

## THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

SPECIALITE : SCIENCES ALIMENTAIRES

---

### Étude des Propriétés Biologiques des Huiles Essentielles d'*Allium sativum* L Extraites par Procédé Hybride Innovant

---

Présentée Par

Mme ZIDOUR-BOUBECHICHE Zakia

Soutenance publique le 25/07/ 2019, devant le jury composé de

Président	Mr BITAM Arezki	Professeur, ENSA, Alger
Directrice de thèse	Mme HELLAL Amina	Professeur, ENP, Alger
Co-directeur de thèse	Mr JAMA Charafeddine	Professeur, ENSCL, Lille1 France
Examineurs	Mme BOUTEKEDJIRET Chahrazed	Professeur, ENP, Alger
	Mme OUAR-KORICHI Mounira	Professeur, Faculté de Médecine, Alger
	Mr AMIALI Malek	Professeur, ENSA, Alger
Invité	Mr CHIHIB Nour-Eddine	Professeur, UMET, Lille1 France

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

## THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

SPECIALITE : SCIENCES ALIMENTAIRES

### Étude des Propriétés Biologiques des Huiles Essentielles d'*Allium sativum* L Extraites par Procédé Hybride Innovant

Présentée Par

Mme ZIDOUR-BOUBECHICHE Zakia

Soutenance publique le 25/07/ 2019, devant le jury composé de

Président	Mr BITAM Arezki	Professeur, ENSA, Alger
Directrice de thèse	Mme HELLAL Amina	Professeur, ENP, Alger
Co-directeur de thèse	Mr JAMA Charafeddine	Professeur, ENSCL, Lille1 France
Examineurs	Mme BOUTEKEDJIRET Chahrazed	Professeur, ENP, Alger
	Mme OUAR-KORICHI Mounira	Professeur, Faculté de Médecine, Alger
	Mr AMIALI Malek	Professeur, ENSA, Alger
Invité	Mr CHIHIB Nour-Eddine	Professeur, UMET, Lille1 France

## Dédicace

---

**À la mémoire de mon père, de ma sœur et de mon beau frère**

**À mon mari**

**À mes enfants**

**À ma mère**

**À mes sœurs et mes frères**

**À Gamra Doumandji**

## Remerciements

---

*La plus grande gloire n'est pas de jamais  
tomber mais de se relever à chaque chute*  
**Nelson Mandela**

Avant de commencer ces remerciements, je tiens à vous faire savoir que l'achèvement de cette thèse m'a apporté une grande satisfaction. Malgré un long travail laborieux, qui m'a demandé d'énormes efforts, pas toujours accompagnés de chance ou de facilités, il a surtout été souvent encouragé par de merveilleuses personnes.

Je souhaite ainsi remercier en premier lieu, Allah, le tout puissant, qui m'a donné la force, le courage ainsi que la santé de venir à bout de ce travail et surmonter les difficultés et les obstacles dans des conditions que lui seul connaît.

Je tiens à remercier le Ministère de l'Enseignement Supérieur ainsi que l'Ecole des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral qui m'ont octroyé un stage afin de finaliser ma thèse. Cette dernière a été réalisée principalement dans le laboratoire de le laboratoire des Écosystèmes Marins et Littoraux (ECOSYSMarL) et le laboratoire Unité Matériaux et Transformation (UMET), Équipe Inra Processus aux Interfaces et Hygiène des Matériaux (UMR UMET, CNRS- INRA) en France. Sans oublier, les précieuses aides des autres laboratoires ; Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE) à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger et Service des Entérobactérie à l'Institut pasteur d'Alger.

J'adresse de chaleureux remerciements à Madame Hellal Amina, professeure à L'Ecole Nationale Polytechnique à Alger pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer mon travail doctoral. J'aimerais la remercier d'avoir toujours été à mes côtés pour avancer dans mon travail et surmonter les nombreuses embûches ainsi pour ses corrections pertinentes.

Je sais gré à Monsieur. Jama Charafeddine, professeur à l'école de chimie de l'Université de Lille 1, France. Je le remercie d'avoir co-encadré ce travail et d'avoir mis à ma disposition tous les moyens matériels nécessaires m'ayant permis de mieux avancer dans mon travail. Je le remercie aussi pour son soutien moral et sa disponibilité.

Un grand merci à Monsieur Bitam Arezki, chef département de Technologie alimentaire et professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'Alger, de l'honneur qu'il me fait en présidant mon Jury et d'examiner mon travail.

Je remercie Monsieur Amiali, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'Alger, Madame Boutekegijret Chahrazed Professeure à L'Ecole Nationale Polytechnique

d'Alger et Madame Ouar-Korichi Mounira, Professeure à la faculté de médecine d'Alger d'avoir honoré le jury et de donner de leur temps pour examiner ce travail.

J'associe à ces remerciements, Madame Boutekedjiret Chahrazed, pour ses orientations, ses conseils et ses connaissances qui m'ont initié au domaine des huiles essentielles.

Je désire grandement remercier Madame Ouar-Korichi Mounira qui m'a marquée le premier jour par sa gentillesse et son intérêt pour la science et à la recherche en répondant favorablement à ma demande de stage. Je la remercie d'être toujours présente au laboratoire, de vérifier mes résultats et de compléter mes connaissances.

J'exprime mes plus sincères remerciements à Mr. Nour-Eddine Chihib, professeur à l'Ecole Polytechnique de Lille, de m'avoir accueilli dans son laboratoire à l'INRA, de m'avoir partagé ses compétences sans oublier son côté humain. J'en profite pour remercier en particulier Mr Guillaume DELAPLACE, directeur du laboratoire de PIHM de l'INRA ainsi que toute l'équipe ; Oussama, Cristelle, Pascal, François, Thomas, Patrick

Il m'est impossible d'oublier de remercier toutes les personnes ayant contribué à ce travail. Je remercie profondément, Mr Boulhadid, professeur et directeur du laboratoire des Écosystèmes Marins et Littoraux (ECOSYSMarL), pour tous les moyens matériels. Je ne souhaite pas oublier l'équipe d'ingénieurs : Nabila Edalia, Maatouk Youcef, Azzouz Meki et plus particulièrement, l'aimable et gentille Fariza Ounadi avec qui j'ai partagé des moments agréables en extrayant de l'huile essentielle. Par la même occasion, je remercie tout le personnel et collègues enseignants qui m'ont soutenu: Mr Semroud Rachid, Mme Nabila Haoui, Mr Guerfi Mokhtar, Mr Hamdane Yassin, Mr Hichem Lourguioui, Mr Hamdi Boualem et les secrétaires Linda, Yamina, Fatiha ...

Je désire en outre remercier sincèrement l'équipe du laboratoire Entérobactérie de l'Institut Pasteur d'Alger, en particulier Farida Taleb qui m'a accompagnée dans toute la partie pratique et Hanane Lamir mais aussi pour son aide.

Je souhaiterais adresser ma gratitude à Mr Meftah Malek et son collègue Mr. Kessi, qui m'ont facilité l'obtention du stage au sein du laboratoire l'ERMA. Je remercie Mr. Kessi de m'avoir aidé à effectuer l'analyse chromatographique et d'avoir toujours été disponible et attentif à mes demandes. Aussi, je remercie Monsieur Beghdad Ouddane du laboratoire LAZIR, université de Lille1, Monsieur Rabah Boukheroub, Monsieur Alexandre Barras et Monsieur Hamze Monser pour les analyses effectuées dans leur laboratoire.

Je voudrais de bon cœur remercier Sihem Laouar et Latifa Bentchikou. Deux personnes qui m'ont fait partagé leur amitié, ont su apporté leur confiance, leur écouté et ont été présentes tout au long de la réalisation de cette thèse, les bons moments ainsi que les périodes de découragement. Une mention spéciale à Docteur Chenoufi pour sa gentillesse et sa disponibilité.

De même je remercie ma belle-famille, pour leur gentillesse et leur soutien constant tout au long de la thèse. Je ne saurai assez remercier toute ma famille en particulier ma mère, mes frères, mes nièces et mes neveux pour les sacrifices et l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard. Les mots les plus simples étant les plus forts, je souhaiterais exprimer ma gratitude plus spécialement pour mes soeurs Hebala et Drifa pour leurs pensées et leur amour qui me portent tous les jours mais aussi Muma, et Rachida pour leur affection, leur confiance et leur

tendresse. Un grand merci à Fateh, mon beau-frère d'avoir toujours été à mes côtés pour m'aider, m'encourager et prier pour moi.

Quoique je puisse dire, les mots ne seront jamais assez forts pour égaliser ta gentillesse, ta bienveillance et ta préoccupation. Mme Gamra Doumandji, je te remercie pour te orientations, tes conseils très précieux et ton soutien toujours réconfortant et présent. Je te remercie également pour ton appui, sans toi cette thèse n'aurait pas lieu. Encore merci sans oublier mes très chères Anissa et Samar.

Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas à mes chers enfants, j'en profite pour leur demander de me pardonner pour les moments de colère et de stress. Je remercie ainsi Malack, Ahmed et Mariam pour leur soutien affectif m'ayant permis d'accomplir mes rêves.

Mes derniers et profonds remerciements vont à une personne très spéciale, qui a cru en moi, et m'a soutenue pendant toutes ces années de travail, dans les moments les plus rudes comme dans les moments de bonheur. Mille mercis à mon mari, Zidour Mahammed pour son aide irremplaçable. Je ne le remercierai jamais assez pour ses efforts, ses veillées, ses encouragements, son calme et sa patience. Je lui en serais éternellement reconnaissante.

Avant de finir, une pensée à mon cher papa qui a fait de moi ce que je suis aujourd'hui et qui n'a pas vu l'aboutissement de mon travail. Un grand merci à toi.

La liste n'est malheureusement pas exhaustive mais je tiens tout de même à remercier toutes les personnes qui ont apporté une pierre, une connaissance à cet édifice, cette thèse.

## Résumé

---

Au cours de ce travail de valorisation de la plante aromatique médicinale *Allium sativum* cultivée dans différentes régions algériennes, nous avons commencé notre étude par une caractérisation nutritionnelle et minérale des bulbes de ce matériel végétal. Les résultats ont montré qu'ils se caractérisent par une richesse nutritionnelle remarquable par rapport à celles des bases de données internationales. Mais ils sont également dotés d'une richesse en minéraux et en faible teneur d'oligo-éléments toxiques, reflétant la qualité du sol et les conditions de croissance de cette plante médicinale. Nous avons ensuite extrait son huile essentielle par hydrodistillation conventionnelle (HD) et un processus hybride couplé aux ultrasons en tant que nouvelle technologie. La Sono-Hydrodistillation (SHD) s'avère être plus efficace, avec un gain de temps 4 fois supérieur à celui des techniques classiques, tout en offrant le même rendement. En termes de comparaison de la composition chimique, des similitudes qualitatives entre les processus étudiés ont été notées avec une prédominance de composés soufrés ainsi que de *di* et *tri*-disulfide en tant que composants principaux. Les résultats des activités antimicrobiennes ont montré que cette huile prouve qu'*Allium sativum* est potentiellement une riche source d'agents antifongiques et antibactériens contre de nombreux germes responsables d'infections fongiques et nosocomiales. En outre, une activité antioxydante prometteuse et une efficacité contre les cellules tumorales ; HeLa et MDA-MB-231, dérivées respectivement d'un carcinome cervical et d'un adénocarcinome mammaire humain, rejoignent les tests précédents.

**Mots clés :** *Allium sativum*, Huile essentielle, Composition, Hydrodistillation, Ultrason, Activité antibactérienne, Activité antifongique, Activité antioxydante, Cytotoxicité.

## Abstract

---

During this work, of valorization of the medicinal aromatic plant *Allium sativum* cultivated in different Algerian regions, we began our study by a nutritional and mineral characterization of the bulbs of this plant material. The results showed that they are characterized by a remarkable nutrient richness compared to those of international databases. However, they are also endowed with a wealth of minerals and low levels of trace elements, reflecting the soil quality and growing conditions of this medicinal plant. We then extracted its essential oil by conventional hydrodistillation (HD) and a hybrid process coupled with ultrasound as a new technology. The Sono-Hydrodistillation (SHD) is successfully proven to be more efficient with a time saving of 4 times more than conventional while providing the same yield performance. In terms of comparison of the chemical composition, qualitative similarities between the processes studied were noted with a predominance of sulfur compounds as well as *di* and *tri*-disulfide as major components. The results of antimicrobial activities have shown that this oil provides evidence that *Allium sativum* is potentially a rich source of antifungal and antibacterial agents against many germs responsible for fungal and nosocomial infections. In addition, promising antioxidant activity and efficacy against tumor cells; HeLa and MDA-MB-231 respectively derived from cervical carcinoma and human mammary adenocarcinoma, join the previous tests.

**Key words:** Garlic, *Allium sativum*, composition, Hydrodistillation, Ultrasound, Essential oil, Chemical composition, Antibacterial activity, Antifungal activity, Antioxidant activity, Total Phenolic Compounds, Cytotoxicity, Cell lines.



من أجل تثمين النبات العطري الطبي *Allium sativum* المزروع في مناطق جزائرية مختلفة، بدأنا دراستنا أولاً بالتوصيف الغذائي والمعدني لهذه المادة النباتية. أظهرت النتائج أنها تتميز بتركيب مغذي بشكل ملحوظ مقارنة بقواعد البيانات الدولية. كما أنه يتمتع أيضاً بثروة من المعادن ومستويات منخفضة من العناصر النزرة السامة، مما يعكس جودة التربة وظروف نمو هذا النبات الطبي. ثم استخرجنا زيتاً أساسياً بعملية التقطير التقليدية (HD) وعملية هجينة مقترنة بالموجات فوق الصوتية كتنقية جديدة (SHD). من خلال النتائج المحصل عليها ثبت أن هذه الأخيرة نجحت في أن تكون أكثر فاعلية مع توفير الوقت بأكثر من 4 أضعاف الوقت التقليدي مع توفير نفس المردود. من حيث المقارنة بين التركيب الكيميائي، لوحظت أوجه التشابه النوعي بين العمليات التي تمت دراستها مع أغلبية مكونات رئيسية تحتوي على الكبريت. أظهرت نتائج الأنشطة المضادة للميكروبات أن هذه الزيت لا دليلاً على أن الثوم يُعد مصدراً غنياً للعوامل المضادة للفطريات والبكتيريا ضد العديد من الجراثيم المسؤولة عن الالتهابات الفطرية والبكتيرية. بالإضافة إلى ذلك نسجل أيضاً نشاطاً واعد مضاداً للأكسدة وفعالاً ضد الخلايا السرطانية. هيللا (HeLa) و MDA-MB-231 المستمدة على التوالي من سرطان الراس وسرطان الثدي الغدي البشري.

**الكلمات الرئيسية:** الثوم، التركيب الغذائي، المعدني، عملية التقطير، الموجات فوق الصوتية، الزيوت الأساسية، التركيب الكيميائي، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضادات الأكسدة، الخلايا السرطانية

## Valorisation scientifique

---

### ▪ Publications dans des revues internationales à comité de lecture

**Boubechiche Z., Chihib, N. E., Jama, C., Hellal, A. (2017).** Comparison of Volatile Compounds Profile and Antioxydant Activity of *Allium sativum* Essential Oils Extracted using Hydrodistillation, Ultrasound-Assisted and Sono-Hydrodistillation Processes. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, 51(3), S281-S285.

**Boubechiche Z., Chihib, N. E., Ounadi.F., Oudane,B., Jama, C., Hellal, A:** Nutritional Composition and Mineral Contents of Bulbils and Bulbs of *Allium sativum* cultivated in East Algerian plains (en soumission).

**Boubechiche Z, Ouar-korichi M, Zidour M, Barras A, Hamze M, Daubias P, Chihib N, Hellal A, Jama C:** *In vitro* Antimicrobial , Cytotoxicity and Antioxidant activities of *Allium sativum* L essential oils (en soumission).

### ▪ Communications Orales

**Z. Boubechiche, M. Ouar-Korichi, R. Boukherroub, A. Barras, P. Daubias, N. Chihib, A. Hellal, C. Jama:** Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Bulbs and Bulbils from *allium sativum* L. **The fifth International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants (MESMAP4). April 24-28, 2019, Cappadocia – Turkey.**

### ▪ Communications affichées

**Boubechiche, Z., Chihib, N. E., Jama, C., Hellal. A.** Inhibitory Effect of Essential Oil from *Allium sativum* Against Some Species of Dermatophytes and Aspergillus. **The Fourth International Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants (MESMAP4), April 13-16 2018, Cyprus- Turkey.**

**Z. Boubechiche, C. Boutekedjiret., Z.Ferhat., A. Hellal.** Chemical composition and antioxydant activity of the essential oils of garlic cultivated in east Algerian plains. **GPE-4<sup>th</sup> International Congress on Green Process Engineering 7-10 April-2014 Sevilla (Spain).**

<b>Dédicace</b> .....	I
<b>Remerciements</b> .....	II
<b>Résumé</b> .....	V
<b>Abstract</b> .....	VI
<b>Valorisation scientifique</b> .....	VIII
<b>Liste des tableaux</b> .....	XVI
<b>Liste des Figures</b> .....	XVII
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PREMIERE PARTIE :REVUES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	5
<b>Chapitre I</b> .....	6
<b>Monographie d'<i>A.sativum</i> L</b> .....	6
1.Introduction .....	6
2. Histoire de l'ail entre l'origine et les croyances .....	8
3. Description botanique d' <i>Allium sativum</i> L .....	9
3.2. Systématique .....	10
3.3. Description de la plante .....	14
3.3.1. Les racines .....	14
3.3.2. Bulbe (tête) .....	15
3.3.3. La tige (scape) .....	15
3.3.4. Feuilles .....	15
3.3.5. La hampe florale .....	16
3.3.6. Inflorescence <sup>6</sup> .....	16
3.3.7. Bulbilles .....	16
3.3.8. Fleurs .....	17
4. Culture et production .....	17
5. Chimie de l'ail .....	21
5.1. Phytonutriments .....	21
5.2. Dérivés soufrés .....	22
5.3. Autres produits divers .....	24
6. Consommation de l'ail .....	24

<b>Chapitre II</b> .....	27
<b>Huile Essentielle d'<i>A.sativum</i> L.</b> .....	27
1.Introduction .....	27
2.Généralités sur les huiles essentielles .....	28
2.1.Un aperçu Historique.....	28
2.2.Définition et critères de qualité .....	30
2.3.Caractéristiques physico-chimiques .....	32
2.3.1. Propriétés physiques.....	32
2.3.2. Composition chimique .....	32
2.4. Localisation et fonctions dans le règne végétal .....	33
3.Huile essentielle d' <i>A.sativum</i> L.....	33
3.1.Extraction.....	34
3.2.Chimie de l'huile essentielle d'ail .....	34
3.3.Applications de l'huile essentielle d'ail.....	36
3.3.1.Applications dans l'alimentation .....	36
<b>DEUXIEME PARTIE : Étude Expérimentale</b> .....	42
<b>Chapitre I</b> .....	43
<b>Composition Nutritionnelle et Minérale des Bulbes et Bulbilles d'<i>A. sativum</i> L</b> .....	43
1.Introduction .....	43
2. Matériel et Méthodes.....	45
2.1.Matériel végétal .....	45
2.2.Composition nutritionnelle .....	46
2.3.Composition minérale.....	47
2.4.Analyse statistique.....	48
3.Résultats et discussion.....	48
3.1.Macronutriments.....	48
3.2.Éléments minéraux .....	51
3.2.1.Éléments majeurs.....	51
3.2.2.Métaux traces.....	53
<b>Chapitre II</b> .....	56
<b>Etude Comparative des Procédés d'Extraction : Conventionnel et Innovant</b> .....	56
1.Introduction .....	56
2.Matériel et méthodes.....	61
2.1.Matériel végétal .....	61

2.2.Procédures d'extraction.....	61
2.2.1. Procédure d'Hydrodistillation (HD) .....	61
2.2.2. Hydrodistillation assistée par ultrasons (US-HD).....	62
2.2.3. Sono-hydrodistillation (SHD) .....	63
2.3.Rendement d'extraction.....	63
2.4.Analyse chromatographique (GC-MS).....	64
2.5.Indices physiques.....	65
2.5.1. Densité relative à 20°C.....	65
2.5.2. Indice de réfraction (AFNOR NFISO 280 : 1999 (75-112)).....	66
2.6.Analyse statistique.....	66
3.Résultats et discussion.....	66
3.1.Effet du procédé d'extraction .....	66
3.1.1. Rendement et cinétique d'extraction.....	66
3.1.2. Composition chimique .....	69
3.2.Effet de l'origine du matériel végétal .....	72
3.2.1. Caractérisation organoleptique.....	72
3.2.2. Caractérisation physique .....	73
3.2.3. Rendement et caractérisation chimique.....	74
4.Conclusion.....	79
<b>Chapitre III</b> .....	<b>80</b>
<b>Activités Antibactérienne et Antifongique de l'Huile Essentielle des Bulbes d'<i>A.sativum</i></b> .....	<b>80</b>
1.Introduction .....	80
2. Matériel et méthodes.....	85
2.1.Milieus de culture et produits chimiques .....	85
2.2.Activité antibactérienne.....	85
2.2.1. Souches testées.....	85
2.2.2. Test antibactérien <i>in vitro</i> .....	85
2.3.Activité antifongique .....	88
2.3.1. Souches testées.....	88
2.3.2. Test antifongique <i>in vitro</i> .....	88
2.3.3. Expression des résultats .....	89
3.Résultats et discussion.....	89
3.1.Criblage de l'activité antibactérienne .....	89

3.1.1. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).....	93
3.2. Criblage de l'activité antifongique .....	96
3.3. Effet sur les <i>Aspergillus</i> .....	101
4. Conclusion.....	105
<b>Chapitre IV .....</b>	<b>106</b>
<b>Activité Antioxydante et Cytotoxicité de l'Huile Essentielle des Bulbes d'<i>A.sativum</i> L</b>	
.....	106
1. Introduction .....	106
2. Matériel et méthodes .....	109
2.1. Milieux de culture et produits chimiques .....	109
2.2. Huiles essentielles testées .....	110
2.3. Détermination des composés phénoliques totaux (CPT).....	110
2.4. <i>In vitro</i> activité antioxydante .....	110
2.4.1. Dosage de DPPH .....	110
2.4.2. Test du blanchiment $\beta$ - carotène/ acide linoléique .....	111
2.5. Test de cytotoxicité.....	112
2.5.1. Lignées cellulaires et culture cellulaire .....	112
2.5.2. Test de cytotoxicité.....	112
3. Résultats et discussion.....	113
3.1. Composés phénoliques Totaux (CPT).....	113
3.2. Activité antioxydante.....	114
3.2.1. Activité de piégeage des radicaux libres.....	114
3.2.2. Blanchiment $\beta$ -carotène/acide linoléique.....	116
3.3. Cytotoxicité .....	119
4. Conclusion.....	122
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>127</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>i</b>

## Abréviations générales

- ACP:** Analyse Composante Principale
- ADA:** American Association Detecian
- ADN:** AcideDésoxyriboNucléique
- AGE:** extrait d'ail veilli (de l'anglais *AgedGarlicExtract*)
- ANOFEL:** Association française des enseignants et praticiens hospitaliers titulaires de parasitologie et mycologie médicales.
- AOAC:** Association of Official Analytical Chemists
- APG:** Angiosperm Phylogeny Group
- ARN:** AcideRibonucléique
- ATCC:** American Type Culture Collection
- ATP:** Adénosine Triphosphate
- BFA:** Bulbe Frais Ain Defla
- BFB:** Bulbe Frais Bellezma
- BFM:** Bulbe Frais Mostaganem
- BHA:** Hydroxyanisolebutylé
- BHI:** BrainHeart Infusion
- BHT:** Hydroxytoluènebutylé
- C:** carbone
- CFSA:** Center for Food Safety and Applied nutrition
- Cipro:** Ciprofloxacine
- CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute
- CMI:** Concentration Minimale Inhibitrice
- CN:** Gentamicine
- CNRS:** Centre National de la Recherche Scientifique
- CPT:** composés phénoliques totaux
- CS:** Cystéinessulfoxydes
- DADS:** DiallyleDisulfide
- DAS:** DiallyleSulfide
- DATS:** DiallyleTrisulfide
- DATTS:** DiallyleTétrasulfide
- DMDS:** Diméthyle Disulfide
- DMEM:** Milieu de Eagle Modifié de Dulbecco
- DMSO:** Diméthylsulfoxyde
- DMTS:** Diméthyle Trisulfide
- DPPH:** 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (Diphenylpicryl-hydrazyl)
- E:** Erythromycine

**ERMA:** Etablissement de Rénovation des Matériels Aéronautiques  
**ERO:** Espèces Réactives de l'Oxygène  
**ET:** Ecart-Type  
**FAO:** Food American Organisation  
**FBS:** sérum fœtal bovin  
**FDA:** Food and Drug Administration  
**FID:** Flame Ionization Detector  
**GC-MS:** Gas Chromatograph Mass Spectrometer  
**GN:** Gélose nutritive  
**GTP:** Guanosine Triphosphate  
**HD:** Hydrodistillation  
**HE:** Huile Essentielle  
**HEA:** Huile Essentielle d'Ail  
**HEs:** Huiles Essentielles  
**IC<sub>50</sub>:** Concentration inhibitrice à 50%  
**ICP-AES:** Spectrométrie d'Emission Atomique par Plasma à Couplage Inductif  
**ICP-MS:** Spectrométrie de Masse par Plasma à Couplage Inductif  
**IPA:** Institut pasteur d'Alger  
**I<sub>R</sub>:** Indice de Réention  
**ISO:** Organisation Internationale de Normalisation  
**LCL:** Laboratoire centrale de l'Intendance  
**LRZA:** Laboratoire de Recherche des Zones Arides  
**MADS:** Méthyl AllylDisulfide  
**MATS:** Trisulfure de Méthyle Allyle  
**MH:** Muller Hinton  
**NaOH:** Hydroxyde de Sodium  
**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé  
**P/V:** Poid/volume  
**pH:** Potentiel Hydrogène  
**REACH:** (enRegistrement, Evaluation et Autorisation des produits Chimiques).  
**Redox:** Oxydant-Réducteur  
**SHD:** Sono-HydroDistillation  
**SOD:** Superoxydesdismutases  
**TBARS:** Thiobarbituricacidreactive substances  
**t<sub>R</sub>:** Temps de Réention  
**UFC:** Unité Foramnt Colonie  
**USDA:** National Nutriment Database for Standard Reference  
**USDA:** United States department of Agriculture  
**US-HD:** Hydrodistillation Assistée par Ultrasons  
**USTHB:** Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumediene  
**UV:** Ultraviolet

## **Abréviations taxonomiques**

*A.ascalonicum* L: *Allium ascalonicum*. Linée



**A.canis** : *Aspergillus canis*  
**A.cepa L** : *Allium cepa* Linné  
**A.fumigatus** : *Aspergillus fumigatus*  
**A.nidulans** : *Aspergillus nidulans*  
**A.niger**: *Aspergillus niger*  
**A.sativum L**: *Allium sativum* Linné  
**A.sativum L var**: *Allium sativum* Linné variété  
**A.odorum L**: *Allium odorum* Linée  
**E.coli**: *Escherichia coli*  
**E.feacalis**: *Enterococcus feacalis*  
**E.flocosum**: *Epidermophyton flocosum*  
**F.oxysporum**: *Fusarium oxysporum*  
**K.pneumoniae**: *Klebsiella pneumonie*  
**M.canis**: *Microsporium canis*  
**P. aeruginosa**: *Pseudomonas aeruginosa*  
**P.cyclopium**: *Penicillium cyclopium*  
**S.aureus** : *Staphylococcus aureus*,  
**S. flexnerii**: *Scheigella flexnerii*  
**S. enteritidis** : *Salmonella enteritidis*  
**S. epidermis**: *Salmonella epidermis*  
**S. Heidelberg**: *Salmonella Heidelberg*  
**S. Manhathan**: *Salmonella Manhathan*  
**S.typhimurium**: *Salmonella typhimurium*  
**T.mentagnophyte**: *Trichophyton mentagnophyte*  
**T.schonleinii** : *Trichophyton schonleinii*  
**T. violaceum** : *Trichophyton violaceum*

## Liste des tableaux

Tableau 1. Classification d' <i>A.sativum</i> L selon Messiaen (1996) et Maaß et Klaas (1995). .....	12
Tableau 2. Superficie récoltée (ha) et production d'ail (t) des continents ainsi que le meilleur producteur et la production locale (FAO, 2017). .....	20
Tableau 3. Effets antimicrobien, antioxydant et sensoriel de l'ajout des préparations d'ail dans les matrices alimentaires.....	38
Tableau 4. Propriétés bioactives et les mécanismes d'action de l'huile essentielle d'ail et ses principaux composants.....	40
Tableau 5. Conditions opératoires d'ICP-AES et ICP-MS. ....	48
Tableau 6. Composition nutritionnelle des bulbilles et des bulbes comparés à certaines tables de référence.....	50
Tableau 7. Les éléments majeurs des bulbilles et des bulbes d'ail ( <i>Allium sativum</i> L).....	52
Tableau 8. Les minéraux traces des bulbilles et des bulbes d'ail ( <i>Allium sativum</i> L).....	54
Tableau 9. Composition chimique des huiles essentielles des bulbes d'ail frais obtenues via les trois procédés d'extraction.....	70
Tableau 10. Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des différentes régions.....	73
Tableau 11. Les caractéristiques physiques des huiles essentielles des différentes régions.....	74
Tableau 12. Composition chimique des HEs des bulbes d'ail frais obtenues des trois régions. ....	76
Tableau 13. Les diamètres d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices générés de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des bulbes d' <i>A.sativum</i> .....	90
Tableau 14. Effet <i>in vitro</i> de l'huile essentielle des bulbes d' <i>A.sativum</i> sur les dermatophytes.....	97
Tableau 15. Les composés phénoliques totaux (CPT) de l'huile essentielle des bulbes d'ail cultivé dans différentes régions.....	113
Tableau 16. Activité de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles extraite par différentes méthodes .....	115
Tableau 17. Activité de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles extraites par hydrodistillation des bulbes des régions de Bellezma, Mostaganem et Ain defla. ....	116

## Liste des Figures

Figure 1. Les différentes parties de la plante d'ail (Source : fr.dreamstime.com). .....	14
Figure 2. Tête d'ail coupée transversalement .....	15
Figure 3. Inflorescence d'ail .....	16
Figure 4. Bulbilles d'ail .....	17
Figure 5. Fleurs d'ail (source : Biendifférent.com).....	17
Figure 6. Superficie récoltée et production mondiale d'ail pour la décennie (2007-2017) (Source : FAOSTAT (11 Février 2019)).....	19
Figure 7. Formation de composés organo-soufrés au cours des voies métaboliques dans l'ail transformé (source : Corzo-Martínez et al., 2007).....	23
Figure 8. Principaux composés organo-soufrés présents dans différentes préparations d'ail (source : Corzo-Martínez et al., 2007).....	26
Figure 9. Structure des principaux composés organo-soufrés présents dans l'huile essentielle d'ail (HEA). .....	35
Figure 10. Photographies des parties analysées de l' <i>A.sativum</i> L récoltées de la région de Bellezma. ....	46
Figure 11. Photographies de l'ICP-AES et ICP-MS.....	47
Figure 12. Composition nutritionnelle moyenne exprimée en pourcentage des bulbilles et des bulbes (la teneur en eau n'est pas prise en compte).....	50
Figure 13. Propagation longitudinale d'une onde ultrasonore (source : Hallez, 2009) .....	58
Figure 14. Effondrement de bulles de cavitation et libération de matériel végétal : exemple d'extraction d'huile essentielle de basilic (Chamet et al., 2011) .....	60
Figure 15. Procédé conventionnel (Hydrodistillation (HD)).....	62
Figure 16. Procédé Innovant (Hydrodistillation assistée à l'ultrason (US-HD)) .....	62
Figure 17. Procédé Innovant (Sono-hydrodistillation(SHD)).....	63
Figure 18. Chromatogramme d'une série de <i>n</i> -alcanes ( $C_5-C_{28}$ ).....	65
Figure 19. Profil de rendement des huiles essentielles extraites des bulbes frais d'ail par trois procédés d'extraction .....	67
Figure 20. Chromatogramme comparatif de la composition chimique de l'huile essentielle des bulbes frais d'ail via les trois procédés d'extraction (HD: noir, US-HD: rouge, SHD: bleu).....	71
Figure 21. Principales fractions de l'huile essentielle récupérée via trois procédés d'extraction .....	71
Figure 22. Photographies de l'HE de BFM décantée (a) et séchée (b) .....	74
Figure 23. Cercles des corrélations des variables des huiles essentielles des différentes régions (nombre de variables 9 : BFB1=X1 à BFA3=X9) .....	77
Figure 24. Projections des individus (nombre de variables 9 : BFB1=X1 à BFA3=X9) et les molécules soufrées des huiles essentielles des différentes régions. ....	78
Figure 25 . Mécanismes d'action des huiles essentielles sur les bactéries ( <a href="https://laboratoiredumani.fr/le-mode-daction-des-huiles-essentielles-sur-les-bacteries">https://laboratoiredumani.fr/le- mode-daction-des-huiles-essentielles-sur-les-bacteries</a> ) .....	82

Figure 26. Mécanismes d'actions des Huiles essentielles sur les cellules fongiques ( <a href="https://laboratoireumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/">https://laboratoireumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/</a> ).....	83
Figure 27. Schéma présentant la procédure d'inoculation.....	86
Figure 28. Schéma présentant la méthode de diffusion par disque.....	87
Figure 29. Photographies montrant la détermination de la CMI par l'utilisation du dispositif de Stéers. .....	88
Figure 30. Photographies montrant la sensibilité de <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853) (témoin (a)) à la gentamycine (b) et à l'HE des bulbes (c).....	91
Figure 31. Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle des bulbes d' <i>A. sativum</i> contre une série de souches bactériennes .....	95
Figure 32. Photographie de <i>M. canis</i> .....	98
Figure 33. Photographie de <i>T. mentagrophytes</i> ( <a href="http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html">http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html</a> ) .....	99
Figure 34. Photographie d' <i>E. floccosum</i> ( <a href="http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html">http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html</a> ) .....	99
Figure 35. Effet <i>in vitro</i> de l'huile essentielle des bulbes d' <i>A. sativum</i> sur les dermatophytes .....	100
Figure 36. Photographies illustrant l'activité antifongique de l'HE des bulbes d'ail contre les dermatophytes.....	101
Figure 37. Photographies de l'espèce <i>A. fumigatus</i> .....	102
Figure 38. Effet <i>in vitro</i> de l'huile essentielle des bulbes d' <i>A. sativum</i> sur <i>A. nidulans</i> et <i>A. fumigatus</i> . ...	103
Figure 39. Photographies illustrant l'activité antifongique de l'HE des bulbes d'ail contre <i>A. nidulans</i> et <i>A. fumigatus</i> .....	104
Figure 40. Schéma représentant la formation des radicaux libres, les agents causals et les dégâts induits ( <a href="https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Free-FormationFR.jpg">https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Free-FormationFR.jpg</a> ) .....	107
Figure 41. Schéma représentant le stress oxydant et le rôle des antioxydants ( <a href="https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Oxidative-StressFR.jpg">https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Oxidative-StressFR.jpg</a> ) .....	108
Figure 42. Réduction du radical stable DPPH de couleur violette en sa forme réduite.....	114
Figure 43. Changements relatifs d'absorbance d'émulsions de bêta-carotène contenant du BHT et de l'huile essentielle d'ail des différentes régions.....	117
Figure 44. Taux d'inhibition (I%) de l'oxydation de l'acide linoléique .....	118
Figure 45. Viabilités exprimée en pourcentage de deux lignées cellulaires (a : HeLa, b : MDA-MB-231) après une exposition de 24 et 48 h à l'huile essentielle extraite des bulbes d'ail (Le graphique représente les valeurs de la viabilité cellulaire moyenne% $\pm$ ET).....	120

## INTRODUCTION

# INTRODUCTION

*L'ail c'est vrai charge l'haleine  
Et je veux pas le décharger,  
Mais faut pas confondre hygiène  
Question de goût et préjugés...  
Les belles Languedociennes,  
Ne se sentent pas gênées  
De fleurir l'ail aborigène  
Même quand elles vont flirter !  
J'aime mieux les plébéiennes  
Aux effluves liliacées  
Que ces aliénées mondaines  
Puant le parfum à plein nez.*

Le huitième couplet de la chanson intitulée "l'Alh" (l'ail en occitan), par le duo toulousain les "Fabulous Trobadors".

# INTRODUCTION

---

Depuis des décennies et de plus en plus, que ce soit dans les pays développés ou en voie de développement, les marchés alimentaires sont envahis par de nouveaux produits ; avec une diversité de la composition et une présentation plus attrayante. De même, d'énormes progrès ont été constatés dans le domaine médical avec également de nombreuses et nouvelles molécules médicamenteuses.

Malheureusement, en parallèle, une augmentation accrue des pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et des cancers a été signalée ces dernières années dans les rapports de l'Organisation Mondiale de Santé (OMS).

Toutefois, cette situation qui est censée être à la faveur de la santé humaine, a développé bien au contraire une méfiance à l'égard de ces aliments contenant des conservateurs synthétiques et des médicaments chimiques issus de l'industrie pharmaceutique. Nombreux sont les gens qui expliquent ce phénomène par les effets nocifs et les facteurs de risque qui leurs sont associés.

Pour cela, une volonté de retour à l'utilisation de produits naturels, de produits dits "bio", dépourvus de substances chimiques ajoutées est de plus en plus importante. S'ajoute, le développement des médecines complémentaires et alternatives. Celles-ci sont nombreuses, nous pouvons citer par exemple l'homéopathie, la phytothérapie, l'aromathérapie, la nutrithérapie et l'oligothérapie. Malgré la divergence de leurs mécanismes, ces alternatives se joignent toutes dans l'utilisation des plantes et leurs métabolites secondaires tels que les huiles essentielles. Ces dernières s'avèrent être un choix pertinent pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique qui en font une source potentielle de molécules naturelles bioactives.

Parmi ces plantes, on peut citer l'ail ; la thériaque des pauvres à travers les civilisations. Son utilisation pour cuisiner et soigner à travers le monde, remonte à plus de 5000 ans. Au fil du temps et grâce aux médecines populaires, l'ail s'est révélé être agent médical prophylactique et thérapeutique et son utilisation à ces fins est très répandue et en croissance. A l'heure actuelle, l'ail est considéré comme un allié de la santé par la majorité du grand public surtout que des études épidémiologiques ont montré une relation étroite entre les habitudes alimentaires, y compris la consommation d'ail, et la survenue d'une maladie. Il attise la grande curiosité des scientifiques à travers le monde qui en font des milliers de publications au cours des dernières années.

Dans le contexte, de profiter efficacement de tout ce que la nature nous offre, une attention particulière est prêtée à la valorisation de la plante *Allium sativum* ; une plante aromatique et médicinale cultivée dans plusieurs régions d'Algérie.

Ce travail de thèse se décline en deux axes majeurs. Le premier axe vise à évaluer l'impact de l'application de l'ultrason comme nouvelle technologie couplée au Clevenger conventionnel, sur la cinétique de l'extraction ainsi que la composition chimique de l'huile essentielle d'ail. Le deuxième axe traite des activités biologiques de son huile essentielle et de ses éventuelles utilisations comme alternative dans le domaine médicale et alimentaire pour tenter de trouver de nouveaux remèdes aux maladies actuelles.

En effet, **La première partie** portera sur **l'état des connaissances actuelles** sous forme de revues bibliographiques. **Dans son premier chapitre**, nous présenterons la monographie d'*A.sativum* L par un aperçu historique sur la place de l'ail entre les différentes civilisations et croyances. Ensuite, nous décrirons sa classification botanique, sa production mondiale et sa composition chimique.

**Dans un deuxième chapitre**, nous aborderons, en premier lieu les généralités sur les huiles essentielles. Puis, nous consacrerons une étude particulière et détaillée à l'huile essentielle d'ail en développant les méthodes de son extraction, sa composition et ses différentes applications dans le domaine alimentaire et médicale.

**La seconde partie** portera sur **l'étude expérimentale**, qui décrira les démarches expérimentales mises en œuvre ainsi que les résultats obtenus commentés à l'égard de la littérature.

Dans cette partie, structurée en quatre principaux chapitres, nous caractériserons *i)* la composition nutritionnelle et minérale des bulbes, *ii)* nous extrairons l'huile essentielle d'ail tout en comparant entre le procédé conventionnel et les procédés innovants utilisant l'ultrason comme nouvelle technologie, *iii)* nous mettrons le point sur l'effet de l'origine de la plante sur cette huile extraite de différentes régions, enfin *iiii)* nous finirons par les activités biologiques.

Une conclusion générale et les perspectives relatives aux principaux résultats obtenus durant la réalisation de cette thèse clôtureront le manuscrit

## Première Partie

---

## Revue Bibliographique



Chapitre I

# Première Partie

---

1. Introduction

Les revues bibliographiques sont des outils essentiels pour la recherche académique. Elles permettent de synthétiser les connaissances existantes sur un sujet donné, de identifier les lacunes de la recherche et de guider les futurs chercheurs. Ces revues sont généralement publiées dans des revues de synthèse ou des ouvrages de référence.

## Revue Bibliographique

# Chapitre I

---

## Monographie d'*A.sativum* L

### 1. Introduction

Les aliments fonctionnels<sup>1</sup> et nutraceutiques<sup>2</sup> sont de plus en plus populaires dans le monde entier en raison de leurs effets prometteurs à la santé. Des études épidémiologiques menées dans le monde entier ont montré qu'une consommation libérale de légumes particulièrement riches en nutraceutiques était associée à une garantie de prévention et de réduction des désordres chroniques liés à la santé (Visioli et Hagen, 2007).

Il existe plusieurs plantes traditionnelles, utilisées comme support thérapeutique pour différentes menaces physiologiques. Les recherches menées à l'aide de thérapies diététiques permettent de mieux comprendre l'importance de ces plantes traditionnelles, notamment l'ail, l'oignon, le cumin noir, le thé vert, le gingembre...etc (Akhtar et al., 2013).

---

<sup>1</sup> : de l'anglais *functional Food*, sont des aliments ou des composantes alimentaires qui fournissent des bénéfices sur la santé au-delà de la nutrition de base.

<sup>2</sup> : de l'anglais *nutraceutical*, ne sont pas des aliments, mais plutôt des substances extraites d'un aliment et vendue sous forme de supplément.

En effet, ils possèdent certaines substances chimiques biologiquement actives, appelées phytochimiques. Ces molécules chimiques sont principalement responsables de plusieurs effets

tels que le piégeage des radicaux libres, les propriétés antimicrobiennes et la protection contre les maladies (Suleria *et al.*, 2015 ;Sultan *et al.*, 2011).

Les aliments fonctionnels sont importants non seulement en raison de leurs effets prometteurs à la santé mais aussi de leur accessibilité facile et de leur prix bas.

Par ailleurs, l'augmentation abrupte des coûts des soins médicaux et le désir de l'être humain de préserver sa santé incitent de plus en plus les nutritionnistes et les scientifiques de la santé publique à élucider les liens entre régime alimentaire et santé (Urala et Lähteenmäki, 2007).

De plus, les légumes constituent l'un des segments importants de l'alimentation humaine depuis l'antiquité et occupent une place unique dans tous les systèmes de guidage alimentaire. L'association diététique américaine (de l'anglais *American Dietician Association*) a recommandé de consommer quotidiennement 4 à 5 portions de légumes afin de répondre aux besoins en nutriments souhaités.

Cependant, il existe de nombreuses preuves qui montrent que la consommation de différents légumes est importante pour la santé humaine car ce sont de très bonnes sources de fibres alimentaires, d'antioxydants, de caroténoïdes, de composés contenant du soufre, des vitamines et des minéraux (Suleria *et al.*, 2015).

Parmi les aliments fonctionnels, l'utilisation de l'ail augmente de jour en jour en raison de son potentiel de promotion de la santé en plus de la nutrition de base. Les potentiels favorables de l'ail sont principalement liés à ses composés soufrés, notamment l'allicine, les thiosulfonates et les ajoenes. Ces composants bioactifs de l'ail sont responsables de la guérison de diverses infections.

Dans ce chapitre, nous présenterons d'abord un historique de la place de l'ail entre les différentes civilisations et leurs croyances. Ce point est suivi d'une description botanique de la plante et de sa production mondiale pour finir avec la composition chimique de cette plante

et ses précieux composants ainsi que les différentes formes de commercialisation de cette plante.

## 2. Histoire de l'ail entre l'origine et les croyances

L'ail est une plante consommée depuis des millénaires et cultivée depuis 6000 ans (Rombi et Robert, 2007). Ses premières traces de culture ont été issues des plaines de Kazakhstan, Ouzbékistan et Turkménistan, à l'Est de la mer Caspienne. Il s'est propagé très tôt vers la Chine puis dans les pays du bassin méditerranéen. Sa capacité à être cultivé aussi bien dans un climat tempéré que dans un climat chaud lui a permis d'être introduit dans de nombreuses civilisations. Ce sont les marchands, les marins, les explorateurs ou encore les nomades qui ont contribué à le répandre dans le reste du monde (Krčmár, 2008 ; Senninger, 2009).

De nombreuses croyances ont été rattachées à l'ail. Plusieurs peuples lui ont octroyé le pouvoir d'éloigner le mal et le mauvais œil, la capacité de se protéger contre les sorcières et de repousser aussi bien les serpents, la folie, les vampires, que le diable. Ce qui explique le fait que des tresses d'ail soient attachées dans les maisons (Senninger, 2009).

En parallèle à ces croyances, plusieurs propriétés médicinales lui sont attribuées. Dans l'Égypte ancienne, dès l'époque des pharaons, l'ail était connu pour ses propriétés nutritives. L'historien grec Hérodote rapporte que les ouvriers employés pour la construction des pyramides recevaient journalièrement une ration d'ail pour augmenter leur endurance et maintenir leur santé afin d'effectuer leur pénible travail.

Selon le même historien, la pyramide du roi Kheops porte des images attestant la quantité d'ail reçue chaque jour. Des gousses d'ail ont été également retrouvées dans certains tombeaux (Senninger, 2009). Dans le papyrus médical égyptien datant de plusieurs milliers d'années, l'ail est tellement apprécié qu'il est prescrit dans le traitement de 22 maladies (Minker, 2012).

Dans la Grèce antique, l'ail était appelé « la rose puante » à cause de la forme de ses fleurs et de sa forte odeur caractéristique. Plusieurs ouvrages de cette époque ont signalé ses vertus médicinales, aussi bien par Homère, Hippocrate, que par Aristote. Les soldats et les lutteurs en consommaient pour apporter force physique et protection contre les maladies. De même, les athlètes qui participaient aux jeux olympiques croquaient une gousse avant l'effort.

Chez les romains, seules la classe pauvre et les soldats, en consommaient en grandes quantités. Ils le considéraient comme un aliment fortifiant et un remède des troubles intestinaux, des infections respiratoires et des morsures des animaux, comme c'est décrit dans l'encyclopédie « Histoire de naturelle » du naturaliste romain Pline l'Ancien.

Les Romains l'introduisirent en Italie, en Espagne, en France et jusqu'en Angleterre, ils ont joué un grand rôle dans son expansion en Europe de l'ouest où il était consommé pour se donner de la force et se protéger des maladies, telle que l'épidémie de la peste.

