. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of *Thymus* growing wild in southern Italy. *Molecules* 14: 4614-4624.
2. **Bauer, K.D., Garbe, H., Surburg, H. (1997).** Common fragrance and flavor materials. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
3. **Chemat, S., Cherfouh, R., Meklati, B. Y., Belanteur, K. (2012).** Composition and microbial activity of thyme (*Thymus algeriensis genuinus*) essential oil. *Journal of Essential Oil Research*. 24(1): 5-11.
4. **Polovka, M., Brezová, V., Šimko, P. (2007).** EPR spectroscopy: A tool to characterize the gamma irradiated foods. *Food & Nutrition Research*. 46: 75-83.
5. **Farkas, J. (1998).** Irradiation as a method for decontaminating food: A review. *International Journal of Food Microbiology*. 44: 189-204.
6. **IAEA, International Atomic Energy Agency (1992).** Irradiation of spices, herbs and other vegetables seasoning. A Compilation of Technical Data for Its Authorization and Control; IAEA-TECDOC- 639; IAEA: Vienna, Austria.

7. **Codex Stan 106-1983, Rev. 1 - 2003**: Codex general standard for irradiated foods. In: Codex Alimentarius, Vol. 1, Section 8. Rome: FAO/WHO, 1992, pp. 311-315.
8. **FAO/WHO (2003)**. Revised Codex General Standard for Irradiated Foods. Codex Stan. 106-1983, Rev (2003).
9. **Code of Federal Regulation 21CFR179 (Revised as of April 1) (2004)**: Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food, Title 21, V3.
10. **Pérez, M.B., Banek, S.A., Croci, C.A. (2011)**. Retention of antioxidant activity in gamma irradiated Argentinian sage and oregano. Food Chemistry. 126: 121-126.
11. **Molins, R.A., 2001**. In: Molins, R. (Ed.), Food Irradiation: Principles and Applications. Wiley-Interscience, USA.
12. **Silva, T.M., Miranda, R.R.S., Ferraz, V.P., Pereira, M.T., de Siqueira, E.P., Alcântara, A.F.C. (2013)**. Changes in the essential oil composition of leaves of *Echinodorus macrophyllus* exposed to γ -radiation. Revista Brasileira de Farmacognosia. 23(4): 600-607.
13. **Owczarczyk, H.B., Migdal, W., Kedzia, B. (2000)**. The pharmacological activity of medicinal herbs after microbiological decontamination by irradiation. Radiation Physics and Chemistry. 57: 331-335.
14. **Aziz, N.H., Moussa, L.A.A. (2002)**. Influence of gamma-irradiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits. Food Control. 13: 281-288.
15. **Adams, R.P. (2007)**. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4th edn. Allured Publ. Corp., Carol Stream, USA.
16. **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.
17. **Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, AR., Faleiro, ML., Miguel, M.G. (2009)**. Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. Food Chemistry. 116: 714 -721.
18. **Singleton, V.L., Ortofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999)**. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology. 299: 152-178.
19. **Kerbouche, L., Hazzit, M., Ferhat, M-A., Baaliouamer, A., Miguel, M.G. (2015)**. Biological activities of essential oils and ethanol extracts of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. and *Origanum floribundum* Munby. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 18: 1197-1208.
20. **Benchabane, O., Hazzit, M., Baaliouamer, A., Mouhouche, F. (2012)**. Analysis and antioxidant activity of the essential oils of *Ferula vesceritensis* Coss. et Dur. and *Thymus munbyanus* Desf. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 15: 774-781.
21. **Benchabane, O., Hazzit, M., Mouhouche, F., Baaliouamer, A. 2015**. Influence of extraction duration on the chemical composition and biological activities of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé. Arabian Journal for Science and Engineering. 40: 1855-1865.
22. **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999)**. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine. 26: 1231-1237.
23. **Oyaizu, M. (1986)**. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition. 44: 307-315.
24. **Haddad, M., Herent, M.F., Tilquin, B., Quetin-Leclercq, J. (2007)**. Effect of gamma and e-beam radiation on the essential oils of *Thymus vulgaris thymoliferum*, *Eucalyptus radiata* and *Lavandula angustifolia*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55: 6082-6086.
25. **El-Shahat, A.N., Hamza, R.G. (2011)**. Effect of gamma irradiated thyme as natural antioxidant on hypercholesterolemic senile rats. Isotope and Radiation Research. 43(2): 495-510.
26. **Anwar, M.M., Nasr, E.H., Ali, S.E. (2015)**. Effect of gamma irradiation on chemical constituents,

