

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية الحراش - الجزائر-

Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach –Alger

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Département : Technologie Alimentaire

Spécialité : Nutrition Humaine.

Thème

Activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile
essentielle et des extraits du céleri « *Apium graveolens L.* »

Présenté par : M^{lle} : MEGHARI Lamia

Jury :

Président : M. HAZZIT M.

Professeur (ENSA El Harrach) ;

Promotrice : Mme : FERHAT Z.

Professeur (ENSA El Harrach) ;

Examineurs : M : BENCHABANE O.

Maître de conférences A (ENSA El Harrach) ;

M : AMIALI M.

Maître de conférences (ENSA El Harrach).

Promotion : 2011-2016

Table des matières :

Partie I : Synthèse bibliographique

Introduction générale.....	1
I. Huiles essentielles.....	3
I.1 Historique :.....	3
I.2 Définitions des huiles essentielles :.....	3
I.3 Répartition, localisation et fonction des huiles essentielles :.....	4
I.4 Propriétés physiques des huiles essentielles :.....	5
I.5 Composition des huiles essentielles :.....	6
I.5.1 Les terpénoïdes :.....	6
I.5.2 Les composés aromatiques :.....	6
I.5.3 Les composés d'origines diverses :.....	6
I.6 Facteurs de variabilités des huiles essentielles :.....	7
I.6.1 Chémotype :.....	7
I.7 Toxicité des huiles essentielles :.....	7
I.8 Activités biologiques des huiles essentielles :.....	9
I.8.1 Activité antibactérienne :.....	9
I.8.2 Activité antifongique :.....	9
I.8.3 Activité antivirale :.....	9
I.8.4 Calmantes, anxiolytique, et hypnotiques :.....	10
I.8.5 Activité insecticide :.....	10
I.9 Méthodes d'extraction des huiles essentielles :.....	10
I.9.1 Hydrodistillation :.....	11
I.9.2 Entraînement à la vapeur d'eau :.....	11
I.9.3 Expression à froid :.....	12
I.9.4 Hydrodiffusion :.....	12
I.9.5 Extraction par fluide supercritique :.....	13
I.9.6 Extraction par micro-ondes :.....	13
I.10 Techniques d'analyses des huiles essentielles :.....	14
I.10.1 La chromatographie en phase gazeuse :.....	14
I.10.2 Couplage CPG/SM :.....	14

I.10.3 Chromatographie liquide haute performance HPLC :	15
1.10.4 Résonance Magnétique Nucléaire :	15
I.11 Secteur d'application des huiles essentielles :	15
I.12 Marché mondial des huiles essentielles :	16
I.13 La filière des huiles essentielles en Algérie :	16
I.14 Commercialisation des huiles essentielles en Algérie :	17
I.15 Conservation des huiles essentielles :	17
II. Composés Phénoliques.....	18
II.1 Généralités :	18
II.2 Structure :	18
II.3 Localisation des composés phénoliques :	18
II.4 Biosynthèse des composés phénoliques :	19
II.5 Principales classes des composés phénoliques :	22
II.5.1 Acides phénoliques simples:	24
II.5.2 Les flavonoïdes :	25
II.5.3 Les tanins :	26
II.5.4 Les lignines :	26
II.6 Activités biologiques des composés phénoliques :	26
II.7 Notions de base sur les flavonoïdes :	27
II.7.1 Définition, appellation et structure :	27
II.7.2 Localisation botanique des flavonoïdes :	28
II.7.3 Distribution des flavonoïdes :	28
II.8 Propriétés des flavonoïdes :	29
II.8.1 Propriété antibactérienne :	29
II.8.2 Propriété anticancéreuse :	29
II.8.3 Propriétés anti-inflammatoires :	29
II.8.4 Propriétés antivirales :	30
II.8.5 Propriétés antioxydantes :	30
II.9 Classification des flavonoïdes :	30

III. Activité Antioxydante.....	32
III.1 Introduction :	32
III.2 Phénomènes oxydatifs :	32
III.2.1 Définition :	32
III.2.2 Substrats et mécanismes de l'oxydation :	33
III.3 Radicaux libres :	35
III.3.1 Définition d'un radical libre :	35
III.3.2 Sources des radicaux libres :	36
III.4 Les antioxydants :	36
III.4.1 Définition:	36
III.4.2 Mécanismes d'action des antioxydants :	37
III.4.3 Classification d'antioxydants :	37
III.4.4 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :	39
IV. Activité Antimicrobienne	41
IV.1 Introduction :	41
IV.2 Historique sur la fonction antibactérienne des HE :	41
IV.3 Activité antimicrobienne des extraits de plantes :	42
IV.4 Sources de contamination microbiennes :	42
IV.4.1 Les contaminations primaires :	42
IV.4.2 Les contaminations secondaires :	42
IV.5 Impacts de la contamination par les microorganismes :	43
IV.6 Principaux agents antimicrobiens :	43
IV.6.1 Agents physiques :	43
IV.6.2 Agents chimiques :	44
IV.6.3 Agents biologiques :	44
IV.7 Mode d'action des huiles essentielles :	45
IV.8 Principales méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne des HE :	46
IV.8.1 Technique par contact direct :	46
IV.8.2 Techniques des micro-atmosphères :	47
IV.8.3 Technique des puits :	48
IV.9 Activité antibiotique :	48

