

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجليلي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de la technologie



Mémoire de fin d'étude
*En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en Génie des procédés*
Spécialité: Génie des procédés Pharmaceutique

Thème :

***Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du
Juniperus phoenicea.L***

Devant le jury composé de :

- Khadj Khelifa.L.....Encadreur
- Rahmani.F.....Examinatrice
- Hachama.K.....Examineur

Presenter par :

Mr Alhassane Ilatou Ismaghil
Mr Goundiam Boubacar

Année Universitaire 2019/2020

REMERCIEMENTS

A ALLAH, le tout puissant, le clément, le bienfaiteur, le miséricordieux, de nous avoir Donnée la volonté et le courage nécessaires et qui fait chaque jour des merveilles pour nous.

Au terme de ce travail, on tien a exprimé toute notre profonde gratitude à Mme L. KHADJ KHELIFA pour la confiance qu'elle a placé en nous non seulement de dirigé ce mémoire mais aussi de guidé nos premiers pas dans le domaine de la recherche, sans qui ce mémoire ne serait pas ce qu'il est, c'est pourquoi, nous nous faisons le devoir de lui rendre cette confiance et de lui porter tout le respect qu'elle mérite. Son expérience en recherche et en enseignement, sa rigueur scientifique, ses conseils et ses encouragements ont été et seront profitables. Elle est pour nous un Maître.

Nos plus sincères remerciements vont aux membres du jury, pour la valorisation qu'ils ont portés à ce travail.

On voudrait également adresser nos remerciements à l'ensemble du personnel et enseignants de l'université de Djilali Bounaama de Khemis-Miliana et surtout le "Département de Génie des procédés " pour leurs soutien et leurs précieux conseils qui nous ont apporté motivation et encouragement durant la préparation de ce mémoire.

On remercie également le personnel de la bibliothèque du centre universitaire de Khemis-Miliana nous avons particulièrement apprécié leurs fonds qui nous ont été particulièrement utile pour nos recherches.

On voudrait également adresser nos remerciements à tous nos enseignants depuis le cursus primaire jusqu'à ce jour. On tient à leur témoigner notre reconnaissance pour la science qu'ils nous ont transmise au cours de notre formation et de nous avoir fait profiter de leurs cultures scientifiques.

Enfin, on adresse nos plus sincères remerciements à tous nos proches, qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

On souhaitait adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents et à la grande famille pour leur amour et prières, leur soutien physique, financier et moral pour que mon objectif soit atteint.

A tous mes amis de proche et à ceux de loin qui m'ont soutenu et encouragé

J'adresse mes remerciements à mon frère et binôme Ismaghil.

A tous mes frères, en particulier

Sans oublier aussi mes collègues de spécialité, ainsi que tous mes amis de la promotions 2015. Pour finir, je tiens à remercier tous mes enseignants que j'ai connus durant toutes mes études.

Boubacar

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents, mes oncles et mon grand frère qui ont été là pour moi durant toute ma vie, en m'apportant tous leur amour, leur soutien physique, financier et moral pour que mon objectif soit atteint.

A mes tantes, frères, sœurs et cousin(e)s qui m'ont apporté également leur encouragement et leur soutien moral.

A ma deuxième famille, la famille Moustapha Ghabda.

A tous mes amis de proche et à ceux de loin qui m'ont encouragé.

J'adresse mes remerciements à mon frère et binôme Goundiam Boubacar.

Sans oublier aussi mes collègues de spécialité, ainsi que tous mes amis de promotions 2015. Pour finir, je tiens à remercier tous mes enseignants que j'ai connus durant toutes mes études.

Ismaghil

ملخص

يتمثل هذا العمل في دراسة نظرية قمنا من خلالها بتحليل نتائج دراسات سابقة حول نبات *Juniperus L.phoenicea*- العرعار الأحمر. تستخلص الزيوت الأساسية للعرعار بصفة عامة بتقنية التقطير المائي بمردود متباين محصور بين 0.36 % و 2.5 % حسب شروط التقطير المستعملة. التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لنبات العرعار يتميز بوجود العناصر التالية: α -pinene, β -phellandrene, caryophyllene, linalool, thujene و mycrene بنسب مختلفة وذلك يعود أساسا الى عدة عوامل منها: الجزء المستعمل من النبات و الفترة التي جني فيها النبات. الخصائص البيولوجية للزيت الأساسي لنبات العرعار تمت دراستها من قبل العديد من الباحثين حيث اثبتت نشاط مهم مضاد للبكتيريا و مضاد للأكسدة و كذلك نشاط قوي مبيد للحشرات وخصوصا ضد *Tribolium Confusum*.
الكلمات المفتاحية: العرعار، الزيوت الأساسية، التركيب الكيميائي، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة و نشاط مبيد الحشرات.

Résumé

Ce travail présente une étude théorique où nous avons fait une analyse des travaux antérieurs sur la plante *Juniperus phoenicea.L* (génévrier rouge). L'huile essentielle du génévrier est généralement obtenue par hydrodistillation avec un rendement compris entre 0,36 % et 2,5 % Selon les conditions d'extractions. La composition chimique de l'huile essentielle est caractérisée par la présence des composants majoritaires : α -pinene, β -phellandrene, caryophyllene, linalool, thujene et le mycrene avec des pourcentages différents. La présence et la teneur de chaque composé sont influencées par plusieurs facteurs tels que la partie de la plante utilisée et la période de récolte. Les activités biologiques de cette huile ont été étudiées par plusieurs chercheurs où elle a présentée des activités antibactérienne et antioxydante très importantes, ainsi qu'une forte activité insecticide contre l'insecte *Tribolium Confusum*.

Mots clés : Genévrier rouge, huile essentielles, composition chimique, activité antibactérienne, activité antioxydante et activité insecticide.

Abstract

This work presents a theoretical study where we made an analysis of the previous work on the plant *Juniperus phoenicea.L* (red juniper). The essential oil of juniper is generally obtained by hydrodistillation with a yield between 0.36% and 2.5% depending on the extraction conditions. The chemical composition of the essential oil is characterized by the presence of the major compounds: α -pinene, β -phellandrene, caryophyllene, linalool, thujene and mycrene with different percentages. The presence and the content of each compound are influenced by several factors such as the part of the plant used and the harvest period. The biological activities of this oil have been studied by several researchers where it has shown

very important antibacterial and antioxidant activities, as well as a strong insecticidal activity against the insect *Tribolium Confusum*.

Key words: red juniper, essential oil, chemical composition, antibacterial activity, antioxidant activity and insecticidal activity.

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Biosystématique du genévrier (*Juniperus phoenicea* L.)11

Tableau III.1 : Tableau comparatif des teneurs des constituants des huiles essentielles du
Genévrier rouge (*J. phoenicea*) de différents pays.....40

Tableau III.2 : Rendement en HE de *J. phoenicea* dans quelques pays.....41

Tableau III.3 : Activité antibactérienne des feuilles de *J. Phoenicea*.....42

Tableau III.4: Activité antifongique feuilles des de *J. Phoenicea*43

Listes des figures :

Figure I.1 : Quelques exemples d'alcaloïdes	5
Figure I.2 : Structure d'un composé phénolique simple.....	6
Figure I.3 : Squelette de base des flavonoïdes.....	6
Figure I.5 : Exemple de médicament et de plantes à flavonoïdes.....	7
Figure I.6 : Des éléments des tanins.....	7
Figure I.7 : Exemple de médicament et de plante à tannins	8
Figure I.8 : Structures des classes de coumarine.....	8
Figure I.9 : Structures des Composés terpéniques (A : monoterpènes, B : sesquiterpènes)	9
Figure I.10 : Exemple de saponosides tri-terpéniques.....	9
Figure I.11 : Le genévrier est surtout célèbre pour ses baies.....	11
Figure I.11 : <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	11
Figure I.12 : Photo de <i>Juniperus phoenicea</i> 2 mètres de hauteur.....	12
Figure I.13 : Photo de Feuilles et Fruits de « <i>juniperus phoenicea</i> »	12
Fig. II.1 : Structure de l'isoprène (C ₅ H ₈)	16
Fig. II.2 : Structure chimique de certains composés des huiles essentielles.....	18
Fig. II.3 : Montage d'hydrodistillation.....	19
Fig. II.4 : Montage pour l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion.....	19
Figure II.5 : Montage de distillation par solvants volatils.....	21
Fig. II.6 : Dispositif de l'extraction assistée par micro-ondes.....	21
Fig. II.7 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (R-H)	27
Fig. II.8 : Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques.....	29
Fig. II.9 : Structures chimiques des antioxydants naturels.....	30
Fig. II.10 : Vue sous le microscope électronique de l' <i>Escherichia coli</i>	32
Fig. II.11 : Vue sous le microscope électronique de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Figure. II.12 : Principe de la diffusion sur disque	35
Figure. II.13 : Illustration de la méthode des microatmosphères.....	36
Figure IV.1 : Variation de l'indice de peroxyde du saindoux en fonction du temps en présence d'huile essentielle de <i>J. phoenicea</i> , comparaison avec le δ-tocophérol. (d T :δ- tocophérol).....	44

Figure IV.2 Figures IV.2 Variation de l'indice de peroxyde du saindoux en fonction du temps en présence d'huile essentielle de *Soja*, comparaison avec le δ -tocophérol. (d T : δ -tocophérol).....44

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

°C : degré Celsius

CE50 : concentration effective CE50 (ou l'inverse 1/CE50) de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

D : Diamètre d'inhibition

DPPH : 1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil

g : gramme

HE : Huile essentielle

IC₅₀ : concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

IE : Indice d'ester

m : masse

mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

PA : Principe Actif

RDL : Le radical libre

TEC50 : le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE50

UV : **ultra**-violet

µL : microlitre

% : pourcentage

Sommaire

Introduction.....	01
CHAPITRE I : LES PLANTES MEDECINALES	
I.1 Historique sur les plantes médicinales.....	03
I.2 Intérêt de l'étude des plantes médicinales.....	04
I.3 Les principes actifs des plantes médicinales	04
I.3.1 Métabolites secondaires des plantes	04
I.3.1.1 les composés azotés	05
I.3.1.1.1 Alcaloïdes	05
I.3.1.2 Les composés phénoliques (Les polyphénols)	05
I.3.1.2.1 Flavonoïdes.....	06
I.3.1.2.2 Tanins	07
I.3.1.2.3 Les coumarines	07
I.3.1.3 Terpènes et terpénoïdes.....	08
I.3.1.3.1 Hétérosides (ou glucosides)	08
I.3.1.3.1.1 Saponines	08
I.3.1.3.1.2 Les glucosides Amers	09
I.3.1.3.2 Les huiles essentielles	09
I.4 Généralité sur le Genévrier	09
I.4.1 Genévrier rouge (<i>Juniperus phoenicea</i> L)	10
I.4.1.1 Description.....	10
I.4.1.2 Distribution géographique.....	11
I.4.1.3 Taxonomie	11
I.4.1.4 Description botanique	11
I.4.1.5 Culture du Genévrier de Phénicie	14
I.4.1.6 Utilisations.....	14
CHAPITRE II : LES HUILES ESSENTIELLES	
II.1 Introduction.....	15
II.2 Définition d'une Huile Essentielle	15
II.3 Origine des huiles essentielles	15

II.4 Rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	16
II.5 Classification des huiles essentielles	16
II.7 Composition chimique des huiles essentielles.....	16
II.7.1. Les terpénoïdes.....	16
II.7. 2 Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.....	17
II.7.3 Les composés d'origines diverses	17
II.8 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	18
II.8.1 Méthodes conventionnelles d'extraction	18
II.8.1.1 Entraînement à la vapeur d'eau 'in-situ' ou hydrodistillation	18
II.8.1.2 Entraînement à la vapeur d'eau 'ex-situ' ou vapo-hydrodistillation	19
II.8.1.3 Extraction par expression à froid.....	19
II.8.2 Méthodes innovantes d'extraction	20
II.8.2.1 Extraction par solvants volatils.....	20
II.8.2.2 Extraction assistée par micro-ondes	21
II.9 Caractérisation des huiles essentielles	21
II.9.2 Caractérisation physique	22
II.9.3. Caractérisation chimique	23
II.9.4 Caractérisation chromatographique	23
II.10 Activités biologiques des huiles essentielles	24
II.10.1 Activités antioxydante des huiles essentielles	24
II.10.1.2 Radicaux libres et stress oxydatif.....	25
II.10.1.3 Activité antioxydante et les antioxydants.....	25
II.10.1.3 Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro	26
II.10.1.3.1 L'inhibition de la Peroxydation de l'acide linoléique	26
II.10.1.3.2 Chélation des métaux	26
II.10.1.3.3 Blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique.....	27
II.10.1.3.4 Test de DPPH.....	27
II.10.1.4 Sources des antioxydants.....	28
II.10.2 Activités antimicrobiennes	31
II.10.2.1 La diversité du monde microbien	31
II.10.2.1.1 Les bactéries	31
II.10.2.2 Mode d'action des huiles essentielles contre les bactéries.....	33
II.10.2.3 Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles in vitro.	33