- antimicrobials and antioxidants of Thyme and Cinnamon volatile oils. *Isotope and Radiation Research*. 47 (2015): 125-142.
27. **Elizalde, J.J., Espinoza, M., (2011).** Effect of ionizing irradiation on *Origanum* leaves (*Origanum vulgare* L.) essential oil composition. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 14: 164-171.
 28. **Sádecká, J., Polovka, M. (2009).** Multi-experimental study of γ -radiation impact on oregano (*Origanum vulgare* L.). *Journal of Food and Nutrition Research*. 47(2): 85-91.
 29. **Fatemi, F., Dini, S., Bagher Rezaei, M., Dadkhah, A., Dabbagh, R., Naij, S. (2014).** The effect of γ -irradiation on the chemical composition and antioxidant activities of peppermint essential oil and extract. *Journal of Essential Oil Research*. 26(2): 97-104.
 30. **Zantar, S., Haouzi, R., Chabbi, M., Laglaoui, A., Mouhib, M., Boujnah, M., Bakkali, M., Zerrouk M.H. (2015).** Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *Radiation Physics and Chemistry*. 115: 6-11.
 31. **Seo, H.Y., Kim, J.H., Songb, H.P., Kim, D.H., Byun, M.W., Kwon, J.H., Kim K.S. (2007).** Effects of gamma irradiation on the yields of volatile extracts of *Angelica gigas* Nakai. *Radiation Physics and Chemistry*. 76: 1869-1874.
 32. **Antonelli, A., Fabbri, C., Boselli, E. (1998).** Modifications of dried basil (*Ocimum basilicum*) leaf oil by gamma and microwave irradiation. *Food Chemistry*. 63 (4): 485-489.
 33. **Chatterjee, S., Variyar, Gholap, A.S., Padwal-Desai, S.R., Bongirwar D.R. (2000).** Effect of γ -irradiation on the volatile oil constituents of turmeric (*Curcuma longa*). *Food Research International*. 33: 103-106.
 34. **Fatemi, F., Allameh, A., Khalafi, H., Rajaei, R., Davoodian N., Rezaei, M.B. (2011).** Biochemical properties of γ -irradiated caraway essential oils. *Journal of Food biochemistry*. 35(2): 650-662.
 35. **Sádecká, J. (2010).** Influence of two sterilisation ways, gamma-irradiation and heat treatment, on the volatiles of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Czech Journal of Food Sciences*. 28(1): 44-52.
 36. **Thongphasuk, P., Thongphasuk, J., Bavovada, R., Chamulitrat, W. (2014).** Effects of gamma irradiation on active components, free radicals and toxicity of cassumunar ginger rhizomes. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(7): 432-436.
 37. **Abdeldaiem, M.H., Mohamed, H.G., Abdel-Khalek, H.H. (2009).** Antimicrobial and antioxidant activities of rosemary essential oil treated by gamma radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2(4): 819-837.
 38. **Machhour, H., El Hadrami, I., Imziln, B., Mouhib, M., Mahrouz, M. (2011).** Microbial decontamination by low dose gamma irradiation and its impact on the physico-chemical quality of peppermint (*Mentha piperita*) *Radiation Physics and Chemistry*. 80: 604-607.
 39. **Farag, S. A., Aziz, N. H., Attia, A. (1995).** Effect of irradiation on the microbiological status and flavouring materials of selected spices. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. 201: 283-298.
 40. **Pérez, M. B., Banek, S. A., Croci, C. A. (2011).** Retention of antioxidant activity in gamma irradiated argentinian sage and oregano. *Food Chemistry*. 126: 121-126.
 41. **Pereira, E., Barros, L., Antonio, A.L., Verde, S.C., Santos-Buelga, C., Ferreira, Isabel C.F.R. (2016).** Infusions from *Thymus vulgaris* L. treated at different gamma doses: Effects on antioxidant activity and phenolic composition. *LWT - Food Science and Technology*. 74: 34-39.
 42. **Perez, M.B., Calderon, N.L., Croci, C.A. (2007).** Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry*. 104: 585-592.
 43. **Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., Mason, T.J. (2004).** Potential for the use