En France, Charlemagne (742-814 J-C) avait ordonné la culture plantée de l'ail dans les jardins royaux et a incité ses proches à en faire de même. Grâce à lui, l'ail est devenu un aliment courant dans les potagers. Mais c'est surtout sous le règne d'Henri IV (1553-1610) que l'ail va connaître ses lettres de noblesse lorsque son grand-père lui a frotté les lèvres quand il était nouveau-né avec une gousse d'ail pour le protéger du mal et lui conférer la force du chef (Clebert, 1987 ; Krčmár, 2008 ; Senninger, 2009).

Aujourd'hui encore, on peut constater son importance et son caractère précieux à travers toutes les foires et fêtes qui lui sont dédiées.

### 3. Description botanique d'*Allium sativum* L

#### 3.1 . Dénominations vernaculaires

Le nom «*Allium sativum*» est dérivé du mot celtique «*all*», qui signifie brûlure ou piquûre, et du latin «*sativum*», qui signifie cultiver, planter, du latin *serere* et de *orum*, les moissons, les récoltes et les semences (Deboise, 2001).

**Espèce médicinale :** *Allium sativum* L

**Noms communs :**

**Arabe :** ثوم ;

**Amazigh :** thicharth ;

**Anglais :** garlic, common garlic ;

**Français :** ail, ail commun, ail cultivé, thériaque des pauvres ;

**Espagnol :** ajo ;

**Allemand :** Knoblauch ;

**Japonnais :** ninniku ;

**Russe :** chesnok, pénicilline russe.

### 3.2. Systématique

L'ail (*Allium sativum* L.) appartient au genre *Allium* (A). Sa position taxonomique et des genres apparentés a longtemps fait l'objet de controverses (Fritsch et Friesen, 2002). Traditionnellement, d'après la classification des Angiospermes de Cronquist de 1981, le genre *Allium* appartenait à la famille des Liliaceae. Cependant, la circonscription taxonomique de cette famille a été réévaluée par le Groupe de Phylogénie des Angiospermes (APG : de l'anglais *Angiosperm Phylogeny Group*) et *Allium* a finalement été placée dans la famille des Amaryllidaceae, en 2009 (APG III, 2009).

Cette famille est divisée en trois sous-familles : les Agapanthoideae, les Allioideae et les Amaryllidoideae (Stevens, 2013). Elle contient plus de 1700 espèces ; de nombreuses sont utilisées comme plantes d'ornement, tels que les Amaryllis, d'autres servent en alimentation, c'est le cas de l'ail (Dupont et Guignard, 2012).

La hiérarchie suivante a été adoptée :

**Clade** : Angiosperme

**Clade** : Monocotylédone

**Ordre** : Asparagales Link, 1829

**Famille**: Amaryllidaceae J.St.-Hil, 180

**Sous-famille**: Allioideae Herb, 1837

**Tribu**: Allieae Dumort, 1827

**Genre** : *Allium* Linné (L), 1753

**Espèce**: *Allium sativum* L., 1753

- *Allium sativum* L. var. *sativum*
- *Allium sativum* L. var. *ophioscordum*
- *Allium sativum* L. var. *pekines*

Le genre *Allium* L., morphologiquement extrêmement diversifié, est majoritaire avec plus de 880 espèces (World Checklist of Monocotyledons 2011). Il est l'un des plus grands genres monocotylédones ce qui en rend cette énorme diversité difficile à classer. La proposition de classification la plus récente repose principalement sur les séquences de la région d'espacement interne transcrite de l'ADN ribosomal nucléaire, regroupant environ 780 espèces (semble actuellement être une estimation réaliste), réparties dans 15 sous-genres et plus de 70 sections.

Ces études moléculaires récentes et d'autres ont présenté davantage de preuves qu'*Allium* est un genre monophylétique, composé d'un grand nombre de groupes infra génériques bien séparés ne correspondant pas aux sections et sous-sections traditionnellement circonscrites (Friesen et al., 2006 ; Fritsch et al., 2010).

Les cultivars<sup>3</sup> d'ail peuvent être classés suivant leurs caractères morpho-physiologiques en groupes de cultivars. Selon une classification proposée par Maaß et Klaas (1995), fondée sur les caractères morpho-physiologiques et une analyse phylogénétique<sup>4</sup> avec des marqueurs biochimiques et ADN, l'espèce *Allium sativum* L. se subdivise en quatre groupes : Groupe Sativum, Groupe Ophioscorodon, Groupe Longicuspis et Groupe Subtropical (Tableau 1).

De même, la classification établie par Messiaen (1996), basée sur les caractères morpho-physiologiques et sur les isoenzymes de plusieurs collections de variétés d'ail permettant de classer l'espèce *A. sativum* en six groupes (Tableau 1). Cette nomenclature n'inclut pas les variétés d'Asie centrale (centre d'origine) car la diversité génétique y est trop importante.

---

<sup>3</sup> : Un cultivar fait référence à une variété d'espèce végétale n'existant pas à l'état naturel présentant une caractéristique propre. Ils sont souvent obtenus par sélections.

<sup>4</sup> : est la branche la génétique. Elle correspond à l'étude des liens existant entre espèces apparentées. Grâce à elle, il est possible de retracer les principales étapes de l'évolution des organismes depuis un ancêtre commun et ainsi de classer plus précisément les relations de parentés entre les êtres vivants.

Tableau 1. Classification d'*A. sativum* L selon Messiaen (1996) et Maaß et Klaas (1995).

Classification de Messiaen (1996)		Classification de Maaß et Klaas (1995)	
Groupes	Caractéristiques	Groupes	Caractéristiques
<b>Groupe I</b>	<p>Variétés méditerranéennes à 2 feuilles fertiles ;</p> <p>Produisant une hampe florale ;</p> <p>Présentes en Espagne (majorité), en France (notamment l'ail rose de Lautrec), en Italie, Croatie, Algérie, Sénégal, au Niger, ainsi qu'en Indonésie.</p>		
<b>Groupe II</b>	<p>Variété des climats tempérés ou des pays méditerranéens avec des hivers froids à au moins 3 feuilles fertiles ;</p> <p>Ne produisant pas de hampe ;</p> <p>Présentes principalement en Italie du Nord.</p>	<b>Groupe Longicuspis,</b>	<p>Inclut les cultivars séminifères d'Asie centrale, est considéré comme le groupe ancestral à partir duquel les autres groupes ont évolué. Certains auteurs les nomment « Porcelaine » ou « purple striped ».</p>
<b>Groupe III</b>	<p>Variétés méditerranéennes à plus de 3 feuilles fertiles ;</p> <p>Produisant de gros bulbes mais sans hampe florale ;</p> <p>Présentes en France (variétés blanches de la Drôme, et l'ail violet de Cadours), en Espagne du Sud, Roumanie, Californie ;</p> <p>Possibilité de rattachement à ce groupe un sous-groupe cultivable en conditions tropicales avec des variétés plus précoces de Chine du Sud et de Taïwan.</p>		



<p><b>Groupe IV</b></p>	<p>Variétés présentes principalement en l'Europe de l'Est ; Possédant 2 feuilles fertiles ; Produisant une hampe florale. Connue souvent comme « rocamboles ».</p>	<p><b>Groupe Ophioscorodon</b> <i>A. sativum</i> var. <i>ophioscorodon</i></p>	<p>connu aussi comme rocambole ou "ail serpentueux" et correspondant au groupe IV de la classification de Messiaen et al. (1996).</p>
<p><b>Groupe V</b></p>	<p>Variétés sud méditerranéennes ou tropicales de plaine à trois feuilles fertiles ; Présence ou non de la hampe florale ; Présente dans les zones chaudes telles qu'en Guinée, à la Réunion, aux Antilles, au Liban ; Possibilité de rattachement d'un sous-groupe appelé « asiatique précoce » avec 2 feuilles fertiles et une nécessité de froid plus important.</p>	<p><b>Groupe Sativum</b> <i>A. sativum</i> L. var. <i>sativum</i></p>	<p>Très hétérogène et correspond aux groupes I, II, III et V ainsi que les asiatiques précoces de la classification de Messiaen et al. (1996).</p>
<p><b>Groupe VI</b></p>	<p>Variétés tropicales de montagne à plus de 3 feuilles fertiles, Produisant une hampe florale, Présentes au Mexique, Pérou, Madagascar, Asie du Sud-est, à la Réunion.</p>	<p><b>Groupe Subtropical</b></p>	<p>comprend des cultivars cultivés sous les tropiques et correspond au groupe VI de la classification de Messiaen et al. (1996).</p>

### 3.3. Description de la plante

L'*A. sativum* L. est une plante vivace, géophyte<sup>5</sup>, herbacée et bulbeuse. Elle peut atteindre 25 à 90 cm de haut avec une tige contournée avant la floraison. La plante d'ail est décrite par plusieurs auteurs (Fritsch et Friesen, 2002 ; Rombi et Robert, 2007 ; Teuscher et Lobstein, 2005). Elle est composée principalement de (Figure 1) :

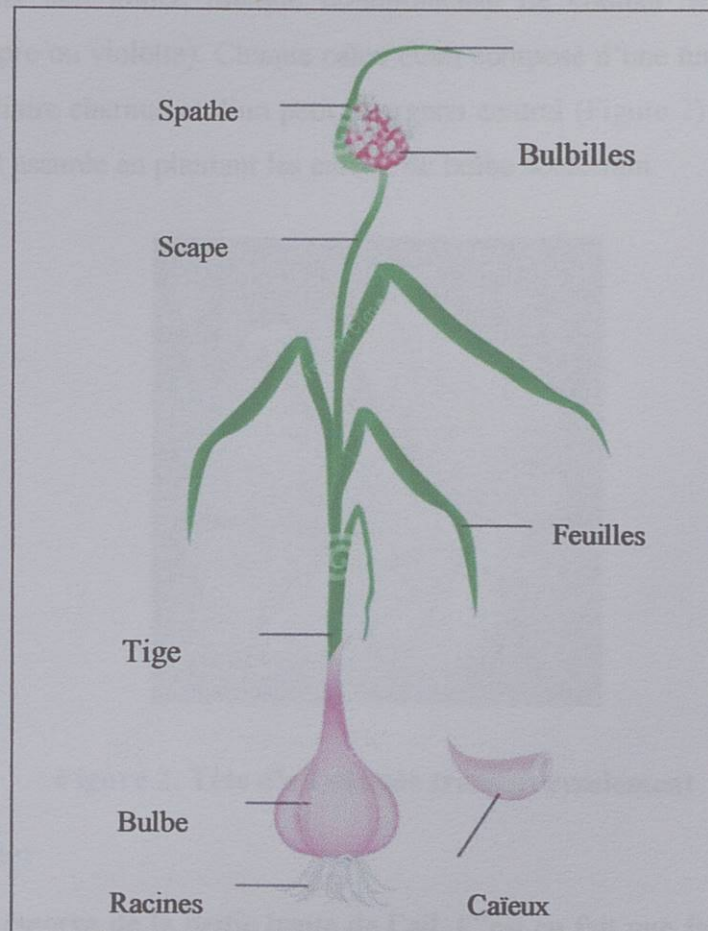


Figure 1. Les différentes parties de la plante d'ail (Source : fr.dreamstime.com).

#### 3.3.1. Les racines

Ce sont des racines adventives qui prennent naissance sous le bulbe, au niveau du plateau correspondant à la tige souterraine.

<sup>5</sup> : géophyte, c'est-à-dire qu'elle est capable de passer la mauvaise saison enfouie dans le sol grâce à la persistance souterraine de ses organes vitaux sous la forme d'un bulbe.

### 3.3.2. Bulbe (tête)

Le bulbe est l'organe souterrain et arrondi de la reproduction végétative chez la plante. Il est formé d'un assemblage de petits bulbes ou caïeux d'environ une dizaine, insérés sur un axe aplati portant des restes membraneux de feuilles. Les caïeux sont soit ovales et allongés (*A.sativum* L.var. *sativum*), soit ovales et arrondis comme c'est le cas pour la variété *Allium sativum* L.var.*ophioscordum*. Ces caïeux sont pressés les uns contre les autres, l'ensemble étant enveloppé dans une mince tunique membraneuse de couleur variable (blanche, verdâtre, rosée, pourpre ou violette). Chaque caïeu étant composé d'une tunique protectrice, d'une seule gaine foliaire charnue et d'un petit bourgeon central (Figure 2). La reproduction végétative de l'ail est assurée en plantant les caïeux du bulbe souterrain



Figure 2. Tête d'ail coupée transversalement

### 3.3.3. La tige (scape)

Une tige de flux qui émerge de la partie haute de l'ail. C'est en fait une fausse tige formée par l'emboîtement des gaines foliaires des feuilles successives. À moins que le producteur ne conserve les bulbilles, les scapes sont généralement retirés et consommés par l'être humain.

### 3.3.4. Feuilles

Les feuilles linéaires engainantes gris-vert à gris bleuté ont un limbe plat, linéaire étroit et atténué en pointe. La nervure médiane est marquée. Leurs gaines de plus en plus longues et emboîtées les unes dans les autres entourent la tige jusqu'au milieu.

### 3.3.5. La hampe florale

Elle est cylindrique, pleine, accompagnée d'une paire de feuilles jusqu'à mi-hauteur et d'une bractée membraneuse (spathe), bivalve et terminée en pointe, qui protège l'inflorescence.

### 3.3.6. Inflorescence<sup>6</sup>

L'ombelle<sup>7</sup> est arrondie, 4 à 5 cm de diamètre, à l'extrémité d'une hampe pleine pouvant atteindre 150 cm de long, d'abord enroulée en crosse, puis enroulée en cor de chasse et se redressant à la fin (Figure 3); ombelle composée de fleurs et de bulbilles, ou seulement de bulbilles.

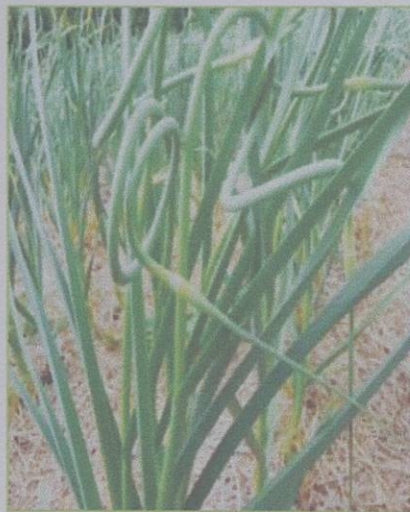


Figure 3. Inflorescence d'ail

### 3.3.7. Bulbilles

C'est une petite gousse secondaire ronde, pouvant être plus petite qu'un grain de riz ou aussi grosse qu'un pois chiche. Ces bulbilles sont capables de redonner des têtes d'ail et participent ainsi à la survie de l'espèce. Les petits bulbes non divisés qui résultent souvent de bulbilles plantées sont appelés les ronds (Figure 4).

<sup>6</sup>: du latin *inflorescere* signifie fleurir, est la disposition des fleurs sur la tige d'une plante à fleur. Cette disposition permet de caractériser une espèce, un genre et même des familles entières dans certains cas.

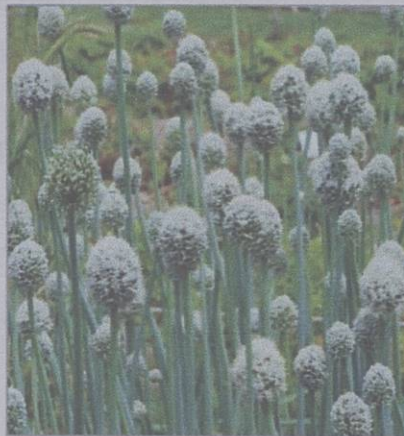
<sup>7</sup>: inflorescence simple, présente un point d'insertion unique pour un ensemble de pédoncules floraux, ces derniers étant tous de même longueur.



**Figure 4. Bulbilles d'ail**

### 3.3.8. Fleurs

Elles sont blanches ou rougeâtres, peu nombreuses, sont généralement stériles, groupées en cyme ombelliforme (Figure 5).



**Figure 5. Fleurs d'ail (source : Biendifférent.com)**

## 4. Culture et production

L'ail est la deuxième espèce d'*Allium* en importance. Il est cultivé dans le monde entier dans toutes les régions subtropicales (et tropicales montagneuses) en tant qu'épice et plante médicinale importante (Fritsch et Friesen, 2002).

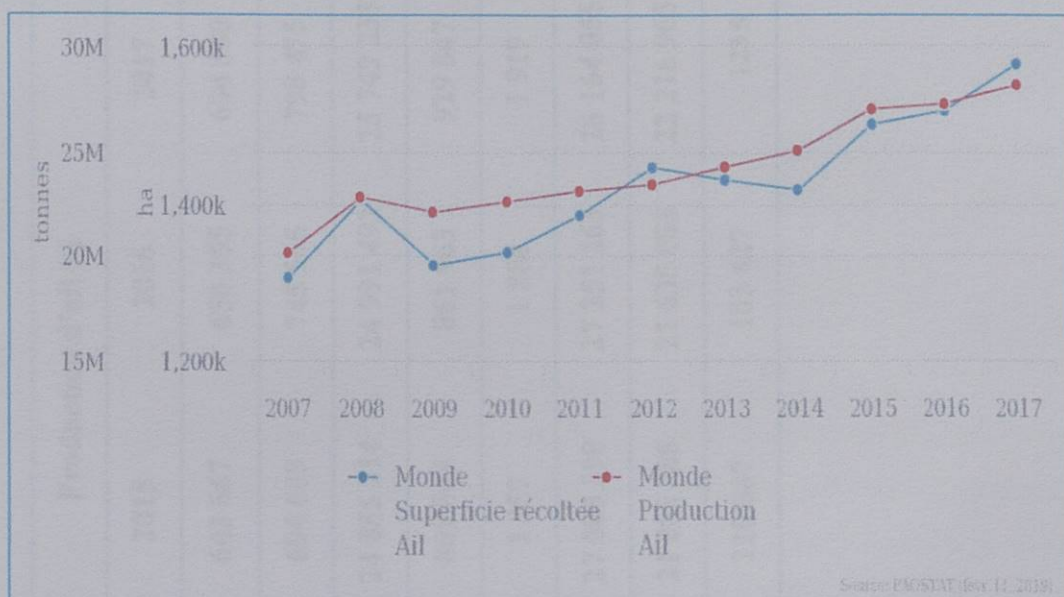
La culture de l'ail préfère les sols argileux, profonds, riches en humus et en nutriments, situés dans des droits ensoleillés. Il s'agit d'une plante supportant les hivers rudes ; il existe d'ailleurs des variétés d'hiver (ail blanc et ail violet) permettant une récolte abondante et des variétés de printemps (ail rose et ail rouge) moins productifs.

La culture de l'ail se fait généralement par voie végétative grâce à ses bulbes ou ses bulbilles. De septembre à mi-octobre et sur un sol profondément travaillé, les caïeux sont plantés verticalement, la pointe en haut, à 5–7 cm de profondeur (Teuscher et Lobstein, 2005).

Quand le tiers supérieur du feuillage est desséché et les caïeux se dessinent distinctement sous leur tunique, les bulbes ou têtes d'ail sont mûrs et peuvent être récoltés. Cette dernière se fait généralement de début de juillet à début août. Une fois cueilli, l'ail est séché ; étape indispensable qui va permettre aux bulbes de terminer leur maturation et garantir leur bonne conservation. D'ailleurs, c'est durant cette étape que le bulbe va acquérir sa couleur définitive caractéristique de la variété.

Après deux semaines de séchage, les feuilles et les racines d'ail sont taillées et le produit est conservé, au moins six à sept mois, dans un endroit sec, aéré et à l'abri de la lumière pour éviter sa germination. Un contrôle régulier est conseillé afin d'empêcher les contaminations dues aux champignons (Colin, 2016).

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale d'ail est toujours en augmentation. En 2017, la production mondiale annuelle d'ail était de 28 164 055 millions de tonnes sur une surface totale de 1 577 779 million d'hectares (Figure 6) (FAO, 2017).



**Figure 6.** Superficie récoltée et production mondiale d’ail pour la décennie (2007-2017)

(Source : FAOSTAT (11 Février 2019)).

L’Asie est le continent le plus producteur d’ail, avec environ 94,1% du tonnage mondial. Vient ensuite l’Europe (3,3%), les Amériques (2,8%), l’Afrique (2,4%) pour finir par la suite par l’Océanie (0%) (Tableau 2). La Chine est de loin à la tête du classement mondial avec une production de (22 216 965t) suivie par l’Inde (1 693 000t) et le Bangladesh (425 401t).

**Tableau 2.** Superficie récoltée (ha) et production d'ail (t) des continents ainsi que le meilleur producteur et la production locale (FAO, 2017).

	Superficie récoltée d'ail (ha)					Production d'ail (t)				
	2014	2015	2016	2017	2014	2015	2016	2017	2017	
<b>Afrique</b>	47 752	52 949	57 739	57 812	565 353	643 667	650 355	684 580	684 580	
<b>Amérique</b>	59 055	62 220	66 321	69 102	646 454	694 689	745 565	798 475	798 475	
<b>Asie</b>	1 206 444	1 284 557	1 288 581	1 342 678	22 977 507	24 855 214	24 991 492	25 749 233	25 749 233	
<b>Europe</b>	103 485	100 155	104 938	107 870	836 598	809 864	861 963	929 847	929 847	
<b>Océanie</b>	302	307	312	317	1 825	1 857	1 888	1 919	1 919	
<b>Monde</b>	1 417 037	1 500 187	1 517 891	1 577 779	25 027 738	27 005 290	27 251 263	28 164 055	28 164 055	
<b>Chine</b>	792 764	839 943	815 814	820 101	20 082 179	21 802 788	21 635 005	22 216 965	22 216 965	
<b>Algérie</b>	9 197	10 022	9 445	9 912	92 205	110 007	103 627	123 5	123 5	



## 5. Chimie de l'ail

Ce légume est reconnu comme une source de deux principaux composants ; les phytonutriments (composés non soufrés) et les dérivés soufrés. Cependant cette composition chimique est en fonction de plusieurs facteurs tels que la variété cultivée, les conditions de culture ainsi que les conditions de conservation (Bruneton, 2009).

### 5.1. Phytonutriments

Plusieurs études ont montré que l'ail est une source principale de précieux phytonutriments, favorables à la santé. Selon la base de données américaines sur les nutriments publiée par le département de l'agriculture des Etats-Unis (USDA ; de l'anglais *United States Department of Agriculture*), la composition nutritionnelle de 100g de bulbe d'ail est environ de 58,58g d'eau, 33,06 g de glucides, 6,32g de protéines, 0,50g de lipide et 2,1g de fibres. La consommation de 100 grammes d'ail fournit également 149 kilocalories.

Les protéines de l'ail sont composées principalement de plusieurs acides aminés essentiels indispensables au bon fonctionnement de notre organisme : la lysine, la thréonine, la valine, la méthionine, l'isoleucine, le tryptophane, la phénylalanine, la leucine, l'histidine, ainsi que des autres acides aminés comme l'arginine, l'acide aspartique, la sérine, la glutamine, la proline, la glycine, l'alanine et la cystéine (Suleria et al., 2015).

De même, le bulbe d'ail renferme des glucides simples tels que le fructose, du glucose et du saccharose ainsi que d'une source importante des sucres complexes comme les fructosanes. Ces derniers sont d'un grand intérêt pour la croissance de la plante et joue un rôle primordial dans le maintien de la flore intestinale (Senninger, 2009).

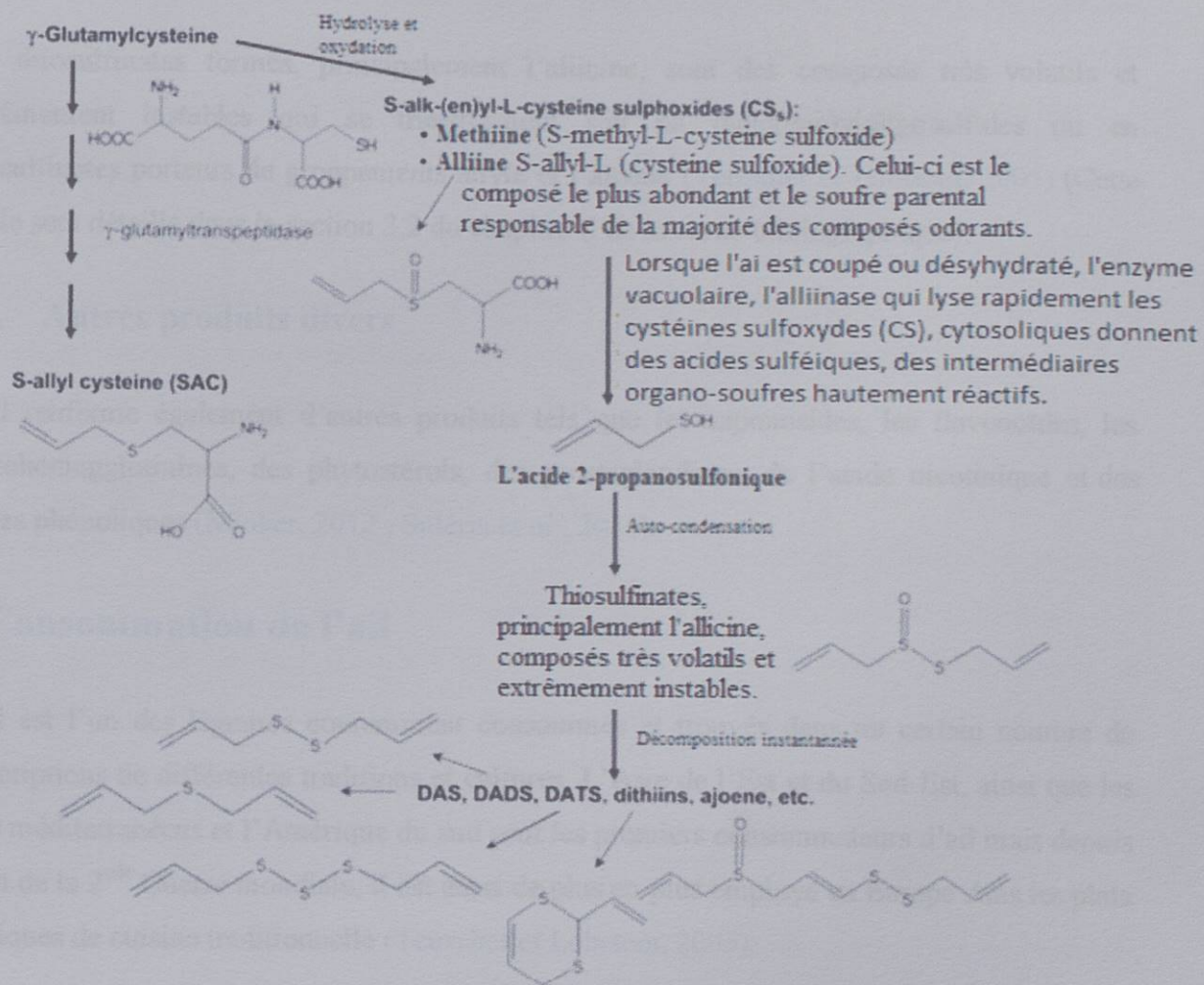
Parmi les vitamines, la thiamine a une considération particulière et une biodisponibilité élevée en raison de certains composants spécifiques contenant du soufre. En ce qui concerne les minéraux, l'ail contient le phosphate, le potassium, le magnésium, le cuivre, le fer, le manganèse, le zinc et le sélénium. Mais ce dernier nécessite un intérêt particulier car son niveau est supérieur d'au moins 9 ppm à celui de presque toutes les autres plantes (Omar, 2013 ; Suleria et al., 2015).

## 5.2. Dérivés soufrés

Appelés aussi composés organosulfurés, représente 2,3% de la composition globale de l'ail (Figure 7) (Suleria *et al.*, 2015). Ce sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs atomes de soufre. Les composants organosulfurés de l'ail sont principalement responsables de ses propriétés bénéfiques pour la santé. Ils se sont révélés efficaces dans la réduction de certains types de cancer ainsi que dans la gestion du cholestérol et éventuellement de la pression artérielle (Butt *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2007).

L'ail renferme naturellement et initialement les sulfoxydes de S-alk(ène)yl-cysteine et les peptides qui couvrent plus de 70% du soufre total contenu dans ce légume (Amagase *et al.*, 2001 ; Lawson, 1996). Ces sulfoxydes se localisent dans la plante, partiellement sous forme conjuguée avec le  $\gamma$ -glutamyl-cystéines, puis sont libérés après action de peptidases (Figure 7). Le principal précurseur de la saveur d'ail est l'alliine (sulfoxyde de S-allylcystéine) et sa concentration est d'environ 10 mg / g de poids frais (Lawson, 1998 ; Yoo et Pike, 1998). La méthiine (sulfoxyde de S-méthylcystéine) et l'isoalliine (S-trans-prop-1-énylcystéine) apparaissent à des concentrations plus faibles tandis que la propiine (sulfoxyde de S-propylcystéine) est présente à l'état de traces.





**Figure 7.** Formation de composés organo-soufrés au cours des voies métaboliques dans l'ail transformé (source : Corzo-Martínez et al., 2007)

Cependant, quand les bulbes d'ail sont intacts, l'alliine et l'enzyme alliinase sont localisés dans des compartiments séparés, respectivement dans le cytoplasme et les vacuoles de cellules de la plante. Ils sont respectivement à environ de 1,7 et 2,8% du poids sec de bulbe (Baghalian et al., 2005). Après la lésion tissulaire du bulbe, particulièrement, le précurseur d'arôme d'ail, l'alliine rentre en contact avec l'enzyme alliinase et engendrent des acides alcénysulféniques. Ces derniers, instables, se transforment aussitôt en composés responsables de l'odeur alliacée typique correspondant à des alcényl-alcanes ou alcène thiosulfonates. Plus d'une dizaine de dialcylthiosulfonate ont été identifiés comme l'alicine (Block, 1992).

Lors de l'écrasement des bulbes d'ail, des quantités variables d'alicine sont produites, lesquelles varient entre 1,6 et 13,0% de leur masse sèche (Baghalian et al., 2005). L'alicine,

le composant bioactif le plus important de l'ail, semble responsable de son odeur piquante distinctive et de ses autres propriétés curatives (Macpherson et al., 2005).

Les thiosulfates formés, principalement l'allicine, sont des composés très volatils et extrêmement instables qui se transforment soit en dialc(ène)yloligosulfides ou en thiosulfates porteurs de groupements allyle et l'ajoène (Teuscher et Lobstein, 2005) (Cette partie sera détaillée dans la section 3.2 du chapitre II de la revue bibliographique).

### 5.3. Autres produits divers

L'ail renferme également d'autres produits tels que les saponosides, les flavonoïdes, les phytohémagglutinines, des phytostérols, des prostaglandines, de l'acide nicotinique et des acides phénoliques (Minker, 2012 ; Suleria et al., 2015).

## 6. Consommation de l'ail

L'ail est l'un des légumes couramment consommés et trouvés dans un certain nombre de prescriptions de différentes traditions et cultures. L'Asie de l'Est et du Sud-Est, ainsi que les pays méditerranéens et l'Amérique du sud sont les premiers consommateurs d'ail mais depuis la fin de la 2<sup>nd</sup>e Guerre mondiale, il est aussi de plus en plus employé en Europe dans les plats exotiques de cuisine traditionnelle (Teuscher et Lobstein, 2005).

La consommation annuelle moyenne d'ail la plus élevée est observée en Chine et en Corée. En Europe, la consommation la plus élevée est en Espagne et en Turquie (environ 1,5 kg par personne et par an). Aux États-Unis, la consommation annuelle moyenne d'ail est d'environ 1,2 kg par personne (Wiczowski, 2011).

Bien qu'il n'y ait pas d'estimation de consommation individuelle, l'ail, en Algérie, est très utilisé comme légume et épice dans tous les plats. Ses bulbes sont largement utilisés soient crus dans les assaisonnements et dans les purées d'ail, soient cuits dans les plats traditionnelles tels que les « Chakhchoura » ou le Mteuem. De même, selon les recettes de grands-mères, il est réputé comme remède traditionnel pour le traitement de plusieurs maladies telles que la toux et la tension artérielle. Au sud de l'Algérie, il est utilisé surtout pour les morsures de serpents et des scorpions et pour les problèmes de peau d'origine fongique comme la pelade.

La plante d'ail est commercialisée sur le marché international sous différentes formes. Les parties aériennes fraîches comme les feuilles récoltées vers la mi-mars à mi-avril avant l'apparition de la tige florale et les jeunes fleurs d'ail tout juste enroulée, cueillis généralement début juin. Ces parties peuvent être hachées au même titre que la ciboulette.

Les jeunes plants d'ail qui n'ont pas encore formé de bulbes est l'une des formes les plus répandues sur le marché. Connue sous *l'ailet*, est très appréciée des gourmets (Krémár, 2008). Au moment de la récolte, vers le début de l'été, l'ail est commercialisé sous forme d'un ail vert ou ail frais. Et à partir de mi-juillet l'ail sec est la forme plus disponible sur tous les marchés. Il se trouve sous forme de tresses d'ail, de plateaux, filets de 3 têtes à 5 kg.

De même, de nombreuses préparations de cette plante sont disponibles sur le marché international (Reuter, 1995 ; Santhosha et al., 2013). Elles peuvent être classées en plusieurs groupes : ail déshydraté, huile essentielle d'ail, macérât d'huile d'ail, jus d'ail et l'extrait d'ail vieilli. L'efficacité de l'ail dans les divers traitements dépend fortement du mode de préparation de l'extrait, en raison de sa composition chimique très complexe (Figure 8).

#### ▪ Ail déshydraté

On utilise généralement pour déshydrater des variétés fortement piquantes et à haute teneur en solides. Les bulbes sont lavés et la partie contaminée est retirée. L'ail est coupé en tranches, haché puis soumis à la déshydratation dans des tunnels à air chaud. Enfin, les gousses d'ail déshydratées sont broyées en poudre (ail en poudre) ou en granulés et sont stockées.

#### Jus d'ail

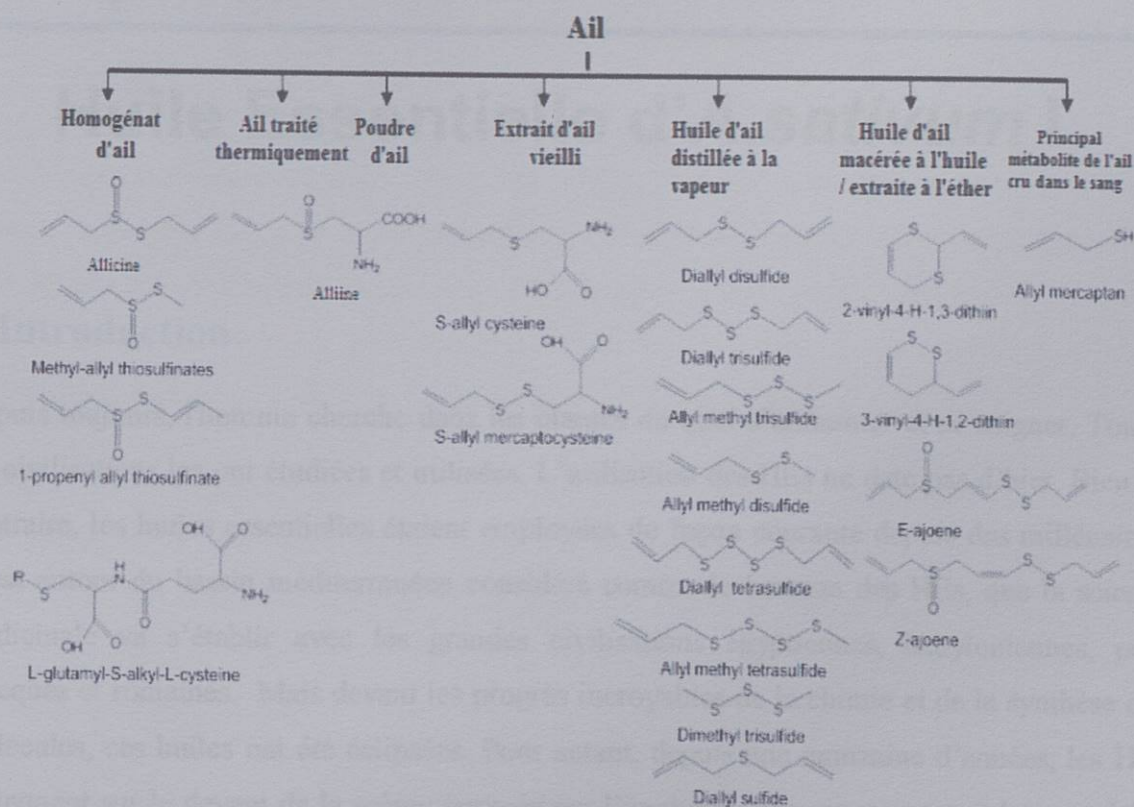
Parmi ces préparations, le jus d'ail frais est le produit le plus instable et ne peut donc être utilisé que pendant une période limitée. L'ail est broyé pour obtenir une pâte juteuse. Ensuite, elle est mise dans un réservoir tampon où elle est laissée pendant 15 à 60 minutes pour compléter les réactions enzymatiques. L'extraction du jus se fait par pression ou par décantation. Le jus est ajusté au pH souhaité et passé dans le préchauffeur. Le jus est stérilisé pendant quelques secondes après le préchauffage.

#### Huile essentielle d'ail

L'huile essentielle d'ail (HEA) est obtenue par distillation à la vapeur, avec une odeur très forte et une saveur piquante (ce point sera détaillé dans la section 3 du chapitre II de la revue bibliographique).

## ▪ Extrait d'ail vieilli

Connu sous AGE (de l'anglais *Aged Garlic Extract*), l'extrait d'ail est obtenu par extraction aqueuse à l'alcool des bulbes d'ail entiers. Cet extrait doit être âgé d'au moins 10 mois à température ambiante (Ide et Lau, 2001). Ce stockage conduit à une altération de la composition de l'ail (Qidwai et Ashfaq, 2013) car l'ajout de méthanol et d'éthanol aide à inactiver les enzymes telles que l'allinase et la peroxydase isoenzymatique. Les composés les plus importants des AGE sont les S-Allyle-Cystéine et S-Allyle-Mercaptocystéine (Amagase et al., 2001).



**Figure 8. Principaux composés organo-soufrés présents dans différentes préparations d'ail (source : Corzo-Martínez et al., 2007).**

## ▪ Macérât

Les macérâts d'huile sont obtenus en hachant des bulbes d'ail et en extrayant les substances liposolubles de l'ail avec des huiles végétales (huile de colza, par exemple). Au cours de la macération pendant plusieurs jours à la température ambiante, l'alliine et l'allicine se décomposent pour donner finalement les vinyldithiines et les ajoenes. Les macérâts d'huile sont filtrés et le fluide huileux transparent est versé dans des capsules en gélatine molle (Amagase et al., 2001).

## Chapitre II

---

# Huile Essentielle d'*A.sativum* L

### 1. Introduction

Depuis toujours, l'homme cherche dans les plantes de quoi s'alimenter et se soigner. Toutes les civilisations les ont étudiées et utilisées. L'utilisation des HEs ne date pas d'hier. Bien au contraire, les huiles essentielles étaient employées de façon courante depuis des millénaires. C'est autour du bassin méditerranéen considéré comme le berceau des HEs, que la science médicinale va s'établir avec les grandes civilisations égyptiennes, babyloniennes, puis grecques et romaines. Mais devant les progrès incroyables de la chimie et de la synthèse des molécules, ces huiles ont été éclipsées. Pour autant, depuis une quinzaine d'années, les HEs reviennent sur le devant de la scène, poussée par l'évolution des consciences et les scandales sanitaires (Laurent, 2017).

De nos jours, environ 300 parmi les 3000 sont décrites comme huiles essentielles présentant une importance commerciale dans le cadre des applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires et dans le domaine de la parfumerie (Bakkali *et al.*, 2008).

L'huile essentielle d'ail ; l'"aliment-remède" le plus merveilleux que connaît l'histoire est principalement obtenue par distillation des bulbes. Elle est riche en composés organo-soufrés et concentre de manière très puissante les composés volatils de l'ail, son odeur et son arôme. De nombreuses études ont montré le potentiel de ses composés de type sulfides d'allyl, pour

aider dans la lutte contre les microbes, parasites et champignons et soutenir la prévention du syndrome métabolique et d'autres infections de civilisation.

Dans ce chapitre, nous présenterons des généralités sur les HEs : d'un aperçu historique à sa localisation et ses fonctions en passant par leurs définitions, leurs critères de qualité et leurs propriétés physiques et chimiques. Ensuite, nous orienterons particulièrement et d'une façon détaillée notre recherche sur l'huile essentielle d'ail (HEA) qui est l'objet clé de notre travail. Cette partie fournira une description de la HEA, son extraction, sa chimie et une analyse de ses propriétés bioactives et ses effets appliqués dans les systèmes alimentaires et médicaux.

## 2. Généralités sur les huiles essentielles

### 2.1. Un aperçu Historique

Les HEs ont été considérées avec un grand intérêt, bien qu'un nombre de leurs utilisations fussent perdu avec le temps. Il est généralement admis que les êtres humains extrayaient les HEs des plantes aromatiques depuis la nuit des temps. De nombreuses civilisations ont utilisé les HEs à des fins diverses. Non seulement dans la fabrication de parfums et de produits cosmétiques mais aussi à des fins médicaux pour « soigner le corps et l'esprit ».

Les anciens Égyptiens utilisaient les huiles essentielles en médecine, en parfumerie et dans l'art d'embaumer et de préparer les corps à l'inhumation par la momification. Ces détails étaient apportés et décrits dans les textes égyptiens (papyrus datant de 4500 av. J.-C.). En effet, la civilisation égyptienne ; créatrice des HEs, a influencé de nombreuses civilisations (Laurent, 2017).

Dans l'Asie ancienne, les Védas codifiaient l'utilisation des parfums et des aromatiques à des fins liturgiques et thérapeutiques. Les Phéniciens, les Juifs, les Grecs, les Romains et d'autres cultures situées autour du bassin méditerranéen, ainsi que les Mayas et les Aztèques des Amériques, possédaient tous une culture parfumée d'un grand raffinement (Sonwa, 2000).

Après la chute de l'empire romain et l'avènement des civilisations chrétienne et musulmane, l'art et la science du parfum ont été introduits dans le monde arabe, où ils ont atteint un niveau de sophistication élevé, grâce à la création du serpent. Cela permet de refroidir rapidement la vapeur aromatique et de perdre moins de liquide.



D'ailleurs, la première HE pure ; c'est celle de roses produite par Avicenne<sup>8</sup>, médecin et philosophe médiéval persan, de religion musulmane. Il a mis au point l'alambic et a écrit de nombreux ouvrages médicaux dans lesquels il fait une large place aux HEs (Laurent, 2017 ; Sonwa, 2000).

Au Moyen Âge, cette connaissance de parfums a été ramenée en Europe par les croisés de retour de la Terre Sainte. À la Renaissance, l'utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique a été étendue à travers le monde (Sonwa, 2000).

Bien que le terme "huile essentielle" ait été inventé au XI<sup>e</sup> siècle par le médecin suisse Parascelsus von Hohenheim (1493-1541) afin de désigner le composé actif d'un remède naturel, cette science est tombée dans l'oubli et il faut attendre le XX<sup>e</sup> siècle pour qu'elle réapparaisse, quand le chimiste et le père de l'aromathérapie<sup>9</sup> scientifique<sup>10</sup>, René-Maurice Gattefossé (1881-1950), se brûlait la main lors d'une explosion dans son laboratoire en 1910.

Par réflexe, il a plongé sa main dans une huile essentielle de lavande et il a constaté un soulagement dans l'immédiat. La guérison rapide de la plaie sans infections ni cicatrices, l'a incité à se consacrer à l'étude des propriétés antibactériennes des HEs. En 1928, il créa le mot « aromathérapie » et publie en 1931 dans lequel il décrit la relation entre structure biochimique et activité des composants aromatiques et a codifié les grandes propriétés des arômes naturels.

Depuis la communauté scientifique s'est tournée vers l'étude approfondie des HEs en parallèle au développement des produits chimiques de synthèse. Les HEs sont des liquides aromatiques et volatils obtenus à partir de matière végétale, notamment les fleurs, les racines, l'écorce, les feuilles, les graines, la peau, les fruits de bois et des plantes entières (Hyldgaard et al., 2012).

---

<sup>8</sup> : Abu Ali al-Husayn Ibn Abd Allah Ibn Sina, dit Avicenne, ou Ibn Sīnā (ابن سینا), né le 7 août 980 dans la province de Grand Khorasan (l'actuel Ouzbékistan) et mort en juin 1037 à Hamadan (Iran), Rédigeant principalement en arabe classique, il s'intéressa à de nombreuses sciences, comme l'astronomie, l'alchimie, et la psychologie.

<sup>9</sup> : vient du grec *aroma* qui signifie odeur, et de *therapia* qui signifie soin. C'est une harmonisation de la santé physique et mentale par les « odeurs » plus particulièrement les HEs.

<sup>10</sup> : dites aromatalogie est l'étude des HEs, c'est une science basée sur une méthodologie rigoureuse et sur des données scientifiques solides, confirmées par le laboratoire.

## 2.2. Définition et critères de qualité

L'Organisation internationale de normalisation (ISO) définit les huiles essentielles comme «un produit obtenu à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, par distillation à la vapeur, par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe d'agrumes ou par distillation à sec, après séparation de la phase aqueuse - le cas échéant - par des processus physiques », précisant ensuite que «l'huile essentielle peut subir des traitements physiques, qui ne modifient pas de manière significative sa composition ». Pour sa part, la Commission de la Pharmacopée Européenne la définit comme «Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Dans la littérature, il existe plusieurs définitions des HEs, la plus précise et complète est probablement celle proposée par Schilcher, Hegnauer et Cohn-Riechter, qui était résumée par Sonwa (2000) «Les huiles essentielles sont des produits ou des mélanges de produits formés dans le cytoplasme et sont normalement présents sous la forme de minuscules gouttelettes entre les cellules. Ils sont volatiles et aromatiques». Ils sont composés de « mélanges de substances odorantes ou de substances odorantes et inodores», une substance odorante étant définie comme «un composé chimiquement pur qui est volatile dans des conditions normales et qui, en raison de son odeur, peut être utile à la société».

Comme défini ci-dessus, les HEs sont des substances odorantes, hautement volatiles présentes dans les plantes. Ces substances sont des mélanges complexes, composées de nombreux constituants, généralement liquides mais parfois solides. À température ambiante, ces mélanges ont généralement une couleur incolore à légèrement jaunâtre lorsqu'ils sont fraîchement distillés, avec une odeur aromatique, une propreté irréprochable au toucher et une absorption facile par la peau. Contrairement aux huiles végétales grasses, animales ou minérales, une goutte d'HE sur du papier disparaît rapidement en quelques minutes à quelques jours, selon la température.

Les HEs individuelles sont connues sous le nom de la plante dont elles proviennent et leur odeur est semblable à celle de la partie de la plante à partir de laquelle ils sont obtenus, bien que l'arôme soit généralement plus intense.