II.10.2.3.1 Techniques par contact direct	34
II.10.2.3.2 Méthode de microatmosphères.....	36
II.10.2.3.3 Limite de ces méthodes	36
II.10.2.3.4 Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	36
II.11. Domaine d'application des huiles essentielles	37
II.11.1 Dans l'industrie agroalimentaire.....	37
II.11.2 L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique.....	37
II.11.3 En pharmacie.....	37
II.12 Toxicité des huiles essentielles.....	38
II.13 Conservation des huiles essentielles	38

CHAPITRE III : COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITES

BIOLOQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE DU GENEVRIER :

IV.1 Introduction	39
IV.2 Quelques travaux sur le Genévrier rouge.....	39
IV.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle de Genévrier rouge provenant de différentes origines géographiques.....	39
IV.2.2 Rendement en huile essentielle de Genévrier dans différents pays.....	41
IV.2.3 Différentes activités biologiques de <i>juniperus phoenicea</i>	41
IV.2.3.1 Activité antibactérienne.....	41
IV.2.3.2 Activité antifongique.....	43
IV.2.3.3 Activité antioxydante.....	44
IV.3 Utilisation.....	45
CONCLUSION GENERALE.....	46
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	47

Introduction Générale

Introduction générale :

Depuis l'antiquité, Les plantes médicinales ont été utilisées en phytothérapie comme remède contre plusieurs maladies, vue leur richesse en centaines, voire en milliers de composants ayant des vertus thérapeutiques. A l'heure actuelle, plusieurs travaux ont envisagé l'utilisation de ces composés bioactifs comme alternatives aux multiples substances synthétiques. En effet, la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques considérés comme la solution quasi universelle aux infections, est à l'origine de l'engouement suscité pour les plantes aromatiques qui sont capables d'offrir des soins plus efficaces et moins agressifs pour l'organisme [1].

Ces substances naturelles bioactives peuvent avoir plusieurs sources, mais le monde végétal reste un bon réservoir pour trouver des substituts aux substances de synthèse. Parmi les 800 000 espèces de plantes prospérant sur la planète, un nombre relativement important est capable de synthétiser des composants aromatiques que l'on appelle les huiles essentielles (HE). Ces huiles essentielles possèdent un large spectre d'activité antibactérienne, antifongique, antiparasitaire, insecticide. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie pharmaceutique, agronomique, alimentaire, sanitaire, industries cosmétiques et de parfums [2].

Le genévrier (*Juniperus*) plante appartenant à la famille des cupressacées est un arbuste qu'est considérée comme une importante plante médicinale, largement utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays. Le genévrier fortifie le système digestif, soulage les coliques et stimule l'activité de l'estomac. Il possède des propriétés diurétiques mises à profit pour combattre toute sorte de maladies du système urinaire (infections et inflammations, calculs, goutte, etc.). Enfin, son huile essentielle extraite par distillation fut grandement appréciée pour ses propriétés antiseptiques et antioxydants qui défendent contre le stress oxydatif [3].

Dans le cadre de la valorisation des essences d'espèces végétales, nous nous sommes intéressés à l'extraction d'huile essentielle de genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*. L.) espèce très présente dans la région méditerranéenne particulièrement en Algérie.

Notre choix se porte sur cette plante car elle est utilisée dans le domaine de la médecine traditionnelle pour ses valeurs médicinales contre les troubles digestifs, traitement des maladies du système urinaire, des arthrites chroniques, de la goutte et des rhumatismes. A notre connaissance les études effectuées sur cette plante restent insuffisantes.

Notre travail de recherche comporte trois (3) chapitres :

Chapitre I : Les Plantes médicinales

Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles

Chapitre III : Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier rouge (*Juniperus Phoenicea*)

Et en fin, nous terminerons par une conclusion générale.

Chapitre I Les plantes médicinales

I.1 Historique sur les plantes médicinales :

L'homme utilise les plantes médicinales pour traiter les maladies depuis des millénaires. Il semble qu'il y a quelque 60 000 ans, les Néandertaliens appréciaient les vertus thérapeutiques des plantes. Les chercheurs ont pu tirer cette conclusion après avoir examiné un lieu de sépulture en Iran dans lequel ils ont trouvé du pollen de huit plantes médicinales. Depuis la préhistoire, les chamans ainsi que les sorciers et les sorcières d'Eurasie et d'Amérique ont acquis des connaissances très poussées sur les plantes médicinales [3].

Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abu Baker Al-razi ou Razès (865-925), fut l'un des grands médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivait le « Canon de la Médecine ». Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et Montpellier jusqu'aux environs (1650. 2000) [4]. Ils ont ainsi poursuivi les recherches sur les plantes médicinales en devenant les premiers à mettre au point la distillation des plantes, permettant d'en extraire l'huile essentielle, il y a de cela plus de mille ans [5].

Cependant, avec les progrès de la science, l'avènement de la pharmacologie de synthèse (l'aspirine, la pénicilline...) et l'émergence de la médecine basée sur la preuve, l'usage des médicaments chimiques a pris son essor, et ce depuis la seconde guerre mondiale, tandis que la phytothérapie ainsi que l'aromathérapie ont perdu de leur intérêt. Récemment, depuis le début des années 2000, il y a un retour en force vers cette discipline alternative. En effet, la prise de conscience par les patients et le personnel médical d'une image de plus en plus défavorable des médicaments de synthèse suite à l'apparition des effets indésirables, d'une efficacité parfois insuffisante ou nulle, l'émergence de résistances bactériennes a renvoyé à nouveau vers l'usage de produits naturels à base de plantes médicinales qui semblent avoir de grands avantages [6].

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiques actifs. Ces plantes, connus depuis l'antiquité, sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens et antioxydants. Certaines espèces de *Juniperus*, sont aussi utilisées en médecine populaire comme antiseptiques *Juniperus communis* est considéré comme antimicrobien et antioxydant [3].

I.2 Intérêt de l'étude des plantes médicinales : La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir à un niveau ou un autre sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus, on les appelle les plantes médicinales [7].

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées.

Ce savoir traditionnel ancestral se transmet de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les chercheurs d'industrie pharmaceutique. Aujourd'hui la pharmacologie s'oriente de plus en plus vers des traitements à base de plantes, car l'efficacité de la synthèse chimique a largement atteint ses limites et n'arrive plus à être créative. Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiques actifs [8].

Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavanols, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et polypeptides [9].

I.3 Les principes actifs des plantes médicinales :

Les principes actifs ou le principe actif d'une plante médicinale sont des composants naturels présents dans celle-ci. Ils confèrent à la plante son activité thérapeutique. Bien que souvent en quantité extrêmement faible dans la plante (ne représentant à peine que quelques % du poids total de celle-ci), ces composants en sont l'élément essentiel. On retrouve les principes actifs dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et dans une même plante, tous les PA n'ont pas les mêmes propriétés [10].

I.3.1 Métabolites secondaires des plantes :

Le métabolisme primaire fournit à tous les êtres vivants les molécules de base (acides aminés, acides nucléiques, glucides, lipides, protéines, etc.). Les plantes produisent un nombre important de composés non issus directement à partir de la photosynthèse, mais grâce à des réactions chimiques ultérieures. Ce sont celles qu'on appelle métabolites secondaires.

Aujourd'hui, un grand nombre de ces métabolites est utilisé en médecine moderne, mais surtout en usage traditionnel [11].

On distingue différentes catégories chimiques de principes actifs qui sont les suivants :

I.3.1.1 les composés azotés

I.3.1.1.1 Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique [12].

La plupart des alcaloïdes sont des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. Il s'agit le plus souvent de substance qui influence de diverses manières sur les neurotransmetteurs du système nerveux.

L'opium, la morphine, la codéine, la caféine, et la nicotine en font partie. Les plantes médicinales qui contiennent ces substances font l'objet d'un contrôle particulier car la teneur prescrite en alcaloïde ne doit pas être dépassées. On les emploie comme antalgique, antitussifs et laxatifs [13]. On distingue généralement trois classes d'alcaloïdes représentés dans la **figure I.1** :

-**Les alcaloïdes vrais**, dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle (exemple : la strychnine dérivée du tryptophane) ;

-**Les proto-alcaloïdes**, qui dérivent d'acides aminés mais pour lesquels l'azote est en dehors des structures cycliques (exemple : la colchicine).

-**Les pseudo-alcaloïdes**, exemple : la caféine [14].

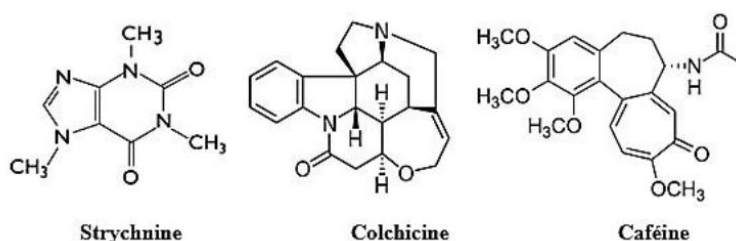


Figure I.1 : Quelques exemples d'alcaloïdes.

I.3.1.2 Les composés phénoliques (Les polyphénols) :

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et les tanins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. Ces molécules présentent toutes un point commun : la présence d'au moins un cycle à 6 carbones porteur d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH) (phénol) [15,3].

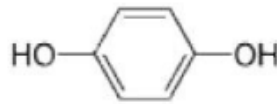


Figure I.2 : Structure d'un composé phénolique simple.

I.3.1.2.1 Flavonoïdes :

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie [16]. Les flavonoïdes possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (figure I.4) [15].

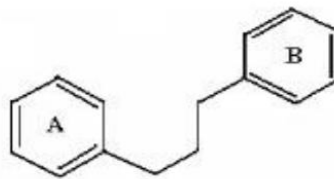


Figure I.3 : Squelette de base des flavonoïdes.

<p>Liste des médicaments contenant la substance : Ginkgo biloba GINKOGINK 40 mg/ml sol buv</p>	<p>Ginkgo, Ginkgo biloba, Ginkgoacées Feuille de Ginkgo biloba</p>
	

Figure I.4: Exemple de médicament et de plantes à flavonoïdes

I.3.1.2.2 Tanins : Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation des insectes. Les tissus sont contractés les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies par coagulation et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure. Aujourd'hui, on distingue :

- **Les tanins hydrolysables :** esters d'un sucre, qui est généralement le glucose, et de l'acide gallique **3** ou de l'acide ellagique **16** (Figure I.6).
- **Les tanins condensés ou proanthocyanidols :** non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols **17** (Figure I.6) [16,14].

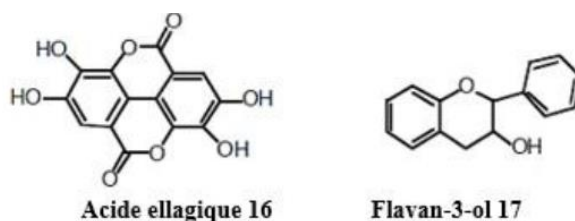


Figure I.5 : Des éléments des tanins



Figure I.6 : Exemple de médicament et de plante à tannins [17].

I.3.1.2.3 Les coumarines : La coumarine tire son nom de **kumarú**, (fève tonka) d'un arbre poussant en Amérique tropicale, le gaïac de Cayenne (**Dipteryx odorata**) de la famille des Fabacées. Ces sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques. La coumarine et ses dérivés ont des actions phyto-biologiques, bactériostatiques et anti-fongiques, ils ont un effet anti-œdémateux [11].

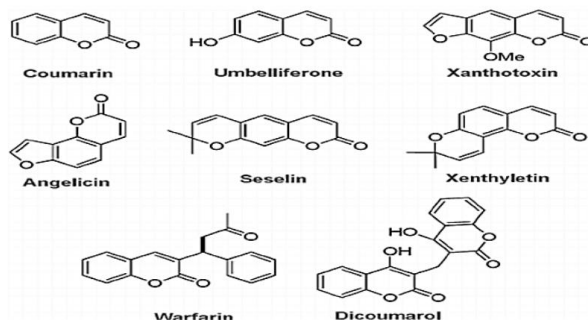


Figure I.7 : Structures des classes de coumarine

I.3.1.3 Terpènes et terpénoïdes : Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base : isoprène ; Hémiterpène (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), les hétérosides, les polyterpènes, et les huiles essentielles [15, 18].