- of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*. 11(3-4):261-2655.
44. **Wada, M., Kido, H., Ohyama, K., Kishikawa, N., Ohba, Y., Kuroda, N., Nakashima, K. (2004).** Evaluation of quenching effects of nonwater- soluble and water-soluble rosemary extracts against active oxygen species by chemiluminiscent assay. *Food Chemistry*. 87: 261-267.
 45. **Jamshidi, M., Barzegar, M., Sahari, M. A. (2014).** Effect of gamma and microwave irradiation on antioxidant and antimicrobial activities of *Cinnamomum zeylanicum* and *Echinacea purpurea*. *International Food Research Journal*. 21(4): 1289-1296.
 46. **Pereira, E., Barros, L., Duenas, M., Antonio, A. L., Santos-Buelga, C., Ferreira, Isabel C.F.R. (2015).** Gamma irradiation improves the extractability of phenolic compounds in *Ginkgo biloba* L. *Industrial Crops and Products*. 74: 144-149.
 47. **Stewart, E.M. (2001).** Food irradiation chemistry. In: Molins, R.A. (Ed.), In *Food Irradiation: Principles and Applications*. , pp. 37-76.
 48. **Suhaj, M., Horváthová, J. (2007).** Changes in antioxidant activity induced by irradiation of clove (*Syzygium aromaticum*) and ginger (*Zingiber officinale*). *Journal of Food and Nutrition Research*. 46 (3): 112-122.
 49. **Minea, R., Nemtanu, M.R, Manea, S., Mazilu, E. (2007).** Use of electron beam irradiation to improve the microbiological safety of *Hippophae rhamnoides*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. 580: 792-794.
 50. **Gumus, T., Albayrak, S., Sagdic, O., Arici, M. (2011).** Effect of gamma irradiation on total phenolic contents and antioxidant activities of *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* from Turkey. *International Journal of Food Properties*. 14: 830-839.
 51. **Khattak, K. F., Simpson, T. J., Ihasnullah (2008).** Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed. *Food Chemistry*. 110: 967-972.
 52. **Koseki, P.M., Villavicencio, A.L.C.H., Brito, M.S., Nahme, L.C., Sebastiao, K.I., Rela, P.R. (2002).** Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Radiation Physics and Chemistry*. 63: 681-684.
 53. **Yalcin, H., Ozturk, I., Tulukcu, E., Sagdic, O. (2011).** Effect of γ -Irradiation on Bioactivity, Fatty Acid Compositions and Volatile Compounds of Clary Sage Seed (*Salvia sclarea* L.). *Journal of Food Science*. 76(7): 1056-1061.
 54. **Verma, M., Sharma, P, Gour, V.S., Kothari, S.L. (2016).** Moisture-mediated effects of γ -irradiation on antioxidant properties of mung bean (*Vigna radiate* L.) culti-vars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 34: 59-67.
 55. **Polovka, M., Suhaj, M. (2010).** Detection of caraway and bay leaves irradiation based on their extracts' antioxidant properties evaluation. *Food Chemistry*. 119: 391-401.
 56. **Mishra, B.B., Gautam, S., Sharma, A. (2006).** Microbial decontamination of tea (*Camellia sinensis*) by gamma radiation. *Journal of Food Science*. 71: 151-156.