Plusieurs critères sont déterminants dans la qualité d'une HE. Selon [Jouault, \(2012\)](#) les plus importants sont :

- la sélection de la plante : l'identité botanique doit apparaître selon la nomenclature internationale (Genre espèce).
- Chémotypes<sup>11</sup> (ou chimiotypes) : sont les molécules aromatiques révélatrices des principales propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle des plantes, appartenant à la même espèce, produite dans des conditions de culture différentes (l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, mais aussi de la pression atmosphérique, ainsi que de l'altitude...).
- Partie de la plante : la précision de l'organe producteur (feuilles, fleurs...) est un critère primordial car chacune des parties d'une même plante ne possède pas le même équipement enzymatique, elles ne produisent pas toutes les mêmes composés.
- La récolte de la plante doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale.
- La culture de la plante : définit la nature des trois différents circuits de cultures (la culture traditionnelle, biologique et sauvage). Elle est souvent représentée par un label si la plante provient d'une culture biologique.
- Le mode d'extraction : au cours de cette étape également se joue la qualité finale du produit. Il existe plusieurs modes d'extraction des HEs comme l'expression à froid, la distillation, l'hydrodistillation.
- Le conditionnement : pour la commercialisation, les HEs doivent être conditionnées dans des flacons en verre qui les protègent des rayons ultraviolets.

---

<sup>11</sup> : Egalement appelé race chimique, a été employé pour la première fois en 1975 par Pierre Franchomme (expert français en aromathérapie). C'est une sorte de sous-catégorie chimique d'HE au sein d'une même espèce végétale. En 2006, l'Union européenne a officialisé son adoption par la ratification du règlement REACH (enRegistration, Evaluation et Autorisation des produits Chimiques).

## 2.3. Caractéristiques physico-chimiques

### 2.3.1. Propriétés physiques

À température ambiante, les HEs sont habituellement liquides et volatiles ce qui les oppose aux huiles dites « fixes ». Quelques HEs font exception, cas de la myrrhe et du santal, qui peuvent être visqueuses ainsi que la rose et le camphrier, qui peuvent être cristallisées. Elles ne se dissolvent pas dans l'eau et leur densité est en grande majorité inférieure à celle de l'eau sauf pour la cannelle, le girofle, le saffran et les graines de carotte. En revanche, une affinité toute particulière avec les graisses de toute nature, ainsi qu'avec l'alcool de titre élevé et la majorité des solvants organiques.

Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Malgré ces caractéristiques communes entre les HEs, chaque HE reste unique et se caractérise par une odeur, une couleur, une viscosité et des propriétés spécifiques (Bruneton, 2016 ; Couic-Marinier, 2018).

### 2.3.2. Composition chimique

La composition chimique d'une HE est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle. Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des dérivés aromatiques issus du phénylpropane (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

Dans les composés terpéniques, seuls les monoterpènes en  $C_{10}$  et les sesquiterpènes en  $C_{15}$  peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en  $C_{20}$  et triterpènes en  $C_{30}$ ) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont classés soit selon leurs fonctions : les alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole) ; ou bien selon leur structure : linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (humulène, zingiberène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol).

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les HEs que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthole et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le saffran (HE de saffran). Les lactones dérivées

des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont, pour la plupart, entraînés par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines HEs (HE de céleri).

## 2.4. Localisation et fonctions dans le règne végétal

Les HEs sont généralement formées en tant que métabolites secondaires. Dans de nombreux cas, ils sont stockés dans des cellules non différenciées (Lauraceae) ou des organes sécrétés, tels que les poils glandulaires (Lamiaceae et Asteraceae), les canaux sécréteurs (schizogènes chez Myrtaceae et schizolysigènes chez Rutaceae), ou les cavités (Conifères). Parfois, l'HE n'est pas formée dans la plante elle-même, mais elle est produite par hydrolyse de certains composés présents dans la plante, comme c'est le cas dans la valériane ou l'ail (Evans, 2009).

En ce qui concerne leur localisation, des HEs peuvent être formées dans toutes les parties de la plante, y compris les parties aériennes, généralement composées de fleurs, de feuilles et de tiges (camomille, menthe poivrée, lavande); écorce (cannelle); fruits (anis); graines (noix de muscade); ainsi que dans le radis et les rhizomes (curcuma et gingembre) (Caissard et Baudino, 2012).

Le rôle des HEs dans une plante donnée varie : dans certains cas, elles sont utilisées pour la pollinisation, dans d'autres cas, elles sont utilisées comme mécanisme de défense, souvent comme répulsif ou irritant (Unsicker et al., 2009).

De plus, il existe différentes théories sur leur rôle éventuel d'antioxydants, dans la mesure où ils donnent de l'hydrogène lors de réactions d'oxydation, en particulier en présence de lumière. Les HEs sont également antifongiques et antibactériennes, protégeant la plante contre une possible attaque pathogène (Evans, 2009).

## 3. Huile essentielle d'*A.sativum* L

L'huile essentielle d'ail (HEA); appelée huile volatile aux États-Unis, est obtenue généralement à partir des bulbes d'ail cru broyés, le plus souvent par le procédé de distillation à la vapeur. Elle a une couleur légèrement jaune, avec l'aspect d'un liquide, à la température ambiante, non miscible dans l'eau. La HEA présente également une odeur très forte et piquante. Sa forte puissance aromatique piquante est égale à celle de 900 mg d'ail frais /200 g de poudre déshydratée (Casella et al., 2012 ; Santhosha et al., 2013). Cette odeur spécifique due aux composants organosoufrés (Benkeblia, 2004 ; Benkeblia et Lanzotti, 2007).

### 3.1. Extraction

La littérature actuelle identifie plusieurs méthodes dites conventionnelles et non conventionnelles dans l'extraction de l'huile essentielle d'ail. La distillation (hydrodistillation ou distillation à la vapeur) est de loin le procédé le plus utilisé. Comme l'extraction conventionnelle a souvent des faibles rendements et des temps d'extraction plus longs, des techniques non conventionnelles ont donc été développées et utilisées comme alternatives (Galanakis, 2012).

Ces méthodes, en parfaite adéquation avec le concept d'extraction verte, permettent d'avoir des caractéristiques bénéfiques telles qu'un, temps d'extraction plus court, une intensification du transfert de masse, des rendements d'extraction améliorés et une énergie réduite (Chemat et al., 2012; Rombaut et al., 2014).

Selon la littérature peu de travaux ont utilisé les procédés non conventionnels pour l'extraction de la HEA. En effet, dans l'étude de Kimbaris et al. (2006) sur l'utilisation des ultrasons, les auteurs ont constaté que ces derniers diminuent le risque de dégradation thermique des composés aromatiques sensibles de l'ail comparant à l'hydrodistillation assistée par microondes et l'hydrodistillation conventionnelle. De même, la sono-Hydrodistillation (SHD) ou Sono-Clevenger utilisé par Boubechiche et al. (2017) a montré une réduction significative du temps après les ultrasons par rapport à la procédure classique. L'étude publiée par Mnayer et al. (2014) sur les huiles essentielles extraites par turbo hydrodistillation, de certaines plantes des alliées, entre autre l'ail, a montré que la HEA présente qualitativement les mêmes composants que d'autres études.

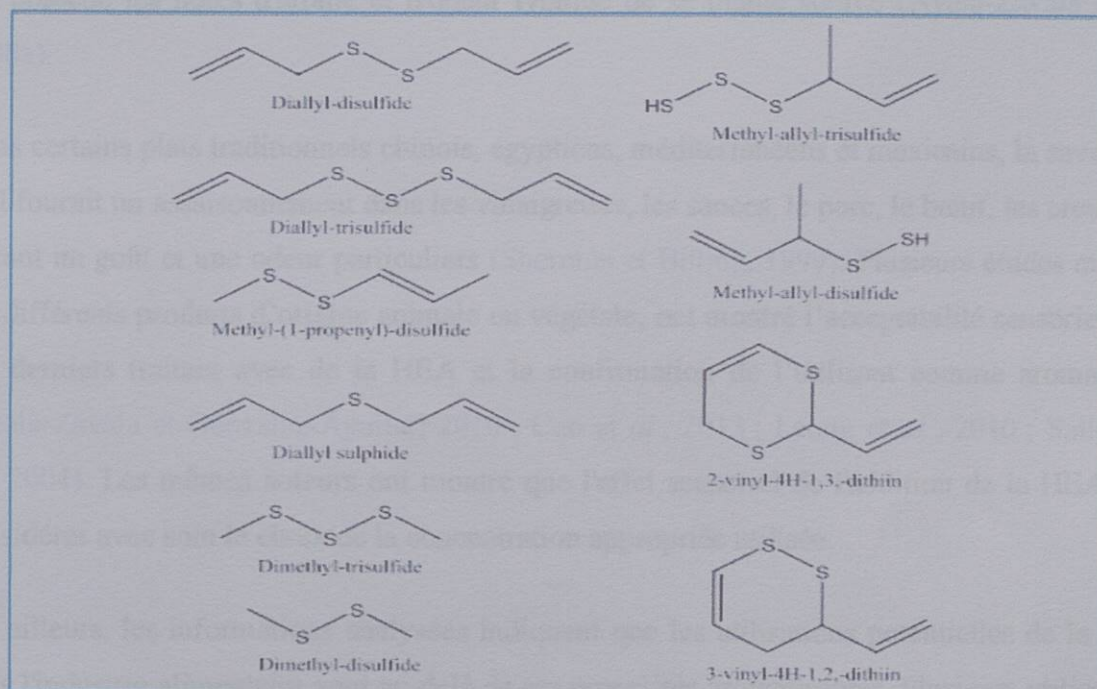
Récemment, il a été démontré qu'une technique non conventionnelle ; hydrodistillation assistée par micro-ondes réduit le temps d'extraction et donne un rendement amélioré mais avec une perte de certains composants dominants tels que le *di* et *tri*-sulfide d'allyle (Süfer et Bozok, 2019).

### 3.2. Chimie de l'huile essentielle d'ail

Les bulbes d'ail mûrs et intacts ne contiennent que quelques composés à activité médicinale, dont les  $\gamma$ -glutamylcystéines, présentes en quantité réduite. Le composé principal dans les bulbes d'ail intacts est l'acide aminé : alliline, un dérivé alkylé de l'alkyl sulfoxyde de cystéine. Lorsque les tissus sont endommagés par l'écrasement, la mastication ou la

déshydratation, l'enzyme alliinase est libérée, convertissant les sulfoxydes cytosoliques de cystéine (alliine) en thiosulfinate. Ces composés sont réactifs, volatils, odorants et lacrymogènes (Benkeblia, 2004). Au cours du processus de chauffage par distillation à la vapeur, l'allicine ; le composé le plus instable parmi tous les thiosulfinate produits, est rapidement converti en divers sulfures qui sont les principaux composants de la HEA. Plus de vingt sulfures ont été identifiés dans des extraits d'ail et dans la HEA distillés à la vapeur (Poojary, 2017).

La HEA est principalement constituée de composés soufrés : diallyle sulfide (DAS), diallyle disulfide (DADS), diallyle trisulfide (DATS), diallyle tetrasulfide (DATTS), méthyl allyl disulfide (MADS), méthyl allyl trisulfide (MATs), 2- vinyl-4H-1,3-dithiine, 3-vinyl-4H-1,2-dithiine, diméthyle disulfide (DMDS) et diméthyle trisulfide (DMTS) (Figure 9). Ces composants dégagent une forte odeur et sont maintenus dans la HEA en tant que composants actifs (Antony et al., 2019 ; Boubechiche et al., 2017 ; Kamaris et al., 2009; Lanzotti, 2006 ; Mnayer et al., 2014 ; Süfer et Bozok, 2019).



**Figure 9. Structure des principaux composés organo-soufrés présents dans l'huile essentielle d'ail (HEA).**

Les HEs diffèrent par le contenu et le nombre des constituants, mais dans la majorité des études publiées, le composé principal est dans la plupart des cas du diallyle disulfide suivi du

diallyle trisulfide (Abudourahman et al., 2019 ; Boubechiche et al., 2017 ; Cao et al., 2013, Heras-Mozos et al., 2019 ; kimbaris et al., 2006 ; Liu et al., 2019 ; Mnayer et al., 2014). Ces composants sont renommés pour leurs propriétés bénéfiques aussi bien dans le domaine alimentaire que médical (Tableau 3).

### 3.3. Applications de l'huile essentielle d'ail

#### 3.3.1. Applications dans l'alimentation

La HEA est généralement reconnu comme un produit naturel sûr par la FDA (de l'anglais *Food and Drug Administration*) des États-Unis du centre de sécurité alimentaire et de nutrition appliquée (CFSAN, de l'anglais *Center for Food Safety and Applied Nutrition*) (CFSAN / FDA, 2013), et ses composés soufrés volatils énumérés, sont la principale raison de ses propriétés bioactives.

Les propriétés de la HEA ont attiré l'attention de l'industrie alimentaire, principalement en tant qu'aromatisant. Cependant, l'art traditionnel d'assaisonner les aliments consiste généralement à ajouter des herbes fraîches et des odeurs âcres d'herbes et d'épices, comme l'ail. Parmi les différents HEs étudiées, de nombreuses recherches ont été consacrées à l'huile extraite de l'ail, qui possède les notes d'arôme et d'odeur typique de sa plante source (Ayala-Zavala et al., 2008a).

Dans certains plats traditionnels chinois, égyptiens, méditerranéens et mexicains, la saveur de l'ail fournit un assaisonnement dans les vinaigrettes, les sauces, le porc, le bœuf, les crevettes, offrant un goût et une odeur particuliers (Sherman et Billing, 1999). Plusieurs études menées sur différents produits d'origine animale ou végétale, ont montré l'acceptabilité sensorielle de ces derniers traitant avec de la HEA et la confirmation de l'utilisant comme aromatisant (Ayala-Zavala et González-Aguilar, 2010 ; Cao et al., 2013 ; Leong et al., 2010 ; Sallam et al., 2004). Les mêmes auteurs ont montré que l'effet sensoriel de l'addition de la HEA doit considérer avec soin le choix de la concentration appropriée utilisée.

Par ailleurs, les informations analysées indiquent que les utilisations potentielles de la HEA dans l'industrie alimentaire vont au-delà de ses propriétés aromatisantes. Plusieurs utilisations alternatives en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant sont proposées pour utiliser la HEA en tant qu'agent de conservation et un additif alimentaire (Tableau 3) (Cao et al., 2013 ; Nazari et al., 2019 ; Park et al., 2008 ; Sallam et al., 2004 ; Yang et al., 2011).



Les mécanismes médicinaux, antimicrobiens et parfois conservateurs des constituants de la HEA sont attribués à l'inactivation des enzymes métaboliques clés des microorganismes pathogènes responsables de la dégradation des aliments ou des enzymes impliquées dans les réactions de détérioration (Chung *et al.*, 2007). Ces attributs pouvaient potentiellement arrêter la rancidité, le brunissement et réduire la croissance microbienne dans plusieurs systèmes alimentaires (Richardson, 2013).

Cependant, sa volatilité et sa réactivité entravent sa manipulation en tant que liquide et sa forte odeur peut représenter un problème affectant l'acceptabilité sensorielle du produit traité (Ayala-Zavala *et al.*, 2008b). En ces termes, la recherche a proposé le processus d'encapsulation afin d'optimiser la fonctionnalité de la HEA appliqué comme additif alimentaire (Ayala-Zavala *et al.*, 2008a).

**Tableau 3.** Effets antimicrobien, antioxydant et sensoriel de l'ajout des préparations d'ail dans les matrices alimentaires.

Traitement	Effet antimicrobien	Effet antioxydant	Effet sensoriel	Références
Ragoût de porc traité au HEA et au chitosan	Réduction de bactéries mésophiles aérobies	Réduit le contenu dans TBARS	Notes de goût acceptables	Cao et al., 2013; Leong et al., 2010
Saucisses de poulet additionnées de HEA, de poudre d'ail et d'ail frais	Réduction de bactéries mésophiles aérobies	ND	Acceptable à faible concentration	Sallam et al., 2004
In vitro HEA encapsulé dans $\beta$ -CD	Inhibition de la croissance de <i>S.aureus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>A.niger</i> , <i>P.cyclopium</i> , <i>F.oxysporum</i>	ND	ND	Harris et al., 2001
Tomate fraîchement coupée traitée aux HEA	Réduction des bactéries mésophiles aérobies et les coliformes	ND	ND	Ayala-Zavala et al., 2008b
Tomate fraîchement coupée traitée avec du HEA encapsulé	ND	ND	modérément après 14 jours	Ayala-Zavala et González-Aguilar, 2010
Farine de blé additionnée de capsules d'ail et d'ail	ND	ND	Force de la pâte affectée par de l'ail non encapsulé	Miller et al., 1997
Bœuf haché cuit irradié additionné d'ail frais	ND	Formation réduite de peroxyde et de TBARS	Le bœuf ajouté à l'ail a la même acceptation globale que les contrôles	Yang et al., 2011
Agneau nourri à l'ail	ND	ND	Le régime a augmenté l'acceptabilité de la viande	Strickland et al., 2011
Yaourt traité avec HEA encapsulé dans les nanophytosomes <sup>12</sup>	Augmentation de l'effet antibactérien	ND	Différence non significative des propriétés sensorielles entre les échantillons et les contrôles	Nazari et al., 2019

ND : non déterminé, <sup>12</sup> : Un phytosome est un complexe composé d'un principe actif naturel et d'un phospholipide - principalement de la lécithine. Le phytosome augmente l'absorption "d'extraits de plantes conventionnels" ou de principes actifs isolés,

### 3.3.2. Applications en médecine

Outre leurs attributs aromatiques, les composés soufrés de la HEA sont également responsables des propriétés médicinales. Plusieurs auteurs ont montré, dans des études différentes, les avantages de la HEA pour la santé, figurant dans les activités anticancéreuses, antidiabétiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antioxydantes, cardioprotectrices et immunomodulatrices (Abudourahman *et al.*, 2019 ; Alorainy, 2011 ; Arbach *et al.*, 2019 ; Dini *et al.*, 2011 ; Chung *et al.*, 2007 ; Kiralan *et al.*, 2011 ; Lawrence et Lawrence, 2011 ; Pârvu *et al.*, 2011 ; Rahman, 2007b ; Romeilah *et al.*, 2010 ; Yin *et al.*, 2003).

En effet, la HEA aide à protéger et entretenir le système cardiovasculaire : en baissant le taux de "mauvais cholestérol", à diminuer l'agrégation plaquettaire et à lutter contre l'hypertension. Elle est également un anti-infectieux puissant par ses propriétés antibactérienne, antifongique et antiparasitaire (Alorainy, 2011 ; Amagase *et al.*, 20001 ; Arbach *et al.*, 2019 ; Dini *et al.*, 2011 ; Kim *et al.*, 2004 ; Mnayer *et al.*, 2014 ; Najjaa *et al.*, 2007 ; Pârvu *et al.*, 2011 ; Pyun et Shin, 2006 ; Rahman, 2007b).

L'huile peut contribuer à lutter contre les radicaux libres, des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement. Certains de ses composés ; le diallyle sulfide et l'ajoène pourraient empêcher certaines cellules cancéreuses de se multiplier. Le **Tableau 4** résume certains potentiels biologiques de la HEA et ses principaux composants.

Sur le plan épidémiologique, la consommation d'ail est inversement corrélée au risque de cancers de la bouche, de l'estomac, de l'œsophage, du côlon et de la prostate (Tsai *et al.*, 2012). Les potentiels de l'ail ainsi que ses différentes préparations prouvés sur la santé, lui ont permis d'être recommandé dans le monde entier comme complément alimentaire.

**Tableau 4.** Propriétés bioactives et les mécanismes d'action de l'huile essentielle d'ail et ses principaux composants.

Potentiel biologique	Mode d'action	Références
<b>Antimicrobien</b>	<p>Renforcement de l'activité des cellules immunitaires</p> <p>Interaction avec des enzymes contenant un thiol (telles que les cystéines protéases et les alcools déshydrogénases)</p> <p>Inhibition des acétyl-CoA synthetases</p> <p>Inhibition de la germination des spores et de la croissance des hyphes</p> <p>Induction de l'oxydation du glutathion, entraînant un déplacement du potentiel d'oxydo-réduction cellulaire</p>	<p>Alorainy, 2011; Arbach et al., 2019 ; Dini et al.,2011, Pârvu et al.,2011 ; Rahman, 2007b.</p>
<b>Antioxydant</b>	<p>Le piégeage des radicaux</p> <p>Interaction avec les protéines contenant du thiol</p> <p>Récupération des radicaux hydroxyles</p> <p>Inhibition de la production de superoxyde et de NO</p> <p>Modification des activités dépendantes de SH</p> <p>Réduit le stress oxydatif et inhibe le remodelage vasculaire en supprimant la NAD (P) H-oxydase</p>	<p>Abudoulrahman et al., 2019 ; Chung et al.,2007 ; Kiralan et al., 2011 ; Lawrence et Lawrence, 2011 ; Romeilah et al., 2010 ; Yin et al., 2003.</p>
<b>Antitumoral</b> (HEA, DAS, DADS, DATS)	<p>Activation et modification de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA réductase, la glutathion-s-transférase et la catalase</p> <p>Arrêt de la phase G0, G1 et de G2 du cycle cellulaire</p> <p>Inhibition de l'activité de p34cdc2</p> <p>Inhibition de l'incorporation de [3H]-thymidine</p> <p>Réduction de l'expression du Cycline B1 et Cdk7</p> <p>Apoptose</p> <p>Modification oxydative de <math>\gamma</math>-tubuline</p> <p>Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses</p>	<p>Amagase, 2006 ; Borkowska et al., 2013 ; Capasso, 2013 ; Wallace et al.,2013 ; Wang et al., 2012 ; Wu et al.,2004 .</p>

<p>Inhibition du cytochrome P-450 2E1 isoforme</p> <p>Réduction de la masse tumorale et du nombre de cellules mitotiques dans les tumeurs</p> <p>Diminution de l'activité de l'histone désacétylase, augmentation de l'acétylation de H3 et H4</p> <p>Diminution des marqueurs protumoraux (survivine, Bcl-2, c-Myc, mTOR, EGFR et VEGF)</p>	<p>Gebhart et Beck, 1996 ; Mathews et al., 1996 , Liu et Yeh, 2000 ; Sendl et al., 1992 ; Singh et al., 2006.</p>
<p><b>Antihyperlipémique</b> (HEA, DADS, DATS)</p> <p>Diminution du cholestérol, triglycérides et hypolipédimie</p> <p>Inhibition des cholinestérogénases</p> <p>Inhibition de HMG-CoA réductase et de 14-alpha-déméthylase</p> <p>Inhibition des cholinestérogénases avec inhibition de la stérol-4-méthyl oxydase</p>	<p>Apitz-Castro et al., 1994 ; Rendu et al., 1989, Srivastava et Tvagi, 1993 ; Tripathi, 2009 ; Vanderhoek et al., 1980.</p>
<p><b>Antithrombotique</b> (HEA)</p> <p>Inhibition de l'agrégation plaquettaire</p> <p>Interférence avec la synthèse de thromboxane</p> <p>Modification de la microviscosité de la membrane plasmique des plaquettes</p> <p>modification du métabolisme de l'acide arachidonique</p> <p>Réduction de la coagulation du sang</p>	<p>Anwar et Meki, 2003.</p>
<p><b>Antidiabétique</b> (HEA, DATS)</p> <p>Normalisation du statut antioxydant altéré</p> <p>Amélioration du contrôle glycémique</p> <p>Amélioration de la tolérance au glucose par voie orale et du fonctionnement rénal</p>	

# Deuxième Partie

---

## Composition Nutritionnelle et Minérale des Bulbes et Bulbilles d'*A. sativum* L.

### 1. Introduction

L'ail est une source de divers phytonutriments bioactifs, dont les composés organosulfurés, les acides phénoliques et les flavonoïdes, qui ont des effets bénéfiques pour la santé humaine.

En effet, les études ont montré que l'ail a des effets bénéfiques sur la santé humaine, en particulier pour la prévention des maladies cardiovasculaires, le diabète et les cancers. Les études ont également montré que l'ail a des effets bénéfiques sur la santé humaine, en particulier pour la prévention des maladies cardiovasculaires, le diabète et les cancers.

## Étude

## Expérimentale

En plus des composés soufrés, l'ail est également riche en vitamines, minéraux et oligoéléments. Les flavonoïdes, les polyphénols et les caroténoïdes qui sont les molécules de lutte des dommages causés par les radicaux libres et empêchent ainsi le risque de maladies cardiovasculaires et limitent le vieillissement cellulaire (Gouveia et al., 2015; Béliveau et Gingras, 2005; Tattelman, 2005). Ces propriétés santé remarquables et propriétés anticancerogènes ont permis d'occuper une place importante dans le marché mondial de légumes avec une production mondiale de 24 104 053 tonnes en 2014 sur une superficie totale récoltée de 1577 779 hectares d'ailiers (FAO, 2017).

## Chapitre I

---

# Composition Nutritionnelle et Minérale des Bulbes et Bulbilles d'*A. sativum* L

### 1. Introduction

L'ail est une source de diverses phytochimiques biologiquement actives, y compris les composés organosoufrés, les acides phénoliques, les thiosulfates d'allyle et les flavonoïdes, qui apportent différents bienfaits pour la santé (Chen et al., 2013).

En effet, lorsqu'ils sont écrasés, les bulbes d'ail libèrent des composés soufrés (l'allicine en particulier) responsables des propriétés médicinales renommées de l'ail, telles que les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antidiabétiques (Borlinghaus et al., 2014 ; Capasso, 2013 ; Rahman, 2007b). Ces composés soufrés pourraient même ralentir le développement de certains cancers, tant par leur action de protection contre les dommages causés par des substances cancérogènes que par leur capacité à empêcher les cellules cancéreuses de croître (Béliveau et Gingras, 2005 ; Tattelman, 2005).

En plus des composés soufrés, l'ail est également riche en vitamines, minéraux et composés antioxydants tels que les flavonoïdes, les polyphénols et les tocophérols qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres et empêchent ainsi le risque de maladies cardiovasculaires et limitent le vieillissement cellulaire (Bazzano et al., 2003; Béliveau et Gingras, 2005; Brace, 2002). Ces précieuses qualités nutritionnelles et propriétés médicinales miraculeuses lui ont permis d'occuper une place importante dans la production mondiale de légumes, avec une production annuelle de 28 164 055 Millions de tonnes sur une superficie totale récoltée de 1577 779 Million d'hectares (FAO, 2017).

L'ail est une plante vivace, qui peut être cultivée sur une année biennale ou annuelle. Ce légume est composé d'un bulbe souterrain complexe divisé en segments appelés caïeux, tiges et bulbilles (Fritsch et Friesen, 2002 ; Wiczowski, 2011).

Habituellement, l'ail est reproduit végétativement en plantant les caïeux du bulbe souterrain. La reproduction végétative est parfois appelée clonage. Les gousses sont plantées, généralement en automne, et chaque gousse produit un bulbe l'été suivant. Les bulbilles offrent une approche alternative à la croissance de l'ail qui est économique et élimine les maladies transmises par le sol qui infectent les bulbes sous terre. La croissance des bulbilles semble également augmenter la vitalité des variétés qui ne répondent pas à leur potentiel (Pospisil, 2010).

Une autre raison de croître par les bulbes est que certaines variétés d'ail produisent plus de bulbilles que de bulbes. Pour les variétés typiques, la tige normale peut produire plus de 50 bulbilles, tandis que la tête d'ail produit normalement 4 à 6 gousses. Malgré les deux saisons complètes nécessaires à la culture bulbeuse, il est encore possible de multiplier certaines variétés plus rapidement grâce aux bulbilles.

Selon la FAO (2017), la production d'ail en Algérie est de 123 475 tonnes sur une superficie de 9 912 ha. Les wilayas potentielles en matière de production de l'ail sont Mila, Batna, Biskra, El Oued, Skikda, M'sila, Médéa, Tizi Ouzou, Boumerdes, Ouargla, Guelma, Constantine et Oum El Bouaghi. Selon également les sources des services agricoles, cette production en plein essor se confirme par l'exportation de 252,34 tonnes en 2017 vers l'Arabie Saoudite, Canada, Emirats Arabes Unis, Espagne, France, Koweït, Qatar et Tunisie. Ce produit, cultivé en mode bio, conserve tellement une saveur et un goût typique qu'il est toujours apprécié par les restaurateurs de ces pays importateurs principalement les pays européens.



Mais certaines maladies d'origine fongique comme la rouille, le mildiou, la pourriture blanche et grise où d'origine parasitaire cas de l'anguillule l'ont un peu ralenti. Ces maladies peuvent survivre plusieurs années dans les champs.

En effet, pour remédier à ce problème, certains producteurs appliquent la rotation des cultures. D'autres interfèrent avec la deuxième alternative, celle des bulbilles. Ces derniers cultivateurs trouvent que l'ail cultivé par des bulbilles est plus grand et plus vigoureux que l'ail cultivé par des caïeux même si ce résultat est obtenu après deux années consécutives.

Par conséquent, dans ce premier chapitre de la partie expérimentale nous viserons à valoriser les bulbilles surtout à notre connaissance, jusqu'à maintenant, aucune étude sur la composition nutritionnelle des bulbilles n'a été publiée. Cette valorisation sera basée sur une analyse détaillée des nutriments des bulbilles et des bulbes d'ail, suivie d'une analyse minérale complète avec un matériel de pointe telle que la spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) et la spectrométrie de masse, par plasma à couplage inductif (ICP-MS). Dans cette étude, nous essayerons également de comparer les deux parties étudiées afin de confirmer le potentiel nutritionnel des bulbilles et confirmer la possibilité de l'utiliser comme alternative.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal qui a fait l'objet de notre travail a été identifié comme *Allium sativum* par le laboratoire de recherche des zones arides (LRZA, USTHB, Algérie). Il a été récolté en juin 2015 dans la plaine de Bellezma (latitude : 35° 40' 32" N, longitude : 5° 54' 12" E, altitude 906m), située au nord du massif de Bellezma, connue par des cultures intensives d'ail. Bellezma est un massif montagneux à l'Est de l'Algérie situé dans la wilaya de Batna, prolongeant le massif des Aurès dont il est séparé par la « dépression » Batna- El Kantara. Il se caractérise par un climat semi-aride, sec et froid avec une précipitation moyenne annuelle de 210 mm.

Après la récolte, le matériel végétal a été transporté directement au laboratoire où il a été conservé dans un endroit frais pour des analyses ultérieures.

Les parties analysées sont les bulbes (Photographie 1) et les bulbilles (Photographie 2) (Figure 10). Le bulbe ou la tête, c'est l'organe arrondi de la reproduction végétative de l'ail, il est segmenté en caïeux ou gousses, réunis entre eux et entourés d'une membrane blanche.



Photographie.1 : Bulbes



Photographie .2 : Bulbilles

**Figure 10.** Photographies des parties analysées de l'*A.sativum* L récoltées de la région de Bellezma.

Alors que les bulbilles, la petite gousse secondaire ronde, sont des petits clones du bulbe initial que l'on obtient si on laisse la hampe florale se développer. Ces derniers se récoltent environ une à deux semaines après la date de récolte standard des bulbes d'ail.

## 2.2. Composition nutritionnelle

Les propriétés chimiques des échantillons ont été déterminées selon les méthodes recommandées de l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (AOAC, 2000). Les teneurs en humidité sont mesurées immédiatement à l'arrivée des échantillons au laboratoire. Dix grammes de chaque échantillon sont placés dans un four ventilé maintenu à  $105 \pm 5^\circ \text{C}$ , jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Les cendres sont déterminées par l'incinération de 2 g de chaque échantillon dans un four à Muffle maintenu à  $550^\circ \text{C}$  pendant 5 h jusqu'à ce que des résidus blancs grisâtres soient obtenus.

La teneur en azote d'un échantillon de 2g est déterminée par la méthode de Kjeldahl. Le pourcentage d'azote est multiplié par le facteur 6,25 pour estimer le pourcentage de protéines brutes. La méthode de Soxhlet est utilisée pour déterminer la graisse brute en extrayant 5 g d'un échantillon avec de l'éther de pétrole. Le contenu en fibres brutes est déterminé par une méthode gravimétrique. Les échantillons sont digérés avec  $\text{H}_2\text{SO}_4$  et  $\text{NaOH}$  suivis d'une incinération du résidu dans un four à moufle maintenu à  $550^\circ \text{C}$ . Tandis que les glucides ont été calculés en soustrayant la somme des valeurs des autres nutriments de 100.

Les valeurs d'énergie calorifique des échantillons ont été déterminées en utilisant un calorimètre de marque IKA (C5000, Germany). Toutes les analyses ont été réalisées en trois répétitions et les résultats sont exprimés en pourcentage.

### 2.3. Composition minérale

La composition minérale dans les deux matrices est réalisée selon le protocole décrit par Ouddane (1990) dans le laboratoire LASIR UMR CNRS 8516, à l'Université de Lille (France). Environ 0,5g des échantillons séchés et broyés de bulbes et de bulbilles sont placés dans des godets en téflon, préalablement bien nettoyés puis minéralisés sous l'action de l'acide nitrique concentré (15ml, Merck suprapur 65%) à 200 ° C pendant deux heures. Des témoins « blancs réactifs » sont également inclus dans la procédure analytique.

Les échantillons ont été dilués au volume final de 50 ml avec de l'eau MilliQ. Les concentrations élémentaires de chaque échantillon ont été déterminées en triplicat soit par spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES, Vista Pro, vue axiale, Varian, Australie) ou encore par spectrométrie de masse, par plasma à couplage inductif (systèmes ICP-MS : Ultra Mass 820 (Varian, Australie) (Figure 11) et cela en fonction de la concentration des métaux.



Photograph.3 : ICP- AES



Photograph.4 : ICP-MS

Figure 11. Photographies de l'ICP-AES et ICP-MS.

L'échantillon minéralisé est vaporisé (nébulisation) et introduit dans une torche à plasma d'argon à haute pureté où il est ionisé et est réduit à l'état d'atomes indépendants. En retournant à des états de niveau d'énergie moins élevés, ces atomes excités par le plasma émettent des photons dont les longueurs d'onde (domaine UV-Visible) sont caractéristiques de l'élément dosé. Un système dispersif (diffraction) est ensuite utilisé pour séparer les émissions de longueurs d'onde différentes et obtenir un spectre optique caractéristique de chaque élément chimique. L'intensité des raies émises (proportionnelle à la concentration de

chaque élément) est enfin enregistrée par un détecteur. Les conditions optimales de fonctionnement et les paramètres de mesure pour ICP-AES et ICP-MS sont listés dans le tableau 5.

**Tableau 5.** Conditions opératoires d'ICP-AES et ICP-MS.

Conditions et paramètres	ICP- AES (Varian-Vista PRO axial view)	ICP-MS (Varian 820-MS)
RF puissance W	1000	1200
Flux de gaz nébuliseur (L/min)	1	0,7
Flux de gaz auxiliaire (L/min)	1,2	0,95
Flux de gaz plasma (L / min)	15	13,5
Torche à plasma à quartz I.D. (Mm)	1,5	1,5
Taux d'absorption des échantillons (mL / min)	1	1
Detecteur	CCD	Dual
Répliques	3	3
Uptakedelay (s)	30	35
Washoutdelay (s)	120	120

## 2.4. Analyse statistique

Tous les résultats sont calculés à partir de données en triple et sont exprimés en moyennes  $\pm$  écart-type (ET). Les données sont comparées par ANOVA à un seul facteur suivi du test post hoc de Tukey, en utilisant le programme de statistiques R Commander. Les différences sont considérées comme significatives à  $p < 0,05$ .

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Macronutriments

La comparaison des résultats, des teneurs en humidité, en cendre, en protéines, en lipides, en fibres et en glucides, présentés dans le Tableau 6 et dans la Figure 12, montre que les bulbes et les bulbilles semblent avoir des profils nutritionnels similaires, sauf pour l'énergie où la différence est significative ( $p < 0,05$ ). En effet, les bulbilles et les bulbes présentent respectivement des taux d'humidité élevés, 65,46% et 66,35%. Ils contiennent également des teneurs importantes en glucides, 25,61% et 25,83%, suivies des protéines 6,85% et 7,17%. Ces quantités trouvées dans nos échantillons sont très supérieures à la quantité moyenne fournie par les légumes (protéines : 2,21g / 100g et glucides : 6,35g / 100g) (<http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-analyse-ail,100.html>).

Selon la littérature, les carbohydrates d'ail, les fructosanes, possèdent des propriétés probiotiques qui favorisent une flore intestinale de bonne qualité capable de s'opposer aux infections et par conséquent d'aider à une bonne digestion. Ses protéines riches en acides aminés soufrés, tels que la méthionine et la cystéine, contribuent au développement de la créatine, une substance très énergétique utilisée par les fibres musculaires au cours de la première partie de l'effort (Senninger, 2009). En outre, il a été démontré que la protéine d'ail isolée pouvait avoir un effet hypolipémiant (Rajasree et Rajamohan, 1999).

Malgré les teneurs faibles en lipides de 0,56% et 0,44% respectivement trouvées dans les bulbes et les bulbilles, elles restent proches de la teneur moyenne présente dans les légumes (0,57 g / 100 g) (<http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-analyse-ail,100.html>).

La teneur en fibres de 2,16% obtenue pour les bulbes est supérieure à celle des bulbilles qui est de 1,94%. Les fibres alimentaires ne sont pas un nutriment mais jouent toujours un rôle très important dans le maintien d'une bonne santé (Anderson et Bridges, 1988 ; Wisker et al., 1996). Ces teneurs relativement abondantes sont responsables des propriétés carminatives, favorisant la régulation et la stimulation du transit intestinal, tout en favorisant une meilleure absorption des minéraux par le tube digestif (Senninger, 2009). En outre, les régimes riches en fibres alimentaires peuvent aider au contrôle du poids et sont utiles pour la prévention de l'obésité (Căpriță et al., 2011 ; Wisker et al., 1996).

Les bulbes et les bulbilles contiennent respectivement 1,43% et 1,64% de cendres et leurs valeurs énergétiques sont de 131 et 118 Kcal. Cependant, son faible apport énergétique permet de le consommer régulièrement afin de bénéficier de ces précieux nutriments.

Dans l'ensemble, ces résultats en éléments nutritifs sont comparables à ceux qui figurent dans plusieurs tableaux de référence tels que la table de la composition des aliments Ciqual- ANSES de France et la base de données de la composition des aliments du Département de l'agriculture des États-Unis (USDA).

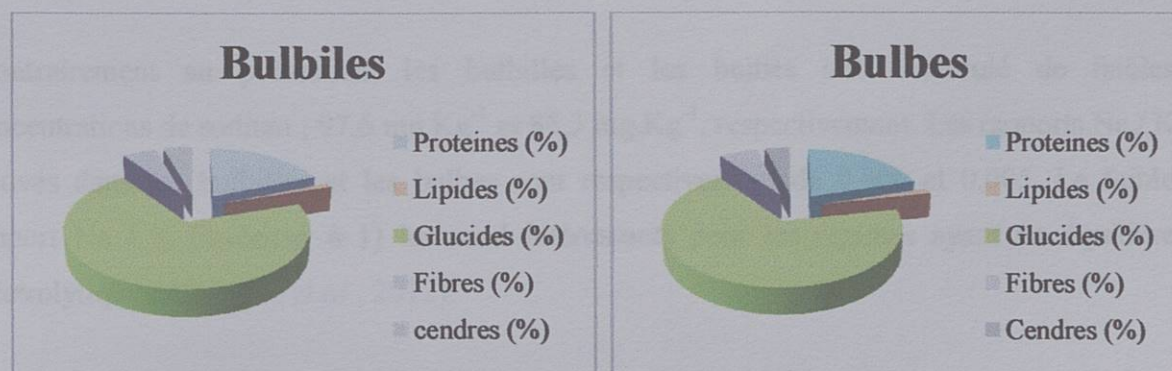
**Tableau 6.** Composition nutritionnelle des bulbilles et des bulbes comparés à certaines tables de référence

Nutriment (%)	Bulbilles	Bulbes	Ail cru*	Ail cru**
Humidité	65,46 ± 1,53 <sup>d</sup>	66,35 ± 1,27 <sup>d</sup>	64,3	58,58
Protéines	6,85 ± 0,45 <sup>b</sup>	7,17 ± 0,77 <sup>b</sup>	5,81	6,36
Lipides	0,44 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,34	0,50
Carbohydrates, par différence	25,61 ± 0,84 <sup>c</sup>	25,83 ± 0,71 <sup>c</sup>	21,2	33,06
Fibres	1,94 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,16 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,7	2,1
Cendres	1,64 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,41	1,50
Energie (Kcal)	118,3 ± 1,53 <sup>c</sup>	131 ± 1,08 <sup>f</sup>		149

Les valeurs sont présentées en tant que moyennes ± ET (n = 3). Les moyennes avec des lettres différentes significativement (p < 0,05)

\*Source : Composition Nutritionnelle des aliments, Table Ciquial (2016)

\*\*Source: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28 (2017).



**Figure 12.** Composition nutritionnelle moyenne exprimée en pourcentage des bulbilles et des bulbes (la teneur en eau n'est pas prise en compte)

Bien que, dans l'ensemble, ces teneurs en nutriments soient comparables aux teneurs trouvées dans des études similaires menées par [Hacisferogullari et al. \(2005\)](#), [Sajid et al. \(2014\)](#) et [Odebunmi et al. \(2009\)](#), des différences dans certains nutriments ont été observées. Cependant, l'étude de [Hacisferogullari et al. \(2005\)](#) se distinguait par une teneur élevée en protéines (9,26%), celle de [Sajid et al. \(2014\)](#) par la teneur élevée en fibres (2,3%) et en cendres (2,46%). Ces différences peuvent s'expliquer par l'environnement de croissance, tels que le sol, les précipitations, la température et les conditions géographiques ([Ercisli, 2007](#) ; [García-Herrera et al., 2014](#)).

## 3.2. Éléments minéraux

### 3.2.1. Éléments majeurs

Selon les résultats présentés dans le [Tableau 7](#), les concentrations d'éléments minéraux dans les bulbilles sont significativement plus élevées que celles des bulbes ( $p < 0,01$ ). Le potassium (K) est le plus abondant de tous les ions métalliques avec des concentrations respectives de  $17451 \text{ mg.Kg}^{-1}$  et de  $17254 \text{ mg.Kg}^{-1}$  dans les bulbilles et les bulbes. Par conséquent, une consommation régulière d'ail peut contribuer à l'apport quotidien recommandé ;  $1600 \text{ mg}$ , pour un adulte en bonne santé. Cet élément joue un rôle majeur dans le maintien de la polarité cellulaire, la contraction musculaire, le transport des nutriments et des métabolites, et l'activation enzymatique ([Kohlmeier, 2015](#)).

Le potassium est quantitativement le deuxième élément minéral le plus important dont les plantes ont besoin pour mener à bien leur cycle de vie, en plus de l'azote. Il active environ 80 enzymes, impliquées dans divers processus physiologiques. Il régule l'échange intracellulaire et renforce la plante dans sa résistance à la sécheresse et aux maladies ([Glass, 1989](#)).

Contrairement au potassium, les bulbilles et les bulbes ont accumulé de faibles concentrations de sodium ;  $97,6 \text{ mg.Kg}^{-1}$  et  $88,3 \text{ mg.Kg}^{-1}$ , respectivement. Les rapports Na / K trouvés dans les bulbilles et les bulbes sont respectivement de 0,006 et 0,005. Le faible rapport Na / K (inférieur à 1) les rend intéressants pour les régimes ayant un équilibre électrolytique défini ([Hu et al., 2012](#)).

Les résultats de cette étude révèlent des niveaux élevés de phosphore avec des concentrations allant de  $13286 \text{ mg.Kg}^{-1}$  (bulbes) à  $15916 \text{ mg.Kg}^{-1}$  (bulbilles). Le phosphore est l'un des minéraux les plus abondants dans le corps, la plus grande partie étant conservée dans les os et les dents. Le phosphore est un composant structurel des membranes cellulaires et des acides nucléiques ; de plus, le maintien des concentrations de phosphates extracellulaires et intracellulaires est important pour de nombreux processus biologiques, y compris le métabolisme énergétique, la signalisation cellulaire, la régulation de la synthèse protéique, le développement squelettique et l'intégrité osseuse ([Soetan et al., 2010](#)).

Il joue également les mêmes rôles de multiplication cellulaire et de transfert d'énergie dans le règne végétal. Il assure une bonne formation des racines, des tiges et des fruits ([Rao, 2009](#)).

Comme présenté dans le [tableau 7](#), la concentration en calcium dans les bulbilles (1563 mg.Kg<sup>-1</sup>) est significativement plus élevée que celle des bulbes (465 mg.Kg<sup>-1</sup>). Son apport recommandé élevé, près de 1000 mg / jour, explique son rôle important dans les dents, os, renouvellement du squelette, la neurotransmission et la contraction musculaire ([Brody, 1994](#)).

De plus, cet élément minéral est essentiel pour les plantes en participant à la constitution des parois cellulaires des plantes et en contribuant à une bonne conservation des fruits en particulier ([Hanson, 1984](#) ; [White et Broadley, 2003](#)).

Cependant, les teneurs en magnésium sont de l'ordre de 1448 mg.Kg<sup>-1</sup> pour les bulbilles et de 731 mg.Kg<sup>-1</sup> pour les bulbes. Le magnésium est un cofacteur essentiel pour un grand nombre de réactions, incluant toutes celles impliquant l'ATP et le GTP, participe à la dépolarisation musculaire et nerveuse, stabilise l'ADN et l'ARN et est un composant du minéral dans l'os ([Kohlmeier, 2015](#)).

**Tableau 7.** Les éléments majeurs des bulbilles et des bulbes d'ail (*Allium sativum* L)

Minéraux majeurs (mg.Kg <sup>-1</sup> )	Bulbilles	Bulbes
Potassium (K)	17451 ± 452 <sup>g</sup>	17254 ± 565 <sup>g</sup>
Calcium (Ca)	1563 ± 52 <sup>d</sup>	465 ± 8 <sup>b</sup>
Phosphore (P)	15916 ± 212 <sup>f</sup>	13286 ± 302 <sup>e</sup>
Magnésium (Mg)	1448 ± 47 <sup>d</sup>	731 ± 46 <sup>c</sup>
Sodium (Na)	97,6 ± 1,5 <sup>a</sup>	88,3 ± 3,6 <sup>a</sup>

Les valeurs sont présentées en tant que moyennes ± ET (n = 3). Les moyennes avec des lettres différentes diffèrent significativement (p <0,05).

Le magnésium est également le constituant principal de la molécule de chlorophylle et un manque de cet élément affecte l'activité photosynthétique de la plante et par conséquent le rendement et la qualité des produits ([Rao, 2009](#)). Pour ces trois éléments majeurs (calcium, phosphore et magnésium), l'analyse statistique montre des différences très significatives entre les bulbes et les bulbilles (p <0,01). D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les teneurs en minéraux majeurs sont proches de celles rapportées par [Haciseferogullari et al. \(2005\)](#) dans une étude similaire qui a trouvé 21,378.84 ppm, 6009,37 ppm, 1056,15 ppm, 532,78 ppm, 363,61 respectivement pour potassium, phosphore, magnésium, sodium et calcium. Ainsi, on peut en déduire que les bulbilles étudiés contiennent tous les éléments nécessaires à la formation d'une nouvelle plante.



### 3.2.2. Métaux traces

Les oligo-éléments à savoir le fer, le cuivre, le zinc, le nickel, le cobalt, le sélénium, le molybdène, le manganèse et le chrome sont nécessaires à faible dose. Ils peuvent être très nocifs en quantités excessives. Le cadmium, le mercure, l'arsenic et le plomb sont classés comme éléments toxiques. Ils s'accumulent dans les organismes vivants et ont des effets toxiques à court et à long terme (Bourelhier *et al.*, 1998). Cependant, l'absorption du plomb peut constituer un risque sérieux pour la santé publique. Le plomb peut freiner le développement cognitif ; diminuer la performance intellectuelle des enfants, et augmenter la pression artérielle et le nombre de maladies cardio-vasculaires chez les adultes.