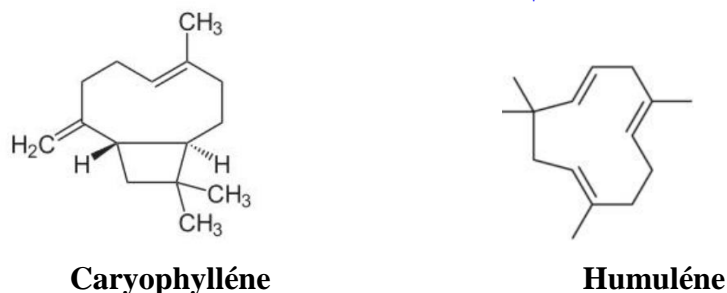


Figure I.8 : Structures des Composés terpéniques (A : monoterpènes, B : sesquiterpènes)

I.3.1.3.1 Hétérosides (ou glucosides) : Ce sont des molécules de sucres qui sont liés soit à une fonction phénols (hétérosides phénoliques) soit à un dérivé nitré (hétéroside cyanogénétique) ou soufre (hétérosides sulfures) qui entrainera des propriétés particulières de la molécule [13,14]. On peut mentionner quatre familles importantes d'hétérosides :

- Les glucosinolates.
- Les hétérosides cyanogènes.
- Les hétérosides cardiotoniques.
- Les saponosides.

I.3.1.3.1.1 Saponines : Les saponines sont très fréquentes dans les plantes médicinales. D'un point de vue chimique, elles se caractérisent également par la présence d'un radical glucide (glucose, lactose) associé à un radical aglycone, sa principale propriété physique est la forte réduction de la tension superficielle de l'eau ainsi que la transformation des matières ferment en fluides.

Les saponines sont très moussantes et font d'excellents émulsifiants. Les saponines irritent les muqueuses, produisent un relâchement intestinal, accroissent les sécrétions muqueuses bronchiques. Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires.

On peut citer parmi ces composés : les saponosides à génine stéroïde ; les saponosides à génine tri-terpéniques pentacyclique, et les saponosides à alcaloïde stéroïdien qui correspondent aux glucoalcoïdes [12,14]. La figure 15 représente un saponoside tri-terpéniques.

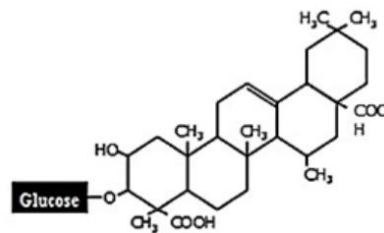


Figure I.9 : Exemple de saponosides tri-terpéniques

I.3.1.3.1.2 Les glucosides Amers :

Les substances amères forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût. Cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion. Avec une meilleure digestion, et l'absorption des éléments nutritifs adaptés, le corps est mieux nourri et entretenu. De nombreuses plantes ont des constituants amers, notamment l'absinthe, le charbon béni [13].

I.3.1.3.2 Les huiles essentielles : Les huiles essentielles sont des substances aromatiques ; parfumées, à la consistance huileuse, produites par le métabolisme des plantes, elles comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes [12,16].

I.4 Généralité sur le Genévrier :

Le genre botanique des Genévriers, nom scientifique *Juniperus* L., famille des Cupressacées (embranchement : Gymnospermes), comporte un grand nombre d'espèces, des variétés « souples » au feuillage en écailles et des variétés « rigides » aux aiguilles piquantes. D'origine américaine, asiatique, africaine ou européenne, cet arbre atteint couramment 4-15 m de haut dans la nature, et même 25-30 m pour certaines espèces. Il supporte les sols pauvres, éventuellement très calcaires, sablonneux et secs, jusqu'à 4 500 m d'altitude. Certaines espèces de Genévrier peuvent vivre plus de 1 000 ans [19].

Ce conifère possède des feuilles verticillées et effilées, des fleurs mâles jaunes et des fleurs femelles bleues groupées en chatons, et cônes fructifères sphériques de couleur bleu-noir (quelquefois 15 m de haut) [16].



Figure I.10 : Le genévrier est surtout célèbre pour ses baies [20].

Il comprend approximativement 60 espèces réparties dans l'hémisphère Nord. Le genre *Juniperus* est divisé en trois sections :

Caryocedrus ; *Oxycedrus* (neuf ou dix espèces) ; et *Sabina* (environs 50 espèces) [15].

I.4.1 Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L) :

I.4.1.1 Description : [2]

Juniperus phoenicea, généralement connu sous le genévrier de Phénicie, est un arbuste adapté au climat méditerranéen aride, il appartient à la famille cupressacée classé comme deuxième genre le plus diversifié des Conifères, avec 67 espèces et 34 variétés, toutes les variétés sont limitées à l'hémisphère Nord.

Ce petit arbre se trouve dans les populations irrégulières et souvent isolées sur l'ensemble de la région méditerranéenne (jusqu' à 1200 m), mais aussi dans les populations de montagne jusqu'à 2400 mètre.

Le Genévrier de Phénicie ou genévrier rouge (*J. phoenicea* L.) est un arbrisseau touffu ou un arbuste de 1 à 3 m de hauteur mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres. Au jeune âge, certaines feuilles sont en aiguilles et d'autres en écailles très petites, très imbriquées, opposées, formant le feuillage vert persistant de l'arbre après les premières années. Le fruit globuleux devient rouge et luisant à maturité.



Figure I.11 : *Juniperus phoenicea* L [21].

I.4.1.2 Distribution géographique : *Juniperus Phoenicea* est distribué dans toute la région méditerranéenne où il pousse dans les endroits rocaillieux : Algérie, Tunisie, Maroc, Libye, France, Italie, Espagne, Turquie, Grèce, Albanie, Égypte (Sinai), Chypre, et au Liban. Il pousse également en Roumanie, Portugal, Allemagne, Andorre, Bulgarie, Bosnie-Herzégovine, Croatie, Jordanie, Arabie Saoudite (le long de la mer Rouge), et au Macaronésie (Iles Canaries et de Madère Arquipelago) [14].

I.4.1.3 Taxonomie :

Juniperus phoenicea L., appelé phoenicean juniper (anglais), genévrier rouge (Français), araâr (عراعر arabe).

Tableau 1 : Biosystématique du genévrier (*Juniperus phoenicea* L.) [14].

Catégorie	Classement
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	Juniperus
Espèce	Juniperus phoenicea

I.4.1.4 Description botanique : *Juniperus phoenicea* est un arbrisseau, de 1 à 8 mètres de hauteur, ramifié dès la base et a houppier dense et allongé. L'écorce est brun- rouge, fibreuse, et assez épaisse [14]. (Figure I.12)



Figure I.12 : Photo de *Juniperus phoenicea* 2 mètres de hauteur.

Ces feuilles persistantes opposées (rarement verticillées par trois), se présentent en deux familles :

- **Feuilles** : En aiguilles (10 x 1 mm), piquantes avec deux lignes blanches dessus et dessous qui, se trouvent uniquement sur les individus très jeunes. Feuilles : en petites écailles (1 mm), ovales et bombées sur le dos, étroitement appliquées sur les rameaux, bordées d'une marge d'aspect cartilagineux [14].
- **Fruits** : Les fruits, improprement qualifiés de baies, sont d'abord de couleur verte virant au brun rouge luisant à maturité (au bout de 2 ans), de forme globuleuse et charnue, d'un diamètre de 7 à 10 mm, à surface irrégulière. Leur chair est ferme, sèche, fibreuse, jaune teinté de vert puis de brun, à odeur forte et contenant de 4 à 9 graines ovales, aux extrémités aigues avec une enveloppe dure. La période de fructification a lieu de septembre à décembre [12]. (Figure I.13)



Figure I.13 : Photo de Feuilles et Fruits de « *juniperus phoenicea* » [14].

I.4.1.5 Culture du Genévrier de Phénicie :

- **Le climat et le sol :**

Le Genévrier de Phénicie se plaît dans les conditions difficiles, voire extrêmes. Il résiste aux conditions arides et semi-arides. Son nom latin *Juniperus* est issu du Celte *juniperus*

qui signifie rude ou âpre. Il aime le plein soleil et pousse aussi bien sur le littoral que sur des sites ventés. L'arbuste peut résister à des températures allant jusqu'à -28 °C. Pour cela, il a réussi à développer des stratégies qui lui permettent de survivre dans un environnement très hostile. Il change de sexe en fonction de l'environnement et peut rester en vie même si la plupart de ses racines sont détruites.

En somme, l'arbuste tolère une grande diversité de sols, mais fait défaut sur les sols profonds, très présent en Afrique du Nord, il pousse sur les dunes littorales. D'anciens auteurs avaient fait de cette plante le symbole de l'aridité.

- **Lieu favorable** : Le Genévrier de Phénicie aime le soleil et la mi-ombre. Du fait de ces caractéristiques, il peut survivre dans des environnements hostiles. Son feuillage touffu lui assure une place dans le jardin et dans les massifs arbustifs.

- **Mode de multiplication** : La plantation du Genévrier de Phénicie s'effectue en début d'automne ou au printemps. Si l'emplacement se trouve dans le jardin, la zone de culture doit être ensoleillée ou mi-ombragée. Au début, il faudrait penser à drainer le sol. La multiplication peut se faire par :

- Semis de graines fraîches

- Bouturage à talon

- Marcottage [13].

I.4.1.6 Utilisations :

- **Domain médical** : Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle, les feuilles sont utilisées, sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès.

Une infusion ainsi que l'huile essentielle sont diurétiques. D'autres activités ont également été démontrées pour un extrait sec en suspension aqueuse, notamment des effets anti-inflammatoire et anti-œdémateux [21].

L'huile de cade, extraite par distillation du bois de *Juniperus oxycedrus*, fut d'une aide précieuse pour lutter contre les dermatoses et divers parasites (gale, teigne, herpès, eczéma, acné ou psoriasis) [2].

- **Domaine cosmétique** : Elle est traditionnellement utilisée pour améliorer les situations suivantes : Rétention d'eau, cellulite, acné, peau grasse, eczéma, herpès, séborrhée de cuir chevelure, confection de parfums masculins [22].

- **Alimentation** : Seuls le Genévrier commun et le Genévrier Cade *Juniperus oxycedrus* sont comestibles. En cuisine, les tanins que les baies contiennent forment une épice appréciée par

certaines car Leur arôme inimitable et leurs qualités digestives sont indispensables pour parfumer marinades, pâtés, plats de gibier et de poisson, et bien sûr la choucroute [20].

Chapitre II Généralités sur les Huiles essentielles

II.1 Introduction :

Les plantes de façon générale et aromatiques en particulier, se caractérisent par deux types de métabolismes : primaire fournit les constituants de base en quantité élevée. Les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines. Le métabolisme secondaire produit des métabolites en faible quantité, mais dont les applications dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite [23].

II.2 Définition d'une Huile Essentielle :

Une huile essentielle selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. Selon l'AFNOR, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques (pour les huiles essentielles d'agrumes), soit par distillation sèche. Une huile essentielle contient en moyenne soixante-quinze molécules actives [24]. Les huiles essentielles sont également de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles [6]. Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères [25].

II.3 Origine des huiles essentielles :

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que : les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées, les Poacées [6].

La synthèse des huiles essentielles peut avoir lieu dans toutes les structures des plantes aromatiques (tiges, écorces, feuilles, fleurs, racines ou encore dans les fruits) et fait intervenir quatre types d'organes sécréteurs : les poils sécréteurs, les cellules sécrétrices isolées, les poches sécrétrices ainsi que les canaux sécréteurs [14].

II.4 Rôle des huiles essentielles chez les plantes : Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et garantir leur sauvegarde, elles jouent plusieurs rôles écologiques : interférences plante - plante (inhibition de la germination et de la croissance), et interférences plante-animale pour leurs protections contre les prédateurs [26].

II.5 Classification des huiles essentielles : Les huiles essentielles comme les liquides volatils, la plupart du temps insolubles dans l'eau, mais librement solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles végétales et minérales. Elles sont habituellement non huileuses au contact de la peau. Leurs composants peuvent être regroupés en six classes selon leur structure chimique :

- a) Les hydrocarbures, tel que le limonène dans l'huile de citron ;
- b) Les alcools, tel que le bornéol dans le camphrier de Bornéo ;
- c) Les esters, tel que le salicylate de méthylique dans l'huile de wintergreen ;
- d) Les aldéhydes, tel que l'aldéhyde benzoïque dans l'huile d'amandes amères ;
- e) Les cétones, telle que la menthone dans l'huile de menthe poivrée ;
- f) Les lactones et oxydes, telle que la coumarine des haricots de Tonka [27].