Résumé

Deux objectifs principaux ont été ciblés à travers cette étude, à savoir l'étude de l'effet de l'irradiation gamma sur la composition chimique et l'activité antioxydante de *Thymus algeriensis*, et l'étude de l'effet de la supplémentation des huiles essentielles d'*Ammoides atlantica* et de *Juniperus phoenicea* avec du carvacrol et/ou du thymol sur l'activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de ces huiles. Les huiles essentielles ont été examinées pour leurs compositions chimiques par CPG et CG/SM, tandis que les extraits ont été caractérisés par leurs phénols totaux et leurs flavonoïdes. Les échantillons de *T. algeriensis* ont été irradiés à température ambiante en utilisant les rayons gamma provenant d'une source de rayonnement de cobalt 60 type COP-4 (ORIS Industries, France). Les doses de rayonnement gamma de ^{60}Co appliquées au matériel végétal étaient de 10, de 20 et de 30 kGy. Nous avons pris trois fractions de l'huile essentielle de *J. phoenicea* auxquelles nous avons ajouté des quantités de thymol de 10, de 30 et de 50 % (m/m). L'huile essentielle d'*A. atlantica* a été enrichie avec des teneurs en % de thymol ou de carvacrol. L'activité antioxydante a été évaluée par quatre tests complémentaires : l'activité de piégeage du radical DPPH \cdot , le pouvoir réducteur, l'ABTS $^{\bullet+}$ et le test du TBARS. L'activité antimicrobienne a été déterminée qualitativement et quantitativement sur quatre souches bactériennes et une levure. Le potentiel insecticide a été évalué à l'égard des adultes de *Callosobruchus maculatus* par contact, par inhalation, sur sa fécondité, sa fertilité et sur l'émergence des adultes. L'irradiation gamma de la plante de *T. algeriensis* n'a pas d'effet sur son rendement en huile essentielle et n'a produit que des changements mineurs dans la composition quantitative de certains de ses constituants. L'irradiation à une dose de 10 kGy a augmenté la teneur en phénols totaux. Les rendements de ses extraits éthanoliques ont diminué avec l'augmentation de la dose du rayonnement. L'irradiation de *T. algeriensis* a diminué l'activité de piégeage des radicaux DPPH \cdot et l'inhibition de la peroxydation lipidique. Le pouvoir réducteur de tous les échantillons irradiés a augmenté par rapport à celui du témoin (non irradié). Les activités antioxydantes des HE de *T. algeriensis* évaluées par le test ABTS $^{\bullet+}$ ont augmenté avec l'accroissement des doses d'irradiation. L'irradiation à une dose de 10 kGy est la plus appropriée pour la décontamination tout en conférant à l'extrait éthanolique de *T. algeriensis* une meilleure propriété antioxydante. L'irradiation gamma à 10 kGy a amélioré les propriétés antioxydantes des extraits éthanoliques de *T. algeriensis*. La supplémentation de l'HE de *J. phoenicea* a montré une synergie positive entraînant l'accroissement de son activité antioxydante, son activité antimicrobienne contre toutes les souches testées a également été améliorée. Le thymol seul a enregistré pour l'ensemble des tests une activité antioxydante la plus élevée. La supplémentation de l'HE d'*A. atlantica* a eu un effet positif sur son activité antioxydante sauf pour le test de l'ABTS $^{\bullet+}$. Elle a eu un effet positif sur son activité insecticide, tout en retardant l'émergence des adultes et en réduisant le potentiel reproducteur de l'espèce.

Mots clés : PAM, huiles essentielles, extraits, irradiation, supplémentation, *Thymus algeriensis*, *Juniperus phoenicea*, *Ammoides atlantica*, *Origanum glandulosum*, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité insecticide, *C. maculatus*.

Abstract

Two main objectives have been targeted through this study, namely the study of the effect of gamma irradiation on the chemical composition and antioxidant activity of *Thymus algeriensis*, and the study of the effect of supplementation of essential oils of *Ammoides atlantica* and *Juniperus phoenicea* with carvacrol and/or thymol on the antioxidant, antimicrobial and insecticidal activity of these oils. The essential oils were examined for their chemical compositions by GPC and GC/MS, while the extracts were characterized by their total phenols and flavonoids. *T. algeriensis* samples were irradiated at room temperature using gamma rays from a COP-4 type cobalt-60 radiation source (ORIS Industries, France). The gamma radiation doses of ^{60}Co applied to the plant material were 10, 20 and 30 kGy. We took three fractions of *J. phoenicea* essential oil to which we added thymol amounts of 10, 30 and 50% (m/m). The essential oil of *A. atlantica* has been enriched with levels in % of thymol or carvacrol. The antioxidant activity was evaluated by four complementary tests: the DPPH radical scavenging activity, the reducing power, the ABTS \bullet^+ and the TBARS test. The antimicrobial activity was determined qualitatively and quantitatively on four bacterial strains and one yeast. Insecticidal potential was evaluated on adults from *Callosobruchus maculatus* by contact, inhalation, on fecundity, fertility, and adult emergence. Irradiation of the *T. algeriensis* plant has no effect on its yield of essential oil and has produced only minor changes in the quantitative composition of some of its constituents. Irradiation at a dose of 10 kGy increased the total phenol content. The yields of its ethanolic extracts decreased with increasing radiation dose. Irradiation of *T. algeriensis* decreased the DPPH \bullet radical scavenging activity and the inhibition of lipid peroxidation. The reducing power of all irradiated samples increased relative to that of the non-irradiated control. The antioxidant activities of essential oil of *T. algeriensis* evaluated by the ABTS \bullet^+ test increased with increasing radiation doses. Irradiation at a dose of 10 kGy is the most suitable for decontamination while giving the ethanolic extract of *T. algeriensis* a better antioxidant property. Gamma irradiation at 10 kGy improved the antioxidant properties of the ethanolic extracts of *T. algeriensis*. The supplementation of the HE of *J. phoenicea* showed a positive synergy leading to the increase of its antioxidant activity, its antimicrobial activity against all the strains tested was also improved. Thymol alone recorded the highest antioxidant activity for all tests. Supplementation of the HE of *A. atlantica* had a positive effect on its antioxidant activity except for the ABTS \bullet^+ test. It has had a positive effect on its insecticidal activity, while delaying the emergence of adults and reducing the reproductive potential of the species.