Le cadmium peut s'accumuler dans le corps humain et induire une dysfonction rénale, des problèmes osseux et des troubles de la reproduction. Il est impossible d'exclure un effet cancérigène sur l'homme (Règlement (CE) N° 466/2001, 2001).

D'après les résultats listés dans le tableau 8, les teneurs en plomb et en cadmium trouvées dans nos échantillons sont inférieures aux seuils fixés par la FAO / OMS qui sont ; 0,1 mg.Kg<sup>-1</sup> et 0,05 mg.Kg<sup>-1</sup> (FAO /WHO, 1984). Ces faibles valeurs reflètent la qualité du sol et l'environnement de la zone de production. Les résultats montrent également que les bulbilles et les bulbes sont riches en fer, en zinc et en sélénium. Le zinc est essentiel comme cofacteur de nombreuses réactions enzymatiques (Kohlmeier, 2015). Sa teneur varie entre 22,8 dans les bulbes et 34,5 mg.Kg<sup>-1</sup> dans les bulbilles. Ces concentrations trouvées dans nos échantillons se situaient dans la plage de 2 à 400 mg.Kg<sup>-1</sup> recommandée pour les plantes (Reeves et Baker, 2000).

La concentration de fer dans les bulbilles était de 51,9 mg.Kg<sup>-1</sup>, tandis que celle des bulbes était de 62,6 mg.Kg<sup>-1</sup>. Bien que ces valeurs dépassent la limite autorisée par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (20 ppm) (FAO /WHO, 1984), il ressort dans plusieurs études que la majorité des plantes accumulent du fer au-dessus de cette limite (Dini *et al.*, 2008 ; Otunola *et al.*, 2010).

Chez les plantes, ce microélément est utilisé dans la synthèse de la chlorophylle et dans les processus de transfert d'électrons. Il est impliqué dans les réactions de réduction de l'oxydation et joue un rôle clé dans la fixation de l'azote. Le fer est également essentiel pour la croissance des parties de plantes (Rao, 2009).

Tableau 8. Les minéraux traces des bulbilles et des bulbes d'ail (*Allium sativum* L.)

Eléments traces (mg.Kg <sup>-1</sup> )	Bulbilles	Bulbes
Fer (Fe)	51,90 ± 1,5 <sup>i</sup>	62,6 ± 0,8 <sup>j</sup>
Manganese (Mn)	15,53 ± 1,62 <sup>f</sup>	8,30 ± 0,17 <sup>d</sup>
Zinc (Zn)	34,50 ± 2,5 <sup>h</sup>	22,8 ± 0,6 <sup>g</sup>
Arsenic (As)	0,057 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,039 ± 0,001 <sup>a</sup>
Barium (Ba)	5,97 ± 0,25 <sup>d</sup>	11,30 ± 0,61 <sup>e</sup>
molybdenum (Mo)	0,827 ± 0,045 <sup>ab</sup>	0,332 ± 0,081 <sup>a</sup>
Cadmium(Cd)	0,02 ± 0,47 <sup>a</sup>	0,019 ± 0,24 <sup>a</sup>
Chromium (Cr)	3,25 ± 0,40 <sup>bc</sup>	0,39 ± 0,21 <sup>a</sup>
Cobalt(Co)	0,69 ± 0,40 <sup>ab</sup>	0,52 ± 0,15 <sup>a</sup>
Copper (Cu)	7,06 ± 0,40 <sup>d</sup>	6,52 ± 0,15 <sup>d</sup>
Nickel (Ni)	2,16 ± 0,92 <sup>ab</sup>	0,89 ± 0,41 <sup>ab</sup>
Plomb(Pb)	0,076 ± 0,052 <sup>a</sup>	0,092 ± 0,021 <sup>a</sup>
Selenium (Se)	8,02 ± 0,57 <sup>d</sup>	5,65 ± 0,10 <sup>cd</sup>
Strontium (Sr)	6,11 ± 0,3 <sup>d</sup>	7,10 ± 0,5 <sup>d</sup>

Les valeurs sont présentées en tant que moyennes ± ET (n = 3). Les moyennes avec des lettres différentes diffèrent significativement (p < 0,05).

Le fer est essentiel comme cofacteur du transport de l'oxygène, de la respiration, des acides aminés, des lipides, de l'alcool, de la vitamine A et du métabolisme des sulfites, ainsi que de diverses autres réactions redox (Konczak et Rouille, 2011 ; Lieu et al., 2001; McDowell, 2003).

Comme la plupart des micronutriments, le sélénium joue un rôle clé dans tout le corps. C'est un cofacteur pour les enzymes et les protéines ayant une importance vitale dans la défense antioxydante; il a un effet antioxydant car il permet à l'organisme de produire de la glutathion-peroxydase. Cette enzyme fonctionne avec la vitamine E pour protéger les membranes cellulaires de l'oxydation causée par les radicaux libres. En excès, ces derniers provoquent un vieillissement précoce et contribuent à l'apparition de certains types de cancers et de maladies cardiovasculaires (Chappuis et Poupon, 1991 ; Levander, 1984 ; Navarro-Alarcón et López-Martínez, 2000). Dans notre étude, ses valeurs sont de 8,02 mg.Kg<sup>-1</sup> et 5,65 mg.Kg<sup>-1</sup> respectivement aux bulbilles et bulbes.

Bien que la plante en ait besoin à de faibles niveaux, le sélénium est considéré comme un élément bénéfique car il peut augmenter la tolérance des plantes au stress oxydatif induit par les UV, favoriser la croissance des semis vieillissants et réguler l'état hydrique des plantes dans des conditions de sécheresse (Kuznetsov et al., 2003; Pennanen et al., 2002; Pilon-Smits et al., 2009; Xue et al., 2001). Ce minéral protège les plantes contre la toxicité des éléments toxiques tels que le mercure, le plomb et l'argent (Civin-Aralar et Furness, 1991 ; Navarro-Alarcón et López-Martínez, 2000).

L'analyse globale des résultats obtenus montre que les bulbes et les bulbilles étudiés offrent une richesse en nutriments, minéraux et oligo-éléments. Ces composants sont bénéfiques pour la santé humaine et la nutrition des plantes. Ces résultats confirment, d'une part, l'intérêt de manger régulièrement de l'ail pour bénéficier de ces bienfaits. D'autre part, la richesse des bulbes et plus particulièrement des bulbilles encouragera les cultivateurs à les utiliser comme semences. Ces derniers, point de départ de la culture, peuvent être une alternative à la rareté actuelle des semences « sans nématodes » et riche en stock et donc une alternative efficace pour la production d'ail de bonne qualité.

#### 4. Conclusion

À travers les objectifs assignés dans ce chapitre, les résultats obtenus ont révélé que les bulbilles et les bulbes d'*A. sativum* de la région de Bellezma sont caractérisés par une richesse en nutriments remarquable comparant à celles des bases de données internationales. Mais ils sont également dotés d'une richesse en minéraux et en faibles teneurs d'oligo-éléments toxiques, reflétant la qualité du sol et les conditions de croissance de cette plante médicinale. En effet d'après ces résultats obtenus nous confirmons que ces deux parties étudiées pourront être des sources potentielles, principalement en protéines, glucides, fibres et en oligo-éléments comme le sélénium et par conséquent d'un grand intérêt pour la santé humaine. De même, la richesse particulière des bulbilles offre non seulement une meilleure alternative pour cultiver l'ail tout en limitant les maladies transmissibles par le sol aux bulbes mais aussi une alternative dans plusieurs formules thérapeutiques.

que ce soit pour l'extraction des huiles essentielles que pour le contrôle de leur qualité (Tomsik, 2016).

L'hydrodistillation consiste à immerger les matières premières dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement répétée à plusieurs reprises. En effet, le chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales qui vont être véhiculées par la vapeur vers un système de refroidissement.

## Chapitre II

---

Lors de la distribution des HES, plusieurs phénomènes ont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et gazeuse, d'où l'importance d'un grand nombre de paramètres sur la

# Etude Comparative des Procédés d'Extraction : Conventionnel et Innovant

Bien que les méthodes classiques soient les plus connues, elles ne permettent pas d'extraire de l'huile essentielle en grande quantité, elles nécessitent des équipements coûteux, une eau de qualité optimale et

### 1. Introduction

La qualité et la concentration en composés ciblés des HES sont sensiblement affectées par la méthode d'extraction appliquée (Tomsik *et al.*, 2016). À ce jour, plusieurs méthodes sont mises au point pour l'extraction des huiles essentielles et des composés actifs mais les normes liées à leurs utilisations limitent en général le choix de la méthode d'extraction.

L'hydrodistillation, méthode dite conventionnelle est le procédé le plus anciennement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles (Baser et Buchbauer, 2015) Les premières traces connues remonteraient à 5000 ans dans la vallée de l'Indus (De Sousa, 2012). Cette technique d'extraction connue depuis l'antiquité, a été transmise par les Arabes qui ont fait considérablement progresser les méthodes de distillation, grâce à la création du serpent. Par la suite elle a été perfectionnée par les industriels de Grasse (Alpes-Maritimes) (Deschepper, 2017).

Cette technique a été un peu délaissée au profit de nouveaux procédés pour des raisons de qualité et de coût de production (Duval, 2012). Mais aujourd'hui, c'est une méthode normée,

que ce soit pour l'extraction des huiles essentielles que pour le contrôle de leur qualité (AFNOR, 1996).

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. En effet, la chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales qui vont être véhiculé par la vapeur vers un système de refroidissement ou un mélange d'eau et d'HE est obtenu.

Lors de la distillation des HEs, plusieurs phénomènes sont à la base d'échanges de matière entre les phases solide, liquide et gazeuse, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production (Hajji *et al.*, 1985).

Également appelée distillation de Clevenger dans les laboratoires de chimie, cette méthode utilise généralement de grandes quantités d'eau et d'énergie et le temps d'extraction peut varier de 6 à 24 heures (Chemat *et al.*, 2017).

Bien que les méthodes classiques soient les plus couramment utilisées pour extraire de l'huile essentielle de plantes, elles présentent des inconvénients, tels que le contrôle difficile du transfert de chaleur tout au long du processus et le temps d'extraction étendu (Chemat *et al.*, 2017). De plus, de nombreux produits naturels sont thermiquement instables et peuvent être endommagés pendant l'extraction thermique et / ou la distillation (Vinatoru, 2001). Avec le développement de l'industrie des parfums et la demande croissante des produits naturels, le recours aux nouvelles méthodes d'extraction est devenu une nécessité d'une grande importance (Chemat *et al.*, 2017).

L'une des grandes réussites de la chimie moderne a été l'évolution du système d'ultrasons. Son origine revient à la découverte de l'effet piézoélectrique pour le quartz par Pierre et Jacques Curie en 1880 (Dognon, 1953). Malgré la première application commerciale des ultrasons : le sonar, mis au point par Langevin en 1917 (Langevin, 1920) et quelques études abordant leurs effets chimiques (Harvey et Loomis, 1928 ; Richards et Loomis, 1927) et biologiques (Dognon, 1953), les recherches sur les ultrasons et leurs effets physiques, chimiques et biologiques ne se sont développées qu'après 1940.

Les ondes ultrasonores sont des ondes acoustiques de fréquence supérieure à la limite physiologique de l'audibilité, soit 16 kHz, capables de se déplacer grâce à l'élasticité du

milieu. Pendant la sonication, les ondes sonores (20 kHz à 10 MHz) utilisées induisent des vibrations mécaniques à travers une succession de surpressions et de dépressions (Figure 13).

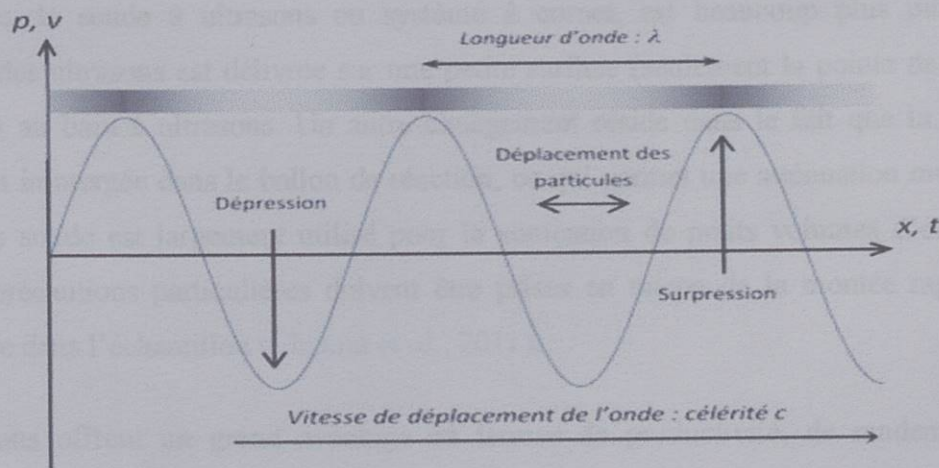


Figure 13. Propagation longitudinale d'une onde ultrasonore (source : Hallez, 2009)

Les particules constitutives sont animées d'un mouvement de va-et-vient de type sinusoïdal selon l'axe de déplacement des ultrasons conduisant à l'apparition de la cavitation. Cette dernière est un phénomène qui se traduit par la naissance (nucléation), l'oscillation radiale (croissance) et l'implosion (effondrement) de bulles de gaz, dans un liquide soumis à une dépression (Hallez, 2009). L'implosion des bulles de cavitation générées donne lieu à des micro-jets de liquide ultra-rapides pour provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur (Dolatowski et al., 2007).

Les progrès rapides des autres technologies comme l'électronique, l'élaboration des céramiques piézoélectriques et la compréhension du phénomène de cavitation ont rendu possible la production de systèmes à ultrasons pour un usage industriel, militaire ou domestique (Hallez, 2009).

En laboratoire, deux types d'appareils à ultrasons sont couramment utilisés. Le premier est le bain de nettoyage par ultrasons qui est couramment utilisé pour la dispersion de solides dans les solvants, pour les solutions de dégazage ou même pour le nettoyage de petits matériaux par immersion du verre dans le bain. Les bains à ultrasons sont moins utilisés pour les réactions chimiques, même s'ils sont faciles à manipuler et économiquement avantageux, car la reproductibilité de la réaction est faible. En fait, l'intensité délivrée est faible et fortement

atténuée par l'eau contenue dans le bain et les parois de la verrerie utilisée pour l'expérience (Chemat *et al.*, 2011).

La seconde, la sonde à ultrasons ou système à cornet, est beaucoup plus puissant car l'intensité des ultrasons est délivrée sur une petite surface (seulement la pointe de la sonde) par rapport au bain à ultrasons. Un autre changement réside dans le fait que la sonde est directement immergée dans le ballon de réaction, ce qui permet une atténuation moindre. Ce système de sonde est largement utilisé pour la sonication de petits volumes d'échantillon, mais des précautions particulières doivent être prises en raison de la montée rapide de la température dans l'échantillon (Chemat *et al.*, 2011).

Les ultrasons offrent un grand avantage en termes de productivité, de rendement et de sélectivité, avec un meilleur temps de traitement, une qualité améliorée et des risques chimiques et physiques réduits, il est également écologique (Chemat *et al.*, 2017).

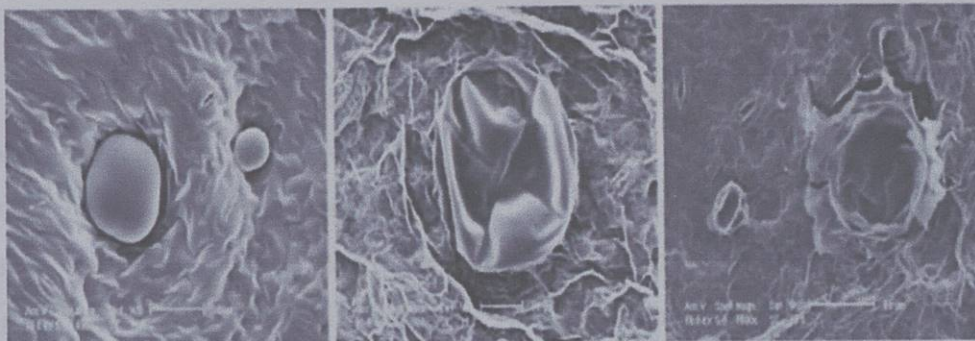
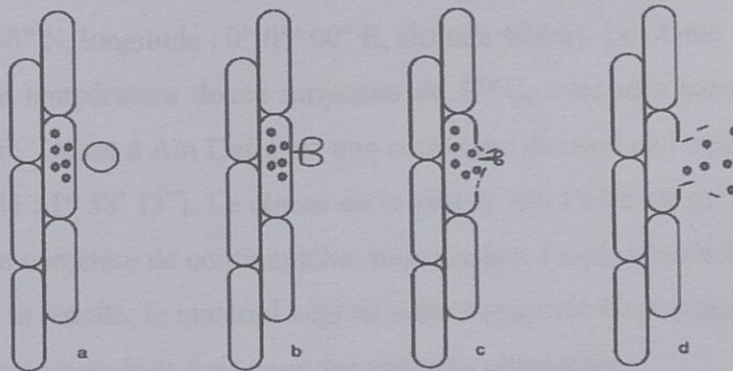
L'extraction des huiles essentielles par ultrasons a été recommandée par plusieurs auteurs comme l'un des systèmes d'extraction les plus efficaces en permettant une plus grande pénétration du solvant dans la matrice du matériel végétal sous l'effet de la cavitation, facilitant ainsi la libération de composés extractibles et réduisant le temps d'extraction (Ramic *et al.*, 2015 ; Wang et Weller, 2006).

Comme le montre la Figure 14, une bulle de cavitation peut être générée près de la surface du matériau de la plante (a), puis lors d'un cycle de compression, cette bulle s'effondre (b) et un micro-jet dirigé vers la matrice de la plante est créé (b et c). Les pressions et températures élevées impliquées dans ce processus détruiront les parois cellulaires de la matrice de la plante et son contenu pourra être libéré dans le milieu (d).

Les extractions assistées par ultrasons ont également été développés pour les huiles essentielles de plantes aromatiques telles que les feuilles de menthe poivrée (Shotipruk *et al.*, 2001), artemisia (Asfaw *et al.*, 2005) et lavande (Porto *et al.*, 2009) ou d'autres matrices végétales telles que l'ail (Kimbaris *et al.*, 2006) et les fleurs de citrus (Alissandrakis *et al.*, 2003). Des rendements supérieurs en HE ont été trouvés pour les feuilles de menthe poivrée (jusqu'à 12%) et pour artemisia lorsqu'ils utilisaient les extractions assistées par ultrasons, et ont été multipliés par 2 à 3 par rapport aux composés principaux de la HE de lavande, lorsque

l'on comparait la distillation des extractions assistées par ultrasons à la distillation conventionnelle.

En outre, elles ont non seulement amélioré les rendements, mais comme la méthode est rapide et fonctionne à basse température, le produit final présente généralement une dégradation thermique moins importante que les méthodes traditionnelles (Chamat et al., 2011).



**Figure 14.** Effondrement de bulles de cavitation et libération de matériel végétal : exemple d'extraction d'huile essentielle de basilic (Chamat et al., 2011).

Dans ce chapitre, nous fixerons nos objectifs dans un premier temps sur l'extraction de la HE par trois procédés différents ; hydrodistillation conventionnelle en utilisant le dispositif de Clevenger et deux procédés utilisant la sonde à ultrasons ; hydrodistillation assistée par ultrasons et la sono-hydrodistillation. Par conséquent, en termes de rendement, de cinétique d'extraction ainsi que sa composition chimique nous comparerons les HEs des bulbes d'ail extraites via ces procédés. Dans un deuxième temps, nous mettrons le point sur la qualité organoleptique, physique ainsi chimique de l'HE des bulbes d'ail cultivés dans différentes régions du pays.



## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel végétal

En plus de la région de Bellezma (BFB) (sur deux ans consécutifs 2014, et 2015), les bulbes d'*A. sativum* L qui ont fait l'objet de ce travail, sont récoltés de la région de Aïn Defla (BFA) et la région de Mostaganem (BFM) en 2015.

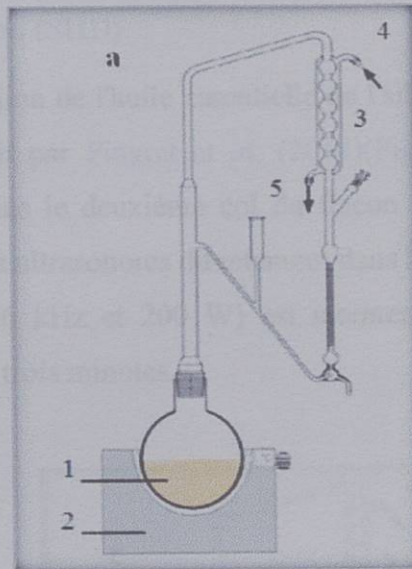
Mostaganem est une ville portuaire de la Méditerranée, située au nord-ouest de l'Algérie (latitude : 35° 56' 00" N, longitude : 0° 05' 00" E, altitude 104m). Le climat de Mostaganem se caractérise par une température douce moyenne de 17°C, avec une précipitation moyenne annuelle de 524mm. Quant à Aïn Defla est une commune du nord de l'Algérie (latitude : 36° 15' 55" N, longitude : 1° 58' 13"). Le climat de la ville d'Aïn Defla est de type méditerranéen semi-aride, avec un caractère de continentalité très marqué. La pluviométrie varie entre 500 à 600 mm/an. Après la récolte, le matériel végétal a été transporté directement au laboratoire où il a été conservé dans un endroit frais pour des analyses ultérieures.

### 2.2. Procédures d'extraction

Dans un but de comparer entre les méthodes conventionnelles et les méthodes introduisant les nouvelles technologies, trois méthodes ; l'hydrodistillation conventionnelle et deux processus innovants utilisant l'ultrason sont utilisées pour extraire l'HE des bulbes d'ail. Cette comparaison est faite en 2014 sur les bulbes de la région de Bellezma (BFB). Pour l'ail récolté en 2015 des différentes régions, l'HE est extraite uniquement par la méthode d'hydrodistillation en utilisant le Clevenger. Cette huile a fait l'objet d'autres analyses. Une fois collectée et séchée avec du sulfate de sodium anhydre pour enlever toute trace d'eau, HE est stockée dans des flacons bruns bien scellés, à une température de 4°C jusqu'à son utilisation.

#### 2.2.1. Procédure d'Hydrodistillation (HD)

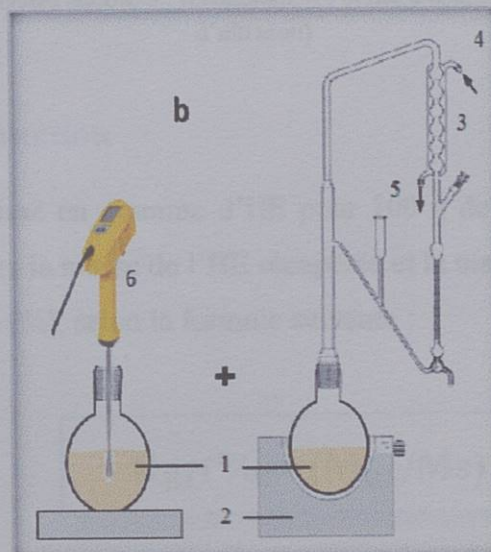
Environ 200 g de bulbes frais ont été écrasés avec 100 ml d'eau désionisée pendant 2 minutes à l'aide d'un Blender commercial de marque Boch. Le mélange obtenu est ensuite dilué au volume final d'un litre et soumis à une hydrodistillation en utilisant le dispositif de Clevenger (recommandé par la pharmacopée, (Figure 15) jusqu'à ce que l'HE ne soit plus obtenu.



**Figure 15.** Procédé conventionnel (Hydrodistillation (HD))  
 (1 : Bulbes d'ail et eau, 2 : chauffe ballon, 3 : réfrigérant, 4 : sortie d'eau, 5 : entrée d'eau)

### 2.2.2. Hydrodistillation assistée par ultrasons (US-HD)

L'extraction assistée par ultrasons est effectuée à l'aide du processeur ultrasonique Heilscher UP200Ht fonctionnant à 200W, 26 kHz (Figure 16). Les bulbes d'ail préparés dans les mêmes conditions décrites ci-dessus (section 2.2.1) ont subi une sonication à 60% d'amplitude, en continu pendant 20 minutes. Ensuite, le mélange est soumis à une hydrodistillation classique.



**Figure 16.** Procédé Innovant (Hydrodistillation assistée à l'ultrason (US-HD))  
 (1 : Bulbes d'ail et eau, 2 : chauffe ballon, 3 : réfrigérant, 4 : sortie d'eau, 5 : entrée d'eau, 6 : le dispositif d'ultrason)

### 2.2.3. Sono-hydrodistillation (SHD)

Dans cette méthode, l'extraction de l'huile essentielle de l'ail est réalisée à l'aide de l'appareil de Clevenger modifié, décrit par Pingret *et al.* (2014)(Figure 17). La sonde du dispositif d'ultrasons est introduite dans le deuxième col du flacon d'ébullition contenant les bulbes d'ail, afin de libérer les ondes ultrasonores directement dans la matrice. Le système à ultrasons (UP200Ht fonctionnant à 26 kHz et 200 W) est maintenu à une amplitude de 60%, en discontinu à un intervalle de trois minutes.

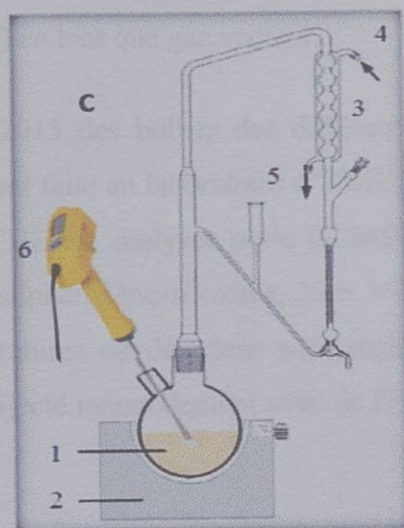


Figure 17. Procédé Innovant (Sono-hydrodistillation(SHD))

(1 : Bulbes d'ail et eau, 2 : chauffe ballon, 3 : réfrigérant, 4 : sortie d'eau, 5 : entrée d'eau, 6 : le dispositif d'ultrason)

### 2.3. Rendement d'extraction

Le rendement en HE exprimé en gramme d'HE pour 100 g de matière végétale, est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE récupérée et la masse de la matière végétale. Il est exprimé en pourcentage (%), selon la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = (M_{HE}/M_s) * 100$$

Où

$R_{HE}(\%)$  : Rendement en huile essentielle (%);

$M_{HE}$  : Masse de l'huile essentielle (g);

$M_s$ : Masse de la matière végétale /  $M_s = (1-Hu) * M_f$  avec  $Hu$  : humidité;  $M_f$ : Masse de la matière végétale fraîche.

## 2.4. Analyse chromatographique (GC-MS)

Pour l'huile essentielle extraite des bulbes de la région de Bellezma en 2014, l'analyse par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS) est faite au laboratoire chromatographique de l'Etablissement de Rénovation des Matériels Aéronautiques (ERMA) par le GCMS-QP5050A de marque Shimadzu (Japon) équipé d'un détecteur FID et d'une colonne capillaire SE30 (polydiméthylsiloxane, 50 m × 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm). L'injecteur et les températures du détecteur sont réglés respectivement à 250 ° C et 280 ° C. 1 µl d'échantillon est injecté manuellement avec de l'Hélium (débit de 1,2 ml / min) en tant que gaz vecteur.

Concernant l'HE extraite en 2015 des bulbes des différentes régions (BFB, BFA, BFM), l'analyse Chromatographique est faite au laboratoire d'UMET à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille (ENCL). L'HE est analysée par le GCMS-Thermo Scientific équipé d'une colonne TR-5MS (phénylpolysilphénylène-siloxane, 15m × 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm). L'injecteur et les températures du détecteur sont réglés respectivement à 250 ° C et 350°C. 1 µl d'échantillon est injecté manuellement avec de l'Hélium (débit de 1,0 ml / min) en tant que gaz vecteur.

L'identification des composés volatils est réalisée en comparant les spectres de masse de chaque pic séparé avec ceux reportés comme références dans la banque des bibliothèques de Nist de la spectrométrie de masse QP5050A et les bibliothèques Mainlib et Nist MSMS pour le GSMS-Thermo Scientific.

La confirmation de l'identification est faite en référence aux indices de rétention (indices de Kovats (IR)) d'une série homologue de *n*-alcanes (C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub>) (Figure 18), injectée dans les mêmes conditions que les échantillons et calculés selon la formule suivante de Van Den Dool et Kratz (1963) :

$$IR = 100 * [(t_R)_i - (t_R)_n / (t_R)_{n+1} - (t_R)_n] + 100n$$

Où :

**IR** : Indice de rétention du soluté considéré ;

**(t<sub>r</sub>)<sub>i</sub>** : Temps de rétention du soluté considéré ;

**(t<sub>r</sub>)<sub>n</sub>** : Temps de rétention de l'alcane contenant "n" atomes de carbone et dont le pic précède celui du soluté ;

**(t<sub>r</sub>)<sub>n+1</sub>** : Temps de rétention de l'alcane contenant "n+1" atomes de carbone et dont le pic sort après celui du soluté ;

**n et n+1**: nombre de carbones des hydrocarbures paraffinés (n-alcane).

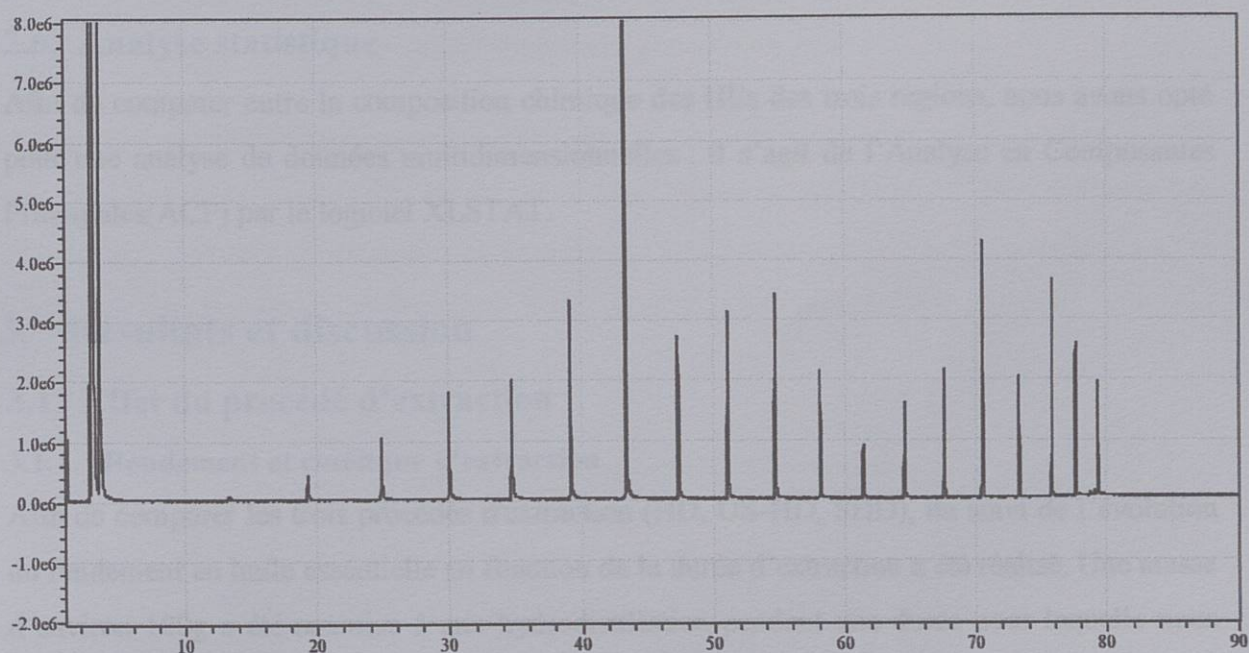


Figure 18. Chromatogramme d'une série de *n*-alcane (C<sub>5</sub>-C<sub>28</sub>).

## 2.5. Indices physiques

En plus de la caractérisation chimique, l'HE d'ail des différentes régions est analysée pour ses indices physiques.

### 2.5.1. Densité relative à 20°C

Elle est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à la masse d'un volume égal d'eau à 20°C. Cette grandeur  $d_{20}^{20}$  est calculée selon la formule :

$$d_{20}^{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

Où

$m_2$  : masse du pycnomètre avec l'HE

$m_1$  : masse du pycnomètre avec l'eau

$m_0$  : masse du pycnomètre vide

### 2.5.2. Indice de réfraction (AFNOR NFISO 280 : 1999 (75-112))

L'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme critère de pureté des huiles essentielles. C'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielle maintenue à une température constante. Cet indice est mesuré par un réfractomètre numérique.

## 2.6. Analyse statistique

Afin de comparer entre la composition chimique des HES des trois régions, nous avons opté pour une analyse de données multidimensionnelles ; il s'agit de l'Analyse en Composantes Principales(ACP) par le logiciel XLSTAT.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Effet du procédé d'extraction

#### 3.1.1. Rendement et cinétique d'extraction

Afin de comparer les trois procédés d'extraction (HD, US-HD, SHD), un suivi de l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction de la durée d'extraction a été réalisé. Une masse d'environ 100g a été soumise à une hydrodistillation pendant une durée pour laquelle nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Les fractions des huiles essentielles ont été récupérées à des intervalles de temps réguliers.

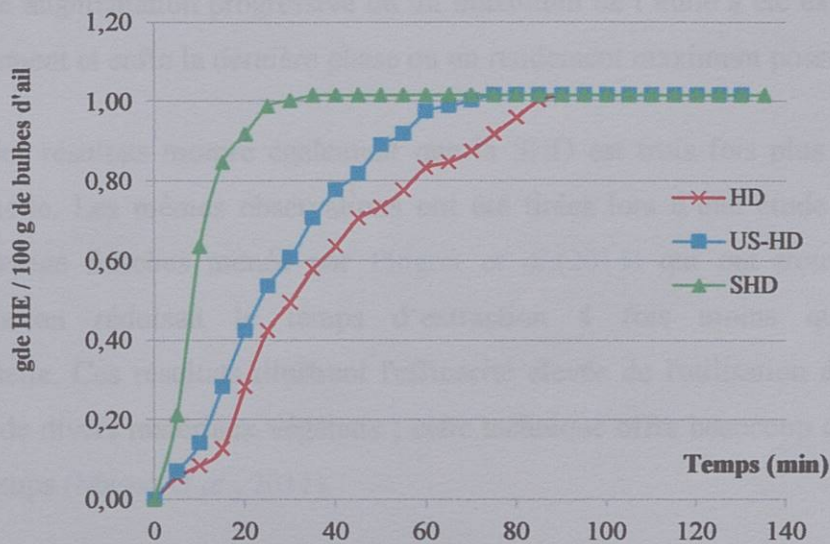
Afin de comparer les trois procédés d'extraction (HD, US-HD, SHD), un suivi de l'évolution du rendement en HE en fonction de la durée d'extraction a été réalisé. Une masse d'environ 100g a été soumise à une hydrodistillation pendant une durée pour laquelle nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Les fractions des HES ont été récupérées à des intervalles de temps réguliers.

Comme le montre clairement la [Figure 19](#), les profils de rendement des huiles essentielles extraites via trois procédés différents, montrent qu'un rendement final de 1,02 (g / 100 g d'ail)

a été obtenu pour les trois procédés d'extraction (HD, US-HD, SHD) mais avec des différences significatives dans le temps d'extraction.

En effet, au début de l'extraction le volume en HE récupéré, était plus important dans le cas de la Sono-Hydrodistillation avec un rendement plus élevé obtenu après seulement 30 minutes de temps d'extraction. Durant nos expérimentations au laboratoire, nous avons constaté que la HE extraite par la Sono-Hydrodistillation a été facile à récupérer et à séparer de la phase aqueuse. Elle avait un aspect de fines gouttelettes qui glissaient rapidement. La récupération maximale de la HE dans un temps réduit s'explique par la grande pénétration du solvant dans la matrice de l'échantillon sous l'effet de cavitation lors de l'utilisation des ultrasons (Wang et Weller, 2006). Le rendement d'extraction accru est attribué au degré élevé de perturbation cellulaire au cours de l'extraction assistée par ultrasons (Poojary et al., 2017).

A l'inverse, les deux autres procédés ; US-HD et HD, ont mis respectivement 70 min et 90 min pour fournir un rendement comparable à celui obtenu dans la Sono-Hydrodistillation. Par ailleurs une difficulté de récupérer et de séparer l'huile essentielle de la phase aqueuse a été rencontrée lors de nos expérimentations d'HD en plus de son aspect dense observé.



**Figure 19.** Profil de rendement des huiles essentielles extraites des bulbes frais d'ail par trois procédés d'extraction

(HD: Hydrodistillation, US-HD: Hydrodistillation assistée par ultrasons, SHD: Sono- Hydrodistillation).

Le temps important mis pour l'extraction de l'HE par hydrodistillation conventionnelle est en partie dû à la localisation histologique des composés aromatiques dans le végétal. Cependant,

la HEA n'est pas formée dans la plante elle-même, mais elle est produite par hydrolyse de certains composés présents dans la plante (Evans, 2009). Ces composés sont les cystéines sulfoxydes (CSs) cytosoliques principalement l'alliine et l'enzyme alliinase vacuolaire. Ce qui confirme que les sites de l'HE sont endogènes. De ce fait, ils ont une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation, c'est-à-dire sur les mécanismes successifs mis en jeu, et par conséquent sur la durée. Dans ce cas, ces structures doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur du tissu végétal avant d'entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur (El kalamouni, 2010). En revanche ces barrières sont vite rompues sous l'effet d'ultrasons et les huiles sont aussitôt évaporées. De plus, cette technologie peut améliorer les interactions enzyme-substrat, facilitant ainsi l'interaction entre l'alliinase et l'alliine.

Dans le cas de la Sono-extraction, la courbe de cinétique a montré l'existence de trois phases. Une première phase rapide où un pourcentage de La HE de 83,3% est récupéré pendant 15min, suivie d'une phase de ralentissement qui correspond à un épuisement de la plante de son HE pour amener à un palier constant, indiquant la fin de l'extraction. Bien que le procédé US-HD fût plus efficace dans le temps que l'Hydrodistillation conventionnelle (HD), leurs courbes cinétiques avaient le même profil. Chacune a commencé par une phase d'accélération suivie, d'une augmentation progressive où un maximum de l'huile a été extrait, d'une phase de ralentissement et enfin la dernière phase où un rendement maximum possible est atteint.

L'analyse des résultats montre également que la SHD est trois fois plus rapide que l'HD conventionnelle. Les mêmes observations ont été tirées lors d'une étude similaire sur les écorces d'orange fraîches menée par Pingret et al.(2014) qui ont trouvé que la Sono-Hydrodistillation réduisait le temps d'extraction 4 fois moins que la technique conventionnelle. Ces résultats illustrent l'efficacité élevée de l'utilisation de l'ultrason dans l'extraction de divers matériaux végétaux ; cette technique offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps (Mason et al., 2011).

Egalement, plusieurs études sur d'autres végétaux ont confirmé que l'extraction assistée par ultrasons utilise les ondes ultrasonores comme force motrice dans le processus d'extraction, améliorant le taux d'extraction en augmentant le transfert de masse et en rompant les structures cellulaires dues à la formation de microcavités conduisant à une efficacité d'extraction supérieure (Koubaa et al., 2016; Roselló-Soto et al., 2016; Shirsath et al., 2012).



### 3.1.2. Composition chimique

Les HEs récupérées par les trois procédés d'extraction avaient des caractéristiques organoleptiques similaires avec un aspect liquide mobile, une couleur jaune et une odeur puissante, forte et piquante. Les composants identifiés, leurs pourcentages et leurs indices de rétention calculés (RI) de ces HEs analysées par spectrométrie de masse (GC-MS) sont répertoriés dans le [tableau 9](#).

L'analyse par GC-MS a permis d'identifier dix-neuf constituants de la composition chimique correspondant respectivement aux 87,47%, 80,93 et 78,74% des trois procédés d'extraction étudiés (HD, US-HD, SHD).

Elle a révélé également la présence de trois principaux groupes, caractéristiques de la HEA; les diallyles sulfides, les méthyls allyl sulfides et les ditiines de vinyle cycliques avec des composants majoritaires qui sont respectivement pour HD, US-HD et SHD : le diallyle disulfide (38,37%, 36,26% et 33,35%), le diallyle trisulfide (29,96%, 26,37% et 23,5%) et le Méthyl allyl trisulfide (8,2%, 8,67% et 11,67%).

Globalement, ces profils sont qualitativement similaires à ceux rapportés dans différentes études ([Kimbaris et al., 2006](#) et [Mnayer et al., 2014](#)). Les différences quantitatives observées entre les différentes études sont attribuées à plusieurs facteurs principalement l'origine, les conditions de production du matériel végétal sans négliger l'effet de la méthode d'extraction.

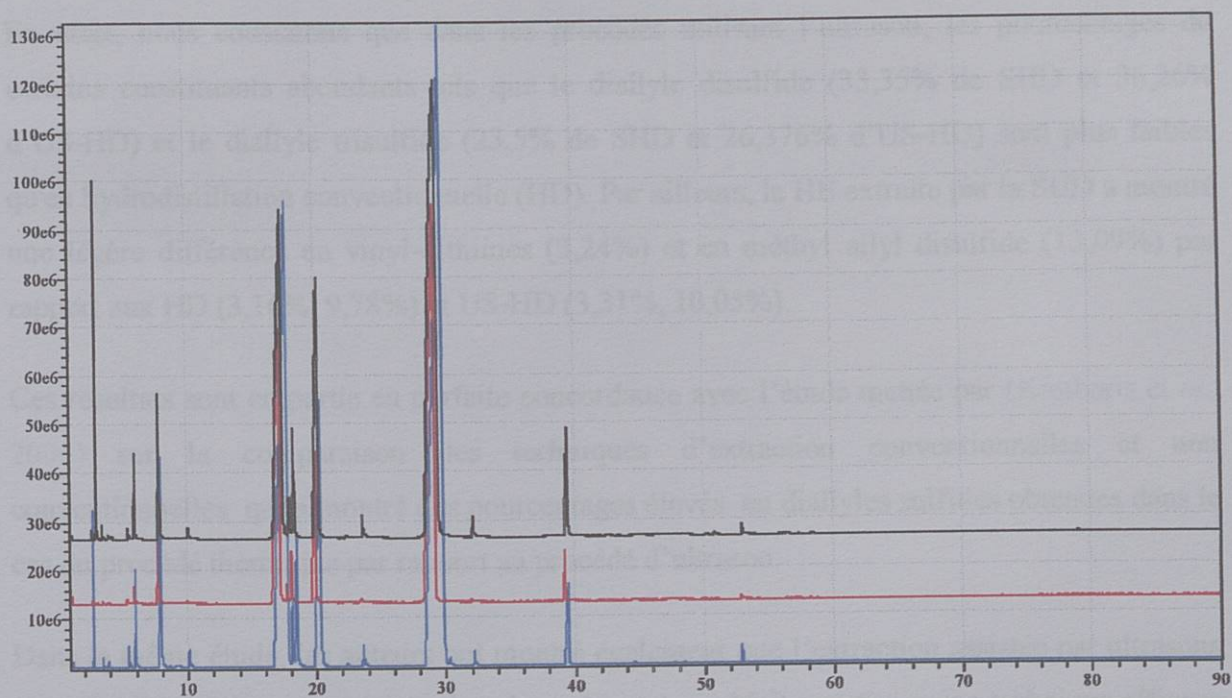
Bien que la comparaison représentée dans le chromatogramme ([Figure 20](#)), des HEs récupérées via les trois procédés, ait clairement montré une similitude sur une base qualitative, leurs quantités varient plus ou moins selon la technique d'extraction utilisée.

**Tableau 9.** Composition chimique des huiles essentielles des bulbes d'ail frais obtenues *via* les trois procédés d'extraction

Composants <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	HD(%)	US-HD(%)	SHD(%)
Propylene sulfide	642	0,03	0,02	0,03
Methyl allyl Sulfide (MAS)	685	0,39	0,16	0,14
Dimethyl disulfide(DMDS)	778	0,41	0,5	0,89
Diallyl sulfide (DS)	784	3,5	2,1	2,73
Thiophene, 2,4 dimethyl	874	0,02	0,03	0,04
1.3Dithiane	890	0,14	0,15	0,05
Methyl allyl ,disulfide (MADS)	918	1,19	1,22	1,28
Dimethyl trisulfide (DMTS)	947	0,32	0,58	0,23
Diallyl disulfide (DDS)	1111	38,37	36,26	33,35
Methyl allyl trisulfide (MASTS)	1116	8,2	8,67	11,67
3-Vinyl-3,6- dihydro -1,2- dithiine	1176	1,14	1,25	1,22
3-Vinyl-3,4- dihydro -1,2- dithiine	1201	2,02	2,06	2,02
Diallyl trisulfide(DATS)	1207	29,96	26,37	23,5
Diallyl tetrasulphide (DATTS)	1481	1,78	1,56	1,59
Total		87,47	80,93	78,74
<b>Rendement (g HE/100g d'ail)</b>		<b>1,02</b>	<b>1,02</b>	<b>1,02</b>
<i>Diallyle sulfides (mono, di, tri and tetra)</i>		73,61	66,29	61,17
<i>Methyl allyl sulfides (di and tri)</i>		9,78	10,05	13,09
<i>Vinyl dithiins</i>		3,16	3,31	3,24

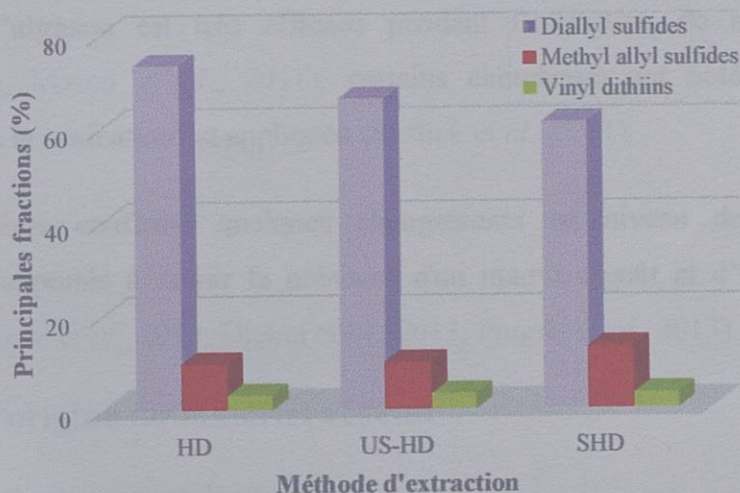
<sup>a</sup>Composants listées dans l'ordre de leur élution pour la colonne SE30

<sup>b</sup> indices de rétention relative de C<sub>6</sub>-C<sub>28</sub> n-alcanes calculés sur la colonne SE30.



**Figure 20.** Chromatogramme comparatif de la composition chimique de l'huile essentielle des bulbes frais d'ail via les trois procédés d'extraction (HD: noir, US-HD: rouge, SHD: bleu)

Comme le montre la **Figure 21**, la HEA extraite par hydrodistillation conventionnelle est riche en fraction des diallyles sulfides (73,61%) suivie d'Hydrodistillation assistée par ultrasons (66,9%) et de la Sono- Hydrodistillation (61,17%).