II.7 Composition chimique des huiles essentielles : L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit de mélange complexe et variable des composants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques différentes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane(C6-C3).En plus des terpènes (R1-HC=CH-R2) et des composés aromatiques, les huiles essentielles peuvent contenir selon le genre d'extraction des hydrocarbures, alcools, aldéhydes, esters, produits azotés ou soufrés, acides, cétones (R1-CO-R2), et autres [6].

II.7.1. Les terpénoïdes : Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : **isoprène**.

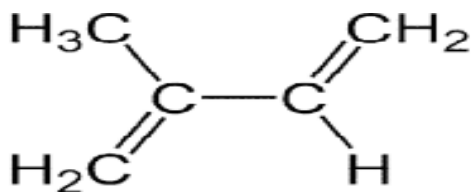


Fig. II.1 : Structure de l'isoprène (C5H8)

Les terpènes sont des composés très volatils dû à leurs masses moléculaires qui n'est pas élevées. Ils répondent dans la plupart des cas à la formule générale (C5H8)_n, suivant les valeurs de n on a les héli-terpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les tri-terpènes (n=6), les tétra-terpènes (n=8) et les polyterpènes.

Ils sont classés selon :

- leurs fonctions : alcools (linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes(citronellal), cétones (camphre), éthers-oxydes (cinéole) ;

• leur structure : linéaire (farnésol) ou cyclique : monocyclique (zingiberène), bicyclique (cadinène) ou tricyclique (cubébol). Il convient à souligner que seuls les terpènes de faible masse moléculaire (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles leur conférant un caractère volatil et des propriétés olfactives. Ils sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C15). Cependant leur structure ainsi que leur fonction restent similaires à celles des monoterpènes [2,6].

II.7. 2 Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Il s'agit généralement d'allyle et de propénylphénol. Ces composés forment une unité intéressante car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. L'eugénol par exemple est responsable de l'odeur du clou de girofle [14].

II.7.3 Les composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés.

-Alcools : menthol, géraniol, linalool...

-Aldéhydes : géraniol, citronellal, ...

-cétones : camphre, pipératine

-phénols : thymol, carvacrol....

-Esters : acetate de géranyle, ...

- Acides : acide gérannique

-Oxydes : 1,8-cinéole, ...

Phényl paranoïde ; eugénol.

-terpènes : limonène, para-cymène, Autres : éthers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpènes, [26]

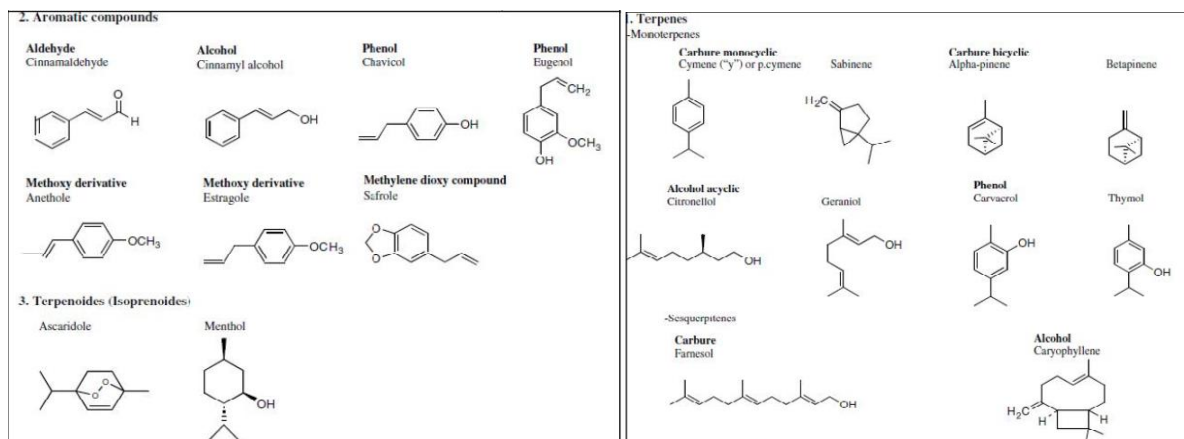


Fig. II.2 : Structure chimique de certains composés des huiles essentielles [6].

II.8 Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extractions des huiles essentielles. Le choix de la méthode se fait en fonction de la nature de la plante, des caractéristiques physico-chimiques de l'huile à extraire, et de l'usage de l'extrait. Les étapes de l'extraction sont semblables quel que soit le type de la méthode utilisée. Néanmoins il est important d'extraire les molécules aromatiques qui forment l'huile essentielle dans un premier temps de la matière végétale, ensuite séparer ces molécules du milieu par distillation [14].

II.8.1 Méthodes conventionnelles d'extraction :

II.8.1.1 Entraînement à la vapeur d'eau 'in-situ' ou hydrodistillation : [2]

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau bouillante (figure II.3). Cependant, une telle méthode de chauffage direct peut conférer à l'huile essentielle une odeur de brûlée. La plupart des alambics de distillation ont une grille. Cela protège le matériel végétal des éléments de chauffage, et le processus est similaire à celui de la distillation à la vapeur d'eau. Les techniques de distillations ont l'avantage d'être des méthodes économiques, traitant des quantités énormes de matière végétale, ne procurant que de simples appareillages et ne nécessitant que peu de main d'œuvre. Cependant, elles ont l'inconvénient de modifier la composition native des constituants des huiles essentielles et dépendent beaucoup du couple temps/température.

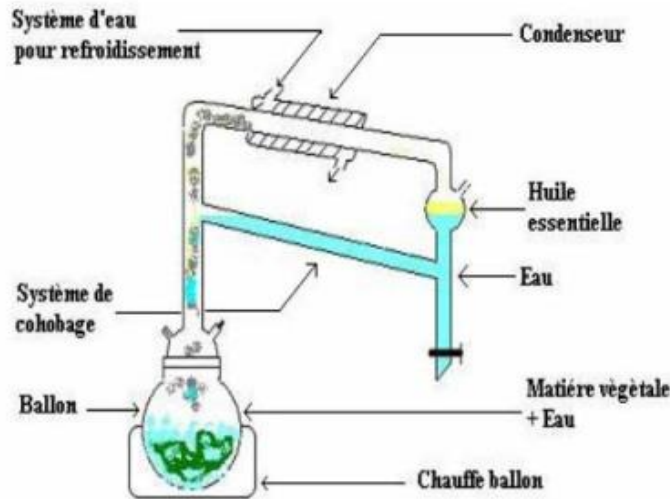


Fig. II.3 : Montage d'hydrodistillation.

II.8.1.2 Entraînement à la vapeur d'eau 'ex-situ' ou vapo-hydrodistillation :

Dans la distillation à la vapeur d'eau, le végétal n'est pas en contact avec l'eau : la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées (figure II.4).

Pour raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et économiser l'énergie, il est possible de travailler en surpression modérée (1 à 3 bars). La conséquence de la surpression étant une augmentation de la température, la qualité de l'huile essentielle obtenue peut être modifiée [28].

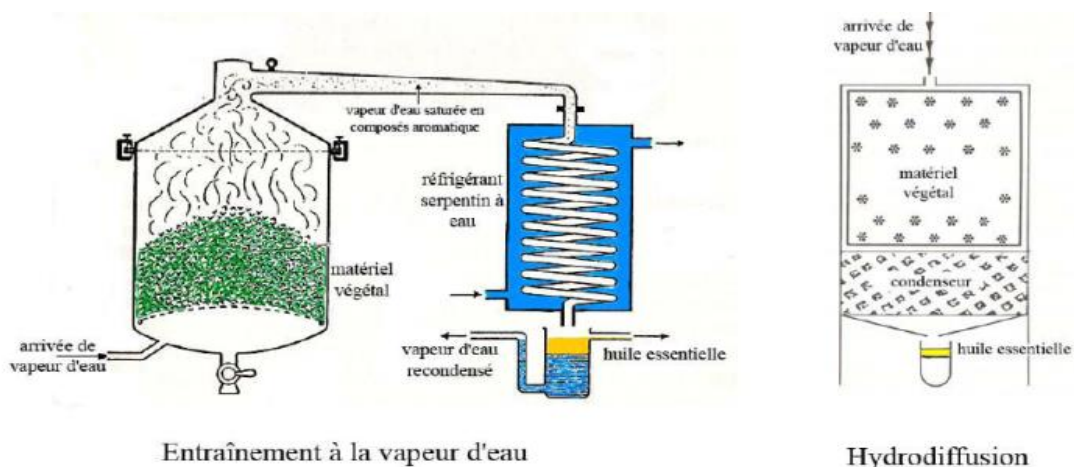
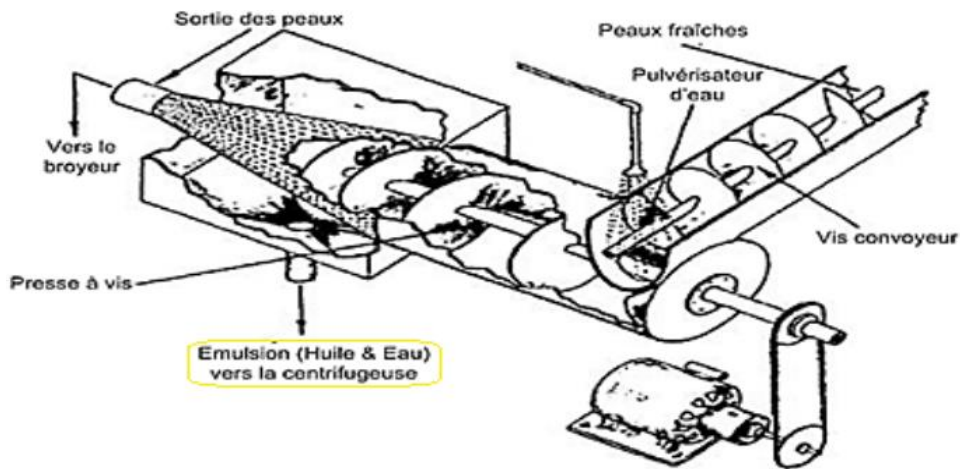


Fig. II.4 : Montage pour l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion.

II.8.1.3 Extraction par expression à froid : Cette méthode s'applique uniquement aux huiles essentielles d'agrumes comme le citron, l'orange douce et amère etc. En effet, ces huiles ne résistent pas au traitement à chaud. Généralement c'est le procédé de qualification mécanique,

l'entraînement des huiles essentielles s'effectue par un courant d'eau, puis l'essence est séparée par décantation. Ce procédé est utilisé fréquemment dans l'industrie (**schémas II.1**)



[14].

Schémas. II.1 : Schéma représentatif de l'extraction par pression.

II.8.2 Méthodes innovantes d'extraction :

II.8.2.1 Extraction par solvants volatils : [29] Ici le procédé est basé sur le fait que les essences sont solubles dans la majorité des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le protocole consiste à imbiber la matière végétale par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants revient très chère à cause du prix de l'équipement et de la grande quantité des solvants nécessaires pour l'extraction. Un autre inconvénient de cette méthode est le manque de sélectivité, car plusieurs substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure. La **figure II.5** représente le montage utilisé dans ce mode d'extraction

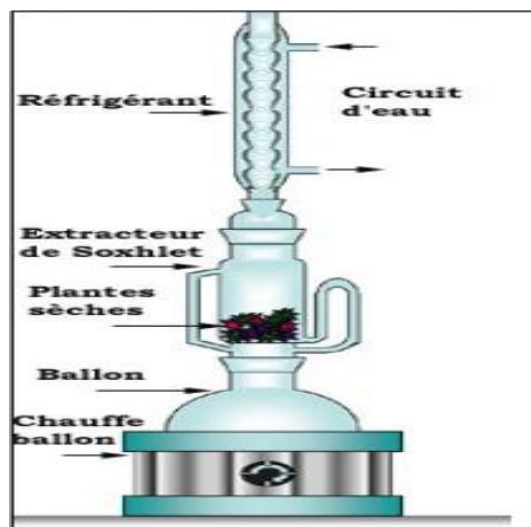


Figure II.5 : Montage de distillation par solvants volatils.

II.8.2.2 Extraction assistée par micro-ondes : L'extraction assistée par micro-ondes consiste à introduire le réacteur contenant le matériel végétal (avec ou sans eau) dans un four à micro-ondes (**figure II.6**). La technologie de l'utilisation des micro-ondes représente une alternative aux techniques de Distillation pour améliorer les rendements, la vitesse d'extraction et peut être appliquée à de plus grands volumes [2].