IV.9.1 Définition des antibiotiques :.....	48
IV.9.2 Classification des antibiotiques :	49
IV.10 Activité antifongique des HE :	49
IV.11 Grandeurs de mesures CMI et CMB :	49
V. Monographie des espèces	51
V.1 Généralités sur la famille botanique des <i>apiaceae</i> :	51
V.1.1 Appareil végétatif :.....	51
V.1.2 Inflorescence ou ombelle :	52
V.1.3 Intérêt de la famille des Apiacées :	52
V.1.4 Toxicité de la famille des Apiacées :	53
V.1.5 Le genre Apium :	53
V.1.6 L'espèce Apium graveolens :.....	53
V.1.7 Origine de la plante :	54
V.1.8 Culture de la plante en Algérie :	54
V.1.9 : Utilisation de la plante :	55
V.2 Monographie des Microorganismes :	56
V.2.1 Les bactéries :.....	56
V.2.2 Les levures :	56
VI. Prétraitement par Ultrasons	58
VI.1 Définition :	58
VI.2 Historique :	58
VI.3 Caractérisations :	58
VI.4 Les plages et domaines ultrasonores :	59
VI.5 Appareillage ultrasonore :	60
VI.6 Effets des ultrasons sur la matière végétale :	61

Partie II : Etude expérimentale

A. Matériels et méthodes

I. Choix du Matériel	63
I.1 Matériel végétal :	63
I.2 Matériel microbiologique	63
I.2.1 Microorganisme testés :	63
II. Méthodes	64

II.1 Extraction de l'huile essentielle :	64
II.2 Prétraitement d'une partie des graines par ultrasons :	65
II.3 Rendement de l'extraction par hydrodistillation :	66
II.4 Analyse quantitative des huiles essentielles par CPG :	67
II.4.1 Mode d'identification :	67
II.5 Préparation des extraits méthanoliques de la plante :	68
Mode opératoire :	68
II.5.1 Calcul du taux d'extraction :	69
II.6 Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus :	69
II.6.1 Dosage des phénols totaux :	69
II.7 Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et des extraits :	71
II.7.1 Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) :	72
II.7.2 Test ABTS ou 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) radical-scavenging activity (ABTS) :	74
II.7.3 Mesure du pouvoir réducteur de l'HE et des extraits étudiés :	76
Principe :	76
Mode opératoire :	76
II.8 Evaluation de l'activité antimicrobienne :	77
II.8.1 Etude qualitative de l'effet antimicrobien de l'HE étudiée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme) :	77
II.8.2 Etude quantitative de l'effet antimicrobien de l'HE testée par la méthode de dilution en milieu solide :	82
II.8.2.2 Détermination de la concentration minimale bactéricide(CMB) :	84
II.9 Analyses statistiques	85

B. Résultats et discussions

III. Rendement d'extraction de l'huile essentielle :	86
Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles :	88
III.1 Rendement de l'huile essentielle après un prétraitement par ultrasons :	88
VI. Analyse qualitative et semi quantitative des huiles essentielles par CPG :	90
IV.1 Composition chimique des huiles essentielles :	90
IV.2 Taux d'extraction des extraits méthanoliques :	96
IV.2.1 Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques :	97
V. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et des extraits de la plante :	99