**Figure 21.** Principales fractions de l'huile essentielle récupérée via trois procédés d'extraction (HD:Hydrodistillation, US-HD: Hydrodistillation assistée par ultrasons, SHD: Sono- Hydrodistillation).

En effet, nous constatons que dans les procédés utilisant l'ultrason, les pourcentages de certains constituants abondants tels que le diallyle disulfide (33,35% de SHD et 36,26% d'US-HD) et le diallyle trisulfide (23,5% de SHD et 26,376% d'US-HD) sont plus faibles qu'en hydrodistillation conventionnelle (HD). Par ailleurs, la HE extraite par la SHD a montré une légère différence en vinyl-dithiines (3,24%) et en méthyl allyl disulfide (13,09%) par rapport aux HD (3,16%, 9,78%) et US-HD (3,31%, 10,05%).

Ces résultats sont en partie en parfaite concordance avec l'étude menée par (Kimbaris et al., 2006) sur la comparaison des techniques d'extraction conventionnelles et non conventionnelles qui a montré des pourcentages élevés en diallyles sulfides obtenues dans le cas du procédé thermique par rapport au procédé d'ultrason.

Dans la même étude, les auteurs ont montré également que l'extraction assistée par ultrasons (35 kHz, 25 ° C pendant 30 min dans les solvants) semblait constituer une technique efficace d'extraction de composés thermolabiles, en particulier les vinyl-dithiines dans la HEA par rapport aux procédés thermiques ; la distillation classique et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes. Ce qui indique l'effet destructeur de la chaleur sur ce composé (Kimbaris et al., 2006). Également l'étude de (Dethier et al., 2013) sur l'utilisation des ultrasons pour extraire les vinyl-dithiins de l'huile d'ail, a trouvé que ces derniers sont en concentrations élevées (environ 3 fois) par rapport aux extractions conventionnelles.

Malgré que la littérature rapporte des informations de base remarquables suggérant que l'utilisation de l'ultrason est très efficace pendant l'extraction de matières végétales (Langevin, 1920 ; Mason et al., 2011), certains chercheurs ont noté une dégradation éventuelle lorsque la sonication est appliquée (Suslick et al., 2011).

D'autres ont même confirmé quelques changements au niveau des caractéristiques organoleptiques rapportés à savoir la présence d'un mauvais goût et d'une odeur rance / métallique (Adekunte et al., 2010; Djenni et al., 2013; Pingret et al., 2013).

## 3.2. Effet de l'origine du matériel végétal

### 3.2.1. Caractérisation organoleptique

Les HEs ont des propriétés communes comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînés à la vapeur d'eau. Les caractéristiques organoleptiques perceptibles par les organes des sens : l'aspect, la couleur, l'odeur d'une HE sont d'une grande

importance afin d'apprécier la qualité, et émettre un avis, tant sur le plan économique que scientifique.

Les résultats exprimés dans le [tableau 10](#) montrent que les HEs des différentes régions avaient des propriétés organoleptiques communes. Elles avaient un aspect liquide mobile, une couleur jaune et une odeur puissante et piquante. A l'exception de l'HE de la BFM où la couleur était légèrement orangée.

**Tableau 10.** Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des différentes régions.

	<b>BFB</b>	<b>BFM</b>	<b>BFA</b>
<b>Aspect</b>	Liquide mobile	Liquide mobile	Liquide mobile
<b>Couleur</b>	Jaune claire	Jaune légèrement foncée (orangée)	Jaune claire
<b>Odeur</b>	Forte et piquante	Forte et piquante	Forte et piquante

D'après la littérature, que ce soit les extraits ou les HEs des espèces d'*Allium*, tous les deux ont des caractéristiques organoleptiques similaires à celles trouvées dans notre étude. [Najaa et al. \(2007\)](#) et [Dziri et al. \(2012\)](#) travaillant sur la valorisation d'une plante aromatique et médicinale de la flore tunisienne ; *A.roseum* var. *odoratissimum* ont signalé que son huile avait une couleur jaune pâle et d'odeur forte et piquante. [Sakka Rouis-Soussi et al. \(2014\)](#) travaillant sur une autre variété *A. roseum* var. *grandiflorum* subvar. *typicum* Regel, ont révélé aussi les mêmes caractéristiques. En revanche, [Süfer et Bozok \(2019\)](#) ont clairement signalé dans leur étude que la couleur de l'huile essentielle d'*A. sativum* était jaune foncée et dégageait une odeur caractéristique et influente d'ail.

### 3.2.2. Caractérisation physique

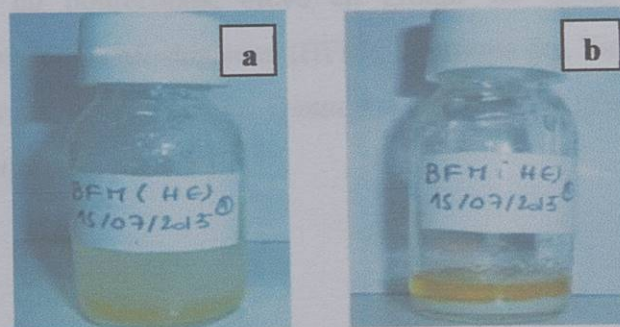
Bien que les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes ; elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche, elles le sont dans les solvants organiques et les huiles végétales, elles se différencient entre elles par des constantes physiques.

A partir des valeurs de densité relative exprimées dans le [tableau 11](#), nous remarquons que toutes les huiles extraites sont plus lourdes que l'eau avec des densités supérieures à 1. Cet aspect physique de l'huile a été remarqué lors de l'extraction d'où la difficulté de séparer

l'huile de la phase aqueuse. De plus au moment de la décantation cette huile a été immergée au fond du flacon (Figure 22).

**Tableau 11.** Les caractéristiques physiques des huiles essentielles des différentes régions.

	BFB	BFM	BFA
Densité relative	1,087	1,068	1,064
Indice de réfraction à 20°C	1,6980	1,5864	1,5806



**Figure 22.** Photographies de l'HE de BFM décantée (a) et séchée (b)

Nous notons également des indices de réfraction variant de 1,5806 à 1,6980. Celui de l'HE de la région de Bellezma semble être le plus élevée. Pour l'ensemble des HEs des différentes régions, leur indices sont supérieurs à ceux de l'eau à 20 °C = 1.3356.

Les variations de la densité relative ainsi que l'indice de réfraction des HEs des différentes régions reportées dans le tableau ci-dessus montrent que cela fait partie de la complexité de la notion de chémotype.

### 3.2.3. Rendement et caractérisation chimique

Les rendements, les constituants chimiques, leur pourcentage relatif de la surface totale du chromatogramme et l'indice de rétention de l'huile essentielle extraite des bulbes d'ail de différentes régions sont présentés dans le [tableau 12](#). Les rendements enregistrés sont de 1,23 (gHE/100g de d'ail), 1,03(gHE/100g de d'ail) et 0,94(gHE/100g de d'ail) respectivement aux

trois régions BFB, BFM et BFA. Ces rendements approximativement sont proches de ceux trouvés dans l'étude d'Antony *et al.* (2019) qui varient entre 0.6 et 1(gHE/100g de d'ail).

L'analyse par GC-MS de l'HE a identifié 23 composants pour chaque HE à savoir BFB, BFM et BFA représentant respectivement des pourcentages de  $93,99 \pm 2,96$ ,  $96,20 \pm 4,19$  et  $92,47 \pm 2,17$  de l'HE totale. Les principaux composants sont le diallyle trisulfide ,diallyle disulfide, , le méthyl allyl trisulfide , le diallyle tétrasulfide, 3-Vinyl-3,4- dihydro -1,2- dithiine, 3-Vinyl-3,6- dihydro -1,2- dithiine, le méthyl allyl trisulfide et 2-vinyl-1,3- dithiane.

Comme c'est bien montré dans le tableau ci-dessous, l'HE de BFB est distinguée par rapport aux autres huiles par un pourcentage élevé en groupe de Diallyl sulfides (62,07%). Concernant l'HE de la région de Mostaganem (BFM), le groupe des Vinyl-Dithiins est le plus important avec un pourcentage de 7,92%. Quant à l'HE de BFA s'est différenciée par le groupe de methyl allyl sulfides (18,47%).

**Tableau 12.** Composition chimique des HEs des bulbes d'ail frais obtenues des trois régions.

Composants <sup>a</sup>	IR <sup>b</sup>	BFB	BFM	BFA
Thiiranemethyl (propylenesulfide)	641	0,04±0,00	0,44±0,08	0,12±0,02
Trimethylene sulfide	659	0,03±0,01	0,09±0,02	0,09±0,02
Methyl allyl Sulfide (MAS)	778	0,33±0,03	0,66±0,05	0,86±0,22
Dimethyl disulfide(DMDS)	784	0,22±0,01	0,05±0,01	0,43±0,06
4Pental, 2-methylene	787	0,09±0,00	0,02±0,01	0,05±0,00
1,2-Dithiacyclopentane	823	0,46±0,05	0,58±0,18	0,37±0,07
Diallyl sulfide (DS)	874	1,55±0,08	4,40±0,04	4,48±0,08
Thiophene, 2,4 dimethyl	918	0,02±0,00	0,13±0,01	0,09±0,01
1.3Dithiane	948	2,20±0,51	2,19±0,07	3,17±0,12
Methyl allyl disulfide (MADS)	929	0,21±0,00	0,09±0,02	0,14±0,02
Disulfide, methyl 1- propenyl	947	0,40±0,01	0,55±0,10	0,83±0,01
Dimethyl trisulfide(DMTS)	989	1,11±0,05	3,01±0,26	2,15±0,06
Diallyl disulfide (DDS)	1108	24,57±0,31	29,69±0,63	19,86±0,25
2-vinyl-1,3- dithiane	1115	2,28±0,08	2,55±0,18	1,28±0,07
Methyl allyl trisulfide(MATS)	1159	12,66±0,40	14,44±0,37	15,91±0,44
1,3,5 Thritiane	1165	0,35±0,03	0,38±0,04	0,19±0,05
3-Vinyl-3,6- dihydro -1,2- dithiine	1200	3,03±0,30	3,24±0,23	2,45±0,15
Disulfide, dipentyl	1207	1,13±0,16	0,09±0,03	1,76±0,07
3-Vinyl-3,4- dihydro -1,2- dithiine	1228	4,85±0,38	4,68±0,26	3,95±0,10
Diallyl trisulfide (DATS)	1329	29,44±0,04	21,14±0,90	26,78±0,03
Di-1- propenyl trisulfide	1368	1,13±0,23	1,06±0,02	1,59±0,15
Methyl allyl tetrasulfide	1393	1,41±0,09	1,30±0,15	1,56±0,02
Diallyl tetrasulfide (DATTS)	1558	6,51±0,19	5,41±0,54	4,37±0,14
<b>Total</b>		<b>93,99±2,96</b>	<b>96,20±4,19</b>	<b>92,47±2,17</b>
<b>Rendement (gHE/100g de d'ail)</b>		<b>1,23</b>	<b>1,03</b>	<b>0,94</b>
<i>Diallyle sulfides (mono, di, tri and tetra)</i>		<b>62,07</b>	<b>60,64</b>	<b>55,49</b>
<i>Methyl allyl sulfides (di and tri)</i>		<b>14,61</b>	<b>16,49</b>	<b>18,47</b>
<i>Vinyl dithiins</i>		<b>7,88</b>	<b>7,92</b>	<b>6,40</b>

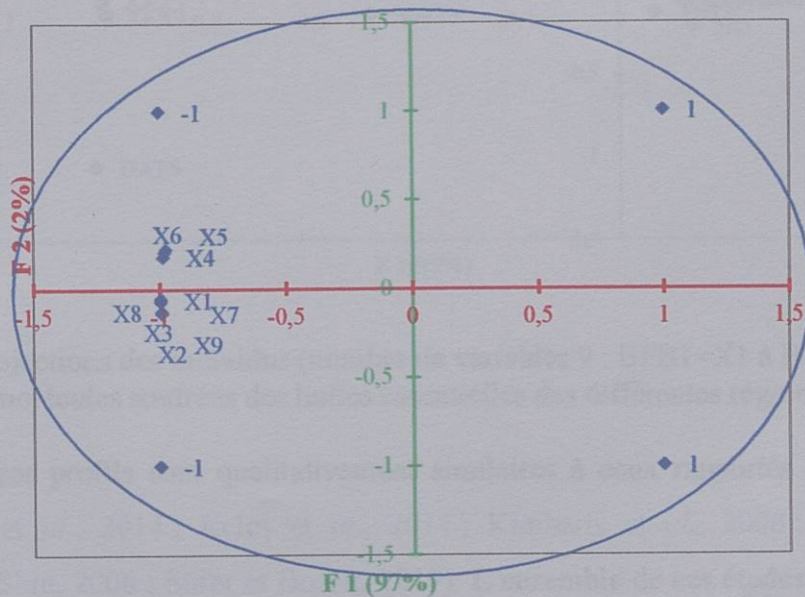
<sup>a</sup> Composants listées dans l'ordre de leur élution pour la colonne TR-5MS

<sup>b</sup> indices de rétention relative de C<sub>6</sub>-C<sub>28</sub> n-alcanes calculés sur la colonne TR-5MS.



Cependant dans le but de pouvoir différencier les trois HEs récupérées des bulbes cultivés de trois régions différentes (BFB, BFM, BFA), nous avons opté pour l'Analyse en Composantes Principales (ACP). Celle-ci est une méthode descriptive. Elle sert à observer l'homogénéité ou l'hétérogénéité des individus tout en classant les échantillons étudiés dans des espaces de dimensions plus réduites.

Dans notre étude, les variables sont les trois HEs des différentes régions avec chacune trois essais (trois répétitions) ; BFB(X1, X2, X3), BFM(X4, X5, X6), BFA(X7, X8, X9). Nous tirons de la **figure 23**, représentant le cercle des corrélations des variables des HEs (**Annexe1**), que la totalité de l'information est véhiculée sur l'axe 1 (97%) suivi de l'axe 2 (2%). Nous constatons que l'axe F1 est corrélé négativement avec les neuf variables (BFB : X1, X2, X3, BFM : X4, X5, X6 et BFA : X7, X8, X9). Tandis que l'axe F2 est corrélé positivement avec les variables de BFM (X4, X5, X6) et négativement avec le reste des variables de BFB et BFA.

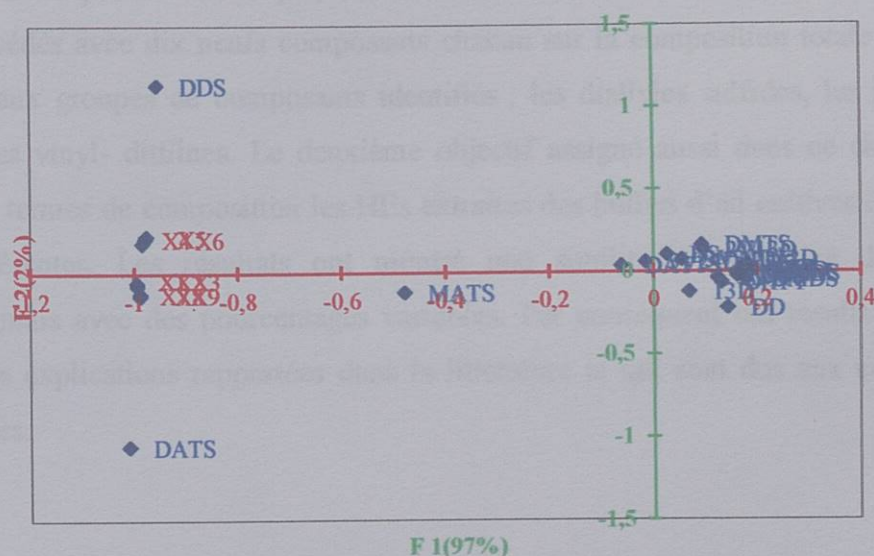


**Figure 23.** Cercles des corrélations des variables des huiles essentielles des différentes régions (nombre de variables 9 : BFB1=X1 à BFA3=X9)

De même, l'analyse de la **figure 24** qui représente la projection des échantillons ou des individus (BFB1=X1 à BFA3=X9) et des molécules soufrées analysées par GC-MS (PS, TS, MAS,...) dans le système d'axes axe1/axe2, montre que les échantillons BFB (X1, X2, X3), BFM(X4, X5, X6), BFA(X7, X8, X9), reproduits 3 fois, sont bien pratiquement superposés.

Ces échantillons sont à gauche de l'axe F1, de même que les trois molécules soufrées (DATS, DDS, et MATS). C'est parce que les valeurs GC-MS de ces trois sont très élevées. Elles sont entre 15% et 30% pour BFB, BFM et BFA. Elles sont bien plus importantes que pour les autres qui sont entre 0% et 5%.

Nous déduisons également de cette figure que la seule différence entre BFB (X1, X2, X3), BFM(X4, X5, X6), BFA(X7, X8, X9) est visible sur l'axe F2. En effet, BFM a des valeurs par GC-MS plus élevées en DDS (30%) que BFB (25%) et BFA (20%), et a des valeurs moins élevées en DATS (22%) que BFB (29%) et BFA (26%).



**Figure 24.** Projections des individus (nombre de variables 9 : BFB1=X1 à BFA3=X9) et les molécules soufrées des huiles essentielles des différentes régions.

Globalement, ces profils sont qualitativement similaires à ceux rapportés dans différentes études (Dziri *et al.*, 2014 ; Keleş *et al.*, 2014 ; Kimbaris *et al.*, 2006 ; Mnayer *et al.*, 2014 ; Pyun et Shin, 2006 ; Süfer et Bozok, 2019). L'ensemble de ces études montrent que la majorité des composants identifiés sont des soufrés et que le diallyle disulfide et le diallyle trisulfide sont les deux composés majeurs. Toutefois, les différences quantitatives observées entre les différentes études sont attribuées à plusieurs facteurs principalement l'origine, les conditions de production du matériel végétal sans négliger l'effet de la méthode d'extraction.

## 4. Conclusion

Ce chapitre avait comme objectif principal de comparer les HEs (*A. sativum* L), extraites par un procédé conventionnel et deux procédés utilisant l'ultrason (assisté ou couplé) en termes de composition chimique. Elle a permis de montrer que l'extraction de la HE à partir des bulbes d'ail par la combinaison de l'ultrason et de la distillation de Clevenger ; Sono-Hydrodistillation (SHD) a facilité la libération de l'huile extraite sous l'effet de cavitation, avec succès, dans un temps d'extraction réduit (4 fois moins que la HD) tout en fournissant un rendement comparable à celui obtenu par hydrodistillation conventionnelle (HD). Concernant la composition chimique, cette étude a montré des similitudes qualitatives entre les trois procédés avec dix-neufs composants chacun sur la composition totale de l'huile et trois principaux groupes de composants identifiés ; les diallyles sulfides, les méthyls allyl sulfides et les vinyl- ditiines. Le deuxième objectif assigné aussi dans ce chapitre est de comparer en termes de composition les HEs extraites des bulbes d'ail cultivés dans des trois régions différentes. Les résultats ont montré une similitude qualitative des différents composants mais avec des pourcentages variables. Par conséquent ces résultats sont venus confirmer les explications rapportées dans la littérature et qui sont dus aux conditions éco géographiques.

## Chapitre III

---

# Activités Antibactérienne et Antifongique de l'Huile Essentielle des Bulbes d'*A.sativum* L

### 1. Introduction

L'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques est de plus en plus importante. Elle est devenue un phénomène biologique que la médecine a du mal à faire disparaître surtout qu'une meilleure utilisation des antibiotiques ne pourra que ralentir l'extension des résistances. Ce qui fait que la découverte de nouvelles molécules actives reste une nécessité.

Cependant, les huiles essentielles présentent une très grande richesse de molécules, tant en nombre qu'en variété. Leur criblage permettrait de découvrir de nouveaux antibactériens, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces.

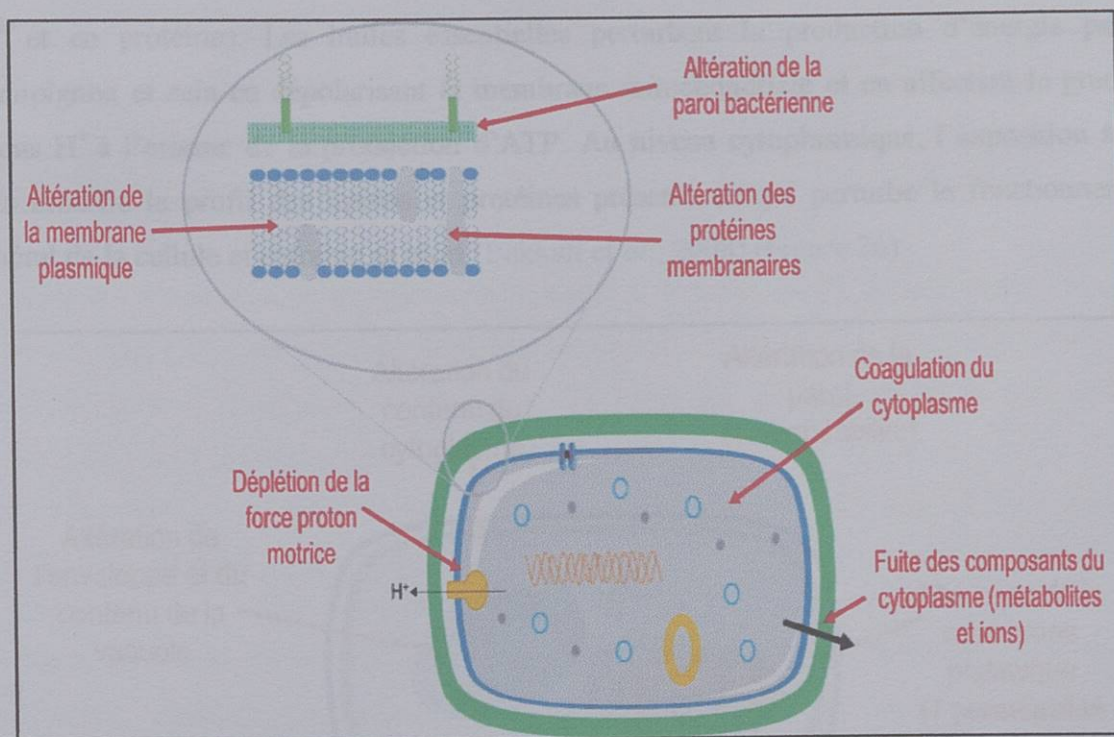
La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Boyle, 1955). Depuis, leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques (Fisher et Phillips, 2008).

Bien que l'étude des propriétés antimicrobiennes des HEs et de leurs composants remonte à un temps plus loin, le mécanisme d'action n'est pas encore clairement élucidé. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (Burt, 2004 ; Kalemba et Kunicka, 2003). Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Quoique quelques exceptions sont citées dans la littérature (Dorman et Deans, 2000 ; Wan *et al.*, 1998 ). Les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire. Étant rigide, riche en LPS et plus complexe, les molécules aromatiques des HEs ont plus de difficulté à la traverser (Burt, 2004).

Compte tenu du grand nombre de groupes de composés chimiques présents dans les HEs, l'activité antibactérienne n'est probablement pas attribuable à un mécanisme spécifique, mais à une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant plusieurs cibles cellulaires (Burt, 2004 ; Carson *et al.*, 2002 ; Skandamis *et al.*, 2001)(Figure 25).

Une caractéristique importante des HEs et de leurs composants est leur caractère hydrophobe. Ce caractère permet leur répartition dans les lipides de la membrane cellulaire bactérienne, ce qui provoque une perméabilisation de la membrane et perturbe son fonctionnement en la rendant perméable aux protons et à divers ions, et inhibant la production d'ATP (Knobloch *et al.*, 1986; Sikkema *et al.*, 1994). Ces changements entraînent des fuites d'ions et d'autres contenus cellulaires (Carson *et al.*, 2002; Skandamis *et al.*, 2001 ; Ultee *et al.*, 2002).

Toutefois, une perte massive du contenu cellulaire ou la sortie de molécules et d'ions nécessaires à la survie de la bactérie entraînera la mort de celle-ci (Denyer et Hugo, 1991). Des dommages cytoplasmiques peuvent aussi survenir par les composés volatils des HEs en déclenchant une coagulation du cytoplasme et endommageant les protéines et lipides qu'il contient (Burt, 2004).



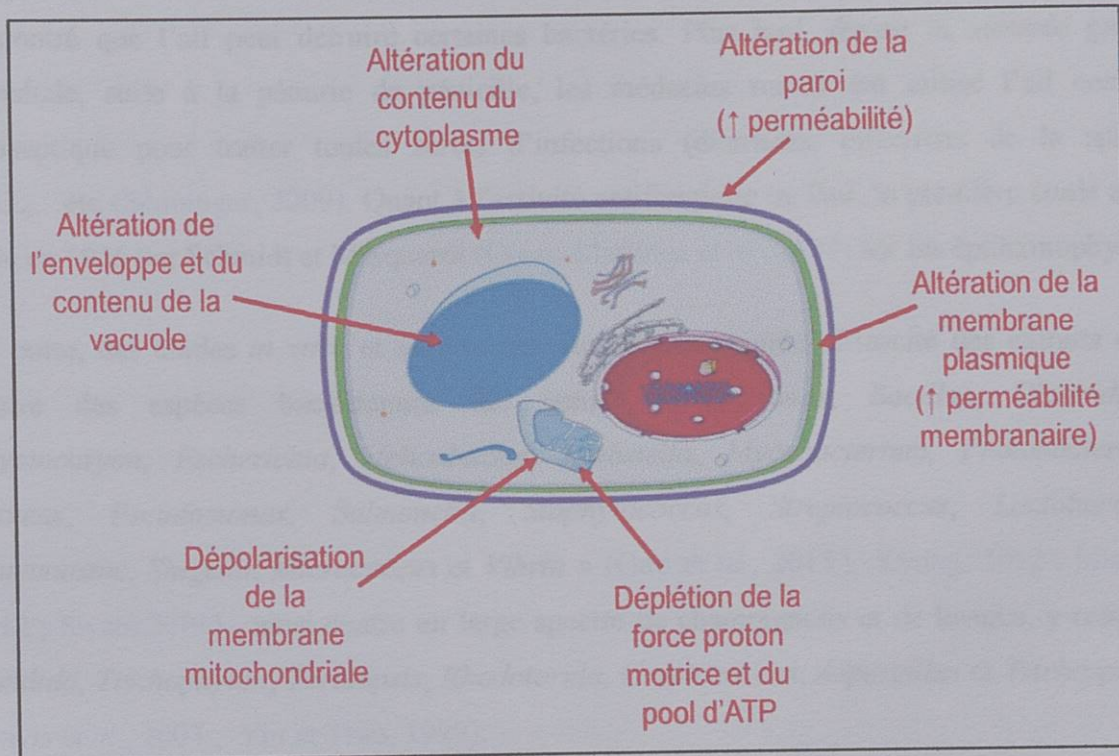
**Figure 25 . Mécanismes d'action des huiles essentielles sur les bactéries**  
<https://laboratoiredumani.fr/le-mode-daction-des-huiles-essentielles-sur-les-bacteries>

Aussi, les infections fongiques ont considérablement augmenté et leurs agents étiologiques se sont diversifiés ces dernières années, en grande partie à cause du nombre croissant de patients aux défenses amoindries par une maladie ou son traitement (cancer, infection VIH, transplantation d'organes, traitement par corticoïdes ou immunosuppresseurs) (Groll *et al.*, 1996 ; Marchetti *et al.*, 2004).

Ces infections appelées mycoses, sont des infections provoquées par différents types de champignons microscopiques. Parmi les champignons fréquemment impliqués dans les mycoses humaines, on trouve principalement : les levures et les champignons dits filamenteux dont les dermatophytes et les aspergillus. Ces infections sont surtout fréquentes sur la peau, les cheveux, les ongles, les muqueuses et les organes génitaux, connues sous le nom des mycoses superficielles.

À eux aussi, la présence de nombreuses souches pharmaco-résistantes limite l'efficacité des antifongiques et complique le rôle de la médecine. Comme pour la cellule bactérienne, les HEs agissent principalement au niveau de la membrane et la paroi cellulaire des champignons. Elles changent la fluidité des membranes qui deviennent anormalement perméables ce qui conduit à une déplétion du cytoplasme en radicaux, cytochromes, ions

Ca<sup>2+</sup> et en protéines. Les huiles essentielles perturbent la production d'énergie par le champignon et cela en dépolarisant la membrane mitochondriale et en affectant le gradient d'ions H<sup>+</sup> à l'origine de la production d'ATP. Au niveau cytoplasmique, l'exposition à des HEs modifie le profil des lipides et protéines présents ce qui perturbe le fonctionnement général de la cellule et entraîne sa mort (Bakkali *et al.*, 2008) (Figure 26).



**Figure 26.** Mécanismes d'actions des Huiles essentielles sur les cellules fongiques

(<https://laboratoiredumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/>).

Que soient bactéries ou champignons, en plus de l'implication de ces micro-organismes dans les problèmes médicaux, ces derniers revêtent une importance particulière pour l'industrie alimentaire particulièrement la conservation des aliments. Ils sont capables de croître et de causer la détérioration de nombreux produits conservés.

En raison des effets potentiellement nocifs des conservateurs et d'autres additifs alimentaires sur la santé humaine, les producteurs de l'industrie alimentaire sont confrontés à des demandes de réduction ou de remplacement de ces composés en faveur d'agents antimicrobiens d'origine naturelle.

Aujourd'hui, l'intérêt croissant pour les produits naturels tels que les extraits d'herbes et les huiles essentielles a suscité une attention considérable en tant qu'alternative aux

conservateurs. Et ce en raison de leur disponibilité, moins d'effets secondaires ou de toxicité ainsi qu'une meilleure biodégradabilité par rapport aux antibiotiques et aux conservateurs disponibles. *A.sativum* L est l'une des herbes les plus cultivées, utilisée comme ingrédient alimentaire et à des fins médicinales.

La première étude à effet antibactérien remonte à l'année 1858, quand Louis Pasteur a démontré que l'ail peut détruire certaines bactéries. Plus tard, durant la seconde guerre mondiale, suite à la pénurie de pénicille, les médecins russes ont utilisé l'ail comme antiseptique pour traiter toutes sortes d'infections (diarrhées, infections de la sphère ORL,...etc (Senninger, 2009). Quant à l'activité antifongique de l'ail, la première étude a été faite en 1936 par Schmidt et Marquardt (Corzo-Martinez et al., 2007) sur les épidermophytes.

En outre, des études *in vitro* et *in vivo* ont montré une grande efficacité des extraits d'ail contre des espèces bactériennes des genres « *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Cryptocaryon*, *Escherichia*, *Helicobacter*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Shigella*, *Micrococcus* et *Vibrio* » (Guo et al., 2015 ; Kyung, 2012 ; Minker, 2012 ; Sivam,2001) , ainsi contre un large spectre de champignons et de levures, y compris *Candida*, *Trichophyton*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* et *Trichosporon* (Davis et al., 2003 ; Yin et Tsao, 1999).

Que ce soit pour l'activité antibactérienne ou antifongique, les principaux composés actifs de l'ail sont les composés soufrés notamment l'allicine et ses produits de dégradation tels que les sulfides de diallyle (Lanzotti et al., 2012).

Comparativement à la littérature abondante des activités antimicrobiennes des extraits d'*A.sativum*, peu a été fait sur son huile essentielle. Et ceci est probablement dû à la difficulté de l'extraire d'une part et d'autre part à sa concentration en composants soufrés ce qui génère une odeur très forte et piquante.

Dans ce chapitre, nous étudierons l'effet de l'huile essentielle extraite des bulbes d'ail sur un groupe de souches bactériennes et fongiques. L'activité antibactérienne sera évaluée par la méthode de diffusion sur disque en déterminant le diamètre d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice sera effectuée sur un milieu gélosé *via* le dispositif de Stéers. Pour l'activité antifongique, une série de dilution de l'HE testée sera effectuée et le pourcentage



d'inhibition de la croissance par rapport au témoin sera déterminé après un ensemencement d'un milieu gélosé par les différentes dilutions.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Milieux de culture et produits chimiques

Gélose d'infusion de cœur et de cerveau (BHI), milieu gélosé de Mueller Hinton (MH), Gélose nutritive (GN), Milieu Sabouraud additionné de chloramphénicol (CONDA®), les disques d'antibiotiques (Gentamycine (CN), érythromycine (E ), Ciprofloxacine (Cipro)), eau physiologique 8,5% stérile, le sulfoxyde de diméthyle (DMSO) et l'HE extraite par Hydrodistillation des bulbes d'*A. sativum* L récoltés des plaines de Bellezma à l'est de l'Algérie en 2014.

### 2.2. Activité antibactérienne

#### 2.2.1. Souches testées

Les souches bactériennes testées proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA) et du Laboratoire Centrale de l'Intendance (LCI). Les souches appartiennent au groupe Gram (+) sont : *Enterococcus faecalis* (LCL) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (IPA). Celles du Gram (-) sont : *E.coli* (ATCC 25922) (IPA), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)(IPA), *Shigella flexnerii* (IPA), *Salmonella Heidelberg* (IPA), *Salmonella Manhattan* (IPA). Avant d'être utilisées, la pureté de ces souches a été parfaitement vérifiée au laboratoire des Entérobactéries d'IPA où tout le travail a été effectué. Commencant par plusieurs ensemencements sur la gélose nutritive (GN) suivi d'une coloration de Gram ainsi d'une caractérisation de leurs profils biochimiques.

#### 2.2.2. Test antibactérien *in vitro*

L'évaluation de l'activité antibactérienne est faite par la méthode de diffusion en milieu gélosé, appelée également méthode de diffusion par disque, selon les recommandations de l'Institut des normes du laboratoire clinique (CLSI, de l'anglais *Clinical and Laboratory Standards Institute*) (CLSI, 2009).

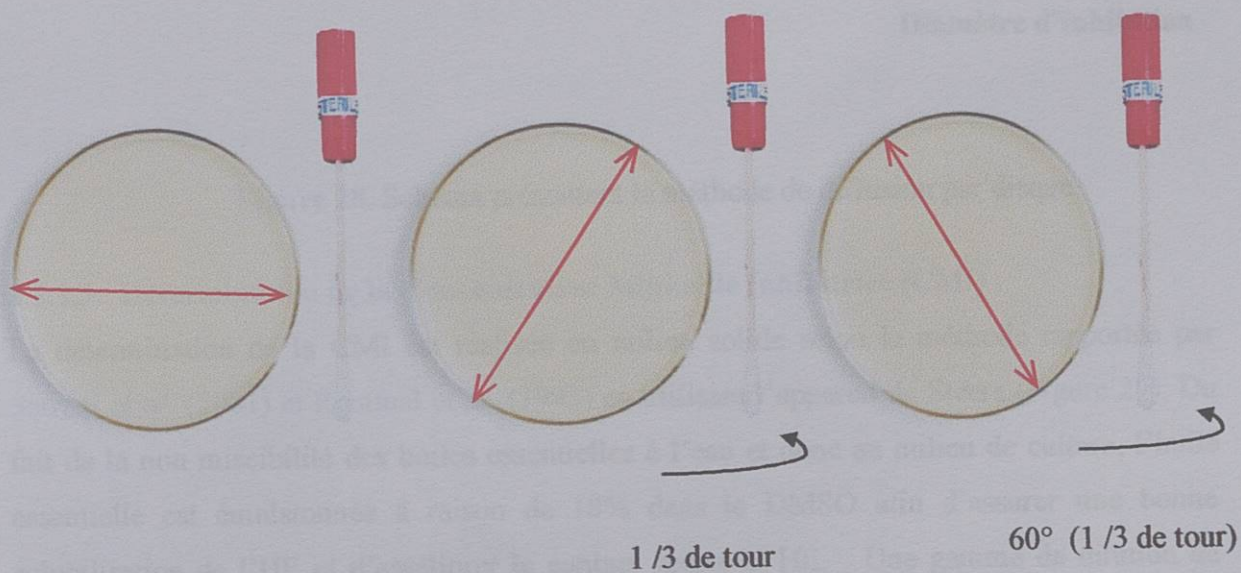
##### 2.2.2.1. Préparation de l'inoculum

Chaque culture est ensemencée en stries sur la gélose d'infusion de cœur et de cerveau (BHI, de l'anglais *Brain Heart Infusion*) non sélectif et incubée une nuit (18-24h) à une température

de 37°C. 4 à 5 colonies bien isolées sont transférées dans de l'eau physiologique stérile 0,85%. La turbidité de la suspension est ensuite ajustée au standard Mc Farland 0,5 ( $\sim 10^8$  UFC/ mL) en utilisant un densitomètre de marque *DENSIMAT*. Les suspensions bactériennes de McF0,5 des différentes souches sont diluées à 1/100 afin d'obtenir une concentration finale de ( $\sim 10^6$  UFC/ mL) et elles doivent obligatoirement être utilisées dans les 15 minutes suivant l'ajustement.

#### 2.2.2.2. Procédure d'inoculation et diffusion par disque

Dans le cas de la série des souches testées dans ce travail, le milieu recommandé est la Gélose Mueller- Hinton (MH). Les boites préalablement préparées et bien séchées sont ensemencées en stries serrées à l'aide d'un écouvillon trempé dans la suspension inoculum diluée et essoré. L'ensemencement se fait successivement en trois orientations décalées de 60°. La méthode dit technique d'écouvillonnage est schématisée dans la *figure 27*.

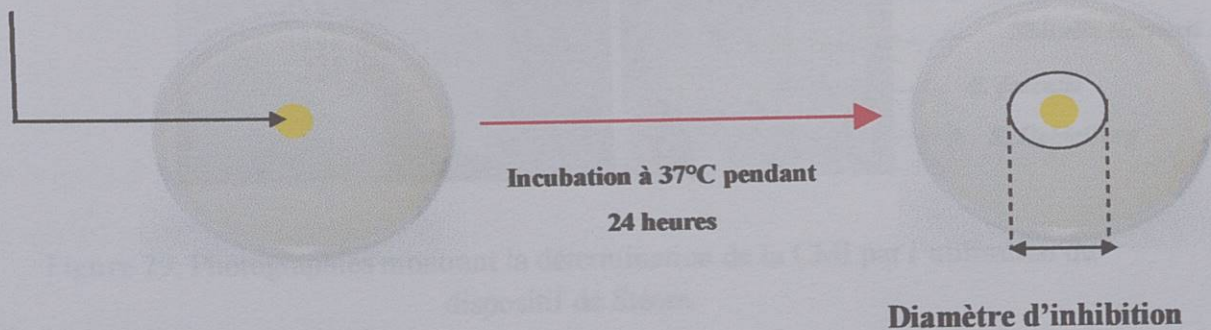


**Figure 27.** Schéma présentant la procédure d'inoculation.

Sur les boites de pétri préalablement écouvillonnées, des disques en papier Wattman n°4 de 6mm de diamètre stérilisés sont individuellement appliqués avec une pince stérile. Puis, ils sont imprégnés par 15 $\mu$ L de l'HE des bulbes d'ail. Les boites sont laissées une (1) heure à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 24 heures. L'érythromycine, la gentamicine et la Ciprofloxacine sont utilisés comme contrôle positif.

Après une incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure de la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer à l'aide d'un pied à coulisse. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle testée, est ainsi déterminé en millimètres, disque inclus (Figure 28). Pour chaque souche, le test est refait trois fois et les résultats sont présentés en moyenne d'écart type.

**Disque de papier  
imprégné d'HE**



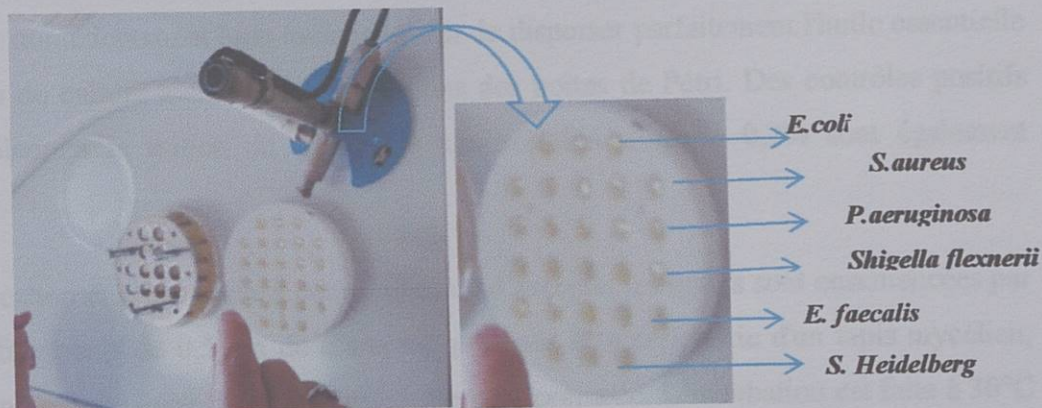
**Figure 28.** Schéma présentant la méthode de diffusion par disque.

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

La détermination de la CMI est réalisée en milieu solide selon la méthode rapportée par *Satrani et al. (2001)* et *Remmal et al. (1993)* en utilisant l'appareil de Stéers (Figure 29). Du fait de la non miscibilité des huiles essentielles à l'eau et donc au milieu de culture, l'huile essentielle est émulsionnée à raison de 10% dans le DMSO afin d'assurer une bonne solubilisation de l'HE et d'améliorer le contact germe et HE. Une gamme de dilution de 1/10<sup>e</sup>, 1/25<sup>e</sup>, 1/50<sup>e</sup>, 1/100<sup>e</sup>, 1/200<sup>e</sup>, 1/300<sup>e</sup>, 1/500<sup>e</sup>...1/1000<sup>e</sup> est préparée dans le DMSO. 1,5mL de chacune des dilutions de la gamme sont ajoutés dans des tubes stériles contenant 13,5 mL de milieu gélosé MH, maintenu en surfusion dans un bain thermostaté à 55°C. Des dilutions finales suivantes 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000, 1/5000...1/10000 sont obtenues.

La gamme de concentrations ainsi générée est comprise entre 20 et 0,2  $\mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$ . Après une agitation, le contenu de chaque tube est immédiatement versé dans une boîte de Pétri stérile. En parallèle, un inoculum standardisé à  $10^8 \text{ UFC}.\text{mL}^{-1}$  de chaque souche est préparé et déposé aseptiquement dans le dispositif. Des spots de  $2\mu\text{L}$  (soit  $10^5 \text{ UFC}$  par spot) sont déposés sur

les boîtes de Pétri préalablement préparées. Le DMSO est utilisée comme contrôle négatif. Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C. La CMI de l'huile essentielle est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance bactérienne.



**Figure 29.** Photographies montrant la détermination de la CMI par l'utilisation du dispositif de Stéers.

## 2.3. Activité antifongique

### 2.3.1. Souches testées

Les souches utilisées dans cette étude ont été gracieusement fournies par le Professeur P. Bouchara (Groupe d'Études des Interactions Hôte-Pathogène - Université d'Angers -France). L'analyse est effectuée au laboratoire de microbiologie pour la santé et l'environnement de l'université de Liban. Il s'agit d'un groupe d'*Aspergillus* (A) représenté par *A.nidulans* et *A. fumigatus*. Le deuxième groupe celui de dermatophytes composé essentiellement de trois genres ; le *Microsporum* (M) représenté par le *M. canis*, le genre *Trichophyton* (T) par *T.mentagrophyte*, *T. schonleinii*, *T. violaceum* et le genre *Epidermophyton* par *E. floccosum*. Ces souches sont cultivées sur le milieu Sabouraud gélosé pendant 7 jours à 30°C.

### 2.3.2. Test antifongique *in vitro*

Le test d'activité antifongique *in vitro* a été réalisé selon la méthode rapportée par [Hassane et al. \(2011\)](#) et [Wang et al. \(2005\)](#). Une mise en émulsion est réalisée grâce à une solution d'agar à 0,2 %. Cette dernière permet une répartition homogène des huiles essentielles et augmente au maximum le contact germes / composés. En effet, des dilutions de 1/10<sup>e</sup>, 1/25<sup>e</sup>, 1/50<sup>e</sup>, 1/100<sup>e</sup>, 1/200<sup>e</sup>, 1/300<sup>e</sup> et 1/500<sup>e</sup> sont préparées dans cette solution d'agar 0,2%.

Dans des tubes à essai contenant chacun 13,5mL de milieu Sabouraud additionné de chloramphénicol, stérilisés pendant 20 min à 121 ° C et refroidis à 45°C, 1,5mL de chacune des dilutions est ajouté de façon à obtenir les dilutions finales suivantes 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/3000 et 1/5000.

Les tubes sont immédiatement bien mélangés afin de disperser parfaitement l'huile essentielle dans le milieu de culture avant de le verser dans des boîtes de Pétri. Des contrôles positifs contenant seulement le milieu de culture et une solution d'agar à 0,2% sont également préparés.

Après solidification et séchage dans des conditions d'asepsie, les boîtes sontensemencées par le dépôt des fragments de 0,5 cm de diamètre, prélevés à la périphérie d'un tapis mycélien, provenant d'une culture âgée de 7 jours préalablement préparée. L'incubation est faite à 30°C et chaque essai est répété trois fois.

### 2.3.3. Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la croissance fongique est calculé par rapport au témoin sans huile essentielle (Sabouraud + 2% d'agar) par la formule suivante :

$$PI (\%) = (dt - de / dt) \times 100$$

Où

**dt (mm)** = diamètre de la croissance fongique dans la plaque de contrôle.

**de (mm)** = diamètre de la croissance fongique dans la plaque d'essai.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Criblage de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne *in vitro* de l'HE des bulbes et des bulbilles d'ail a été évaluée par la méthode de diffusion par disque en mesurant la zone d'inhibition, représentée par un halo clair autour du disque imprégné de l'HE testée. L'estimation du pouvoir inhibiteur de l'HE traduit par le diamètre d'inhibition (DI) est faite selon la classification rapportée par [Ela et al. \(1996\)](#) et [Meena et Sethi \(1994\)](#) :

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

Les résultats des criblages présentés dans le [tableau 13](#) révèlent de larges spectres d'activités allant de non à fortement inhibitrice. Les diamètres d'inhibition générés montrent clairement que l'HE extraite des bulbes a un effet inhibiteur fort sur *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *Shigella flexnerii* avec des diamètres d'inhibition de  $41,0 \pm 1,00$  mm,  $57,7 \pm 0,58$ mm et  $55,0 \pm 1,00$ mm.

**Tableau 13.** Les diamètres d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices générés de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des bulbes d'*A.sativum*.