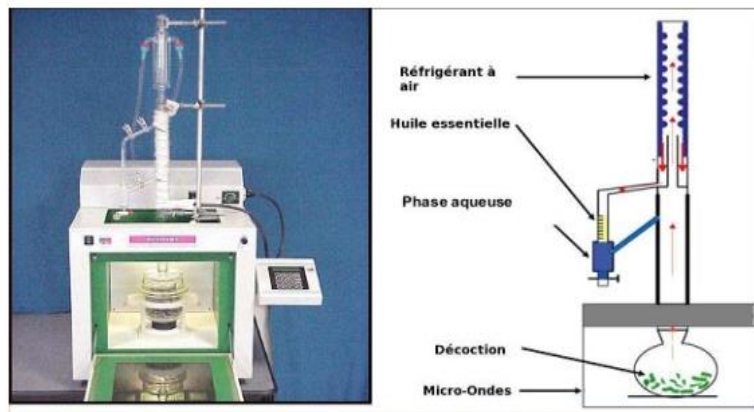


Fig.II.6 : Dispositif de l'extraction assistée par micro-ondes.

II.9 Caractérisation des huiles essentielles : L'importance des huiles essentielles dans divers domaines (pharmacie, cosmétique, parfumerie...) nous amène à vérifier leur qualité. La caractérisation d'une huile consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur) ;
- Déterminer ses indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, et indice d'acide) ;
- Obtenir son profil chromatographique et une quantification relative des différents constituants [25].

II.9.1 Caractérisation organoleptique : Liquides à température ambiante, rarement visqueuse (myrrhe), certaines cristallisent partiellement ou totalement à plus faible température (anis : anéthol ; menthe des champs). Les huiles essentielles sont volatiles et n'ont pas le toucher gras et onctueux, ce qui les différencie des huiles fixes. La plupart d'entre elles sont incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées à l'exception des essences à azulènes qui sont bleues (ex : camomille allemande), de l'essence d'absinthe qui est verte, de celle de girofle qui est brune et de celle de wintergreen (Gaulthérie couchée) qui est rougeâtre. D'odeur agréable, aromatique. Pour la saveur, elle peut être douce, piquante, caractéristique, fruité, fraîche, ...

II.9.2 Caractérisation physique :

✓ **Pouvoir rotatoire** : c'est une propriété des molécules chirales, celles-ci ont la propriété de dévier le vecteur d'un faisceau lumineux les traversant. Il est mesuré à l'aide d'un polarimètre. Les huiles essentielles sont le plus souvent optiquement actives.

✓ **Densité relative** : elle représente le rapport de la masse d'un volume de liquide (HE pour notre cas) par la masse du même volume d'eau. Elle est sans unité et varie en fonction de la température. La densité relative est mesurée par deux appareils : le densimètre et le pycnomètre. La densité des HE est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception des HEs de saffras, de cannelle et de girofle [29].

✓ **Indice de réfraction** : c'est une grandeur sans dimension, caractéristique d'un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans celui-ci ; Il est mesuré couramment par le réfractomètre d'Abbe La détermination de l'indice de réfraction pour une huile essentielle permet seulement de vérifier si elle est conforme aux normes établies. Les HEs ont souvent un indice de réfraction élevé (1,45-1,56) [18].

✓ **Solubilité des huiles essentielles**

- **Dans l'eau** : elles ne sont naturellement pas, ou très peu, solubles dans l'eau ; certains composants sont néanmoins plus solubles que d'autres (verbénone du romarin officinal, lavandulol de la lavande vraie) ; quelques-unes ont des constituants particulièrement solubles, ce qui entraîne, durant la distillation des écorces de cannelle, l'obtention habituelle d'émulsions.

- **Dans les huiles fixes** : elles sont totalement solubles dans les huiles grasses .

- **Dans l'éthanol** : Une huile essentielle est dite miscible à V volumes et plus de l'éthanol de titre alcalimétrique déterminé à la température de 20°C, lorsque le mélange de 1 volume d'huile essentielle et de V volumes de cet éthanol est limpide, et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre jusqu'à un total de 20 volumes.

- **Dans les solvants organiques** : les HE s'y solubilisent très bien [18].

II.9.3. Caractérisation chimique :

✓ **Indice d'acide** : C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres(gras) contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration [25].

✓ **Indice de saponification** : Is est le nombre de milligramme (mg) d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les acides estérifiés contenus dans un gramme d'HE.

✓ **Indice d'ester** : IE est le nombre de milligramme de potasse nécessaire pour saponifier les esters présents dans 1 gramme d'HE [18].

II.9.4 Caractérisation chromatographique : Différentes méthodes analytiques peuvent être utilisées, telles que la spectroscopie infrarouge, chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CPG), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) qui est la méthode la mieux adaptée à l'analyse des huiles essentielles [30].

✓ **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)** : C'est une méthode d'analyse qualitative et quantitative des mélanges complexes de composés gazeux ou susceptible d'être vaporisé sans décomposition.

L'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte : phase mobile (H₂, N₂, Hélium...). La CPG est basée sur la répartition du produit analysé entre la phase gazeuse mobile et une phase liquide ou solide stationnaire. Les substances séparées sont affichées sur le chromatogramme, et chaque pic est caractérisé par un temps de rétention et une surface permettant ainsi de déterminer l'identité et le pourcentage de chaque constituant [18].

✓ **Spectrométrie de masse (SM)** :

Comme la CPG, La spectrométrie de masse est une technique analytique qualitative et quantitative dont le domaine d'application est très étendu [31].

✓ **Le couplage CPG / SM** Le couplage CPG/SM est la technique de référence dans le domaine des HE, elle permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse de différents constituants d'un mélange complexe. Elle fournit un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectre de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification de la majorité des constituants séparés par la CPG [18].

✓ **Chromatographie sur couche mince (CCM)** : La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant migre à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse au-dessous de front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Généralement, en

CCM les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [32].

II.10 Activités biologiques des huiles essentielles :

L'étude des activités biologiques des substances bioactives des plantes médicinales se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. Les huiles essentielles possèdent plusieurs propriétés biologiques telles qu'anti inflammatoire, antivirale, antifongique, antimicrobiennes, anti oxydante, ...

[12, 33].

II.10.1 Activités antioxydante des huiles essentielles :

Le terme antioxydant était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène. A la fin du XIXe siècle et au début du XXe siècle les propriétés des antioxydants ont été largement étudiés pour leurs utilisations dans les procédés industriels afin de réduire par exemples la corrosion des métaux et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion [13].

Ces dernières années des nombreuses études ont apporté de précision sur les niveaux des consommations des antioxydants, leur devenir dans l'organisme et leurs mécanismes d'actions aux niveaux cellulaires et moléculaires. Par ailleurs, de nombreuses molécules antioxydantes d'origines naturelles suscitent actuellement l'intérêt professionnel de l'agroalimentaires et génèrent de nouveaux programmes de recherches [23].

II.10.1.2 Radicaux libres et stress oxydatif : L'oxygène est un élément vital qui joue un rôle indispensable dans l'oxydation des cellules. Lorsque cette oxydation est incomplète, il se forme des molécules nocives appelées radicaux libres. En grand nombre, les radicaux libres altèrent l'intégrité des cellules et provoquent une mort cellulaire prématurée. La principale production des radicaux libres à l'intérieur de l'organisme est le métabolisme, c'est-à-dire la transformation des aliments en énergie. Les sources externes sont le stress, le tabac, l'alcool, la pollution et les additifs alimentaires. Si les radicaux libres en viennent à excéder la capacité de l'organisme à les neutraliser, ils peuvent contribuer à l'apparition de plusieurs maladies, dont les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers et d'autres maladies associées au vieillissement. Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydantes [23].

▪ **Les principaux radicaux libres :**

-**Le radical superoxyde(O_2)** : il naît de la combustion des sucres et des graisses.

-**Le radical peroxynitrite** : il est produit à partir de l'azote par les globules blancs, ces cellules contenues dans le sang et dont le principal rôle est de protéger l'organisme contre les infections.

-**Le radical hydroxyle (OH)** : il résulte de l'action du rayonnement solaire sur notre peau, notamment quand celui-ci n'est pas bien filtré par la couche d'azote. Il peut aussi être synthétisé par réaction du fer ou du cuivre avec la vitamine C. C'est à ce radical que l'on attribue la plupart des lésions du vieillissement. Monoxyde d'azote, peroxyde d'oxygène, oxygène singulet...sont d'autres radicaux libres qui interviennent à différents niveaux [12].

II.10.1.3 Activité antioxydante et les antioxydants : L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($OH\bullet$) et superoxydes ($O_2\bullet$). Les antioxydants sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres en les neutralisant, afin qu'ils deviennent inoffensifs ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires [13].

- **Les antioxydants primaires** : Ils sont appelés également les antioxydants vrais ou antioxydants radicalaires, sont des molécules (notées AH) capables d'interrompre la chaîne auto catalytique de l'oxydation en bloquant les radicaux lipidiques $R\bullet$ et $ROO\bullet$ par transfert d'un atome d'hydrogène pour reformer RH et ROOH. De la même manière, ils peuvent transformer les radicaux $RO\bullet$ en ROH, bloquant ainsi la formation des aldéhydes.

- **Les antioxydants secondaires** : Ils sont appelés aussi préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des molécules exogènes ; des substances décomposant les hydro-peroxydes en alcools, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou des disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes [23].

II.10.1.3 Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro :

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant (huile essentielle).

Selon la bibliographie, les méthodes les plus utilisées sont celles de la réduction du 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•), de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, de la chélation des métaux et de blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique.

II.10.1.3.1 L'inhibition de la Peroxydation de l'acide linoléique : La mesure de l'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique est une méthode efficace pour l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. Cette activité est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique.

II.10.1.3.2 Chélation des métaux : La méthode de chélation des métaux est employée pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles où les réductants (huiles essentielles) ramènent le complexe de Fe³⁺/ferricyanide [FeCl₃/K₃Fe (NC)₆] à la forme (Fe²⁺) ferreuse. Par conséquent, selon la puissance de réduction des huiles essentielles, la couleur jaune de la solution d'essai change en vert ou en bleu. Cette méthode a été utilisée par beaucoup d'auteurs pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles.

II.10.1.3.3 Blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique : Le blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique et de la réduction de DPPH• sont des méthodes efficaces, simples, reproductibles et rapides pour évaluer les propriétés antioxydantes des huiles essentielles [34].

II.10.1.3.4 Test de DPPH (2,2Diphényl 1 Pycril Hydrazil) : [25]

• **Mécanisme d'action de DPPH :** L'activité antiradicalaire a été évaluée en utilisant le DPPH, qui fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante. Le DPPH (2,2 -diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncé bien caractéristique de la solution DPPH. Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire DPPH•, ce qui nous amène au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H), passant au jaune pâle ; et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517nm (**figure II.7**).

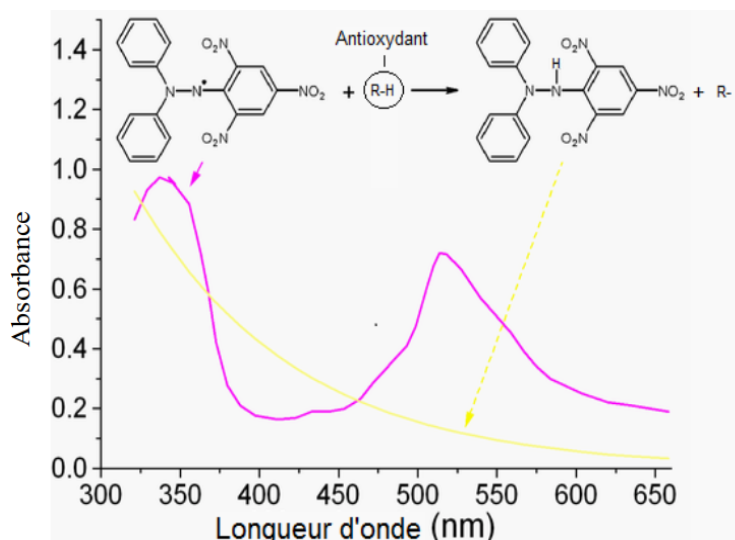


Fig.II.7 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (R-H) [26].

Pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante par DPPH, deux approches sont appliquées : d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH• à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH• et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction [23,35]. Dans la première approche, l'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage, où l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t : $[\% = ((\text{Abs contrôle} - \text{abs}) / \text{abs contrôle}) \times 100\%]$. Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C) [23]. L'indice relative montre seulement la capacité de l'échantillon, à une concentration fixe, de réduire ou non les radicaux et dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant amène l'augmentation de ces indices relatifs [23]. Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective CE50 (ou l'inverse 1/CE50) de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH• dans le milieu réactionnel. La capacité antioxydant d'un composé est d'autant plus élevé que sa CE50 est petite. L'indice CE50 montre les concentrations de l'antioxydant qui sont nécessaires pour faire décroître la concentration initiale du DPPH• avec 50% (exprimée en mol Antioxydant/mol DPPH• ou mg Antioxydant/g DPPH•), mais ne prennent pas en considération l'influence de la concentration sur le temps de la réaction [23]. Pour mieux caractériser le pouvoir anti-radicalaire, dans la deuxième approche des

paramètres cinétiques sont introduits, tels que le temps TEC50 nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE50, la constante de vitesse de la réaction ou le coefficient directeur de la courbe cinétique. L'estimation de TCE50 permet d'introduire la classification suivante TCE50 < 5 min (réaction rapide), 5, 30 min (réaction intermédiaire) et TCE50 > 30 min (réaction lente). L'indice de l'efficacité antiradicalaire EAR [EAR = 1/ (CE50.TCE50)] relie la concentration du DPPH• et le temps TEC50 dans l'essai avec la concentration effective CE50 de l'échantillon, et résulte dans un paramètre constant pour chaque solution ou extrait [23].

II.10.1.4 Sources des antioxydants :

- **Sources synthétiques [13].** Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-hyper-lipoprotéïnémiques, les β -bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydantes (**Fig.08**).

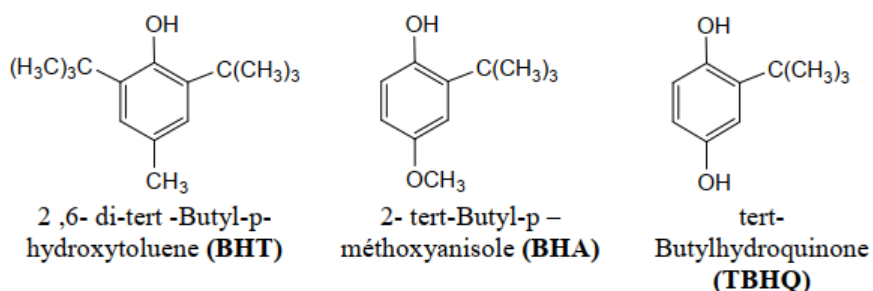


Fig.II.8 : Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques [23].

- **Sources naturelles :** Les antioxydants d'origine alimentaire sont nombreux, certains sont liposolubles comme : tocophérols ; β carotène ; lycopène, d'autres sont hydrosolubles comme l'acide ascorbique ; et d'autre sont plus hydrosolubles que liposolubles comme les polyphénols.

- **La vitamine C :** L'acide L'ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes O₂, du peroxyde d'hydrogène OH, des radicaux hydroxyles HO et de l'oxygène singlet O₂, Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxyles aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle. La vitamine C est présente dans les légumes, les choux, le poivron, les agrumes.

- **La vitamine E :**

C'est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose.

Des études cliniques ont prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E. On trouve la vitamine E dans les huiles végétales, les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes [23].

• **Les oligo-éléments :** [13] Les oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi les oligo-éléments, le zinc, le sélénium et le manganèse ont une action définie.

- **Le sélénium :** Le sélénium est connu pour ses propriétés antioxydantes. Il entre dans la constitution de la glutathion peroxydase. Cette enzyme séleno-dépendante participe au recyclage du glutathion et réduit la peroxydation lipidique en catalysant la réduction des peroxydes dont le peroxyde d'hydrogène. D'autres rôles sont attribués à cette enzyme : elle interviendrait dans la transduction des signaux cellulaires, la régulation de l'expression de gènes (par son action au niveau des facteurs de transcription), l'induction de Bêta carotène et jouerait donc un rôle clé lors du cycle cellulaire. Le sélénium neutralise les métaux toxiques comme le plomb, mercure et aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

- **Le manganèse :** Le manganèse appartient au supéroxyde dismutase mitochondriale. Cette enzyme fait partie du système de défense antioxydant endogène de l'organisme. Elle permet la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène.

- **Les Caroténoïdes :** Les caroténoïdes sont des constituants membranaires des chloroplastes et forment un groupe de pigments liposolubles. Ils réagissent avec l'oxygène singlet, les radicaux peroxydes et alkyles en capturant les radicaux libres. Ils sont présents dans les légumes, fruits et le lait (exemples : α -carotène, β -carotène, lycopène etc.) impliqués dans la prévention du cancer des poumons et de la prostate.

- **Composés phénoliques** Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols. Ce sont des métabolites secondaires des plantes caractérisées par une structure commune de type 2 phénylbenzopyrane. Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés anti-oxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxyde et péroxyl. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés de chélation (**Fig.III.3**) [13].

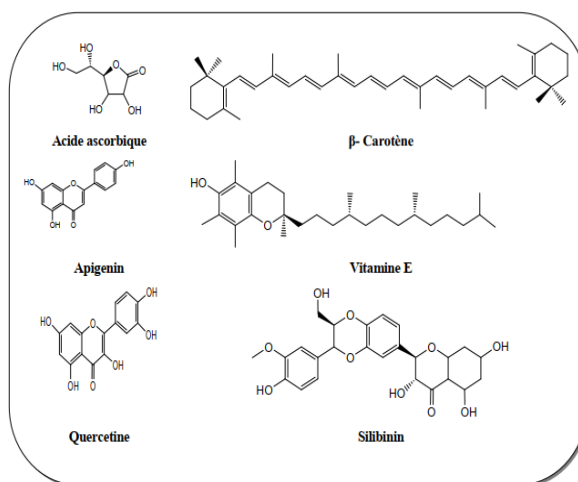


Fig.II.9 : Structures chimiques des antioxydants naturels.

II.10.2 Activités antimicrobiennes :

Les pathologies infectieuses bactériennes entraînaient, dans la majorité des cas, la mort de l'être vivant avant la découverte des antibiotiques. Avec la découverte de la pénicilline en 1929 par Fleming et puis d'autres antibiotiques, on est passé à l'ère des antibiotiques qui a connu un grand essor. Les antibiotiques ont été très efficaces pour le traitement de nombreuses maladies. Après une longue période d'utilisation massive des antibiotiques, nous arrivons maintenant à une période plus délicate. Le monde bactérien est capable de s'adapter à une nouvelle situation écologique, y compris la présence des antibiotiques. En développant des stratégies de résistance vis-à-vis des molécules d'antibiotiques. De ce fait, les huiles essentielles antimicrobiennes présentent une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques contre les pathologies infectieuses, leur utilisation est connue depuis des siècles mais sans bases scientifiques, la confirmation scientifique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est récente [33].

II.10.2.1 La diversité du monde microbien :

II.10.2.1.1 Les bactéries : Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes. On distingue aussi les bactéries proprement dites (Bacteria) des bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bactérie et ce sont de ces bactéries seulement qu'il sera question dans cet ouvrage. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée

(spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique [12].

Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram". Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordançage), toutes les cellules se colorent en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à **gram positif** et qui sont décolorées, appelées à **gram négatif**. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes [36]. Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir [23].

A. Bactéries à gram négatif :

- *Escherichia coli* Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'*Escherichia coli*, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches d'*Escherichia Coline* ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères. L'*Escherichia coli* est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale [13].

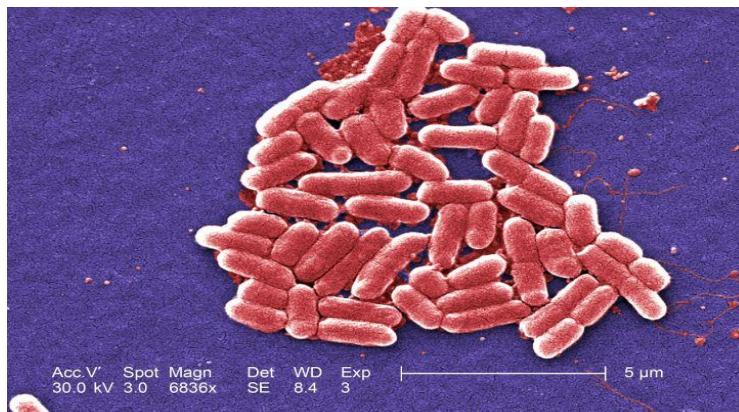


Fig.III.4 : Vue sous le microscope électronique de l'*Escherichia coli*.

<https://pixnio.com/fr/science-fr/microscopie-images/escherichia-coli-fr/gramme-negatif-escherichia-coli-bacteries>

B. Bactéries à gram positifs

• *Staphylococcus aureus* : [12] C'est une espèce de la famille de Micrococcaceae, constituée de cellules arrondies (cocci à gram positif) disposées en amas ou en grappes de raisin d'où le nom staphylos en grec. Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement telles que la chaleur, la sécheresse ou la salinité de l'eau. Ces caractères ubiquitaire et saprophytique expliquent que ces germes soient aussi des commensaux occasionnels ou permanents de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Les *Staphylococcus aureus* peuvent causer des infections intestinales superficielles, infections des plaies et du sang, comme elles acquièrent facilement des résistances aux antibiotiques, en particulier à la méthicilline et à la pénicilline.



Fig.II.10 : Vue sous le microscope électronique de *Staphylococcus aureus*.

II.10.2.2 Mode d'action des huiles essentielles contre les bactéries : L'activité antimicrobienne des HE a fait l'objet d'un grand nombre de publications à l'échelle internationale. Cependant, la majorité des travaux cités dans ces publications s'arrêtent au niveau de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de ces HE. Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HE. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE ait son propre mécanisme d'action. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

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

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

* destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie [23].

II.10.2.3 Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

in vitro :

Il existe plusieurs méthodes pour tester le pouvoir antimicrobien et le choix de la méthode doit être conditionné par l'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux aqueux, leur volatilité et la nécessité de les tester à des faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes [37,21]. Les différents protocoles peuvent ainsi être classés :

1. Selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'HE, soit liquide, solide ou gazeux ;
2. Selon la nature du contact de l'HE avec le germe : diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans un émulsionnant [21].

Une première étape consiste à faire un « screening » ou une sélection des huiles ayant un effet antimicrobien potentiel. Il s'agit d'une étude préliminaire qualitative. Une seconde étape consiste à calculer quantitativement le degré d'activité antimicrobienne des huiles essentielles sélectionnées, et ce en déterminant la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) de ces huiles. La CMI est définie comme étant la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après incubation, et la CMB comme la plus faible concentration d'antimicrobien qui tue 99,9% des microorganismes après sous-culture sur milieu sans antibiotique [21].

II.10.2.3.1 Techniques par contact direct :

-Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque ou Aromatogramme) :

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable (10-25mL), déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre, papier buvard ou Wattman (6-8mm), préalablement imprégnés de quantités connues d'HE (5-30 μ L), sont alors placés en surface de la gélose. Généralement, les micro-organismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition. [34]. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de cultureensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration

de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque de l'antimicrobien est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie/antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai [38]. Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible. La mesure manuelle des zones d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. Généralement cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose [23].

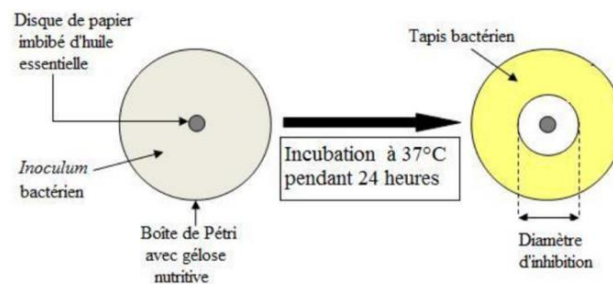


Fig.II.11 : Principe de la diffusion sur disque [39].

-Technique de diffusion en puits : Un puits (d'environ 6mm) est creusé au centre de la gélose dans lequel sera coulée une quantité d'huile essentielle pure ou diluée. Après incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées. Pour ces 2 techniques, la sensibilité du germe testé peut être évaluée selon le diamètre d'inhibition obtenu. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible [34].