V.1 Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle des graines <i>d'Apium graveolens</i> :.....	99
V.1.1 Activité de piégeage du radical libre DPPH :	99
Détermination de l'IC₅₀ de l'HE des graines de céleri :	101
V.1.2 Activité du piégeage du radical ABTS par l'HE de la plante étudiée ainsi que le BHT et TROLOX :	102
□ Détermination de l'IC₅₀ de l'HE étudiée :	104
V.1.3 Pouvoir réducteur de l'HE de la plante étudiée :	105
V.2 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques :.....	107
V.2.1 Activité de piégeage du radical DPPH des différents extraits :	107
□ Détermination de l'IC₅₀ des extraits étudiés :	108
V.2.2 Activité de piégeage du radical ABTS des deux extraits :	109
V.2.3 Pouvoir réducteur des deux extraits :	111
VI. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits testés :	114
VI.1 Etude qualitative de l'huile essentielle et des extraits analysés :	114
VI.2 Etude quantitative de l'activité antimicrobienne et antifongique de l'HE et des deux extraits étudiés <i>d'A.graveolens</i> :	119
VII. Analyses statistiques	134
VII.1 Influence du type d'extrait (graines, feuilles) d' <i>Apium graveolens</i> et sa concentration sur l'activité de piégeage du radical DPPH :	134
VII.2 Influence du type d'extrait d' <i>Apium graveolens</i> et de sa concentration sur l'activité de piégeage du radical ABTS :	136
VII.3 Influence du type d'extrait (graines, feuilles) d' <i>Apium graveolens</i> et de sa concentration sur le pouvoir réducteur:	138
Conclusion générale	141

Résumé : Les rendements d'extraction de l'huile essentielle des graines et des feuilles d'*Apium graveolens L.* par hydrodistillation sont de 1.77% et 0.1% respectivement. Une partie de graines a subi un prétraitement par ultrasons, dont son rendement après hydrodistillation est de 1.91% .L'analyse chromatographique par CPG a permis l'identification des composés majoritaires de nos huiles essentielles qui sont le **Limonène** (56.3%), le **Bisiclogermacrène** (11.0%), **Bornéol** (1.4%), **αSélinène** (1.7%).L'extrait phénolique de la même plante a été obtenu par la méthode de **Soxhlet**, le taux d'extraction est de 20% pour les graines et 41.17% pour les feuilles. Les taux de phénols totaux et flavonoïdes sont moins importantes.L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait phénolique a été évaluée par trois méthodes de référence (DPPH, ABTS) et le pouvoir réducteur. Cette huile essentielle exhibe une faible activité antioxydante par rapport aux extraits phénoliques. L'activité antibactérienne et fongique de notre huile essentielle et des extraits a été évaluée par deux méthodes qualitatives et quantitatives sur trois bactéries et deux levures ; les résultats de ces tests ont démontré une activité bactériostatique et un effet levuricide important.

Mots clés : Huile essentielle, Extrait phénolique, *Apium graveolens L.* (Céleri), Activités biologiques, CPG, Extraction assistée par ultrasons UAE.

Summary: the yields on extraction of the essential oil of seeds and leaves of *Apium graveolens L.* by hydrodistillation are 1.77 % and 0.1 % respectively. A part of seeds underwent a pretreatment by ultrasounds, 1,91 % is its yield after hydrodistillation . The chromatographic analysis by GC enabled the identification of compound majority of our essential oil which are **Limonène** (56,3 %), **Bisiclogermacrène** (11.0 %), **Bornéol** (1,4 %), **αSélinène** (1,7 %).The phenolic extract of the same plant was obtained by the method of Soxhlet, the rate of extraction is 20 % for seeds and 41.17 % for leaves. The rates of total phenols and flavonoid are less important. The antioxidant activity of the essential oil and the phenolic extract was estimated by three reference methods (DPPH, ABTS) and the reducing power. This essential oil shows a low antioxidant activity compared to the phenolic extracts. The antibacterial and fungal activity of our essential oil and extracts was estimated by two qualitative and quantitative methods on three bacteria and two yeasts; the results of these tests demonstrated a bacteriostatic activity and significant effect yeasticidal

Keywords: essential oil, phenolic extract, *Apium graveolens L.* (Celery), Biological Activities, CPG, ultrasonic assisted extraction UAE.

خلاصة: مردود إستخراج الزيوت الأساسية من بذور و أوراق الكرفس بالتقطير هو: 1.77% و 0.1% على التوالي

عينة من البذور خضعت لمعالجة فوق الصوتية فكان المردود 1.91%. التحليل الكروماتوغرافي غازي مكثنا من معرفة المكونات الرئيسية تم الحصول على المستخلص الفينولي بأداة حيث أن المردود هو: 20% (بذور) و 41.17%(اوراق).تم تقييم نشاط ضد الأكسدة بثلاث طرق، وتبين أن المستخلص الفينولي له أكبر نشاط مقارنة بالزيت الأساسي.النشاط ضد الحيوي تم تجريبه على ثلاث بكتيريا و نوعين من الخميرة، فتبين نشاط تثبيطي للبكتيريا وقاتل للخميرة

الكلمات المفتاحية: نبات الكرفس، الزيوت الأساسية، مستخلص فينولي، نشاط بيولوجي، موجات فوق صوتية، تحليل كروماتوغرافي غازي