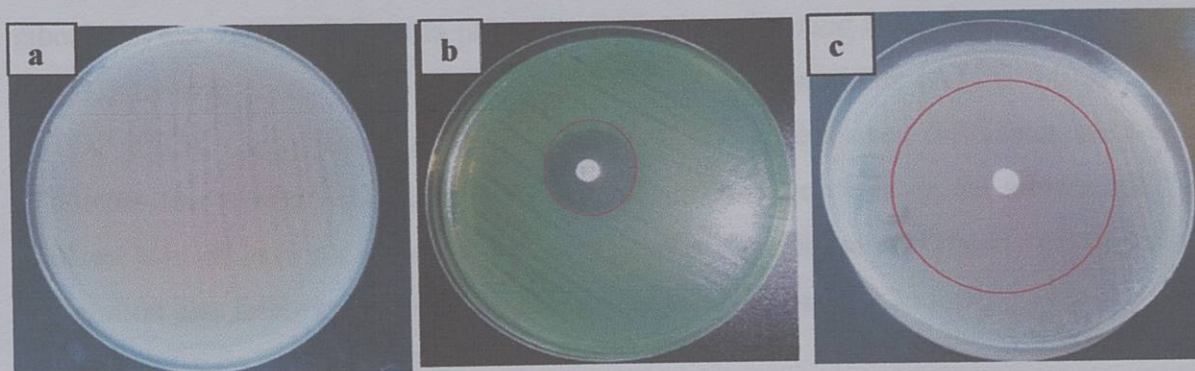
Souches testées	Bulbes		Control positif
	DI (mm)	CMI ( $\mu\text{L.mL}^{-1}$ )	DI (mm)
<i>E.coli</i> (ATCC 25922)	$15,3 \pm 0,58$	8	CN (29 mm)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	$41,0 \pm 1,00$	4	CN (29 mm)
<i>P.aeruginosa</i> (ATCC 27853)	$57,7 \pm 0,58$	<0,2	CN (25 mm)
<i>Shigella flexnerii</i>	$55,0 \pm 1,00$	<0,2	CN (36mm)
<i>Enterococcus faecalis</i>	$12,0 \pm 1,00$	4	E(20)
<i>Salmonella Heidelberg</i>	$11,00 \pm 1,73$	4	CN(25)
<i>Salmonella Manhattan</i>	$09,6 \pm 2,00$	-	Cipro(42)

- : non déterminée

La souche *P. aeruginosa* s'avère la plus sensible ([Figure 30](#)). Cette sensibilité est même plus élevée à celle connue à la gentamycine (25mm). Cependant, ce germe responsable de 10 % à 15 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupe une position centrale dans la problématique de ces infections, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose, d'immunodépression et dans les services de réanimation ([Emerson et al., 2010](#); [Richards et al., 1999](#)).

Il est, avec *Staphylococcus aureus*, le pathogène le plus fréquemment isolé dans la pathologie des pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM). En outre, la sévérité des infections nosocomiales à *P. aeruginosa* est conditionnée non seulement par la virulence propre à l'espèce et par les comorbidités des patients concernés, elle dépend également de la capacité du pathogène à accumuler les mécanismes de résistance aux antibiotiques et des difficultés thérapeutiques qui en résultent (Barbier et Wolff, 2010 ; Richards et al., 1999).

Aussi, elle est considérée légèrement inhibitrice contre *Salmonella Heidelberg* et *E. faecalis* *E.coli* dont les diamètres sont respectivement de  $11,00 \pm 1,73\text{mm}$  et  $15,3 \pm 0,58\text{mm}$ . En revanche, avec un diamètre de  $09,6 \pm 2,00\text{ mm}$  l'huile essentielle des bulbes est considérée non inhibitrice contre *Salmonella manhattan*.



**Figure 30.** Photographies montrant la sensibilité de *P. aeruginosa* (ATCC 27853) (témoin (a)) à la gentamycine (b) et à l'HE des bulbes (c)

Bien que les valeurs des diamètres d'inhibition obtenus soient différents, ces résultats sont en accord avec d'autres déjà rapportées dans la littérature montrant l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de bulbes d'ail contre certaines souches testées dans cette étude (Babu, et al., 2011; Benkeblia, 2004; Casella et al., 2012; Ghaly et al., 2010 ; Khadri et al., 2010 ; Kim et al., 2004a ; Mnayer et al., 2014) .

Dans son étude sur trois types d'oignon (vert, jaune et rouge) et sur l'ail, Benkabilia, (2004) a montré que les bactéries *S.aureus* et *S.enteritidis* sont plus sensible à l'huile essentielle d'ail que celles des différents types d'oignon avec respectivement des diamètres d'inhibition de 9,3mm et 13,1mm à la concentration de 500ml/l.

Dans une étude menée sur dix huiles volatiles (citron, eucalyptus, menthe poivrée, menthe verte, romarin, thym, marjolaine, clou de girofle, fenouil) testées contre certains isolats bactériens (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *k. Pneumoniae*, *S. epidermidis* et *S. aureus*), les auteurs ont montré que l'ail était l'une des huiles les plus actives (Ghaly et al., 2010).

Une autre confirmation de l'activité antimicrobienne de l'huile d'ail pure est l'étude de Casella et al. (2012), qui ont signalé une inhibition de la croissance d'*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* sur des plaques de gélose avec des zones d'inhibition significatives (11,0 mm, 21,1 mm et 14,8 mm, respectivement).

De même, Mnayer et al. (2014) ont montré dans une étude sur les huiles essentielles de six espèces appartenant à la famille des alliacées (ail, oignon, poireau, ciboule, échalote et ciboulette) que l'HE de l'ail est la plus efficace, inhibant les cinq bactéries (*S. aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115) *S. typhimurium* (ATCC 14028), *E. coli* (ATCC 8739), *Campylobacter jejuni* (ATCC 33291)) testées avec différentes sensibilités. D'ailleurs, nos résultats sont en parfaite concordance avec cette étude qui montre que l'HE d'ail est très efficace sur *S. aureus* avec des zones d'inhibition de (20mm) et une activité d'inhibition plus faible sur *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 9,3 mm.

L'activité antibactérienne de l'HE des bulbes d'ail démontrée dans ce travail peut être attribuée à la présence des sulfides ; composants isolés pour la première fois par le chimiste allemand Wertheim en 1844 (Block et al., 1993) après une distillation des composants volatils, comme c'est rapporté dans la littérature (Agarwal, 1996).

Dans notre étude l'analyse chromatographique étudiée dans le chapitre précédent, a montré que l'HE des bulbes ainsi que des bulbilles respectivement sont principalement riches en diallyle disulfide (21, 52%), diallyle trisulfide (28,55%) et le methyl allyl trisulfide (12,66%). Particulièrement les dérivés des sulfides comme le *mono-di- tri* et *tétra* diallyle sulfide sont considérés comme agents antimicrobiens dans de nombreuses études (Casella et al. 2012 ; Corzo-martinez et al., 2007; Kim et al., 2004b).

D'ailleurs l'étude de Casella et ses collaborateurs (2012) a confirmé que le diallyle disulfide en tant qu'agent antimicrobien présente des zones d'inhibition très similaires (respectivement aux *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* : 11,4 mm, 21,9 mm et 15,9 mm) aux zones obtenues par la HE d'ail.



Il convient également de mentionner que certains auteurs ont noté que le pouvoir antimicrobien considérable de l'HE d'ail est lié ainsi au grand nombre d'atomes de soufre par molécule (Reuter *et al.*, 1996 ; Tsao et Yin, 2001).

Dans ce travail, l'HE de bulbes a engendré une action fortement inhibitrice aussi bien sur les bactéries à Gram positif (*S. aureus* (ATCC 25923)) que sur les souches à Gram négatif (*P.aeruginosa*). Ce qui oppose à l'avis d'admettre généralement une meilleure efficacité de l'ail contre les bactéries Gram négatif du fait que la paroi cellulaire, les lipides de la membrane cellulaire et les polysaccharides de la membrane cellulaire de ce groupe peuvent affecter la perméabilité des composés inhibiteurs d'*Allium* (Perry *et al.*, 2009). Il a été démontré également que les thiosulfonates, notamment l'allicine, inhibent les microorganismes en raison de leur groupe  $-S(O)-S-$ , qui réagit généralement avec le groupe SH des protéines cellulaires pour générer des disulfures mixtes (Kyung, 2012). En plus chaque bactérie à Gram positif diffère considérablement l'une de l'autre en structure et en fonctionnalité (Delaquis *et al.*, 2002 ; Elgayyar *et al.*, 2001).

Aussi, il a été démontré que les bactéries à Gram positif testées avec les constituants de la HEA ; diallyle trisulfide et le diméthyl trisulfide, étaient plus sensibles que les bactéries à Gram négatif (Fujisawa *et al.*, 2009 ; Kim *et al.*, 2004b).

### 3.1.1. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

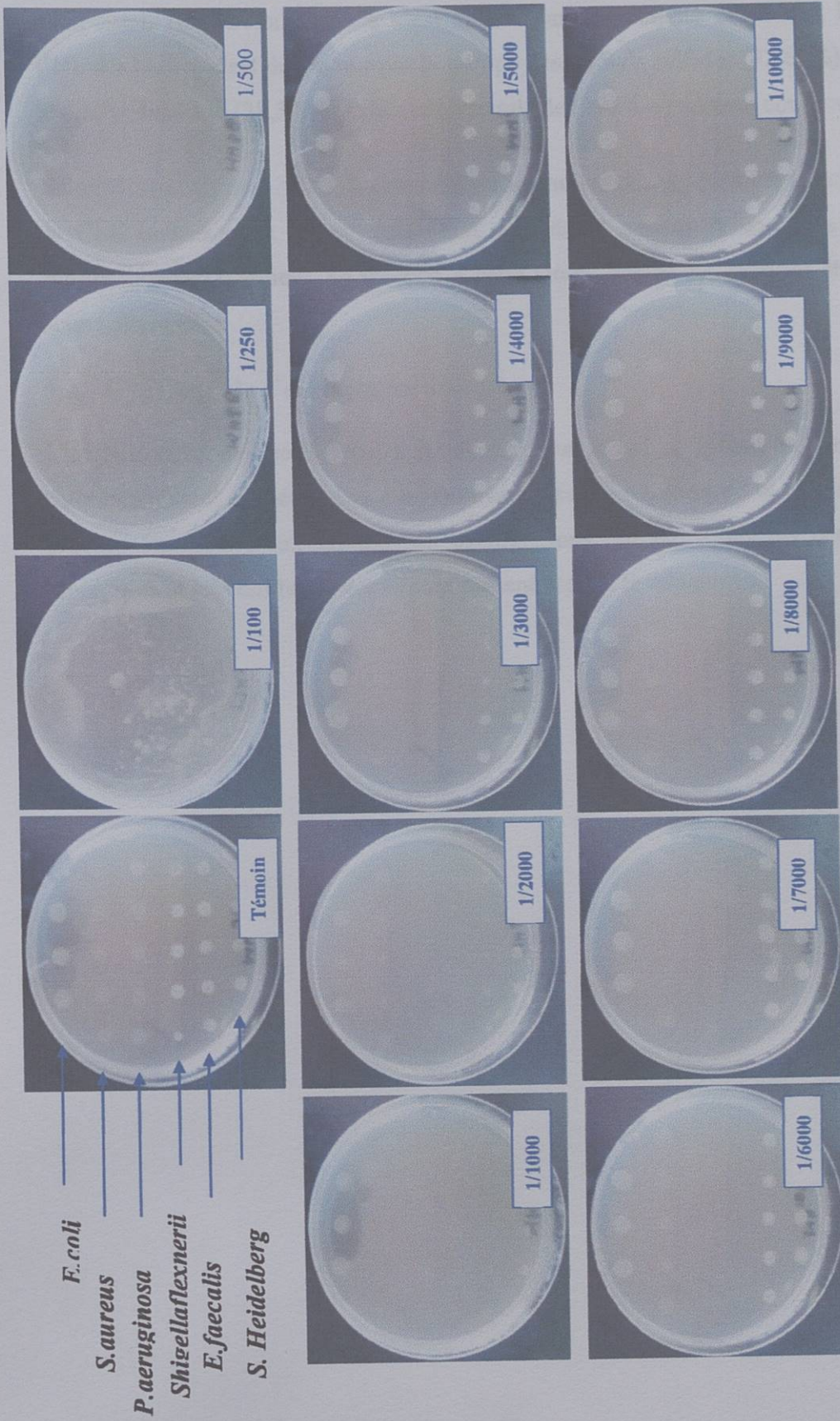
Après avoir effectué une diffusion sur disque, considérée comme étape préliminaire à des études plus approfondies, seulement les souches dont le diamètre d'inhibition supérieur à 10mm ont été retenues pour la détermination de la CMI. Il s'agit de *S. aureus* (ATCC 25923), *E.coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *Shigella flexnerii*, *Salmonella Heidelberg*, *E.feacalis*. Cette mesure de la performance antibactérienne des HEs, par définition, correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne. Dans notre étude, elle est déterminée sur le milieu MH gélosé en utilisant l'appareil de Stéers. Les résultats sont regroupés dans le [tableau 13](#) et illustrés dans la [Figure 31](#).

En effet, dans cette étude, les CMIs trouvées sont de l'ordre de 0,2 à 8 $\mu$ L.mL<sup>-1</sup>. Les souches *P. aeruginosa* (ATCC 27853) et *Shigella flexnerii* ont montré une sensibilité très élevée à l'HE des bulbes avec des CMIs inférieures à 0,2  $\mu$ L.mL<sup>-1</sup> pour toutes les deux. Par contre, les autres souches, *E.coli* (ATCC 25922), *E. feacalis*, *Salmonella Heidelberg*, se sont avérées

moins sensibles aux souches citées ci-dessus avec respectivement des CMI de  $8\mu\text{L.mL}^{-1}$ ,  $4\mu\text{L.mL}^{-1}$ ,  $4\mu\text{L.mL}^{-1}$ .

Ce potentiel antimicrobien de l'huile essentielle d'ail a été démontré dans l'étude de [Khadri et al. \(2010\)](#) où ils ont testé sur 52 isolats cliniques et une souche de référence de *P.aeruginosa*. Les résultats ont montré une activité inhibitrice de la HEA vis-à-vis de plus de 50% des souches testées présentant des CIMs à des concentrations très faibles allant de 32 à  $128\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

Un autre travail mené par [Balaji et al. \(2012\)](#) mais sur les extraits méthanoïques et aqueux des bulbes d'ail, a montré également une sensibilité des souches étudiées à savoir *B.subtilis*, *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumonia* et *C.albicans* avec des MICs inférieurs à  $150\mu\text{g.mL}^{-1}$  pour l'ensemble des souches.



**Figure 31.** Les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle des bulbes d'*A. sativum* contre une série de souches bactériennes (CMI *E. coli* : 8  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  ; CMI *S. aureus* : 4  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  ; CMI *P. aeruginosa* < 0,2  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  ; CMI *Shigella flexnerii* < 0,2  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  ; CMI *E. faecalis*: 4  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  ; CMI *S. Heidelberg*: 4  $\mu\text{l.mL}^{-1}$  )

Cette sensibilité à l'HE d'ail ne peut probablement s'expliquer que par rapport aux composants de celle-ci. Comme c'est illustré dans le chapitre précédent, la composition de l'HE des bulbes s'est distinguée par le groupe des diallyls sulfides (73,61%) et principalement le diallyl disulfide (38,37 %) et le diallyl trisulfide (29,96%) comme composés majoritaires.

Selon [Rios et Recio \(2005\)](#), les extraits ou les huiles des espèces végétales avec des valeurs de CMI inférieures à  $100\mu\text{g. mL}^{-1}$  sont considérés comme prometteurs en tant qu'agents antimicrobiens potentiels. Se référant à cette étude, nos huiles peuvent être constituées une bonne alternative.

### 3.2. Criblage de l'activité antifongique

L'activité antifongique *in vitro* a été évaluée sur le milieu gélosé Sabouraud additionné de chloramphénicol en déterminant les pourcentages d'inhibition de la croissance fongique des souches étudiées. Deux groupes de champignons ont été testés les dermatophytes et les aspergillus et les résultats obtenus sont présentés dans le [tableau 14](#).

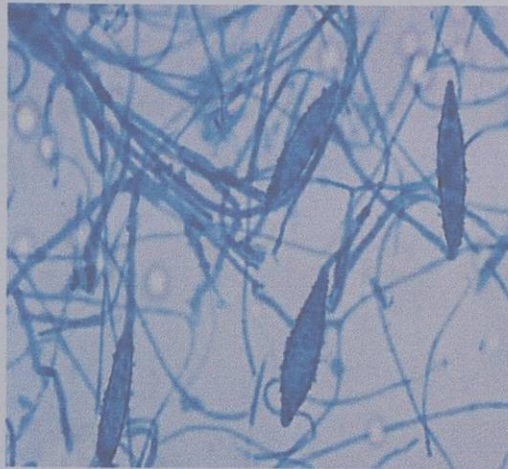
**Tableau 14.** Effet *in vitro* de l'huile essentielle des bulbes d'*A.sativum* sur les dermatophytes.

Dilutions	Dermatophytes							Aspergillus		
	<i>M. Canis</i>	<i>T. mentagrophyton</i>	<i>T. schonleinii</i>	<i>T. violaceum</i>	<i>E. floccosum</i>	<i>A.nidulans</i>	<i>A.fumigatus</i>			
1/100	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00
1/250	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00
1/500	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	75,00 ± 7,07	61,48 ± 2,09		
1/1000	100 ± 0,00	52,78 ± 3,92	48,93 ± 7,78	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	45,65 ± 4,82	31,4 ± 5,84		
1/2000	29,21 ± 5,02	40,23 ± 7,39	41,43 ± 2,02	100 ± 0,00	00 ± 0,00	100 ± 0,00	26,22 ± 8,79	10,43 ± 5,91		
1/3000	20,39 ± 6,51	13,33 ± 4,71	26,50 ± 2,12	00 ± 0,00	00 ± 0,00	00 ± 0,00	2,5 ± 0,54	00 ± 0,00		
1/5000	5,13 ± 0,18	00 ± 0,00	23,21 ± 2,53	00 ± 0,00	00 ± 0,00	00 ± 0,00	00 ± 0,00	00 ± 0,00		

### 3.2.1. Effet sur les dermatophytes

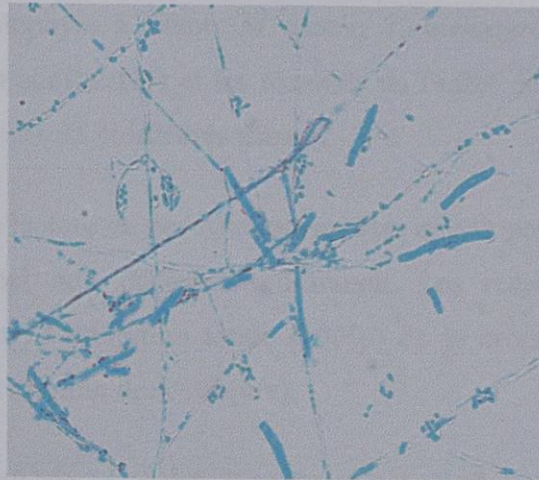
Les dermatophytes sont des champignons filamenteux responsables de lésions variées de la peau et des phanères. Ce sont des Eumycètes appartenant à la classe des Ascomycètes ; leur reproduction asexuée, observée sur les cultures du laboratoire, permet de décrire trois genres :

Le genre *Microsporum* (Gruby 1843) : Il regroupe une dizaine d'espèces. La plus répandue est le *M. canis*. Au microscopique, ce genre se caractérise par la présence de macroconidies fusiformes à paroi verruqueuse ou échinulée, et de microconidies le plus souvent piriformes, mais parfois rondes (Figure 32).



**Figure 32.** Photographie de *M. canis*  
(<https://drfungus.org/knowledge-base/microsporum-canis/>)

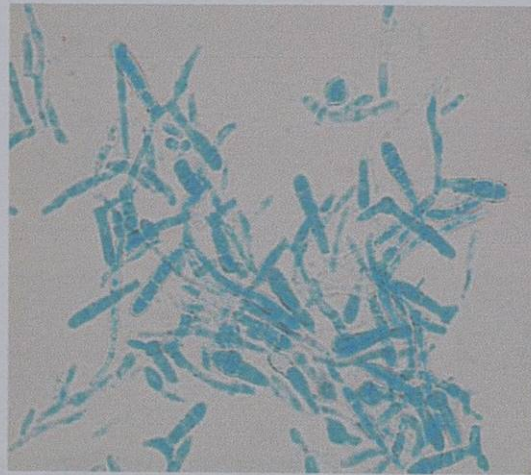
Le genre *Trichophyton* (Malmsten 1845) : la plupart des dermatophytes (plus d'une vingtaine d'espèces) sont répertoriés dans ce genre. Seules une dizaine d'espèces peuvent parasiter la peau et les phanères de l'homme. Au niveau microscopique on observe la présence de macroconidies à paroi lisse et à cloisons peu nombreuses, les microconidies sont rondes ou piriformes selon les espèces (Figure 33).



**Figure 33. Photographie de *T. mentagrophytes***

([http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung\\_morph/fungal\\_site/dermatpage.html](http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html))

Le genre *Epidermophyton* (Lang 1879, Sabouraud 1907) : Ce genre ne comprend qu'une seule espèce, *E. floccosum*, caractérisée par l'absence de microconidies et par la présence de macroconidies à paroi mince en forme de massue (Figure 34).



**Figure 34. Photographie d'*E. floccosum***

([http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung\\_morph/fungal\\_site/dermatpage.html](http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html))

Les dermatophytes sont à l'origine, chez l'homme et l'animal, de lésions superficielles touchant la peau glabre (dermatophyties ou épidermophytoses circinées, anciennement appelées herpès circiné), les ongles (onyxis), les poils (folliculites) ou les cheveux (teignes) (Chabassea et Pihet, 2008).

Cinq souches de dermatophyte à savoir *M. canis*, *T. mentagrophyte*, *T. schonleinii*, *T. violaceum*, *E. floccosum* sont testées et les résultats de l'effet de l'HE extraite des bulbes sont présentés dans la Figure 35 et illustrés dans la

Figure 36. Cependant, la lecture de ces résultats montre que le pourcentage d'inhibition est inversement proportionnel aux différentes dilutions. Les résultats révèlent également l'efficacité de la HEA par l'inhibition totale (100%) de la croissance de l'ensemble des souches testées jusqu'à la dilution de 1/500(v/v).

En revanche, les trois souches *M. canis*, *T. violaceum*, *E. floccosum* sont particulièrement plus sensibles. Chez le *M. canis* et *E. floccosum*, une inhibition de 100% de croissance est engendrée à une dilution de 1/1000(v/v) et à une concentration faible de l'ordre de 1/2000(v/v) chez *T. violaceum*.

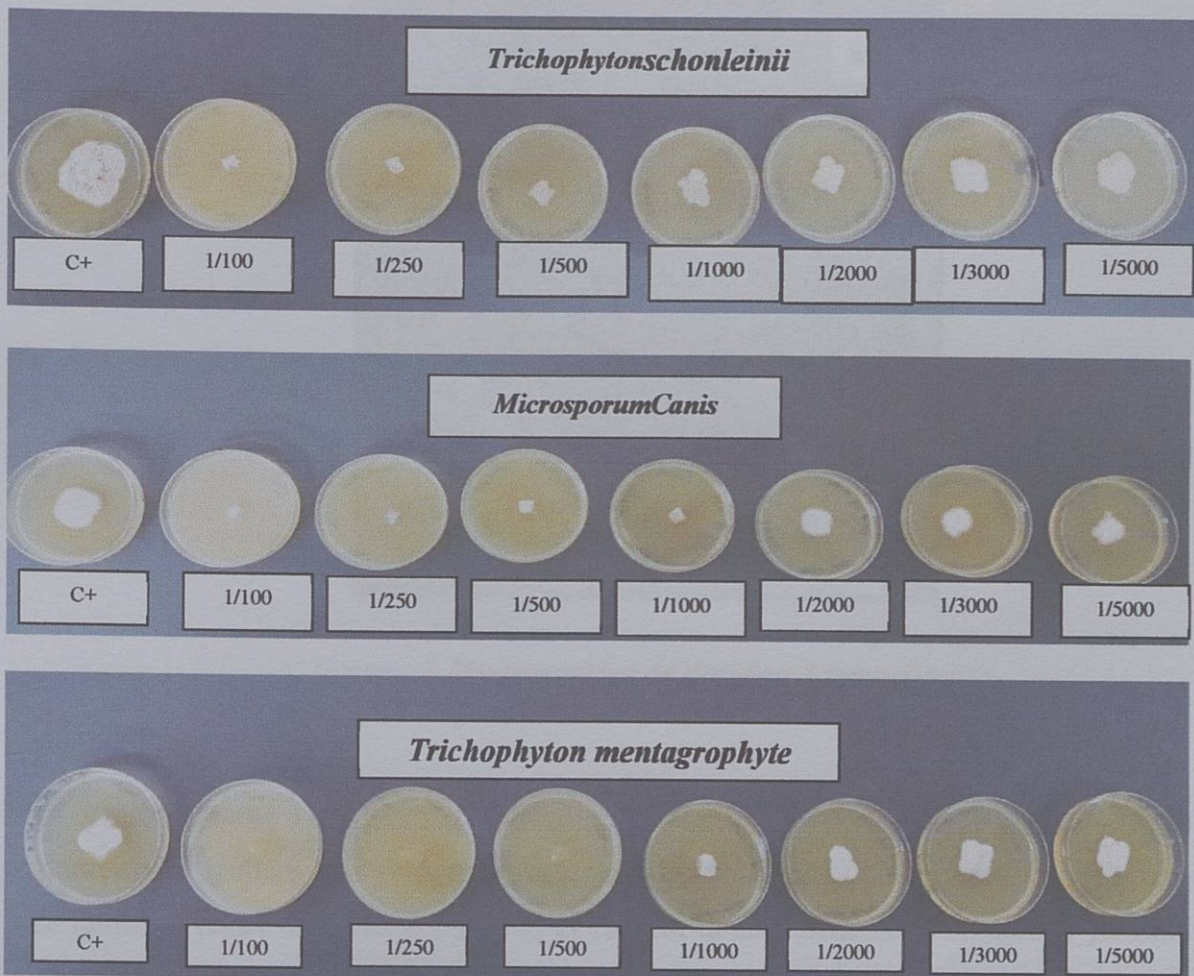


Figure 35. Effet *in vitro* de l'huile essentielle des bulbes d'*A. sativum* sur les dermatophytes

Cette inhibition remarquable contre certains dermatophytes responsables de mycoses sévères chez l'homme, était signalée par l'étude de Pyun et Shin, (2006) où les auteurs ont montré que ces espèces étaient significativement affectées par la HEA seule ou associée au médicament antifongique connu, le kétoconazole.



Malgré le peu de travaux constatés dans la littérature sur l'huile essentielle d'ail, les études sur les extraits d'ail ont montré leur efficacité contre un large spectre de champignons entre autre les souches de dermatophytes (Chung et al., 2007). Dans l'étude de Shams-Ghahfarokhi et al. (2006) menée sur 35 souches de différentes espèces de dermatophytes, les extraits aqueux de l'ail et de l'oignon, comparées à l'activité du kétoconazole (KTZ), se sont avérés capables d'inhiber la croissance de tous les champignons testés de manière dose-dépendante avec un maximum de 100% à des concentrations définies.



**Figure 36.** Photographies illustrant l'activité antifongique de l'HE des bulbes d'ail contre les dermatophytes.

### 3.3. Effet sur les *Aspergillus*

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux, de type moisissure dont la colonie se présente sous forme duveteuse. Le thalle hyalin, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule. Près de 300 espèces composent ce

genre, parmi lesquelles *Aspergillus fumigatus* est l'espèce la plus souvent impliquée en pathologie humaine dans les pays tempérés (Figure 37) (ANOFEL, 2014).

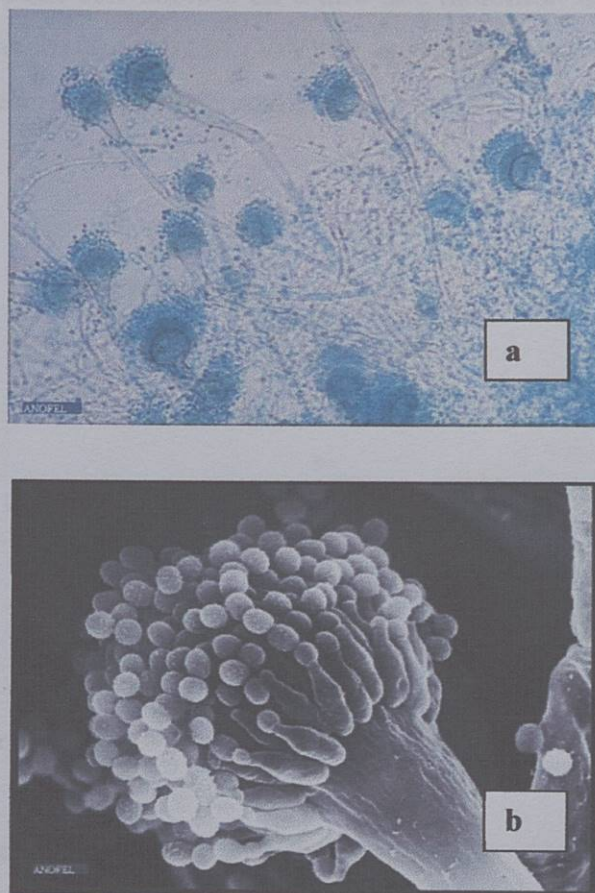
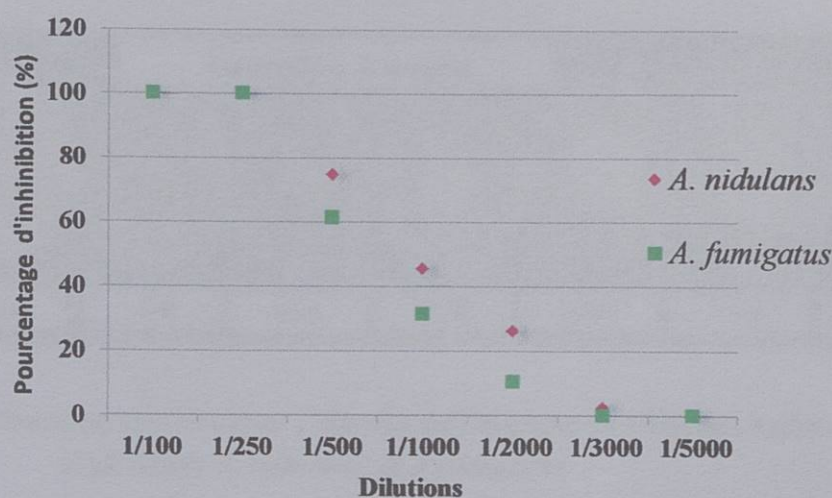


Figure 37. Photographies de l'espèce *A.fumigatus* (a : microscope photonique et b : microscope électronique) (ANOFEL, 2014)

Plus communément que d'autres microorganismes, le genre *Aspergillus* revête une importance particulière pour l'industrie alimentaire et le stockage. Ils sont capables de croître à de faibles niveaux d'activité d'eau ( $a_w$ ) et causent la détérioration de nombreux produits stockés, allant de la farine et des arachides à la viande séchée et aux confitures (Pitt et Hocking, 1999). D'autre part, certaines espèces appartenant aux genres tels que, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* peuvent biosynthétiser des métabolites secondaires toxiques - mycotoxines (Frisvad et Thrane, 2004). En effet, La consommation alimentaire de mycotoxines provoque une intoxication - mycotoxicose qui se manifeste par une toxicité aiguë et chronique (cytotoxicité, hépatotoxicité, neurotoxicité, tératogénicité, mutagénicité et cancérogénicité) (Wang et Groopman 1999).

L'analyse des résultats présentés dans la Figure 38 et illustrés dans la Figure 39 montre que l'effet de la HEA testée contre les *Aspergillus* a le même profil que chez les dermatophytes ; plus important que la dilution soit faible c'est-à-dire une inhibition de 100% est observé qu'aux premières dilutions 1/100 et 1/250 (V/V).Ce qui montre que les *Aspergillus* sont moins sensibles à l'HEA comparant aux dermatophytes.

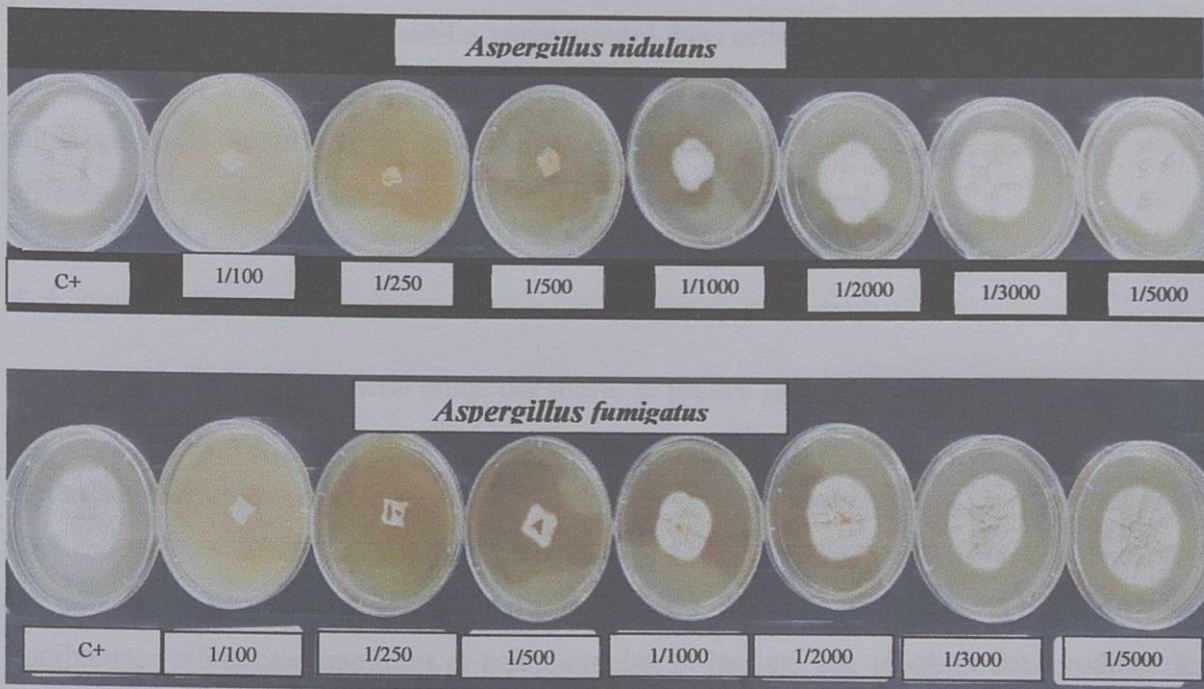


**Figure 38.** Effet *in vitro* de l'huile essentielle des bulbes d'*A. sativum* sur *A. nidulans* et *A. fumigatus*.

Les résultats obtenus montrent également que l'huile essentielle extraite des bulbes d'ail a un effet remarquable contre *A. nidulans* par rapport à l'*A. fumigatus*. Cependant à une dilution de 1/2000, ces deux souches ont respectivement les pourcentages d'inhibitions de  $26,22 \pm 8,79\%$  et  $10,43 \pm 5,91\%$ .

Ce puissant pouvoir d'inhibition a été démontré par l'étude de [Pai et Platt, \(1995\)](#) où les auteurs signalaient les effets inhibiteurs de l'extrait aqueux d'ail et l'huile d'ail concentrée contre *Aspergillus* impliqué dans l'otomycose<sup>13</sup>. Dans une autre étude, l'activité antifongique et la concentration fongicide minimale (MFC) de différentes plantes d'*Allium*, à savoir l'ail (*A. sativum* L.), l'ail de bakeri (*A. bakeri* L.), le poireau chinois (*A. odorum* L.), la ciboulette chinoise (*A. tuberosum* Rotterler), l'échalote (*A. fistulosum* auct.), le bulbe d'oignon (*A. cepa* L.) et le bulbe d'échalote (*A. ascalonicum* L.), contre *A. niger*, *A. flavus* et *A. fumigatus* ont montré que tous ces *Allium* possédaient une activité antifongique, avec une MFC plus basse chez l'ail ([Yin et Tsao, 1999](#)).

<sup>13</sup> : Affection de l'oreille due à un champignon. Elle se manifeste généralement par de vives et soudaines douleurs, des bourdonnements, un affaiblissement de l'ouïe et parfois une perforation du tympan



**Figure 39.** Photographies illustrant l'activité antifongique de l'HE des bulbes d'ail contre *A. nidulans* et *A. fumigatus*.

Récemment, une étude a révélé que la poudre d'ail inhibait de manière significative la croissance de mycélium chez les espèces *Aspergillus*, *Rhizopus* et *Mucor* et que l'augmentation de sa quantité avait un meilleur effet inhibiteur sur ces agents pathogènes *in vitro* (Oladele, 2019).

Par ailleurs l'efficacité d'inhibition de la croissance des champignons par l'extrait d'ail est due d'une part à l'allicine (Ankri et Mirelman, 1999 ; Auger *et al.*, 2004; Khodavandi *et al.*, 2011 ; Ogita *et al.*, 2005; Perelló *et al.*, 2013 ; Shadkchan *et al.*, 2004 ). D'autre part, elle peut s'expliquer par le nombre d'atomes de soufre car l'activité antifongique des molécules de soufre est directement proportionnelle à l'augmentation de ce dernier jusqu'au nombre de soufre trois ou quatre dans les molécules de soufre (Kim *et al.*, 2004a ; O'Gara *et al.*, 2000).

Selon la littérature, les chercheurs ont montré que les constituants sulfuriques d'ail détruisent les cellules fongiques, et ce par la diminution de l'absorption d'oxygène, la réduction de la croissance de l'organisme, l'inhibition de la synthèse des lipides, des protéines et des acides nucléiques et la prévention des dommages à la membrane (Gupta et Porter, 2001 ; Yousuf *et al.* (2011).

L'efficacité antibactérienne et antifongique montrée dans cette étude, ont été prouvées dans la littérature où il a été rapporté que l'huile d'ail et ses sulfures constitutifs présentaient une inhibition plus importante et plus significative des microbes et fonctionnaient aussi efficacement comme antifongique que l'agent antibactérien (Kim et al., 2004b).

## 4. Conclusion

Les résultats obtenus dans cette étude ont fourni la preuve que l'huile essentielle extraite des bulbes d'*A.sativum* est potentiellement une source riche en agents antifongiques et antibactériens. Par conséquent, elle pourrait être une solution prometteuse pour une possible application dans différents systèmes alimentaires, contre les espèces testées d'*Aspergillus*. De même, cette huile étudiée peut être utile comme une alternative pour le traitement de nombreuses infections fongiques et nosocomiales et être un bon substitut aux produits de synthèse.

## 1. Introduction

Le vieillissement cellulaire, les maladies dégénératives, neurodégénératives, le diabète et le cancer sont actuellement le sujet de plusieurs études et tous à cause de grand nombre d'individus touchés dans le monde. En 2014, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a indiqué dans son rapport que les maladies cardiovasculaires, les cancers et le diabète, sont les plus importantes causes de décès dans le monde. Les maladies cardiovasculaires sont en premier lieu avec 17,7 millions par an, suivies des cancers (9 millions), des maladies respiratoires (6,7 millions) et du diabète (4,6 millions) (OMS, 2013).

Les diabètes mondiaux ne cessent d'être une préoccupation majeure pour le monde entier en raison de leur impact. Appelé aussi diabète sucré, c'est un type d'agression des cellules par les radicaux libres, causés généralement dans le diabète par une agression répétitive de l'oxygène à l'ADN (des Radicaux Réactifs ou par exemple (ROS)). Ils sont produits en permanence par l'organisme, à savoir l'oxygène dans le corps, notamment au moment de la respiration aérobie, dans la chaîne respiratoire.

La concentration des radicaux libres croît dans tout organisme au fur et à mesure que l'organisme vieillit. Les radicaux libres sont des molécules instables qui ont tendance à réagir avec d'autres molécules, ce qui

## Chapitre IV

---

# Activité Antioxydante et Cytotoxicité de l'Huile Essentielle des Bulbes d'*A.sativum* L

### 1. Introduction

Le vieillissement cellulaire, les maladies dégénératives, inflammatoires, le diabète et le cancer sont actuellement le sujet de plusieurs études et ceci à cause du grand nombre d'individus touchés dans le monde. En 2018, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a indiqué dans son rapport que les maladies cardiovasculaires, les cancers et le diabète, sont les plus importantes causes de décès dans le monde. Les maladies cardiovasculaires sont en premier lieu avec 17,9 millions par an, suivies des cancers (9 millions), des maladies respiratoires (3,9 millions) et du diabète (1,6 million) (OMS, 2018).

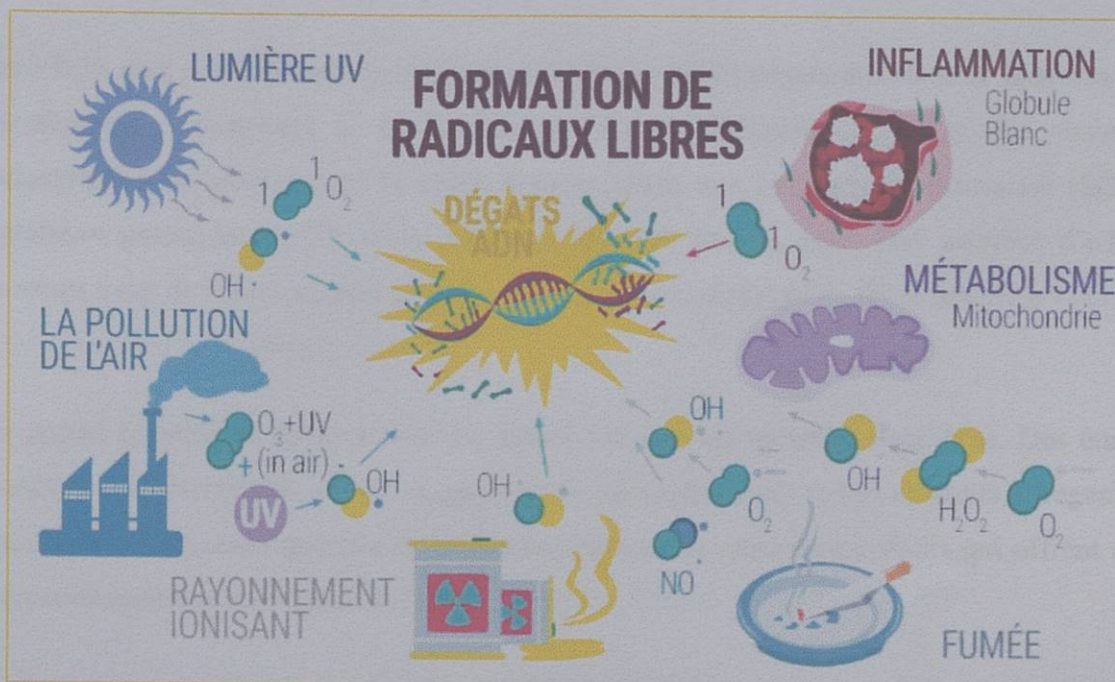
Les études menées sur ces diverses pathologies ont montré que le stress oxydatif constitue la cause majeure. Appelé aussi stress oxydant, c'est un type d'agression des cellules par des radicaux libres, connu généralement dans la littérature sous « espèces réactives de l'oxygène » (ERO) (de l'anglais *Reactive oxygen species* (ROS)). Ils sont produits en permanence par l'organisme, à partir d'oxygène dans la cellule, notamment au niveau de la mitochondrie, dans la chaîne respiratoire.

La caractéristique des radicaux libres réside dans leur instabilité en raison qu'il s'agisse d'une espèce non appariée c'est-à-dire contenant un électron libre. Pour se stabiliser, celui-ci

dans la molécule endommagée du radical libre attire un autre électron d'une molécule saine. Celle-ci devient à son tour un radical libre, ce qui déclenche une réaction en chaîne avec un tas de molécules détériorées. En effet, lorsqu'ils sont en excès, les radicaux libres attaquent tous les constituants du vivant en abimant le génome et en oxydant les protéines et les lipides (Vina et al., 2006 ; Wilson et Demmig-Adams, 2007 ).

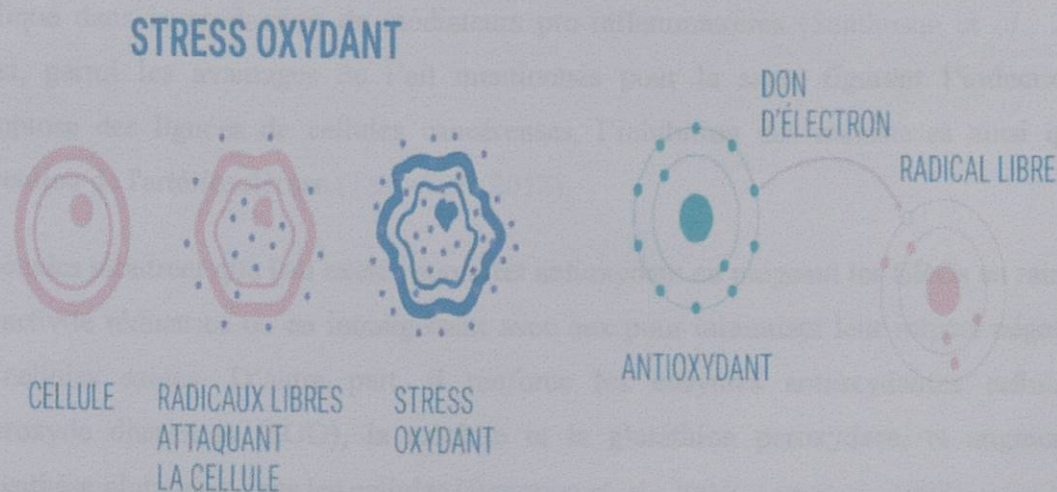
Cependant plusieurs facteurs accélèrent cette production accru en EROs tels que l'inflammation, l'exposition aux rayonnements ionisants, les polluants, l'utilisation de certains médicaments, le tabagisme, une alimentation trop riche en graisses, à l'alcool ..(Figure 40).

La solution pour prévenir le développement de radicaux libres est la nécessité d'une protection anti-oxydante. Par définition, un antioxydant est une substance naturelle qui inhibe l'oxydation en empêchant les EORs d'atteindre leurs cibles et de les endommager.



**Figure 40.** Schéma représentant la formation des radicaux libres, les agents causaux et les dégâts induits (<https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Free-FormationFR.jpg>)

Les antioxydants donnent des électrons aux électrons isolés dans les radicaux libres, en créant ainsi une paire qui stabilise la molécule et évite l'effet de réactions en chaîne dû aux électrons volés aux autres molécules, qui dégrade le fonctionnement cellulaire (Figure 41).



**Figure 41.** Schéma représentant le stress oxydant et le rôle des antioxydants  
 (<https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Oxidative-StressFR.jpg>)

Les EROs sont normalement neutralisés soit par les antioxydants directement apportés par les aliments : vitamines C et E, caroténoïdes, polyphénols. Soit par des enzymes antioxydantes cellulaires dont le corps dispose telles que (superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase (GP) et la catalase), qui ont besoin, pour être activées d'oligo-éléments issus de l'alimentation tels que le zinc, cuivre, manganèse, fer et sélénium (Berger, 2005 ; Ji et Peterson, 2004).

Un apport régulier en antioxydants est assuré *via* une alimentation équilibrée. Des études montrent que les régimes à base de plantes, en particulier ceux riches en fruits et légumes, fournissent une grande quantité de composés phytochimiques antioxydants qui offrent une protection contre dommages cellulaires (Dimitrios, 2006).

L'ail est parmi ces plantes connu par sa richesse en substances antioxydantes : vitamines E, C, sélénium et les composés soufrés (allicine, diallyle sulfide, diallyle disulfide, diallyle trisulfide,...). Plusieurs chercheurs ont signalé que l'ail est efficace contre certaines maladies pour lesquelles les EROs sont considérées comme un facteur causal majeur. Il est capable d'inhiber la peroxydation lipidique et l'oxydation des lipoprotéines de petite densité ou LDL (de l'anglais *Low Density Lipoprotein*), contribuant ainsi à diminuer le risque cardiovasculaire (Lau, 2006). L'ail exerce également un effet anti-inflammatoire en inhibant



le stress oxydatif produit par l'activation du NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B), facteur impliqué dans la production de médiateurs pro-inflammatoires (Santhosha *et al.*, 2013). Aussi, parmi les avantages de l'ail mentionnés pour la santé figurent l'induction de l'apoptose des lignées de cellules cancéreuses, l'inhibition des métastases ainsi que la prévention de l'artériosclérose (Tsai *et al.*, 2012).