• **Technique en milieu liquide (méthode de dilution) [40] :**

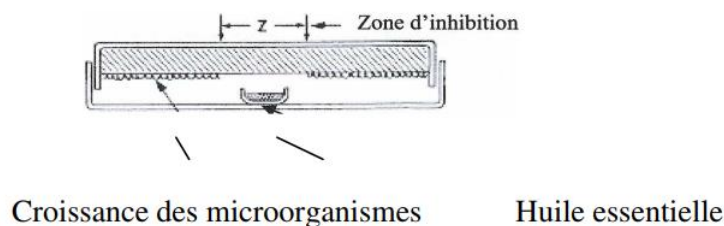
Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/ml ou mg/litre). Cependant, la CMI ne représente pas

toujours une valeur absolue. La « véritable » CMI est un point entre la plus basse concentration qui empêche la croissance de la bactérie et la concentration inférieure immédiate.

- **La dilution en bouillon :** La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration. L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses.

-**La dilution en gélose :** La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte.

II.10.2.3.2 Méthode de microatmosphères : Dans cette méthode, les disques imprégnés par l'huile essentielle sont déposés au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience (couvercle en bas), cette méthode est appelée « Méthode de microatmosphères ». Le disque n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance. Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase vapeur sont encore peu nombreux [12].



Fi.II.12 : Illustration de la méthode des microatmosphères [21].

II.10.2.3.3 Limite de ces méthodes :

Quelle que soit la méthode de contact directe choisie, ces techniques, fiables pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, posent un problème de diffusion, d'homogénéité et de dispersion avec les HE, en raison de leurs très faibles solubilités dans les milieux de culture aqueux. Un certain nombre de solutions ont été proposées. La technique de diffusion en

gélose peut être améliorée par l'ajout des détergents qui facilitent la diffusion des HE dans la gélose. Pour la méthode de contact en milieu liquide, il faut disperser les HE dans une solution de détergent (Tween 80) ou solubiliser les HE dans l'éthanol avant de les introduire dans le bouillon de culture ensemencé en micro-organismes [21]. Avec des solvants (éthanol) ou des détergents (Tween 80), la dispersion des HE dans les milieux liquides est homogène et la diffusion dans les milieux gélosés est meilleure. Toutefois, les CMI et les CMB obtenues dans ces conditions sont-elles dues aux HE seules, ou au mélange des HE avec les détergents ou les solvants ? Selon les détergents et les solvants et selon les concentrations auxquelles ils sont employés, les CMI et les CMB varient [41].

II.10.2.3.4 Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles :

Les facteurs influençant les propriétés antimicrobiennes des HE sont :

- **Effet de la température** : Des études ont montré respectivement que la température affecte les propriétés d'inhibition de l'aldéhyde cinnamique quand la température augmente de 20°C à 30°C et, augmente les propriétés antibactériennes des carbonyles aromatiques et aliphatiques lorsque la température baisse de 37°C à 12°C.
- **Le pH** : Sur 11 composés étudiés dont l'eugénol, le maltol et le menthol, Jay et Rivers (1984) ont constaté une augmentation de l'activité de tous les composés à pH 6 par rapport au pH 8. À pH 5 et à la température d'incubation de 5°C, 0,01 g/l de diacétyle suffisent pour inhiber *Pseudomonas fluorescens* et *Staphylococcus faecalis*, alors qu'à 15°C, 0,078 g/l et 0,156 g/l sont respectivement nécessaires pour inhiber ces microorganismes [21].

II.11. Domaine d'application des huiles essentielles :

II.11.1 Dans l'industrie agroalimentaire : Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier). A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane). Maintenant, l'industrie agroalimentaire utilise les HEs dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien) [42].

II.11.2 L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique :

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique.

Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques [43].

II.11.3 En pharmacie : L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles dans le domaine des antiseptiques externes ; elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, etc., des essences naturelles. Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière l'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc.).

Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive [25]. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules pommade ... [43].

II.12 Toxicité des huiles essentielles :

Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Les huiles essentielles doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité. Il convient d'ailleurs de relativiser ce risque car il concerne essentiellement les personnes fragiles, notamment les bébés et les enfants, les personnes âgées et les femmes enceintes ou allaitantes [23]. Les Huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et toxique. La toxicité des huiles essentielles (principalement des cétones monos terpéniques) est connue depuis le siècle dernier [44].

II.13 Conservation des huiles essentielles : Les huiles essentielles se conservent plusieurs années. Elles ont même tendance à se bonifier avec le temps (à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de 2 ans). Il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air, il faut bien refermez les flacons après usage car les arômes s'évaporent dans l'atmosphère. Tenir les flacons hors de portée des enfants.

Les flacons doivent être stockés en position verticale, en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années [25].

**Chapitre III Composition
chimique et activités
biologiques de l'Huile
essentielle du *juniperus
phoenicea***

Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

III.1 Introduction :

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle du Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) et leurs activités antimicrobiennes ont été rapportées dans plusieurs travaux. L'utilisation de ces molécules naturelles pour remédier au phénomène d'oxydation des corps gras, ses conséquences sur la santé et ses répercussions économiques ont fait aussi l'objet de plusieurs recherches. A travers ce chapitre, nous allons présenter quelques travaux antérieurs réalisés sur la compositions chimiques et activités biologiques (antibactériennes, antifongiques et antioxydant) du Genévrier rouge.

III.2 Quelques travaux sur le Genévrier rouge

De nombreux travaux ont été effectués sur le Genévrier rouge, pour connaître la composition chimique, l'effet antibactérien, l'effet antioxydant...etc.

Nous présentons ci-après quelques-uns.

III.2.1 Composition chimique de l'huile essentielle de Genévrier rouge provenant de différentes origines géographiques

La composition chimique de l'huile essentielle de Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) des différents pays : Algérie (Djelfa, et Tlemcen) [47,52], Portugal [49] et Egypte [50] est présentée dans le **tableau IV.1**.

- Avec un rendement de 0,80% de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* d'Algérie (Djelfa), Cent trois (103) constituants, représentant 96,0% de l'huile ont été identifiés, vingt-trois (23) étant signalé pour la première fois dans l'huile de *J. phoenicea*. L'huile était caractérisée par la présence de quantités élevées d'hydrocarbures monoterpéniques (62,2%) et par un pourcentage plus faible de sesquiterpènes oxygénés (8,8%), dont α – pinène (40,2%), l' α -phellandrène (14,7%) et l'élémol (3,9%) étaient les principaux composés.

L'huile a également été caractérisée par la présence de trois constituants diterpènes ; l'oxyde de manoyle, l'abiétadiène et le cis-totarol à hauteur de 0,3%, celui de la région de Tlemcen était principalement composée Pinene 34.5 %, 2-Phellandrene 22.4 %, Terpinyl acetate 14.7 %.

- Les analyses de l'HE des feuilles de *J. phoenicea* de l'Egypte ont révélé cinquante-huit composés représentant 99,2% de la composition de l'huile. L'a-pinène était le principal composé (39,30%) suivi du Sabinéne (24,29%). Huile de baies composée principalement de monoterpénoïdes qui représentaient 90,53%, dont 72,85% d'hydrocarbures,

Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

monoterpéniques. Les sesquiterpénoïdes représentaient environ 8% de la composition totale de l'huile. L'huile de feuille était composée d'environ 66 composés représentant 99,16% de la composition totale de l'huile.

L' α -pinène était le principal constituant de l'huile de feuilles à une concentration de 38,22%, suivi de l' α -cédrol (31,23%). L'hydrocarbure monoterpénique était le groupe chimique prédominant (41,29%) suivi des sesquiterpènes oxygénés (32,21%).

- Les analyses des HE du Portugal ont révélé pour un rendement de 0.41 % que les composants majoritaires sont : α -pinène 34.1, % β -phellandréne 19.2 %, β -caryophyllene 0.22 %.

Tableau III.1 : Tableau comparatif des teneurs des constituants des huiles essentielles du Genévrier rouge (*J. phoenicea*) de différents pays.

Pays	Rendement	Composants	Teneur (%)
Algérie (Djelfa) [47]	0.8 %	α -pinène	40.2 %
		β -phellandrene	14.1 %
		Pinène	2,0 %
Algérie (Tlemcen) [48]	0.52 %	Pinène Terpinyl	34.5 %, 2
		Phellandrene	22.4 %
		Acetate	14.7 %
Portugal [49]	0.41 %	α -pinène %	34.1, %
		β -phellandréne	19.2
		<i>Caryophyllene</i>	0.22 %
Egypte [50]	0.36 %	α -pinène	39.30 %
		Cedrol	31.23 %
		Sabinéne	24.29 %

Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

III.2.2 Rendement en huile essentielle de Genévrier dans différents pays : Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal sec à traiter [14].

$$R = (M/M_0) \times 100$$

R : Rendement en huile essentielle exprimé en %.

M : Masse en grammes de l'huile essentielle.

M₀ : Masse en grammes du matériel végétal sec à traiter

Le rendement en HE de *Juniperus phoenicea* est représenté dans le **tableau IV.2**.

Le rendement en huile essentielle des fruits *J. phoenicea* de l'Algérie (Ain sefrae et Founassa et Tébessa) (2%, 2.5% et 2.42 %) est le plus élevé par rapport à celui des feuilles des autres pays. Nous pouvons dire que les fruits *J. phoenicea* sont riches en composés aromatiques volatils par rapport aux feuilles.

Tableau III.2 Rendement en HE de *J. phoenicea* dans quelques pays :

Pays	Partie de la plante utilisée	Rendement en HE
Maroc (Fès) [4]	Feuilles	0,8 %
Algérie (Tébessa) [14]	<i>Feuilles</i>	2.37%
	<i>Fruits</i>	2.42 %
Algérie (Ain sefrae et Founassa) [2]	Feuilles fraîches	0,6%
	Feuilles sèches	0.9%, 0.68%
	Fruits	2%, 2.5%
Espagne [45]	Feuilles	0.66%

III.2.3 Différentes activités biologiques de *juniperus phoenicea* :

III.2.3.1 Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des huiles essentielles d'Algérie était évaluée contre cinq micro-organismes, à l'aide des méthodes de diffusion en disque et CMI. Les diamètres de la zone D'inhibition (DD), concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'huiles essentielles pour les microorganismes testés sont rapportés dans le **Tableau III.3**.

Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

Les résultats ont montré que les huiles inhibaient la croissance des souches bactériennes qui ont produit un diamètre de zone d'inhibition de 6,8 à 15,6 mm, qui dépendait de la sensibilité des bactéries testées. Cependant, les zones d'inhibition étaient plus faibles que celles des antibiotiques, qui ont montré une large zone d'inhibition à très faibles concentrations. Comme on peut le voir dans le Tableau 2, *Enterococcus faecalis* était le microorganisme le plus sensible avec la zone d'inhibition la plus élevée (15,6 mm) et la valeur CMI la plus basse (7 µl / ml) de l'huile essentielle de *J. phoenicea*. D'un autre côté, vu du tableau 2 que *Pseudomonas aeruginosa* était résistant à ces huiles essentielles [51].

Des études similaires ont été effectuées au Maroc (**tableau III.3**) sur les mêmes souches bactériennes. Avec le test de diffusion sur disque, les huiles se sont révélées être actives contre *E. coli*, *Staph. aureus*, *Staph. intermedius* et *K. pneumoniae* à une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 0,02, 0,10, 0,11 et 0,18 mg / mL. Contre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *S. mutans* l'huile des feuilles s'est avérée plus active ; les huiles ont montré des valeurs de CMI de 0,22, 0,32 et 0,40 mg / mL, respectivement. Les données indiquent que *E. coli* était la souche la plus sensible testée à l'huile de *J. phoenicea* avec la zone d'inhibition la plus forte (34 mm). Le *Staph. aureus*, *Staph. intermedius* et *K. pneumoniae*, se sont avérés être plus sensibles parmi les bactéries avec une zone d'inhibition respectivement de 24, 18 et 14 mm. Des activités modestes ont été observées contre *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *S. mutans* avec des zones d'inhibition de 10, 10 et 8 mm [52].

Tableau III.4. Activité antibactérienne des feuilles de *J. Phoenicea* [51-52]

Région	Souches utilisés	Concentration Minimale d'inhibition(mg/ml)	Zone d'inhibition(mm)
Algérie	Staphylococcus aureus.	-	10,3
	Enterococcus faecalis	7	15,6
	Bacillus cereus	-	7
	Escherichia coli	-	9,6
	Klebsiella pneumonia.	0.18	14
	Pseudomonas	0.22	10

Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

Maroc	aeruginosa.		
	<i>Bacillus subtilis</i>	0.32	10
	<i>Streptococcus mutans.</i>	0.40	8

III.2.3.2 Activité antifongique :

Les huiles essentielles isolées des feuilles de *J. phoenicea* d'Algérie ont été testées pour activité antifongique contre trois souches fongiques et leurs effets fongistatiques sont présentés dans le **tableau III.4**

Les résultats des tests d'activité antifongique ont montré que les huiles réduisent modérément la croissance d'*Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum*. Cependant, les huiles n'étaient significativement pas actives contre *Rhizopus stolonifer*[51].