Key words : essential oils, extracts, irradiation, supplementation, *Thymus algeriensis*, *Juniperus phoenicea*, *Ammoides atlantica*, *Origanum glandulosum*, antimicrobial activity, antioxidant activity, activity insecticide, *C. maculatus*.

ملخص

تم استهداف هدفين رئيسيين من خلال هذه الدراسة، وهما دراسة تأثير تشعيع جاما على التركيب الكيميائي ونشاط مضادات الأكسدة في العينات ودراسة تأثير مكملات الزيوت الأساسية لـ *Ammoides atlantica* و *Juniperus phoenicea* مع carvacrol و / أو الثيمول على نشاط مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات ومضادات الحشرات لهذه الزيوت. تم فحص الزيوت العطرية للتأكد من تركيبها الكيميائية بواسطة GPC و GC/MS ، بينما تميزت المستخلصات بمجموع الفينولات والفلافونويد. تم تشعيع عينات *T. algeriensis* في درجة حرارة الغرفة باستخدام أشعة جاما من مصدر إشعاع كوبالت 60- من نوع COP-4 (ORIS Industries France) ، كانت جرعات إشعاع جاما المطبقة على المواد النباتية 10 و 20 و 30 kGy. أخذنا ثلاثة كسور من الزيت العطري لـ *J. phoenicea* و التي أضفنا إليها كميات الثيمول من 10 و 30 و 50 (%) م/م. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال أربعة اختبارات تكميلية: نشاط الكسح الجذري DPPH ، قدرة التخليص ، اختبار $ABTS^{•+}$ واختبار TBARS. تم تحديد نشاط مضادات الميكروبات من الناحية النوعية والكمية على أربع سلالات بكتيرية وخميرة واحدة. تم تقييم إمكانات المبيدات الحشرية لـ *Callosobruchus maculatus* على الاتصال والاستنشاق، الخصوبة، والخصوبة، و ظهور البالغين. لا يؤثر تشعيع *T. algeriensis* على محصوله من الزيت العطري ولم ينتج عنه سوى تغييرات بسيطة في التركيب الكمي لبعض مكوناته. زاد التشعيع بجرعة 10 kGy من إجمالي محتوى الفينول. انخفضت غلة مقتطفات الإيثانول مع زيادة جرعة الإشعاع. انخفض التشعيع من *T. algeriensis* نشاط الكسح جذرية DPPH وتثبيط بيروكسيد الدهون. زادت قدرة تقليل جميع العينات المشعة مقارنةً بعنصر التحكم غير المشع. زادت أنشطة مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية *T. algeriensis* التي تم تقييمها بواسطة اختبار $ABTS^{•+}$ مع زيادة جرعات الإشعاع. يعتبر الإشعاع بجرعة 10 kGy هو الأنسب مع إعطاء المستخلص الإيثانولي لـ *T. algeriensis* خاصية أفضل مضادة للأكسدة. حسن تشعيع جاما عند 10 كيلو جراي من خصائص مضادات الأكسدة الموجودة في المستخلصات الإيثانولية لـ *T. algeriensis* أظهرت مكملات للزيوت الأساسية لـ *Juniperus phoenicea* تضافراً إيجابياً يؤدي إلى زيادة نشاطها المضاد للأكسدة ، كما تم تحسين نشاطها المضاد للميكروبات ضد جميع السلالات التي تم اختبارها. سجل الثيمول وحده أعلى نشاط مضاد للأكسدة في جميع الاختبارات. تكمل الزيوت الأساسية لـ *Ammoides atlantica* كان لها تأثير إيجابي على نشاطها المضاد للأكسدة باستثناء اختبار $ABTS^{•+}$. كان لها أيضاً تأثير إيجابي على نشاطها في مبيدات الحشرات، مع تأخير ظهور البالغين وتقليل القدرة التناسلية للأنواع.

كلمات مفاتيح البحث: الزيوت الأساسية، التكميل، نشاط مضاد للأكسدة، التشعيع، نشاط مضاد

الحشرات، نشاط مضاد الميكروبات، *J. phoenicea* ، *A. atlantica* ، *T. algeriensis* .