Les études montrent que l'ail exerce son effet antioxydant en piégeant les EROs en raison de son activité réductrice ou en interagissant avec eux pour minimiser leur impact négatif sur les cellules saines. D'autre part, il renforce les enzymes antioxydantes cellulaires ; superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase, et augmente la biosynthèse glutathion dans les cellules (Banerjee *et al.*, 2003 ; Liu *et al.*, 1992).

Bien que les propriétés antioxydantes de l'ail et de ses différentes préparations soient bien documentées (Agarwal, 1996; Banerjee *et al.*, 2003; Gedik *et al.*, 2005 ; Gorinstein *et al.*, 2006; Nuutila *et al.*, 2003, Pedraza-Chaverri *et al.*, 2007 ; Saravanan et Prakash, 2004 ; Yin et Cheng., 1998) , très peu de données caractérisent les propriétés antioxydantes de son huile essentielle (Boubechiche *et al.*, 2017 ; Mnayer *et al.*, 2014).

À cet égard, nous proposons, dans ce chapitre d'étudier l'activité antioxydante de l'huile essentielle des bulbes d'ail, en évaluant dans un premier temps les teneurs des composés phénoliques totaux et dans un 2<sup>ème</sup> temps, d'évaluer l'activité anti-radicalaire par la méthode de DPPH et l'activité anti-blanchiment, tout en montrant l'effet de la méthode d'extraction ainsi que celui de l'origine du matériel végétal. Aussi, nous nous intéresserons à la cytotoxicité de l'huile des bulbes vis à vis deux lignées cellulaires, HeLa dérivée d'un carcinome cervical et MDA-MB-231 dérivée de l'adénocarcinome mammaire humain.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Milieux de culture et produits chimiques

Le Milieu de Eagle Modifié de Dulbecco (DMEM) (de l'anglais *Dulbecco's Modified Eagle Medium*), le sérum fœtal bovin (FBS) et les antibiotiques (pénicilline –streptomycine) étaient de marque Gibco®. L'hydroxyanisole butylé (BHA), L'hydroxytoluène butylé (BHT) et le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) ont été achetés chez Sigma Aldrich (St. Louis, Mo, États-Unis). Tous les autres produits chimiques sont de qualité analytique.

## 2.2. Huiles essentielles testées

Les huiles essentielles extraites des bulbes de Bellezma par trois procédés d'extraction différents HD, US-HD et SHD, ainsi que les huiles récoltées de différentes régions Bellezma, Mostaganem et Ain Defla ont fait l'objet d'étude de ce chapitre.

## 2.3. Détermination des composés phénoliques totaux (CPT)

Le contenu phénolique total de l'HE de chaque région est déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par [Anesini et al. \(2008\)](#). Dans des tubes à essai, 0,5mL de chaque huile ( $0,1\text{g.L}^{-1}$ ) est mélangé avec 2,5mL du réactif Folin-Ciocalteu (préalablement dilué à 1:10 avec de l'eau désionisée). Les mélanges sont incubés pendant 10 min à température ambiante (environ  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Ensuite, 2 ml de solution de carbonate de sodium à 7% (p / v) sont ajoutés. Après une incubation de 30min dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance des solutions est mesurée à 765 nm et les valeurs de CPT, exprimés en mg équivalents d'acide gallique (EAG) / g d'extrait, sont déterminées sur la base d'une courbe standard d'acide gallique ( $0-1000\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

## 2.4. In vitro activité antioxydante

### 2.4.1. Dosage de DPPH

L'activité de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de l'huile essentielle est mesurée en utilisant la méthode décrite par [Brand-Williams et al.\(1995\)](#) avec quelques modifications ([Dziri et al., 2012](#)). Un millilitre des différentes concentrations de l'échantillon (1-12 mg / ml), préparées dans le méthanol, est mélangé avec 2 ml de la solution de DPPH fraîche (0,004%). Par la suite, le mélange est incubé pendant 30 min dans l'obscurité et à la température ambiante. L'absorbance est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de marque Shimadzu.

La même procédure est appliquée pour l'hydroxyanisole Butylé (BHA) (0,02 à 0,10 mg / ml), utilisé comme contrôle positif. Trois essais ont été réalisés pour chaque solution testée (HEA et du contrôle positif). Les inhibitions du radical DPPH exprimé en pourcentage (%) ont été calculées selon la formule

$$I = [(A_b - A_s) / A_b] * 100$$

Où :

$A_b$  : absorbance du contrôle (sans antioxydant)

$A_s$  : absorbance de l'échantillon.

Et  $IC_{50}$  ; la concentration (mg / ml) pour une inhibition de 50% est déterminée à partir du pourcentage d'inhibition du graphique par rapport aux concentrations de l'échantillon.

#### 2.4.2. Test du blanchiment $\beta$ - carotène/ acide linoléique

L'activité antioxydante est évaluée par la méthode décrite par *Tepe et al. (2005)* et *Lawrence, et Lawrence (2011)*. 0,5 mg de  $\beta$ -carotène est solubilisé dans un ml de chloroforme (qualité HPLC) puis 25  $\mu$ l d'acide linoléique et à 200 mg de Tween40 sont ajoutés à cette solution. Après l'élimination complète du chloroforme par un rotavapeur à 40°C, 100 ml d'eau distillée oxygénée sont ajoutés sous une vigoureuse agitation.

Dans des tubes à essai, 2,5 ml de l'émulsion résultante sont additionnés de 350  $\mu$ l de la HEA préparée à une concentration de 3g.L<sup>-1</sup>. Ces tubes soigneusement mélangés, sont maintenus à 50°C dans un bain d'eau pendant 2h. La même procédure est réalisée avec l'antioxydant synthétique, le BHT comme contrôle positif, et un blanc contenant le même volume d'éthanol à la place des HEs. L'absorbance des mélanges est mesurée à 470 nm. Les essais sont répétés trois fois pour chaque HEA.

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à 470 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Schimadsu, Japon) à des intervalles de temps réguliers de 20min. L'activité antioxydante, exprimée par le taux d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par HEA, est calculée selon la formule suivante :

$$I\% = [(A_s(2h) - A_b(2h)) / (A_s(0h) - A_b(2h))] * 100$$

Où

$A_s$ : Absorbance de l'échantillon à 0h et 2h ;

$A_b$ : Absorbance du contrôle sans antioxydant à 0h et 2h.

## 2.5. Test de cytotoxicité

### 2.5.1. Lignées cellulaires et culture cellulaire

Les lignées cellulaires utilisées pour le test de cytotoxicité de la HEA sont gracieusement fournies par l'Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie (IEMN, CNRS-8520) à Lille où l'analyse a été effectuée. Il s'agit de la lignée HeLa dérivée du carcinome cervical d'une femelle de 31 ans [ATCC® CCL-2™, ECACC], et la lignée cellulaire MDA-MB-231 dérivée de l'adénocarcinome mammaire humain [ATCC® HTB-26™, ECACC], achetées de Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France.

Ces deux lignées cellulaires sont cultivées dans le milieu DMEM additionné de 10% de FBS et 1% de pénicilline-streptomycine. Elles sont par la suite maintenues dans un incubateur à 37° C et dans une atmosphère humidifiée à 5% de CO<sub>2</sub>. Lorsque les cellules ont atteint leur confluence, elles ont été détachées avec de la trypsine-EDTA (0,05%).

### 2.5.2. Test de cytotoxicité

Les cellules sontensemencées à une densité de 104 cellules / puits dans une plaque à 96 puits et cultivées pendant 24 h avant le test. Le milieu de culture est remplacé par un milieu frais contenant l'HEA de 0,0001 à 0,05% v dissous dans de la diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 0,9% v. Aucun effet toxique sur la croissance cellulaire n'a été observé à cette concentration.

Après 24 ou 48 heures d'incubation, le vieux milieu est aspiré et les cellules sont lavées trois fois avec du tampon phosphate salin (PBS<sup>14</sup> de l'anglais *phosphate buffered saline*). La viabilité cellulaire est évaluée en utilisant le test UptiBlue de comptage de cellules viables (Interchim), décrit en annexe (Annexe2). Brièvement, 10 ml de la solution d'UptiBlue sont ajoutés à chaque puits contenant 100 µl de DMEM avec 10% de FBS et de nouveau, la plaque est incubée pendant 4 heures dans l'incubateur humidifié. La fluorescence de chaque puits à 590 nm est mesurée en utilisant un lecteur de microplaque (PHERAstar FS, BMG LABTECH GmbH, Allemagne). Chaque essai est répliqué trois fois et la valeur de fluorescence moyenne des cellules non exposées à la HEA est prise comme 100% de viabilité cellulaire.

---

<sup>14</sup> est une solution tampon couramment utilisée en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate monopotassique et de chlorure de potassium.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Composés phénoliques Totaux (CPT)

Les composés phénoliques totaux (CPT) aussi appelés polyphénols, sont reconnus comme des antioxydants puissants présents dans plusieurs aliments dans le monde et les effets préventifs de maladies graves telles que le cancer et les troubles neurodégénératifs proviennent d'un apport adéquat en composés phénoliques (Arts et Hollman, 2005 ; Szychowski et al., 2005).

La teneur en composés phénoliques totaux de l'huile essentielle des bulbes d'*A. sativum* cultivés dans différentes régions a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette dernière est l'une des méthodes anciennes les plus développées pour déterminer les CPTs (Singleton et al., 1999).

En effet, les teneurs de BFB, BFM et BFA sont respectivement de  $5,39 \pm 0,50$  mg EAG / g d'HE,  $3,90 \pm 0,19$  mg EAG / g d'HE,  $3,34 \pm 1,58$  mg EAG / g d'HE (Tableau 15).

**Tableau 15.** Les composés phénoliques totaux (CPT) de l'huile essentielle des bulbes d'ail cultivé dans différentes régions.

HE	CPT (mg EAG*/g d'HE)
BFB	$12,69 \pm 0,50$
BFM	$19,04 \pm 0,19$
BFA	$13,47 \pm 1,58$

\* : équivalent d'acide gallique.

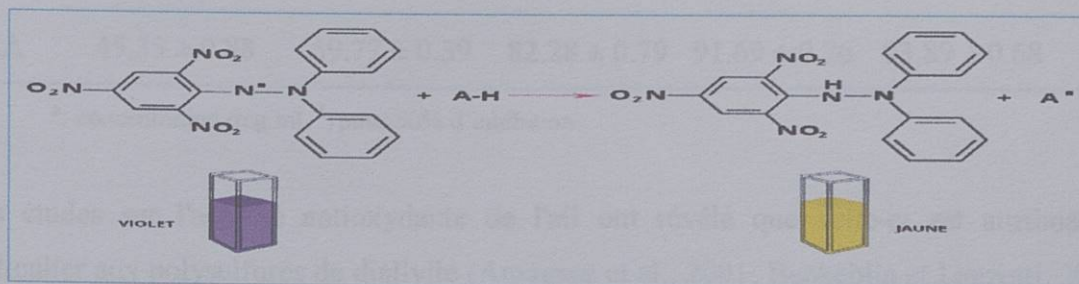
Ces teneurs sont comparables à celle de l'huile d'ail rapportée par Mnayer et al. (2014) où elle était de 5,61 mg d'EGA / g. De même, Süfer et Bozok, (2019) ont trouvé des valeurs de  $2,84 \pm 0,18$  mg EAG / g d'huile. Ces valeurs plus ou moins faibles sont expliquées selon ces auteurs par l'effet destructif de la méthode de Clevenger assistée par microondes utilisée pour l'extraction de la HEA. En effet, cette étude est venue affirmer les résultats d'Albi et al. (1997), étudiant le chauffage par micro-ondes et conventionnel des matières grasses comestibles et leurs effets sur les composés phénoliques, ils ont constaté des pertes de 64% et 10% provoquées par le chauffage dans un four électrique conventionnel.

En outre, la variation entre ces résultats peut être exprimée aussi par les conditions de croissance et par des facteurs génétiques (Petropoulos et al., 2018).

## 3.2. Activité antioxydante

### 3.2.1. Activité de piégeage des radicaux libres

Dans ce test de DPPH, l'activité de piégeage des radicaux libres se base sur la réduction du radical DPPH stable en présence d'antioxydants donneurs d'hydrogène (Figure 42.). Ce radical stable DPPH<sup>•</sup> de couleur violette se transforme en sa forme réduite DPPH<sup>•</sup>-H de couleur jaune lors de la réception d'hydrogène (Molyneux, 2004). Le potentiel d'un échantillon à donner d'atomes H est le plus souvent exprimé par le paramètre IC<sub>50</sub> qui plus est faible, plus la molécule est antioxydante (Villaño *et al.*, 2007).



**Figure 42.** Réduction du radical stable DPPH de couleur violette en sa forme réduite DPPH-H (<http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>)

Les résultats de l'activité de piégeage des huiles essentielles récupérées par les trois procédés HD, US-HD et SHD et du control positif (BHA) sont présentés dans le **Tableau 16**. L'ensemble de ces huiles ont montré une capacité de piégeage du radical DPPH mais avec des degrés variables. Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> sont dans l'ordre suivant : BHA < HD < US-HD < SHD.

Le control positif BHA est le plus fort antioxydant avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 0,022 mg.mL<sup>-1</sup>. Les résultats montrent également que l'hydrodistillation conventionnelle a une activité antioxydante plus ou moins importante avec un IC<sub>50</sub> de 0,96mg. mL<sup>-1</sup> par rapport aux autres procédés ; US-HD et SHD utilisant la technologie d'ultrason dont leur IC<sub>50</sub> sont respectivement de l'ordre de 1,176mg.mL<sup>-1</sup> et 1,234mg.mL<sup>-1</sup>.

**Tableau 16.** Activité de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles extraite par différentes méthodes

	DPPH Inhibition (%)					
	1 mg.mL <sup>-1</sup>	3 mg.mL <sup>-1</sup>	6 mg.mL <sup>-1</sup>	9 mg.mL <sup>-1</sup>	12 mg.mL <sup>-1</sup>	IC <sub>50</sub> *
<b>HD</b>	51.1 ± 1,12	54.4 ± 0,39	59.5 ± 0,61	64.4 ± 0,67	75 ± 0.49	0.96
<b>US-HD</b>	51.23 ± 0.66	53.05 ± 0.5	59.77 ± 1.21	64.55 ± 0.73	75.21 ± 0.65	1.176
<b>SHD</b>	50.74 ± 0.83	53.23 ± 0.36	59.36 ± 1.03	64.2 ± 0.9	74.2 ± 0.8	1.234
	0.02 mg.mL <sup>-1</sup>	0.04 mg.mL <sup>-1</sup>	0.06 mg.mL <sup>-1</sup>	0.08 mg.mL <sup>-1</sup>	0.10 mg.mL <sup>-1</sup>	
<b>BHA</b>	45.33 ± 0.88	59.77 ± 0.39	82.28 ± 0.79	91.69 ± 0.26	93.89 ± 0.68	0.022

\*: concentration (mg.mL<sup>-1</sup>) pour 50% d'inhibition

Des études sur l'activité antioxydante de l'ail ont révélé que celle-ci est attribuée en particulier aux polysulfures de diallyle (Amagase et al., 2001; Benkeblia et Lanzotti, 2007). D'ailleurs, la légère dégradation de certains composants (*di* et *tri* sulfide) signalée respectivement dans le cas des deux procédés SHD (33,35% ; 23,5%) et US-HD (36,26% ; 26,7%) par rapport au procédé classique HD (38,37% ; 29,96%) peut expliquer la différence de l'activité antioxydante observée dans notre étude entre les trois procédés.

Il est important de noter que bien que l'ultrason se soit révélé efficace pour adapter les appareils conventionnels comme cité dans certaines études (Pingret et al., 2014 ; Djenni et al., 2013 ; Luque-García et al., 2004), certains chercheurs ont préconisé des changements rapportés dans les caractéristiques organoleptiques (Adekunte et al., 2010 ; Pingret et al., 2013). D'autres ont signalé la dégradation des antioxydants dans les produits alimentaires ayant subis un traitement d'ultrason (Vercet et al., 2001).

Aussi, les huiles extraites des bulbes des régions de Bellezma, Mostaganem et Ain defla sont testées pour leur activité antioxydante. Selon les résultats présentés dans le Tableau 17, l'huile essentielle de la région de Bellezma se manifeste par une activité antioxydante élevée avec un IC<sub>50</sub> de 1,876mg.mL<sup>-1</sup>. En revanche celles de la région de Mostaganem et de Ain defla présentent respectivement des IC<sub>50</sub> de 4,038mg.mL<sup>-1</sup> et 4,959 mg.mL<sup>-1</sup>. Ces différences sont probablement dues à la composition du bulbe qui est fortement liée aux conditions de culture. Bien que l'ail soit facile à cultiver, il lui faut une terre sèche et un endroit très ensoleillé et chaud. De plus l'ail craint l'humidité qui peut faire pourrir ses bulbes. Ces

exigences sont les conditions environnementales de la région de Bellezma d'où la richesse de la composition chimique du bulbe.

**Tableau 17.** Activité de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles extraites par hydrodistillation des bulbes des régions de Bellezma, Mostaganem et Ain defla.

HE	DPPH Inhibition (%)					
	1 mg.mL <sup>-1</sup>	3 mg.mL <sup>-1</sup>	6 mg.mL <sup>-1</sup>	9 mg.mL <sup>-1</sup>	12 mg.mL <sup>-1</sup>	IC <sub>50</sub> *
BFB	49,86 ± 0,11	52,03 ± 0,03	55,37 ± 0,06	65,92 ± 0,29	71,68 ± 0,10	1,876
BFM	42,53 ± 0,85	49,9 ± 0,28	53,32 ± 0,93	62,59 ± 0,28	69,14 ± 0,04	4,038
BFA	41,84 ± 1,12	45,5 ± 0,11	51,12 ± 0,48	59,51 ± 0,6	67,56 ± 0,68	4,959
	0.02 mg.mL <sup>-1</sup>	0.04 mg.mL <sup>-1</sup>	0.06 mg.mL <sup>-1</sup>	0.08 mg.mL <sup>-1</sup>	0.10 mg.mL <sup>-1</sup>	
BHA	45.33 ± 0.88	59.77 ± 0.39	82.28 ± 0.79	91.69 ± 0.26	93.89 ± 0.68	0.022

\*: concentration (mg.mL<sup>-1</sup>) pour 50% d'inhibition

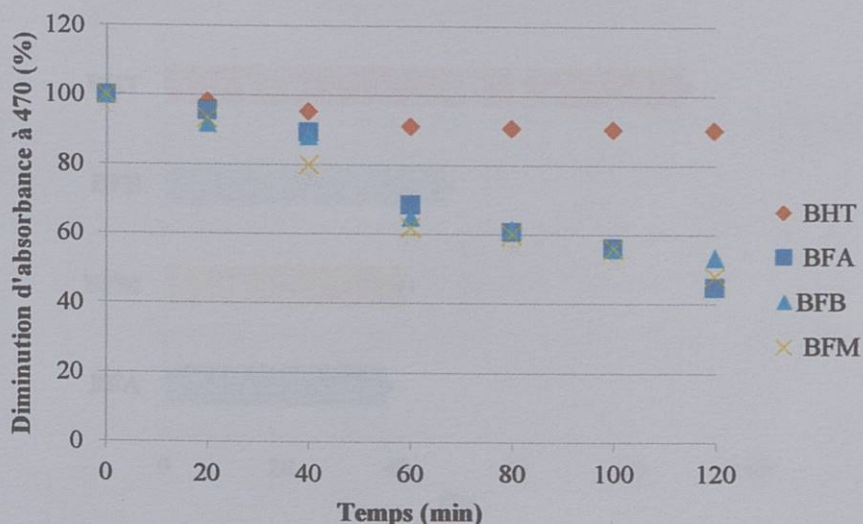
Une étude comparative des propriétés phytochimiques et pharmacologiques entre l'huile essentielle d'*A.sativum* cultivé dans deux régions différentes en Inde (Antony et al., 2019) a montré des différences distinctives dans les propriétés anti-tumorales des deux huiles. Les auteurs ont associé cette différence à la variation en constituants phytochimiques liée aux conditions géographiques et écologiques.

### 3.2.2. Blanchiment β-carotène/acide linoléique

L'activité antioxydante est évaluée par le test du blanchiment β-carotène-acide linoléique. Dans ce test, L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui vont oxyder le β-carotène entraînant ainsi sa décoloration. Cependant, l'addition d'antioxydants entre en compétition avec le β-carotène pour transférer un ou plusieurs atomes d'hydrogène sur les radicaux peroxyde (R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>HCOO<sup>•</sup>) formés par cette oxydation en présence d'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) et pour les convertir en hydroperoxydes (R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>HCOOH) . Par conséquent, il neutralise les radicaux libres tout en retardant la décoloration et donc prévenir l'oxydation du β-carotène (Huang et al., 2005).

La cinétique de la décoloration du β-carotène est illustrée dans la figure43. Celle-ci montre les changements relatifs d'absorbance d'émulsions de bêta-carotène contenant du BHT et de l'huile essentielle d'ail des différentes régions.

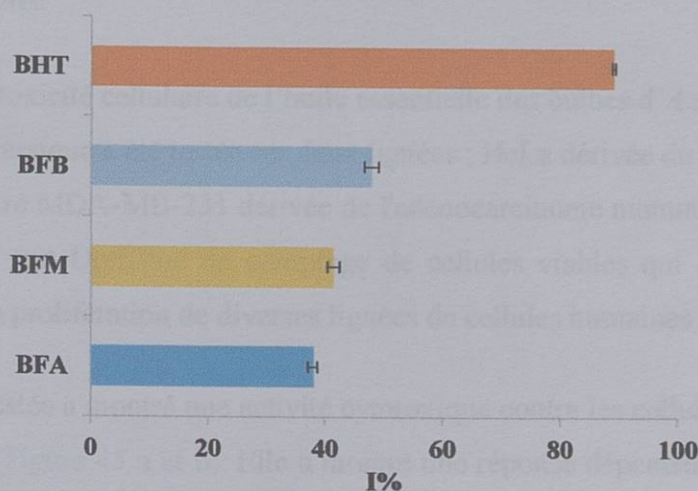




**Figure 43.** Changements relatifs d'absorbance d'émulsions de bêta-carotène contenant du BHT et de l'huile essentielle d'ail des différentes régions.

La concentration initiale est considérée comme étant de 100%. Après une heure d'incubation, le pourcentage de diminution d'absorbance est passé respectivement à 62,071%, 64,97%, et de 68,44% pour BFM, BFB et BFA contre 91,33 % celui du standard. Au cours de la deuxième heure, il est terminé à 48,01%, 53,59%, 44,81% et 90,27% respectivement pour BFM, BFB, BFA et le standard BHT. Par conséquent, ces diminutions sont faibles et l'effet de blanchiment est plus lent pour le BHT suivi de l'huile essentielle du BFB, BFM et BFA.

Ces résultats sont traduits par les taux d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique illustrés dans la figure 44. Bien que les valeurs des HEs de BFB ( $47,92 \pm 1,2\%$ ), BFM ( $41,38 \pm 1\%$ ) et BFA ( $37,93 \pm 0,74\%$ ) soient moins importantes que l'antioxydant synthétique BHT ( $89,23 \pm 0,27\%$ ), ces HEs ont montré quand même une activité anti-blanchiment du  $\beta$ -carotène.



**Figure 44.** Taux d'inhibition (I%) de l'oxydation de l'acide linoléique

En omettant le type de méthode d'extraction et l'origine du matériel végétal, d'une manière générale, d'après les résultats obtenus, nous pouvons affirmer que nos huiles testées ont montré des capacités antioxydantes intéressantes avec des concentrations d'inhibition ( $IC_{50}$ ) faibles comparant aux études rapportées dans la littérature. Nous citons, par exemple l'étude de [Mnayer et al., 2014](#)) où les auteurs ont signalé que l'activité antioxydante de la HEA extraite des bulbes d'ail par la turbo-hydrodistillation est dépendante de la concentration avec un  $IC_{50}$  de  $7,67 \text{ mg.mL}^{-1}$ ; et récemment l'étude de [Süfer et Bozok, \(2019\)](#) sur l'huile essentielle d'ail extraite par le système de Clevenger assisté par microondes qui a montré une activité antioxydante avec un  $IC_{50}$  de  $63,58 \text{ g. L}^{-1}$ .

En revanche, les résultats obtenus dans l'étude de Lawrence et Lawrence (2011), menée sur l'huile essentielle isolée à partir de rhizomes d'ail frais, sont en bonne concordance avec un  $IC_{50}$  de  $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

Le potentiel de l'huile essentielle d'ail pour la santé en tant que piègeur de radicaux libres est dû en partie aux composants soufrés, qui représentent les constituants principaux de cette huile ([Banerjee et al., 2003](#)). Il est important de noter que la faible activité antioxydante et particulièrement la teneur en phénol des huiles essentielles, comparée aux extraits de plantes est attribuée au caractère hydrophile et à la faible solubilité des substances bioactives dans un milieu à base d'huile ([Nieto et al., 2013](#)).

### 3.3. Cytotoxicité

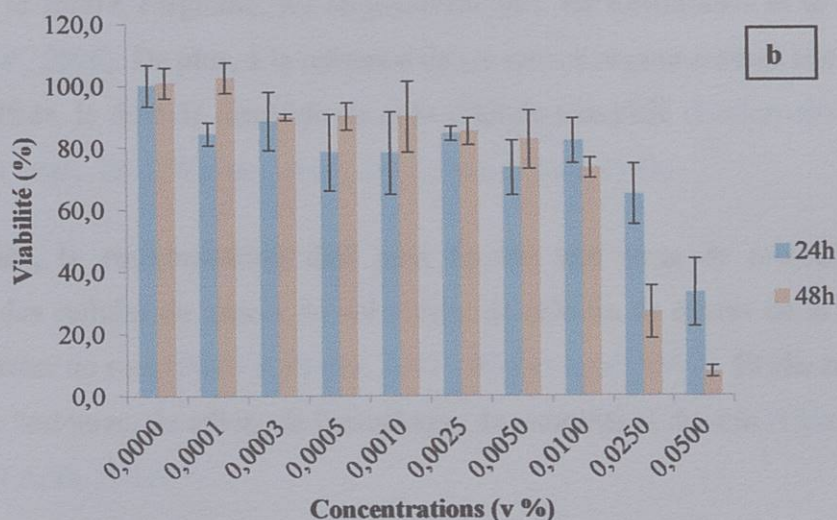
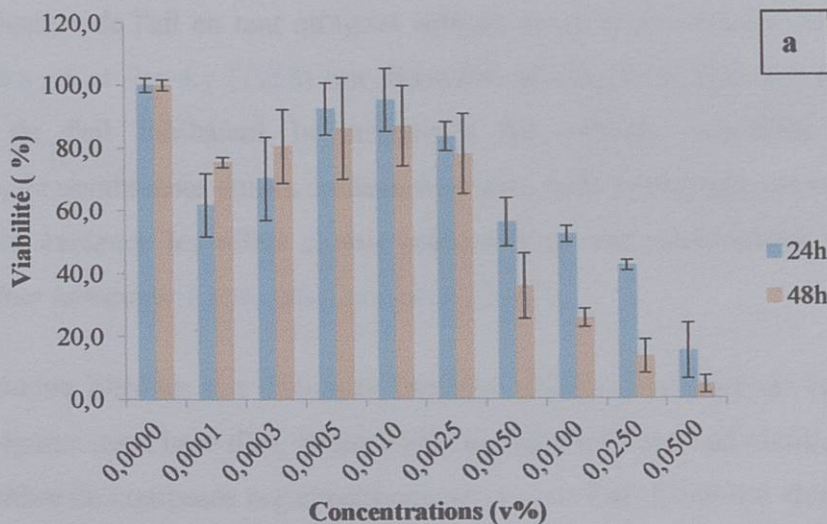
Dans ce travail, la toxicité cellulaire de l'huile essentielle des bulbes d'*A.sativum* extraite par hydrodistillation classique a été testée sur deux lignées ; HeLa dérivée du carcinome cervical et la lignée cellulaire MDA-MB-231 dérivée de l'adénocarcinome mammaire humain. Elle a été évaluée par le test UptiBlue de comptage de cellules viables qui consiste à mesurer quantitativement la prolifération de diverses lignées de cellules humaines et animales.

En effet, la HEA testée a montré une activité cytotoxique contre les cellules tumorales HeLa et MDA-MB-231 (Figure 45 a et b). Elle a montré une réponse dépendante de la dose et du temps d'exposition, avec une augmentation du niveau de cytotoxicité en fonction de la concentration accrue de la HEA. Ces résultats sont en parfaite concordance avec l'étude de Yediou et Tchounwou, (2012). Les données de cette étude, générées à partir du test MTT utilisé pour examiner l'effet cytotoxique de l'extrait d'ail (GE) sur les cellules HL-60, ont indiqué que l'exposition à l'extrait d'ail ( $p < 0,05$ ) réduit de manière significative la viabilité des cellules HL-60 d'une manière dépendante de la concentration.

Cette constatation a été récemment signalée dans l'étude d'Antony et al.(2019), menée sur l'inhibition de la prolifération des cellules de Dalton Lymphomas (DL) par l'HE de deux variétés d'*A.sativum*, récoltées de deux régions différentes et évaluée par le test MTT. Les données ont indiqué que l'huile d'ail des deux variétés réduisait la viabilité des cellules de Dalton Lymphomas de manière dépendante du volume.

Concernant l'effet de cette huile sur les cellules MDA-MB-231(Figure 45 b), la viabilité de cette dernière reste supérieure à 70-80% à une faible concentration ( $< 0.01$ ) ; puis diminue fortement avec l'augmentation de la dose sur 24h et encore plus fortement sur 48h pour atteindre quasiment 100% de mortalité à 0,05%.

De même, un profil similaire est observé concernant l'effet de la HEA sur le deuxième type de cellules testées ; les HeLa (Figure 45 a) où celles-ci sont encore plus sensibles avec une viabilité bien inférieure (50 et 40% dès 0.005% sur 24h et 48h d'exposition).



**Figure 45.** Viabilités exprimée en pourcentage de deux lignées cellulaires (a : HeLa, b : MDA-MB-231) après une exposition de 24 et 48 h à l'huile essentielle extraite des bulbes d'ail (Le graphique représente les valeurs de la viabilité cellulaire moyenne% ± ET)

Bien qu'après 48h d'incubation, les deux lignées cellulaires aient montré, une sensibilité très forte avec une mortalité quasiment de 100% à une concentration de 0,05% de l'huile testée, la lignée cellulaire HeLa apparaît plus sensible avec une viabilité inférieure à 50% pour une concentration de 0,005%. En outre, les valeurs de concentration pour 50% d'inhibition (IC<sub>50</sub>) trouvées dans cette étude qui sont de (0,0355 v/v, 0,215 v/v) à 24h et de (0,0226 v/v, 0,0143 v/v) à 48h d'incubation respectivement aux lignées cellulaires MDA et HeLa, confirment cette efficacité contre les cellules HeLa.

L'ère de l'utilisation de l'ail en tant qu'agent anticancéreux a débuté dans les années 1950, lorsque Weisberger et Pensky (1958) ont démontré *in vitro* et *in vivo* que des extraits de thiosulfinate de l'ail inhibaient la croissance des cellules tumorales. Depuis ces investigations, de nombreuses études épidémiologiques et de laboratoire ont été développées pour mettre en évidence les effets chimio-préventifs ou anticancérogènes de l'ail et des espèces d'*Allium* associées (Corzo-Martínez *et al.*, 2007).

Un certain nombre d'études ont démontré l'activité chimio-préventive de l'ail en utilisant différentes préparations à base d'ail, notamment l'extrait d'ail frais, l'ail vieilli, l'huile d'ail et un certain nombre de composés organosulfurés dérivés de l'ail. L'activité chimio-préventive a été attribuée aux molécules d'ail biologiquement actives bénéfiques pour la santé humaine comprennent le soufre, l'arginine, les oligosaccharides, les flavonoïdes et le sélénium (El-Bayoumy *et al.*, 2006). De plus, à la présence de composés organosulfurés tels que l'allicine, le diallyle sulfide, le diallyle disulfide de et le diallyle trisulfide (Borkowska *et al.*, 2013 ; Fleischauer et Arab, 2001 ; Wallace *et al.*, 2013 ; Wei et Lau, 1998) .

Par conséquent, la consommation d'ail peut fournir une sorte de protection contre la prolifération des cellules du cancer du col utérin, de cellules de cancer de la prostate et de cellules de cancer du sein (Pinto et Rivlin, 2001 ; Weber *et al.*, 1992). Et elle réduit le risque de cancers de l'estomac, du côlon, de l'œsophage, du pancréas et du sein (Chan *et al.*, 2005 ; Fleischauer et Arab, 2001).

L'ail exerce son action anti-carcinogène de manière indirecte par différents mécanismes. Il modifie le métabolisme du cancer en augmentant l'activité des systèmes enzymatiques de détoxification facilitant son excrétion de l'organisme (Guyonnet *et al.*, 1999). Il inhibe l'activation des pro-carcinogènes par l'effet sur le cytochrome P450 (Khanum *et al.*, 2004) ainsi que les dommages oxydatifs dus à leur action antioxydante. En plus, il inhibe la prolifération cellulaire par induction de l'apoptose et par blocage du cycle cellulaire (Antony *et al.*, 2019 ; Capasso, 2013 ; Perchellet *et al.*, 1990 ; Yediou et Tchounwou, 2012).

## 4. Conclusion

L'étude de l'activité antioxydante des huiles récupérées différents procédés d'extraction (HD, US-HD et SHD) ainsi celles extraites de l'ail des différentes régions (BFB, BFM et BFA), a révélé que l'ensemble de ces huiles ait montré un des propriétés potentielles mais avec des degrés différents. Toutefois, les facteurs conditions de culture ainsi que la méthode d'extraction ne sont pas à négliger dans ces différences. L'huile essentielle de la région de Bellezma, connue par des conditions favorables à la culture d'ail, semble être la plus prometteuse. Cette huile a montré une efficacité significative dans la destruction des cellules tumorales étudiées HeLa et MDA-MB-231 à des concentrations faibles. Par conséquent, ces résultats joignent et confirment les potentiels de l'ail et encouragent les scientifiques de poursuivre les recherches afin de trouver la molécule bioactive responsable.

# CONCLUSION GENERALE

---

**"Ail le soir, oignon le matin Est le malheur du médecin."**

De Proverbe auvergnat

**"L'ail est à la santé ce que le parfum est à la rose."**

De Proverbe provençal

## CONCLUSION GENERALE

La tendance de l'utilisation des produits naturels issus des plantes dans des applications culinaires, cosmétiques et médicinales est en pleine essor face au souci des effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs à la santé humaine et à l'environnement. Dans cette optique, il a été inscrit ce présent travail. En effet, il consistait en la valorisation d'une plante aromatique et médicinale, *A.sativum*, qui occupe une place importante en tant qu'épice et remède traditionnel à de nombreuses infections. Il s'agit d'une plante largement cultivée dans plusieurs régions de l'Algérie.

Les objectifs principaux assignés à ce travail, structurés en quatre chapitres, étaient d'étudier l'impact de l'ultrason dans le procédé d'extraction de l'huile essentielle des bulbes d'ail, l'un des métabolites secondaires des plantes médicinales, reconnue par sa concentration en molécules bioactives. D'autre part en l'étude des activités biologiques à savoir l'activité antibactérienne, antifongique, antioxydante et la cytotoxicité.

Le premier chapitre qui a introduit ce travail a porté sur la caractérisation nutritionnelle et minérale des bulbilles et des bulbes d'ail récolté dans la plaine de Bellezma, région située à l'est de l'Algérie. L'analyse nutritionnelle a montré que ces derniers présentent respectivement des taux d'humidité élevés, 65,46% et 66,35%. Ils contiennent également des



teneurs importantes en glucides, 25,61% et 25,83%, suivies des protéines 6,85% et 7,17% et des teneurs en lipides de 0,44% et 0,56%. Les bulbilles et les bulbes d'ail se sont distingués également par des teneurs en fibres de 1,94% et 2,16%.

L'analyse minérale effectuée par spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) et par spectrométrie de masse, par plasma à couplage inductif (ICP-MS) a montré aussi la richesse de ces deux parties de la plante analysées par les éléments majeurs principalement les niveaux élevés en potassium avec des concentrations respectives de 17254 mg / kg et de 17451 mg / kg dans les bulbilles et les bulbes suivis du phosphore avec des concentrations allant de 13286 mg / kg (bulbes) à 15916 mg / kg (bulbilles). Elles sont caractérisées par la présence de tous les oligo-éléments indispensables dans l'alimentation et distinguées surtout par des teneurs importantes en sélénium de 8,02 mg / kg et 5,65 mg / kg respectivement aux bulbilles et bulbes. La présence de cet élément, explique l'intérêt donné à l'ail à travers les nombreuses recherches dans la lutte du stress oxydatif responsable de plusieurs principales maladies du siècle. La composition nutritionnelle remarquable des bulbilles offre une meilleure alternative dans plusieurs formules thérapeutiques.

L'importance de la méthode d'extraction dans la qualité de l'huile essentielle a été considérée à travers une étude comparative entre l'hydrodistillation conventionnelle (HD) et le procédé hybride ; Clevenger couplé à l'ultrason (Sono-Hydrodistillation (SHD)). L'huile essentielle extraite avait un aspect liquide avec une odeur forte et piquante. La Sono-Hydrodistillation a permis avec succès un gain temps d'extraction 4 fois plus que la HD. Ceci est expliqué par l'effet de cavitation qui a facilité la libération de l'huile tout en fournissant un rendement comparable à celui obtenu par HD. En termes de composition chimique, l'analyse par GC-MS a révélé des similitudes qualitatives de l'huile essentielle extraite via les différents procédés avec une dominance des composés organosoufrés sur les dix-neufs composants identifiés ; ces derniers appartenant aux trois principaux groupes; les diallyles de sulfide, les méthyls allyl sulfides et les ditiines de vinyl. De même l'application de l'ultrason a généré une légère baisse de diallylle disulfide (33,35%) et le diallylle trisulfide (23,5%) par rapport à la méthode conventionnelle (38,37%, 29,96%).

Un autre facteur influençant la qualité de l'huile essentielle a été également vérifié dans cette étude. Il s'agit de l'origine de la plante. En plus de l'odeur forte, les huiles essentielles extraites des bulbes d'ail de trois régions à savoir Bellezma (BFB), Mostaganem (BFM), et Ain Defla (BFA) avaient des densités supérieures à 1 et des indices de réfraction variant de

1,5806 à 1,6980. L'analyse chromatographique de l'huile essentielle a montré pareillement une similitude qualitative de la composition. Les principaux composants sont le diallyl trisulfide, diallyl disulfide, le méthyl allyl trisulfide, le diallyl tétrasulfide, 3-Vinyl-3,4-dihydro -1,2- dithiine, 3-Vinyl-3,6- dihydro -1,2- dithiine, le méthyl allyl trisulfide et 2-vinyl-1,3- dithiane. L'Analyse de la Composante Principale (ACP) a illustré clairement que BFM est distingué par des teneurs plus élevées en diallyl disulfide (DDS) (30%) que BFB (25%) et BFA (20%), et il a des teneurs moins élevées en diallyl trisulfide (DATS) (22%) que BFB (29%) et BFA (26%).

L'activité antibactérienne étudiée contre une série de bactéries appartenant aux deux groupes Gram positif et négatif, a généré une efficacité remarquable contre les souches *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *Shigella flexnerii* avec respectivement des diamètres d'inhibition supérieurs à 40mm et des concentrations minimales inhibitrices (CMIs) allant de  $4\mu\text{L.mL}^{-1}$  à  $8\mu\text{L.mL}^{-1}$ . Aussi, une efficacité contre les souches fongiques appartenant aux dermatophytes et *Aspergillus* a été constatée. Celle-ci a engendré une inhibition totale de la croissance de l'ensemble des souches de dermatophytes testées mêmes à des dilutions faibles.

Que se soient celles extraites des différentes régions où celles extraites via les différentes méthodes d'extraction, toutes les huiles ont montré des capacités anti-radicalaires intéressantes avec des  $\text{IC}_{50}$  faibles variant entre  $0,96\text{mg.mL}^{-1}$  et  $4,99\text{ mg.mL}^{-1}$ . La cytotoxicité testée de l'huile essentielle sur les deux cellules tumorales HeLa et MDA-MB-231 a été dépendante de la dose et du temps d'exposition, avec une augmentation du niveau de cytotoxicité en fonction de la concentration accrue de la HEA. Un quasi mortalité des cellules de MDA-MB-231 et la HeLa a été atteint après 48h à une concentration de 0,05% marquant ainsi l'efficacité de cette huile essentielle sur des cellules cancéreuses

Des investigations complémentaires dans ce domaine sont nécessaires. Différents types d'études sur les mécanismes de l'action, les interactions avec des antibiotiques ou d'autres plantes ou composés médicinaux, ainsi que le profil pharmacocinétique de cette huile doivent bénéficier d'une priorité élevée.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

## Références bibliographiques

---

- Abudoulrahman, K. K., Mustafa, M. A., & Abduljabbar, A. A. (2019).** The Effect of Heat Stress on Oxidative Stress and Antioxidant Status in Local Quail Hens Supplemented with Onion and Garlic Oils. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences*, 19(1), 103–110.
- Adekunte, A. O., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., Scannell, A. G. M., & O'Donnell, C. P. (2010).** Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122(3), 500–507.
- AFNOR. (2000).** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- Agarwal, K. C. (1996).** Therapeutic Actions of Garlic Constituents Kailash. *Medicinal Research Reviews*, 16(1), 111–124.
- Akhtar, S., Khalid, N., Ahmed, I., Shehzad, A., & Ansar, H. (2013).** Physicochemical characteristics , functional properties and nutritional benefits of peanut oil : a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (August).
- Albi, T., Lanzo, A., Guinda, A., Leo, M., & Pe, M. C. (1997).** Microwave and Conventional Heating Effects on Thermo-oxidative Degradation of Edible Fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 3795–3798.
- Alissandrakis, E., Daferera, D., Tarantilis, P. A., Polissiou, M., & Harizanis, P. C. (2003).** Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from citrus flowers and citrus honey. *Food Chemistry*, 82(4), 575–582.
- Alorainy, M. S. (2011).** Evaluation of antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*) against *E. coli* O157: H7. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 4, 149-157.
- Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., & Itakura, Y. (2001).** Recent Advances on the Nutritional Effects Associated with the Use of Garlic as a Supplement. *American Society for Nutritional Sciences*, 01(Block 1985), 1118–1119.

**Anderson, J., & Bridges, S. (1988).** Dietary fiber content of selected foods. *American Journal of Clinical Nutrition*, 47(3), 440–447.

**Anesini, C., Ferraro, G. E., & Filip, R. (2008).** Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9225–9229.

**Ankri, S., & Mirelman, D. (1999).** Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and Infection*.

**Antony, S., Kumar, K. K., Menon, J. S., Antony, S., & Kumar, K. (2019).** Assessment of Phyto-Constituents by GC-MS and Anti-Tumour Activity of Garlic Grown in Different Altitude : *A Comparative Study*. 11(2), 350–354.

**Anwar, M. M., & Meki, A. R. M. A. (2003).** Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: Effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 135(4), 539–547.

**AOAC (2000).** Official methods of analysis (17th ed.). VA, USA: Association of Official Analytical Chemist, Arlington.

**APG III. (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161.2, 105–121.

**Apitz-Castro, R., Badimon, J. J., & Badimon, L. (1994).** A garlic derivative, ajoene, inhibits platelet deposition on severely damaged vessel wall in an in vivo porcine experimental model. *Thrombosis Research*, 75(3), 243–249.

**Arbach, M., Santana, T. M., Moxham, H., Tinson, R., Anwar, A., Groom, M., & Hamilton, C. J. (2019).** Antimicrobial garlic-derived diallyl polysulfanes: Interactions with biological thiols in *Bacillus subtilis*. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1863(6), 1050–1058.

**Arts, I. C. W., & Hollman, P. C. H. (2005).** Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies 1 – 4. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 317S-325S.

**Asfaw, N., Licence, P., Novitskii, A. A., & Poliakov, M. (2005).** Green Chemistry in Ethiopia : the cleaner extraction of essential oils from *Artemisia afra* : a comparison of clean technology with conventional methodology . *Green Chemistry*, 7(December 2004), 352–356.

**Auger, J., Yang, W., Arnault, I., Pannier, F., & Potin-Gautier, M. (2004).** High-performance liquid chromatographic-inductively coupled plasma mass spectrometric

evidence for Se-"alliins" in garlic and onion grown in Se-rich soil. *Journal of Chromatography A*, 1032(1–2), 103–107.

**Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2010).** Optimizing the use of garlic oil as antimicrobial agent on fresh-cut tomato through a controlled release system. *Journal of Food Science*, 75(7).

**Ayala-Zavala, J. F., Del Toro-Sánchez, L., Alvarez-Parrilla, E., Soto-Valdez, H., Martín-Belloso, O., Ruiz-Cruz, S., & González-Aguilar, G. A. (2008).** Natural antimicrobial agents incorporated in active packaging to preserve the quality of fresh fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review*, 4(3).

**Ayala-Zavala, J. F., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A., Álvarez-Parrilla, E., & Martín-Belloso, O. (2008).** Bio-preservation of fresh-cut tomatoes using natural antimicrobials. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1047–1055.

**Babu, A. J., Sundari, A. R., Indumathi, J., Srujan, R. V. N., & Sravanthi, M. (2011).** Study on the Antimicrobial activity and Minimum Inhibitory Concentration of Essential Oils of Spices. *Veterinary World*, 4(7), 311–316.

**Baghalian, K., Ziai, S. A., Naghavi, M. R., Badi, H. N., & Khalighi, A. (2005).** Evaluation of allicin content and botanical traits in Iranian garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. *Scientia Horticulturae*, 103(2), 155–166.

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.

**Balaji, M., Ramgopal, M., & MuraliKrishna, T. (2012).** Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.

**Banerjee, S. K., Mukherjee, P. K., & Maulik, S. K. (2003).** Garlic as an antioxidant: The good, the bad and the ugly. *Phytotherapy Research*, 17(2), 97–106.

**Barbier, F., & Wolff, M. (2010).** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ? *Médecine/Sciences*, 26(11), 960–968.

**Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2016).** Essential Handbook of Oils Science, Technology, and Applications (2nd Editio).

**Bazzano, L. A., Serdula, M. K., & Liu, S. (2003).** Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease . *Curr Atheroscler Rep*, 5(6), 492–499.

**Béliveau R., Gingras D. (2005).** Les aliments contre le cancer. La prévention et le traitement du cancer par l'alimentation. Éd. Trécarré, Canada

- Benkeblia, N. (2004).** Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Science and Technology*.
- Benkeblia, N., & Lanzotti, V. (2007).** Allium Thiosulfinates: Chemistry, Biological Properties and their Potential Utilization in Food Preservation. *Food J*, 2, 193–201.
- Berger, M. M. (2005).** Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24(2), 172–183.
- Block, E., Naganathan, S., Putman, D., & Zhao, S.-H. (1993).** Organosulfur chemistry of garlic and onion: Recent results. *Pure and Applied Chemistry*.
- Block, Eric. (1992).** The Organosulfur Chemistry of the Genus *Allium* -Implications for the Organic Chemistry of Sulfur. *Angew. Chem. Int.*, 31, 1135–1178.
- Borkowska, A., Knap, N., & Antosiewicz, J. (2013).** Diallyl Trisulfide Is More Cytotoxic to Prostate Cancer Cells PC-3 than to Noncancerous Epithelial Cell Line PNT1A: A Possible Role of p66Shc signaling Axis Diallyl Trisulfide Is More Cytotoxic to Prostate Cancer Cells PC-3 than to Noncancerous Epithelia. *Nutrition and Cancer*, 65(5), 37–41.
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. (2014).** Allicin: Chemistry and biological properties. *Molecules*, 19(8), 12591–12618.
- Boubechiche, Z., Chihib, N. E., Jama, C., & Hellal, A. (2017).** Comparison of volatile compounds profile and antioxidant activity of *Allium sativum* essential oils extracted using hydrodistillation, ultrasound-assisted and sono-hydrodistillation processes. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(3), S281–S285.
- Bourrelier, P.-H., Berthelin, J., & Pédro, G. (1998).** Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion: [organisé par l'Académie des sciences, 11 mai 1998]. Tec & Doc.
- Boyle, W. (1955).** Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66(1), 25-28.
- Brace, L. D. (2002).** Cardiovascular Benefits of Garlic (*Allium sativum* L). *The Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(4), 33–49.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, 28, 25–30.
- Brody T. (1994).** Nutritional Biochemistry. San Diego, CA: Academic Press.145
- Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée. Paris : Tec & Doc-Éditions médicales internationales.

**Bruneton, J., & Poupon, E. (2016).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales Éd. Tec & doc.

**Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253., 94(3), 223–253.

**Butt, M. S., Sultan, M. T., Butt, M. S., & Javaid, I. (2009).** Garlic : Nature ' s Protection Against Physiological Garlic : Nature ' s Protection Against. *Nature's Protection Against Physiological Threats, Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49:6(October 2014), 538–551.

**Caissard, J. C. & Baudino, S. (2012).** Sécrétion et stockage des huiles essentielles par les végétaux. In. X. Fernandez & F. Chemat (Eds). *La chimie des huiles essentielles : Tradition et Innovation*, 22-34. Paris : Vuibert.

**Cao, J., Xia, X., Dai, X., Xiao, J., Wang, Q., Andrae-marobela, K., & Okatch, H. (2013).** Flavonoids profiles , antioxidant , acetylcholinesterase inhibition activities of extract from *Dryothyrium boryanum* ( Willd .) Ching. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 121–128.

**Capasso, A. (2013).** Antioxidant action and therapeutic efficacy of *Allium sativum* L. *Molecules*, 18(1), 690–700.

**Căpriță, A., Căpriță, R., Simulescu, V. O., & Drehe, R. M. (2011).** Water Extract Viscosities Correlated with Soluble Dietary Fiber Molecular Weight in Cereals. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 17(3), 242–245.

**Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. (2002).** Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1914–1920.

**Casella, S., Leonardi, M., Melai, B., Fratini, F., & Pistelli, L. (2012).** The Role of Diallyl Sulfides and Dipropyl Sulfides in the In Vitro Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Garlic, *Allium sativum* L., and Leek, *Allium porrum* L. *Phytotherapy Research*, 27(3), 380–383.

**CFSAN/FDA,(2013).** Alphabetical List of SCOGS Substances.

**Chabasse, D., & Pihet, M. (2008).** Les dermatophytes : les difficultés du diagnostic mycologique. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 406, 29–38.

**Chan, J. A., Krichevsky, A. M., & Kosik, K. S. (2005).** MicroRNA-21 Is an Antiapoptotic Factor in Human Glioblastoma Cells. *Cancer Research*, 65(14), 6029–6034.



**Chappuis, P., & Poupon, J. (1991).** Le rôle du sélénium dans la défense du stress oxydatif. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*, 26(4), 295-297.

**Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017).** Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560.

**Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012).** Green extraction of natural products: concept and principles. *International journal of molecular sciences*, 13(7), 8615-8627.

**Chemat, F., Zill-E-Huma, & Khan, M. K. (2011).** Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835.

**Chen, S., Shen, X., Cheng, S., Li, P., Du, J., Chang, Y., & Meng, H. (2013).** Evaluation of garlic cultivars for polyphenolic content and antioxidant properties. *PLoS ONE*, 8(11).

**Chung, I., Kwon, S. H., Shim, S. T., & Kyung, K. H. (2007).** Synergistic antiyeast activity of garlic oil and allyl alcohol derived from alliin in garlic. *Journal of Food Science*, 72(9), 437–440.

**Clébert, J.P. (1987).** Le livre de l'ail. Avignon : Editions A. Barthélemy ; (Collection « Du goût & de l'usage »), 155.

Colin, L. (2016). L'ail et son interet en phytotherapie (université de Lorraine).

**Corzo-Martínez, M., Corzo, N., & Villamiel, M. (2007).** Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science and Technology*, 18(12), 609–625.

**Couic-Marinier, F. (2008).** Huiles essentielles : L'essentiel. Conseils pratiques en aromathérapie pour toute la famille au quotidien, un pharmacien vous conseille, éditeur F. Couic-Marinier.

**Couic-Marinier, F. (2018).** Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580), 26–29.

**Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Les huiles essentielles en pratique à l'officine. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 31–33.

**Cuvin-Aralar, M. L., & Furness, R. W. (1991).** Mercury and Selenium Interaction : *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 348–364.

**Da porto, C., Decorti, D., & Kikic, I. (2009).** Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing : Comparison of three different extraction methods. *Food Chemistry*, 112(4), 1072–1078.

Davis, S. R., Perrie, R., & Apitz-Castro, R. (2003). The in vitro susceptibility of *Scedosporium prolificans* to ajoene, allitridium and a raw extract of garlic (*Allium sativum*). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(3), 593–597.

Deboise, D. (2001). L'ail, histoire, culture, chimie, actions pharmacologiques, utilisations. Université de Lille, Phaculté de Pharmacie.

Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1–2), 101–109.

Denyer, S. P. (1991). Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. *Mechanisms of action of chemical biocides*, 171–188.

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. 160.

Dethier, B., Nott, K., & Fauconnier, M.-L. (2013). (Bio) synthesis, extraction and purification of garlic derivatives showing therapeutic properties. *Communications in Agricultural and Applied Biosciences*, 1, 1–7.

Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*, 17(9), 505–512.

Dini, C., Fabbri, A., & Geraci, A. (2011). The potential role of garlic (*Allium sativum*) against the multi-drug resistant tuberculosis pandemic: a review. *Nnali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, 47, 465–473.

Dini, I., Tenore, G. C., & Dini, A. (2008). Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium caepa* L. Var. *tropeana* (red onion) seeds. *Food Chemistry*, 107(2), 613–621.

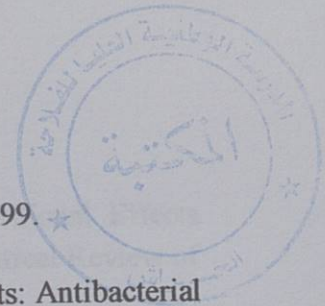
Dion, M. E., & Milner, J. A. (1997). Garlic inhibits cytochrome P450 2E1 mediated chlorzoxazone metabolism. In *Faseb Journal*, 11(3), 2144–2144.

Dion, M. E., Agler, M., & Milner, J. A. (1997). S-allyl cysteine inhibits nitrosomorpholine formation and bioactivation, 1–6.

Djenni, Z., Pingret, D., Mason, T. J., & Chemat, F. (2013). Sono-Soxhlet: In Situ Ultrasound-Assisted Extraction of Food Products. *Food Analytical Methods*, 6(4), 1229–1233. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9531-2>.

Dognon, A. (1953). Les ultrasons et leurs applications (Vol. 17). Presses universitaires de France.

Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., & Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food



technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 88-99. \*

**Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316.

**Dupont, F., & Guignard, J. L. (2012).** Botanique : Les familles des plantes. Elsevier Health Sciences.300.

**Duval, L. (2012).** Les huiles essentielles à l' officine,154.

**Dziri, S., Hassen, I., Fatnassi, S., Mrabet, Y., Casabianca, H., Hanchi, B., & Hosni, K. (2012).** Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of functional foods*, 4(2), 423-432.

**El Kalamouni, C. (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées (Université de Toulouse).

**Ela, M. A. (1996).** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, 51, 993-994.

**El-Bayoumy, K., Sinha, R., Pinto, J. T., & Rivlin, R. S. (2006).** Cancer chemoprevention by garlic and garlic-containing sulfur and selenium compounds. *The Journal of Nutrition*, 136(3), 864S-869S.

**Elgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A., & Mount, J. R. (2001).** Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64(7), 1019–1024.

**Emerson, J., Mcnamara, S., Buccat, A. M., Worrell, K., & Burns, J. L. (2010).** Changes in Cystic Fibrosis Sputum Microbiology in the United States Between 1995 and 2008. *Pediatric Pulmonology* 45:363–370.

**Ercisli, S. (2007).** Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*, 104(4), 1379–1384.

**Evans, W. C. (2009).** Trease and Evans' Pharmacognosy, International Edition E-Book. Elsevier Health Sciences, Ed.).

**FAO, 2017.** Production and trade statistics

**Food And Agricultural Organisation/ World Health Organization (FAO/WHO). (1984).** Food contaminants, In : Codex Alimentarius, Vol. XVII, Edition 1 FAO/WHO, Cedex Alimentarius Commission, Rome.

**Fisher, K., & Phillips, C. (2008).** Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology*, 19(3), 156–164.

Fleischauer, A. T., & Arab, L. (2001). Recent Advances on the Nutritional Effects Associated with the Use of Garlic as a Supplement Garlic and Cancer : A Critical Review of the Epidemiologic Literature. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1032S-1040S.

Friesen, N., Fritsch, R. M., & Blattner, F. R. (2006). Phylogeny and new intrageneric classification of *Allium* (Alliaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. *Aliso*, 22(1), 372–395.

Frisvad JC, Thrane U. (2004). Mycotoxin production by common filamentous fungi. In: Samson RA, van Reen-Hoekstra E, editors. Introduction to food-borne fungi. Baarn-Delft: Cen- traalbureau voor Schimmelcultures. 321–31.

Fritsch, R. ., Blattner, F. R., & Gurushidze, M. (2010). New Classification of *Allium* L. subg. *Melanocrommyum* (WEBB & BERTHEL.) ROUY (Alliaceae) Based on Molecular and Morphological Characters. *Phyton (Horn)*, 49(April), 145–220.

Fritsch, R. M., & Friesen, N. (2002). Evolution, Domestication and Taxonomy. *Allium Crop Science: Recent Advances*, (January 2014), 5–30.

Fujisawa, H., Watanabe, K., Suma, K., Origuchi, K., Matsufuji, H., Seki, T., & Ariga, T. (2009). Antibacterial Potential of Garlic-Derived Allicin and Its Cancellation by Sulfhydryl Compounds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(9), 1948–1955.

Galanakis, C. M. (2012). Recovery of high components from food wastes : Conventional , emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2), 68–87.

García-Herrera, P., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata, M. C., Cámara, M., Carvalho, A. M., ... Tardío, J. (2014). Nutrients, phytochemicals and antioxidant activity in wild populations of *Allium ampeloprasum* L., a valuable underutilized vegetable. *Food Research International*, 62, 272-279.

Gebhardt, R., & Beck, H. (1996). Differential inhibitory effects of garlic-derived organosulfur compounds on cholesterol biosynthesis in primary rat hepatocyte cultures. *Lipids*, 31(12), 1269–1276.

Gedik, N., Kabasakal, L., Şehirli, Ö., Ercan, F., Sirvanci, S., Keyer-Uysal, M., & Şener, G. (2005). Long-term administration of aqueous garlic extract (AGE) alleviates liver fibrosis and oxidative damage induced by biliary obstruction in rats. *Life Sciences*, 76(22), 2593–2606.

Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S. (2010). Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques : Review. *American Journal of Applied Sciences*, 7(7), 859–877.

Glass, A. D. M. (1989). *Plant mineral nutrition. An introduction to current concepts.*

Boston: Jones and Bartlett Publishers, Inc.

**Gorinstein, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Drzewiecki, J., Najman, K., Katrich, E., ... Trakhtenberg, S. (2006).** Raw and boiled garlic enhances plasma antioxidant activity and improves plasma lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *Life Sciences*, 78(6), 655–663.

**Groll, A. H., Shah, P. M., Mentzel, C., Schneider, M., Just-Nuebling, G., & Huebner, K. (1996).** Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a University Hospital. *Journal of Infection*, 33(1), 23–32.

**Guo, J. J., Kuo, C. M., Hong, J. W., Chou, R. L., Lee, Y. H., & Chen, T. I. (2015).** The effects of garlic-supplemented diets on antibacterial activities against *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* and *Streptococcus iniae* and on growth in Cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 435, 111–115.

**Gupta, N., & Porter, T. D. (2001).** Garlic-Derived Compounds Inhibit Human Squalene Monooxygenase. *The Journal of Nutrition*, 131(1), 1662–1667.

**Guyonnet, D., Siess, M., Bon, A. Le, & Suschetet, M. (1999).** Modulation of Phase II Enzymes by Organosulfur Compounds from *Allium* Vegetables in Rat Tissues. *JToxicology and Applied Pharmacology*, 154(1), 50–58.

**Haciseferoğulları, H., Özcan, M., Demir, F., & Çalşır, S. (2005).** Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of food engineering*, 68(4), 463–469.

**Hajji, S. (1985).** Comparative study of an essential oil obtained by two different methods of extracting: hydrodistillation and hydrodiffusion. In *1. Colloque International sur les Plantes Aromatiques et Medicinales du Maroc, [Morocco], 15-17 May 1984.*

**Hallez, L. (2009).** Caractérisation de transducteurs ultrasonores focalisés (HIFU) dédiés à la sonochimie : application à l'irradiation de polymères. (Université de Franche Comté).

**Hanson JB. (1984).** The function of calcium in essential plant nutrient. In: P.B. Tinker and A. Lauchli (eds) *Advances in plant Nutrition*. Praeger, New York, 149-208.

**Harris, J. C., Cottrell, S. L., Plummer, S., & Lloyd, D. (2001).** Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(3), 282–286.

**Harvey, N., & Loomis, A. L. (1928).** High Frequency Sound Waves of Small Intensity and their Biological Effects. *Nature*, 121(3051), 622–624.

**Hassane, S. O. S., Satrani, B., Ghanmi, M., & Mansouri, N. (2011).** Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de *Plectranthus aromaticus* Roxb. de l'Ile de la Grande Comore. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15(2), 251–258.

- Heras-Mozos, R., Muriel-Galet, V., López-Carballo, G., Catalá, R., Hernández-Muñoz, P., & Gavara, R. (2019).** Development and optimization of antifungal packaging for sliced pan loaf based on garlic as active agent and bread aroma as aroma corrector. *International Journal of Food Microbiology*, 290, 42-48.
- Hu, W., Huang, C., & Wang, M. H. (2012).** Chemical composition, nutritional value, and antioxidant constituents of *Kalopanax pictus* leaves. *Food Chemistry*, 131(2), 449-455.
- Huang, D., Boxin, O. U., & Prior, R. L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L., & Debabov, D. (2012).** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3(January), 1-24.
- Ide, N., & Lau, B. H. S. (2001).** Garlic Compounds Minimize Intracellular Oxidative Stress and Inhibit Nuclear Factor- $\kappa$ B Activation. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1020S-1026S.
- Ji, L. L., & Peterson, D. M. (2004).** Bhjoh- Fyfsdjtf- boe Qizupdifnjdbmt Qspnjftf boe Qjugbmmt MJ. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1019(1), 453-461., 1019(1), 453-461.
- Jouault, S. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.
- Keleş, A., Alcin, H., & Kamalak, A. (2014).** Micro-CT evaluation of root filling quality in oval-shaped canals. *International Endodontic Journal*, 47(12), 1177-1184.
- Khadri, A., Neffati, M., Smiti, S., Falé, P., Lino, A. R. L., Serralheiro, M. L. M., & Araújo, M. E. M. (2010).** Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobial activities of *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (lemon grass) from Tunisia. *LWT-Food Science and Technology*, 43(2), 331-336.
- Khanum, F., Anilakumar, K. R., & Viswanathan, K. R. (2004).** Anticarcinogenic Properties of Garlic: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(6), 479-488.
- Khodavandi, A., Alizadeh, F., Harmal, N. S., Sidik, S. M., Othman, F., Sekawi, Z., ... Chong, P. P. (2011).** Comparison between efficacy of allicin and fluconazole against *Candida albicans* in vitro and in a systemic candidiasis mouse model. *FEMS Microbiology Letters*, 315(2), 87-93.
- Kim, J. W., Huh, J. E., Kyung, S. H., & Kyung, K. H. (2004a).** Antimicrobial activity of

alk(en)yl sulfides found in essential oils of garlic and onion. *Food Science and Biotechnology*, 13(2), 235-239.

**Kim, J. W., Kim, Y. S., & Kyung, K. H. (2004b).** Inhibitory activity of essential oils of garlic and onion against bacteria and yeasts. *Journal of food protection*, 67(3), 499-504.

**Kimbaris, A. C., Kioulos, E., Koliopoulos, G., Polissiou, M. G., & Michaelakis, A. (2009).** Coactivity of sulfide ingredients: a new perspective of the larvicidal activity of garlic essential oil against mosquitoes. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 65(3), 249-254., 65(3), 249-254.

**Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., & Polissiou, M. G. (2006).** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(1), 54-60.

**Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Pappas, C. S., Tarantilis, P. A., Daferera, D. J., & Polissiou, M. G. (2006).** Quantitative analysis of garlic (*Allium sativum*) oil unsaturated acyclic components using FT-Raman spectroscopy. *Food chemistry*, 94(2), 287-295.

**Kiralan, M., Bayrak, A., Abdulaziz, O. F., & Özbucak, T. (2012).** Essential oil composition and antiradical activity of the oil of Iraq plants. *Natural Product Research*, 26(2), 132-139.35149

**Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H.-M., Vigen-schow, H. (1986).** Action of terpenoids on energy metabolism. In: Brunke, E.J. (Ed.), *Progress in Essential Oil Research: 16th International Symposium on Essential Oils*. De Gruyter, Berlin, pp. 429-445.

**Kohlmeier M. (2015).** *Nutrient Metabolism: Structures, Functions, and Genes*. 2nd Edition Elsevier Ltd .898.

**Konczak, I., & Roulle, P. (2011).** Nutritional properties of commercially grown native Australian fruits: Lipophilic antioxidants and minerals. *Food Research International*, 44(7), 2339-2344.

**Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F. J., Roohinejad, S., Greiner, R., & Vorobiev, E. (2016).** Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Research International*, 85, 59-66.

**Kozan, E., & Liu Qiang, S. (2012).** A demand-responsive decision support system for coal transportation. *Decision Support Systems*, 54(1), 0-32.

**Krčmár M, (2008).** *L'ail : saveurs et vertus*. Paris : Grancher. 170.

- Kuznetsov, V. V., Kholodova, V. P., Kuznetsov, V. V., & Yagodin, B. A. (2003).** Selenium regulates the water status of plants exposed to drought. In *Doklady biological sciences* (Vol. 390, No. 1, pp. 266-268). MAIK Nauka/Interperiodica.
- Kyung, K. H. (2012).** Antimicrobial properties of allium species. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 142–147.
- Langevin, P. (1920).** British patent specifications. *IYS*, 457(145), 691.
- Lanzotti, V. (2006).** The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, 1112(1–2), 3–22.
- Lanzotti, V., Barile, E., Antignani, V., Bonanomi, G., & Scala, F. (2012).** Antifungal saponins from bulbs of garlic, *Allium sativum* L. var. Voghiera. *Phytochemistry*, 78, 126–134.
- Lau, B. H. S. (2006).** Suppression of LDL Oxidation by Garlic Compounds Is a Possible Mechanism of Cardiovascular Health Benefit. *The Journal of Nutrition*, 136(3), 765S-768S.
- Laurent, 2017.** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. (Universite Paul Sabatier Toulouse III, faculté des sciences pharmaceutiques).
- Lawrence, R., & Lawrence, K. (2011).** Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, (z1), 51-54.
- Lawson, L. D. (1996).** The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. *Garlic: the Science and Therapeutic Applications of Allium sativum L. and Related Species*, 37-109.
- Lawson, L. T. (1998).** **Garlic:** a review of its medicinal effects and indicated active compounds. *Phytomedicines of Europe: Chemistry and Biological Acitivity*, 176-209.
- Leong, J., Morel, P. C. H., Purchas, R. W., & Wilkinson, B. H. P. (2010).** The production of pork with garlic flavour notes using garlic essential oil. *Meat Science*, 84(4), 699–705.
- Levander, A., & Morris, C. (1984).** Dietary selenium levels needed to maintain balance in North American adults consuming. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 39, 809–815.
- Lieu, P. T., Heiskala, M., Peterson, P. A., & Yang., Y. (2001).** The roles of iron in health and disease. *Journal of Pathology*, 22, 1–87.
- Liu, L., & Yeh, Y.-Y. (2000).** Inhibition of Cholesterol Biosynthesis By Garlic Compounds. *Lipids*, 35(2), 197–203.



- Liu, Y., Jiang, X., Gu, Y., & Chen, Y. (2019).** International Immunopharmacology Preventive effect of Diallyl Trisulfide on cutaneous toxicities induced by EGFR inhibitor. *International Immunopharmacology*, 69, 79–87.
- Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H. M., Ross, C. F., Powers, J. R., Tang, J., & Rasco, B. A. (2011).** Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy. *Food Chemistry*.
- Luque-García, J. L., & Luque De Castro, M. D. (2004).** Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment - Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*, 1034(1–2), 237–242.
- Maaß, H. I., & Klaas, M. (1995).** Intraspecific differentiation of garlic (*Allium sativum* L.) by isozyme and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 91(1), 89-97.
- Macpherson, L. J., Geierstanger, B. H., Viswanath, V., Bandell, M., Eid, S. R., Hwang, S., ... Diego, S. (2005).** The Pungency of Garlic: Activation of TRPA1 and TRPV1 in Response to Allicin. *Current Biology*, 15, 929–934.
- Marchetti, O., Bille, J., Fluckiger, U., Eggimann, P., Ruef, C., Garbino, J., ... Pittet, D. (2004).** Epidemiology of Candidemia in Swiss Tertiary Care Hospitals: Secular Trends, 1991–2000. *Clinical Infectious Diseases*, 38(3), 311–320.
- Mason, T., Chemat, F., & Vinatoru, M. (2011).** The extraction of natural products using ultrasound or microwaves. *Current Organic Chemistry*, 44(0), 237–247.
- Mathew, B. C., Daniel, R. S., & Augusti, K. T. (1996).** Hypolipidemic effect of garlic protein substituted for casein in diet of rats compared to those of garlic oil. *Indian Journal of Experimental Biology*, 34(4), 337-340.
- Matsuura, H. (2004).** Phytochemistry of garlic horticultural and processing procedures. In *Nutraceuticals: Designer Foods III: Garlic, Soy and Licorice*,. 55–69.
- McDowell, L.R. (2003).** Minerals in Animal And Human Nutrition; 2nd ed, Amsterdam : Elsevier Science . 660.
- Meena, M.R. & Sethi, V. (1994).** Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *J. Food Sci. and Tech. Mysore*, 31, 68 – 70.
- Mekem Sonwa, M. (2000).** Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. (Doctoral dissertation, Staats-und Universitätsbibliothek Carl von Ossietzky).
- Messiaen, C.M., (1996).** La variabilité chez l'Ail. *La Lettre des Ressources Génétiques Végétales*, n° 9. 7-10.

Miller, R. A., Hosoney, R. C., Graf, E., & Soper, J. (1997). Garlic effects on dough properties. *Journal of Food Science*, 62(6), 1198–1201.

Minker, C. (2012). Ail et autres alliés : Un concentré de bienfaits pour votre santé, votre beauté et votre jardin. *Editions Eyrolles*.

M Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A. S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez X., & Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae family. *Molecules*, 19(12), 20034-20053.

Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26, 211–219.

Najjaa, H., Neffati, M., Zouari, S., & Ammar, E. (2007). Essential oil composition and antibacterial activity of different extracts of *Allium roseum* L., a North African endemic species. *Comptes Rendus Chimie*. 10,820-826.

Navarro-Alarcón, M., & López-Martínez, M. C. (2000). Essentiality of selenium in the human body: Relationship with different diseases. *Science of the Total Environment*, 249(1–3), 347–371.

Nazari, M., Ghanbarzadeh, B., Kafil, H. S., Zeinali, M., & Hamishehkar, H. (2019). Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. *Colloid and Interface Science Communications*, 30, 100176.

Nazari, M., Ghanbarzadeh, B., Samadi, H., & Zeinali, M. (2019). Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative : Its application in yogurt as food model. *Colloid and Interface Science Communications*, 30(December 2018), 100176.

Nieto, G., Jongberg, S., Andersen, M. L., & Skibsted, L. H. (2013). Thiol oxidation and protein cross-link formation during chill storage of pork patties added essential oil of oregano, rosemary, or garlic. *Meat Science*, 95(2), 177–184.

Nuutila, A. M., Puupponen-Pimiä, R., Aarni, M., & Oksman-Caldentey, K. M. (2003). Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry Food Chemistry*, 81(4), 485-493.

Odebunmi, E. O. (2009). Comparative Proximate Analysis of Some Food Condiments. *Applied Sciences Research*, 1–3.

O'Gara, E. A., Hill, D. J., & Maslin, D. J. (2000). Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(5),

**Ogita, A., Fujita, K. I., Taniguchi, M., & Tanaka, T. (2006).** Dependence of synergistic fungicidal activity of Cu<sup>2+</sup> and allicin, an allyl sulfur compound from garlic, on selective accumulation of the ion in the plasma membrane fraction via allicin-mediated phospholipid peroxidation. *Planta Medica*, 72(10), 875–880.

**Oladele, O. O. (2019).** Screening for antifungal activity of garlic (*Allium sativum*) powder against mycelia growth of three post-harvest pathogens. 9(2), 57–63.

**Omar, S. H., & Al-Wabel, N. A. (2010).** Organosulfur compounds and possible mechanism of garlic in cancer. *Saudi Pharmaceutical Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.007>

**Otunola, G. A. (2010).** Comparative analysis of the chemical composition of three spices – *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. *African J. biotechnolo* 9(41), 6927-6931.

**Ouddane, B. (1990).** Comportement des éléments majeurs et mineurs dans un milieu soumis à des gradients physico-chimiques marqués : cas de l'estuaire de la Seine. Université Lille1 - Sciences et Technologies.

**Pail, S. T., & Platt, M. W. (1995).** Antifungal effects of *Allium sativum* (garlic) extract against the *Aspergillus* species involved in otomycosis. *Letters in Applied Microbiology*, 20(1), 14–18.

**Park, S. Y., Yoo, S. S., Shim, J. H., & Chin, K. B. (2008).** Physicochemical properties, and antioxidant and antimicrobial effects of garlic and onion powder in fresh pork belly and loin during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 73(8).

**Park, S. Y., Yoo, S. S., Shim, J. H., & Chin, K. B. (2008).** Physicochemical properties and antioxidant and antimicrobial effects of garlic and onion powder in fresh pork belly and loin during refrigerated storage. *Journal of food science*, 73(8), C577-C584.

**Pârvu, M., Pârvu, A. E., Vlase, L., Roșca-Casian, O., Pârvu, O., Pușcaș, M., & 1Department. (2011).** Allicin and alliin content and antifungal activity of *Allium senescens* L. ssp. *montanum* (F. W. Schmidt) Holub ethanol extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(29), 6544–6549.

**Pedraza-Chaverri, J., Medina-campos, O. N., & Segoviano-murillo, S. (2007).** Effect of heating on peroxynitrite scavenging capacity of garlic. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 622–627.

**Pennanen, A., Tailin, X. ue, & Hartikainen, H. (2002).** Protective role of selenium in plant subjected to severe UV irradiation stress. *Journal of Applied Botany*, 76(1–2), 66–76.

Perchellet, J. P., Perchellet, E. M., Belman, S., Pierre, J., Perchellet, E. M., & Belman, S. (1990). Inhibition of DMBA- induced mouse skin tumorigenesis by garlic oil and inhibition of two tumor- promotion stages by garlic and onion oils. *Nutrition and Cancer*, 14(4), 183–

Perelló, A., Gruhlke, M., & Slusarenko, A. J. (2013). Effect of garlic extract on seed germination, seedling health, and vigour of pathogen-infested wheat. *Journal of Plant Protection Research*, 53(4), 317–323.

Perry, C. C., Weatherly, M., Beale, T., & Randriamahefa, A. (2009). Atomic forcemicroscopy study of the antimicrobial activity of aqueous garlic versus ampicillin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(6), 958–964.

Petropoulos, S., Fernandes, Â., Barros, L., Ciric, A., Sokovic, M., & Ferreira, I. C. F. R. (2018). Antimicrobial and antioxidant properties of various Greek garlic genotypes. *Food Chemistry*, 245(October 2017), 7–12.

Pilon-Smits, E. A., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., & Schiavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 267–274.

Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2), 593–606.

Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2014). An Improved Ultrasound Clevenger for Extraction of Essential Oils. *Food Analytical Methods*, 7(1), 9–12.

Pinto, J. T., & Rivlin, R. S. (2001). Antiproliferative Effects of *Allium* Derivatives from Garlic. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1058S-1060S.

Pitt J.I. & Hocking A.D. (1999). Fungi and food spoilage. *Springer, London & New York*. 501.

Poojary, M. M., Putnik, P., Kovačević, D. B., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Dias, D. A., & Shpigelman, A. (2017). Stability and extraction of bioactive sulfur compounds from *Allium* genus processed by traditional and innovative technologies. *Journal of Food Composition and Analysis*, 61, 28-39.s.

Pospisil, P. (2010). Growing garlic from bulbils. *The Canadian Organic Grower*, 12-15.

Pyun, M. S., & Shin, S. (2006). Antifungal effects of the volatile oils from *Allium* plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils with ketoconazole. *Phytomedicine*, 13(6), 394–400.

Qidwai, W., & Ashfaq, T. (2013). Role of Garlic Usage in Cardiovascular Disease

Prevention : An Evidence-Based Approach. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 9.

**Rahman, M. S. (2007a).** Allicin and other functional active components in garlic: Health benefits and bioavailability. *International Journal of Food Properties*, 10(2), 245–268.

**Rajasree CR., Rajamohan T. (1999).** Biochemical Effects of Garlic Protein on Lipid Metabolism in Alcohol Fed Rats. 37(March): 243–47.

**Ramic, M., Vidovic, S., Zekovic, Z., Vladic, J., Cvejic, A., & Pavlic, B. (2015).** Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from Aronia melanocarpa by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23, 360–368.

**Rao, I. M. (2009).** Essential Plant Nutrients and their Functions. Centre International de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, 200936.p (Working document n° 209).

**Reeves, R. D., & Baker, A. J. M. (2000).** Metal accumulating plants. *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean up the Environment*. Raskin I, Ensley BD (Eds.) John Wiley & Sons Inc, New York.

**RÈGLEMENT (CE) N° 466/2001 (2002)** de la commission du 8 mars .CONSLEG: 2001R0466 — 23/04/2002 (2001) 20. 1–19.

**Remmal, A., Bouchikhi, T., Rhayour, K., Ettayebi, M., & Tantaoui-Elaraki, A. (1993).** Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2), 179–184.

**Rendu, F., Daveloose, D., Debouzy, J. C., Bourdeau, N., Levy-Toledano, S., Jain, M. K., & Apitz-Castro, R. (1989).** Ajoene, the antiplatelet compound derived from garlic, specifically inhibits platelet release reaction by affecting the plasma membrane internal microviscosity. *Biochemical Pharmacology*, 38(8), 1321–1328.

**Reuter, H. D. (1995).** Allium sativum and Allium ursinum: Part 2 pharmacology and medicinal application . *Phytomedicine*, 2(1)73–91.

**Reuter, H. D. (1996).** Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations. *Garlic*.

**Richards, M. J., Edwards, J. R., & Culver, D. H. (1999).** Nosocomial Infections in Pediatric Intensive Care Units in the United States. *Pediatrics*, 103(4), e39–e39.

**Richards, W. T., & Loomis, A. L. (1927).** The chemical effects of high frequency sound waves i. a preliminary survey. *Journal of the American Chemical Society*, 49(12), 3086–3100.

- Richardson, L. (2013).** Flavour, taste and smell. *Mind and Language*, 28(3), 322–341.
- Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 80–84.
- Rombaut, N., Tixier, A. S., Bily, A., & Chemat, F. (2014).** Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 530–544.
- Rombi M, Robert D. (2007).**  
120 plantes médicinales : composition, mode d'action et intérêt thérapeutique, 3e édition.  
*Alpen*.
- Romeilah, R. M., Fayed, S. A., & Mahmoud, G. I. (2010).** Chemical compositions, antiviral and antioxidant activities of seven essential oils. *J Appl Sci Res*, 6(1), 50–62.
- Rosello'-Soto, E., Oleksii, P., Qian, D., Ankit, P., Mohamed, K., Nabil, G., ... Francisco, J. B. (2016).** Application of Non-conventional Extraction Methods : Toward a Sustainable and Green Production of Valuable Compounds from Mushrooms. *Food Engineering Reviews*, 8(2), 8(2), 214–234.
- Sajid, M., Butt, M. S., Shehzad, A., & Tanweer, S. (2014).** Chemical and mineral analysis of garlic: a golden herb. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 24(1s), 108–110.
- Sakka Rouis-Soussi, L., Boughelleb-M'Hamdi, N., El Ayeb-Zakhama, A., Flamini, G., Ben Jannet, H., & Harzallah-Skhiri, F. (2014).** Phytochemicals, antioxidant and antifungal activities of allium roseum var. grandiflorum subvar. typicum regel. *South African Journal of Botany*, 91, 63–70.
- Sallam, K. I., Ishioroshi, M., & Samejima, K. (2004).** Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT - Food Science and Technology*.
- Santhosha, S. G., Jamuna, P., & Prabhavathi, S. N. (2013).** Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance : A review. *Food Bioscience*, 3, 59–74.
- Saravanan, G., & Prakash, J. (2004).** Effect of garlic ( *Allium sativum* ) on lipid peroxidation in experimental myocardial infarction in rats. 94, 155–158.
- Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Fougrach, H., Bourkhiss, B., ... & Talbi, M. (2007).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, 85–96.
- Sendl, A., Schliack, M., Löser, R., Stanislaus, F., & Wagner, H. (1992).** Inhibition of cholesterol synthesis in vitro by extracts and isolated compounds prepared from garlic and wild garlic. *Atherosclerosis*, 94(1), 79–85.

Senninger, F. (2009). L'ail et ses bienfaits. *Editions Jouvence*. 96.

Shadkchan, Y., Shemesh, E., Mirelman, D., Miron, T., Rabinkov, A., Wilchek, M., & Osherov, N. (2004). Efficacy of allicin, the reactive molecule of garlic, in inhibiting *Aspergillus* spp. in vitro, and in a murine model of disseminated aspergillosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(5), 832–836.

Shams-Ghahfarokhi, M., Shokoohamiri, M. R., Amirrajab, N., Moghadasi, B., Ghajari, A., Zeini, F., ... Razzaghi-Abyaneh, M. (2006). In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. *Fitoterapia*, 77(4), 321–323.

Sherman, P. W., & Billing, J. (1999). Darwinian gastronomy: why we use spices. Spices taste good because they are good for us. *BioScience*, 49(6), 453–463.

Shirsath, S. R., Sonawane, S. H., & Gogate, P. R. (2012). Chemical Engineering and Processing: Process Intensification Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations — A review of current status. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 53, 10–23.

Shotipruk, A., Kaufman, P. B., & Wang, H. Y. (2001). Feasibility study of repeated harvesting of menthol from biologically viable *menthaxpiperata* using ultrasonic extraction. *Biotechnology progress*, 17(5), 924–928.

Sikkemat, J., de Bontt, J. A. M., & Poolmann, B. (1994). Interactions of Cyclic Hydrocarbons with Biological Membranes. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(11), 8022–8028.

Singh BB, Vinjamury SP, Der-Martirosian C, Kubik E, Mishra LC, Shepard NP, et al. (2007). Ayurvedic and collateral herbal treatments for hyperlipidemia: a systematic review of randomized controlled trials and quasi-experimental designs. *Altern Ther Health Med*, 13, 22-28.

Singh, B. B., Vinjamury, S. P., Der-Martirosian, C., Kubik, E., Mishra, L. C., Shepard, N. P., ... & Madhu, S. G. (2007). Ayurvedic and collateral herbal treatments for hyperlipidemia: a systematic review of randomized controlled trials and quasi-experimental designs. *Alternative therapies in health and medicine*, 13(4), 22-31.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, 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.

Sivam, G. P. (2001). Protection against *Helicobacter pylori* and Other Bacterial Infections

by Garlic. *Journal of Nutrition*, 131(3), 955S-962S.

**Skandamis, P. N., & Nychas, G. J. E. (2001).** Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 1011–1022.

**Soetan, K. O., Olaiya, C. O., & Oyewole, O. E. (2010).** The importance of mineral elements for humans , domestic animals and plants : A review. *African Journal of Food Science*, 4(May), 200–222.

**Sonwa, M. M. (2000).** Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: comparative study of the oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus*, and *Cyperus rotundus*. University of Hamburg Faculty of Chemistry.

**Sousa, D. P. D. (2012).** Medicinal essential oils. *Nova Science Publishers*

**Srivastava, K. C., & Tyagi, O. D. (1983).** Effects of a Garlic-Derived Principle (Ajoene) on Aggregation and Arachidonic Acid Metabolism in Human Blood Platelets. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 49(2), 587–595.

**Stevens, P. F. (2013).** Angiosperm Phylogeny Website, disponible sur : <http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html>

**Strickland, V. J., Fisher, J. S., Williams, H. G., Potts, W. T., & Hepworth, G. W. (2011).** Sensory quality of meat from lambs fed garlic. *Meat Science*, 88(3), 590–593.

**Süfer, Ö., & Bozok, F. (2019).** Determination of volatile components and antioxidant Activity of essential oil obtained from kastamonu garlic by microwave-assisted cleverger system. *GIDA/ The Journal of Food*, 44(1), 22–30.

**Suleria, H. A. R., Butt, M. S., Khalid, N., Sultan, S., Raza, A., Aleem, M., & Abbas, M. (2015).** Garlic (*Allium sativum*): Diet based therapy of 21st century-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(4), 271–278.

**Sultan, M. T., Butt, M. S., Ahmad, R. S., Batool, R., Naz, A., & Suleria, H. (2011).** Supplementation of powdered black cumin (*Nigella sativa*) seeds reduces the risk of hypercholesterolemia. *Functional Foods in Health and Disease*, 1(12), 516-524.

**Suslick, K. S., Eddingsaas, N. C., Flannigan, D. J., Hopkins, S. D., & Xu, H. (2011).** Extreme conditions during multibubble cavitation: Sonoluminescence as a spectroscopic probe. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 842–846.

**Szychowski, J. A., Vidalakis, G., & Semancik, J. S. (2005).** Host-directed processing of Citrus exocortis viroid. *Journal of General Virology*, 86(2), 473-477., 86(2), 473–477.

**Tattelman, E. (2005).** Health effects of garlic. *American Family Physician*, 72(1), 103–106.



- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., & Sokmen, A. (2005). In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five species from Turkey. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.016>
- Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. *Tec & Doc*.
- Thampi, N., & Jeyadoss, V. S. (2015). Comparative investigation of total antioxidant and free radical scavenging activities of two *Allium* species. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(4), 148–151.
- Tomsik, A., Pavlic, B., Vladic, J., Ramic, M., Brindza, J., & Vidovic, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 502–511.
- Tripathi, K. (2009). A review-Garlic, the spice of life-(Part-I). *Asian J Res Chem*, 2(1), 8–13.
- Tsai, C. W., Chen, H. W., Sheen, L. Y., & Lii, C. K. (2012). Garlic: Health benefits and actions. *BioMedicine (Netherlands)*, 2(1), 17–29.
- Tsao, S. M., & Yin, M. C. (2001). In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *Journal of Medical Microbiology*, 50(7), 646–649.
- Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561–1568.
- Unsicker, S. B., Kunert, G., & Gershenzon, J. (2009). Protective perfumes : the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(4), 479–485.
- Urala, N., & Lähteenmäki, L. (2007). Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Quality and Preference*, 18(1), 1–12.
- Van den Dool, H., & Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography .
- Vanderhoek, J. Y., Makheja, A. N., & Bailey, J. M. (1980). Inhibition of fatty acid oxygenases by onion and garlic oils. *Biochemical Pharmacology*, 29(23), 3169–3173.
- Vazquez-Prieto, M. A., González, R. E., Renna, N. F., Galmarini, C. R., & Miatello, R. M. (2010). Aqueous garlic extracts prevent oxidative stress and vascular remodeling in an experimental model of metabolic syndrome. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(11), 6630–6635.

Vercet, A., Burgos, J., Lopez-buesa, P., & Lo, P. (2001). Manothermosonication of Foods and Food-Resembling Systems : Effect on Nutrient Content and Nonenzymatic Browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 483-489.

Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235.

Vina, J., Borras, C., Gomez-Cabrera, M. C., & Orr, W. C. (2006). Part of the series: From dietary antioxidants to regulators in cellular signalling and gene expression. Role of reactive oxygen species and (phyto)estrogens in the modulation of adaptive response to stress. *Free Radical Research*, 40(2), 111-119.

Vinatoru, M. (2001). An Overview of the Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 303-313.

Visioli, F., & Hagen, T. M. (2007). Nutritional strategies for healthy cardiovascular aging : Focus on micronutrients. *Pharmacological Research*, 55, 199-206.

Wallace, G. C., Haar, C. P., Vandergrift, W. A., Giglio, P., Dixon-Mah, Y. N., Varma, A. K., ... Das, A. (2013). Multi-targeted DATS prevents tumor progression and promotes apoptosis in ectopic glioblastoma xenografts in SCID mice via HDAC inhibition. *Journal of Neuro-Oncology*, 114(1), 43-50.

Wan, J., Wilcock, A., & Coventry, M. J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(2), 152-158.

Wang J.-S. and Groopman J.D. (1999). DNA damage by mycotoxins.pdf. *Mutation Research*, 424(1-2), 167-181.

Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17(6), 300-312.

Wang, S., Chen, P., & Chang, S. (2005). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon ( *Cinnamomum osmophloeum* ) leaves against wood decay fungi. *Bioresource Technology*, 96(7), 813-818.

Weber, N. D., Andersen, D. O., North, J. A., Murray, B. K., Lawson, L. D., & Hughes, B. G. (1992). In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Medica*, 58(5), 417-423.

Wei, Z., & Lau, B. H. (1998). Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant enzyme activity in vascular endothelial cells. *Nutrition Research*, 18(1), 61-70.

Weisberger, A. S., & Pensky, J. (1958). Tumor inhibition by a sulfhydryl- blocking agent related to an active principle of garlic (*Allium sativum*). *Cancer Research*, 18, 1301-1308.

White, P. J., & Broadley, M. R. (2003). Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92(4), 487–511.

Wiczowski, W. (2011). Garlic and onion: Production, biochemistry, and processing. In *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*, 1, 625-642.

Wilson, E. A., & Demmig-Adams, B. (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. *Nutrition and Food Science*, 37(3), 178–183.

Wisker, E., Daniel, M., & Feldheim, W. (1996). Particle size of whole meal rye bread does not affect the digestibility of macro- nutrients and non- starch polysaccharides and the energy value of dietary fibre in humans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70(3), 327-333.

World Checklist of Monocotyledons. (2011). Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved 01–27–2011.

Wu, C.-C., Chung, J. G., Tsai, S.-J., Yang, J. H., & Sheen, L. Y. (2004). Differential effects of allyl sulfides from garlic essential oil on cell cycle regulation in human liver tumor cells. *Food and Chemical Toxicology*, 42(12), 1937–1947.

Xue, T., Hartikainen, H., & Piironen, V. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. *Plant and Soil*, 237(1), 55–61.

Yang, H. S., Lee, E. J., Moon, S. H., Paik, H. D., & Ahn, D. U. (2011). Addition of garlic or onion before irradiation on lipid oxidation, volatiles and sensory characteristics of cooked ground beef. *Meat Science*, 88(2), 286–291.

Yedjou, C. G., & Tchounwou, P. B. (2012). In vitro assessment of oxidative stress and apoptotic mechanisms of garlic extract in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Journal of Cancer Science & Therapy, Suppl* 3(006), 233–236.

Yin, M. C., & Tsao, S. M. (1999). Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *International Journal of Food Microbiology*, 49(1–2), 49–56.

Yin, M., & Cheng, W. (1998). Antioxidant Activity of Several *Allium* Members. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4097–4101.

Yin, M. C., & Cheng, W. S. (2003). Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*, 63(1), 23-28.

Yoo, K. S., & Pike, L. M. (1998). Determination of flavor precursor compound S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides by an HPLC method and their distribution in *Allium*

species. *Scientia Horticulturae*, 75(1-2), 1-10.

**Yousuf, S., Ahmad, A., Khan, A., Manzoor, N., & Khan, L. A. (2011).** Effect of garlic-derived allyl sulphides on morphogenesis and hydrolytic enzyme secretion in *Candida albicans*. *Medical mycology*, 49(4), 444-448.

## Liens informatiques

- [fr.dreamstime.com](http://fr.dreamstime.com)
- [Biendifferent.com](http://Biendifferent.com)
- <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-analyse-ail,100.html>
- <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-analyse-ail,100.html>
- <https://laboratoireumani.fr/le-mode-daction-des-huiles-essentielles-sur-les-bacteries>
- <https://laboratoireumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles>
- <https://drfungus.org/knowledge-base/microsporum-canis/>
- [http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung\\_morph/fungal\\_site/dermatpage.html](http://labmed.ucsf.edu/education/residency/fung_morph/fungal_site/dermatpage.html)
- <https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Free-FormationFR.jpg>
- <https://www.royalqueenseeds.fr/img/cms/Oxidative-StressFR.jpg>
- <http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>
- <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data>
- <http://apps.kew.org/wcsp/>
- [.http://faostat.fao.org](http://faostat.fao.org)

# Annexes

---

# Annexe 1

## Matrice de corrélation

Base 23

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
X1	1	0,999717	0,998749	0,961864	0,951967	0,952018	0,981266	0,978872	0,980302
X2	0,999717	1	0,998903	0,959774	0,949581	0,950274	0,983255	0,981252	0,982473
X3	0,998749	0,998903	1	0,964831	0,954805	0,955671	0,982228	0,981053	0,98192
X4	0,961864	0,959774	0,964831	1	0,998117	0,997776	0,946429	0,949555	0,94867
X5	0,951967	0,949581	0,954805	0,998117	1	0,99889	0,931589	0,935068	0,934022
X6	0,952018	0,950274	0,955671	0,997776	0,99889	1	0,938761	0,942641	0,941363
X7	0,981266	0,983255	0,982228	0,946429	0,931589	0,938761	1	0,999101	0,999751
X8	0,978872	0,981252	0,981053	0,949555	0,935068	0,942641	0,999101	1	0,999793
X9	0,980302	0,982473	0,98192	0,94867	0,934022	0,941363	0,999751	0,999793	1

**Protocole expérimental de la cytotoxicité**

**Publication**