Tableau III.5 : Activité antifongique feuilles des de *J. Phoenicea*

Région	Souches utilisées	Zones d'inhibition
Algérie	Aspergillus flavus	40.6
	Fusarium oxysporum	47.1
	Rhizopus stolonifer	0.0

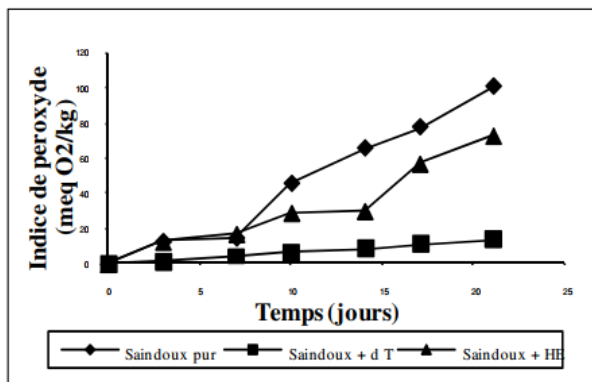
Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

III.2.3.3 Activité antioxydante :

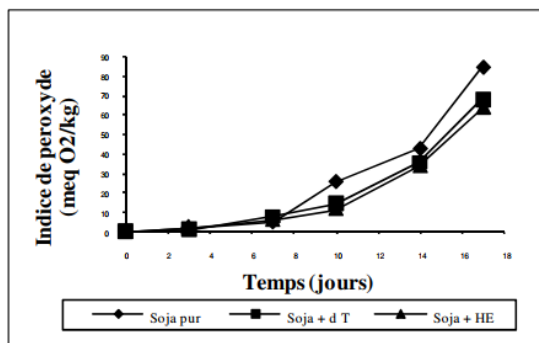
L'étude de l'activité antioxydante de l'huile de *Juniperus phoenicea* de Tunisie sur une huile végétale.

l'huile de soja, une comparaison avec un antioxydant usuel le δ -tocophérol ont montré que cette huile a manifesté un effet antioxydant et qu'elle a permis une stabilisation du saindoux.

Les **Figures III.1 et III.2** illustrent respectivement les variations de l'indice de peroxyde du saindoux et de l'huile de soja en fonction du temps en présence de l'huile essentielle de *J. phoenicea* et la comparaison avec le δ -tocophérol. Une protection contre l'oxydation est assurée en présence de cette huile essentielle pour le saindoux et pour l'huile de soja. L'huile essentielle de *J. phoenicea* possède une activité antioxydante qui est liée à sa composition chimique. Il est difficile d'attribuer cette activité à un seul composé puisqu'un effet de synergie entre les différents composés peut avoir lieu [55].



Figures III.1 Variation de l'indice de peroxyde du saindoux en fonction du temps en présence d'huile essentielle de *J. phoenicea*, comparaison avec le δ -tocophérol. (d T : δ -tocophérol).



Figures III.2 Variation de l'indice de peroxyde de l'huile de soja en fonction du temps en présence d'huile essentielle de *J. phoenicea*, comparaison avec le δ -tocophérol.

Chapitre III composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du Genévrier

III.3 Utilisation : *Juniperus Phoenicea* est une plante à propriétés médicinales largement utilisée dans la médecine traditionnelle à cause de son action contre les verrues, contre les polypes nasaux contre les coliques abdominales, contre la bronchite, rien que pour citer quelques exemples. Les feuilles de cet arbuste sont utilisées sous forme de tisane pour traiter la diarrhée, les rhumatismes et les diabètes. Le mélange des feuilles et cônes a été utilisé comme un hypoglycémiant oral. Les fruits de *Juniperus Phoenicea* sont couramment utilisés dans l'industrie alimentaire comme épices [14]. On plus de leurs utilisations en pharmacologie, ces huiles sont aussi employées en aromathérapie et dans la création des parfums, les fruits sèches qui sont récupérés sous forme de poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès [53]. En Egypte, les baies du *Juniperus Phoenicea* ont été utilisées comme applications pour traiter les brûlures et quelques cancers [54]. Au Maghreb, les feuilles de cette plante stimulent le flux sanguin dans la région pelvienne et l'utérus pour augmenter les contractions utérines pendant l'accouchement. En Algérie les gens utilisent les feuilles sèches du *Juniperus P.* en infusion pour la toux pour dilater les voies urinaires, pour désinfecter les intestins et pour traiter les infections cutanées. Ils les utilisent aussi réduites en poudre pour les saignements de nez et également comme cicatrisant des plaies [14].

Conclusion générale

Conclusion générale

En définitive nous pouvons en déduire qu'à l'heure actuelle les plantes médicinales apporteront une part importante pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, mais aussi comme alternatives aux multiples substances synthétiques vu leurs richesses en composés bioactifs. Le Genévrier plante à propriétés médicinales largement utilisée dans la médecine traditionnelle des nombreux pays n'échappe pas à cette catégorie des plantes médicinales. En effet des nombreuses études portant sur la composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle de cette plante laissent entrevoir des perspectives d'application de cette dernière dans le domaine de l'industrie pharmaceutique comme source importante des principes actifs vu sa grande richesse en composés tels que : α -pinène, β -phellandrene, Sabinène, caryophyllène..., qui sont fortement demandés sur le marché international, l'huile essentielle du Genévrier apportera aussi une part importante dans le domaine de l'industrie alimentaire, cosmétique, et celle de la préservation des bois vu les résultats encourageantes des études sur ses effets antibactériennes et antioxydantes .

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- [1] M^{lle}. Saidi, M^{elle}. Tobji, Evaluation de l'activité antibactérienne de combinaisons d'huiles essentielles et d'antibiotiques, Mémoire de Master Université A. MIRA - Bejaia, 2016.
- [2] M. Bouyahyaoui Ahmed, Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien, Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, 2017.
- [3] Aidli. L, Mehdaoui. K, Contribution à l'étude de la composition et de l'activité antioxydante des substances actives des feuilles et des baies du genévrier commun (*Juniperus communis*) du Parc Nationale de Djurdjura, Mémoire de Master, Université Abderrahmane MIRA de Bejaia, 2013.
- [4] Mohammed Jamaledine, Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* & *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas, Mémoire de Master, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 2012.
- [5] Nogaret-Ehrhardt A-S. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris 2008.
- [6] Leila Lakhdar, Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : Etude in vitro, thèse de doctorat faculté de médecine dentaire de Rabat, 2015.
- [7] : *Iseran*, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Ed : Larousse Bourdasse. Paris. P335.
- [8] Carillon, E., (2000). La phytothérapie face à l'évolution médicinale. Ed : phyto.10-15). I.2 Principes actifs des plantes médicinales :
- [9] *Toure* Daouda, Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'ivoire, Thèse de Doctorat, université Felix Houphouët-Boigny, 2014.
- [10] Benghanou M., La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger), 2012.
- [11] Sara Saouli taxonomies et principes actifs des plantes médicinales, mémoire de master Université Mohamed Boudiaf - M'sila, 2019.
- [12] Benattia. Z, Hellali A, Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des différents extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L, Mémoire de Master Académique, Université Mohamed Boudiaf - M'sila 2019.

- [13] M^{lle}.Benlahcene, M^{lle}.Seghir Moh, Etude de l'activité antibactérienne et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de Clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), Mémoire de Master Université de Khemis Miliana, 2017.
- [14] Beddiar Hatem, Etude de *Juniperus phoenicea* de la région de Tébessa : composition chimique, activités antioxydantes et activités microbiologiques, Mémoire de Master, Université Larbi Tébessi-Tébessa 2016.
- [15] Amalou N., Caractérisation biologique et biochimique du Genévrier (*Juniperus phoenicea*) au niveau du Parc National de Gouraya à Bejaïa, Université A. Mira- Bejaia 2014.
- [16] Andrew Chevallier, Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soins, 2nd Edition 2001 Larousse / VUEF ISBN : 2-03-560252-1.
- [17] Professeur J. Vercauteren. Livre Plan, Formules et illustrations du cours UNCPF de pharmacognosie 2ème cycle des études de Pharmacie, Université Montpellier Laboratoire de Pharmacognosie 2012.
- [18] Hesas T., Simoud.S, Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* Sp, Mémoire de mastère Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou 2018.
- [19] François Couplan, les plantes et leurs noms. Histoire insolite, Quae 2012.
- [20] Michèle K., Institute For Forest, Snow And Landscape Research WSL Gèneveux Genévrier un arbre de vie aux multiples visages Article January 2006.
- [21] *Menaceur Fouad*, Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigéron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier, Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach - Alger 2015.
- [22] André Bitsas, Aromathérapie corps et âme-Edition Amyris (6 mars 2009) France.
- [23] Nadia FEKIH, Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie, thèse de doctorat de l'université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen 2014.
- [24] Florence Mayer, Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite, Thèse doctorat, Université de Lorraine 2012.
- [25] Yaacoub R., Tlidjane I., Caractérisation Physico-Chimiques Et Analyses Biologiques de l'huile Essentielle des Grains de *Cuminum Cyminum* L. Et De *Foeniculum Vulgare* Mill. Extraite Par Hydrodistillation Et Co2 Supercritique : Etude Comparative, Mémoire Master, Université Larbi Ben m'hidi Oum El Bouaghi 2018.
- [26] O. Chouitah., Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*, Université d'Oran 2012

- [27] Melle. CHEMLOUL F., Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen, Mémoire de Mastère, université Abou Beker Belkaid Tlemcen Algérie, 2014.
- [28] ZERAIB Azzedine, Etude phytochimique et chimiosystématique de *Juniperus thurifera* L. en Algérie, Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1 2016.
- [29] Brunton J. Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris
- [30] Jammaledine M. Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas Mémoire de Mastère, Université sidi Mohammed ben abdellah Fès, 2010.
- [31] loi 85-5 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé
- [32] Benayad N., Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse Thèse, Université Mohammed V, 2013.
- [33] Nabil Bousbia, Extraction Des Huiles Essentielles riches en Anti-Oxydants à Partir de Produits Naturels et de Co-Produits Agroalimentaires, Thèse doctorat en Co-Tutelle, Université d'Avignon Et des Pays de Vaucluse & E. N. S. A (Alger), 2011.
- [34] M. Bouguerra Ali, Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine 2012.
- [35] Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moy M.L., Troncoso A.M., Garcia-Parrilla M.C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 2007.
- [36] Leclerc H., Gaillard J-L, Simonet M., Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, Doin Editeur, Paris, 1995, p.506
- [37] Bouchekrit Moufida, Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae *elaeoselinum asclepium* (L.) bertol. Et *margotia gummifera* (desf.) lange, Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif, 2018.
- [38] Alawa C.B.I., Adamu A.M., Gefu J.O., Ajanusi O.J., Abdu P.A., Chiezey N.P., Alawa J.N., Bawman D.D., In vitro screening of two Nigerian medicinal plants, *Vernonia amygdalina* and *Annonasenegalensis*, for anthelmintic activity. Elsevier Science, 2003.
- [39] Kachel L, Sahmi A., Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des fruits de *coriandrum sativum* L, Mémoire de Master université UMMTO, 2016.
- [40] Chaker El Kalamouni, Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes

- [41] Porter N. Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39(2001)
- [42] kesbi Amrane., Etude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla Mémoire de Master en Génie des Procédés Université Kasdi Marbah Ouargla, 2011.
- [43] Bouanane N., Boussehel N., contribution agroécologique aux essais d'introduction de la menthe poivrée (menthe piperata L) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation de ses huiles essentielles en thérapie ; mém Ing.Univ. Ouargla 2005- p22-23 ; 28.
- [44] Bowles B.L., Sackitey S.K., Williams A.C., 1995. Inhibitory effects of flavour compounds on *Staphylococcus aureus* WRRC B124. L Food Saf., vol. 15, p.p.337-347.
- [45] N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Hamdi, M. M. Chaabouni, R. Ben Aissa, S. Zgoulli, P. Thonart, A.Carlier, M. Marlier, G.C. Lognay. J. Essent. OilRes., 2005, 17, 584.
- [46] Drider.N, Kada.F Etude des activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles de *salvia officinalis*, *juniperus phoenicea* et *mentha pulegium* Université Akli Mohand Oulhadj Bouira 2019.
- [47] Dob Tahar, Dahmane Dahmane, Chelghoum Chaabane. Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria, The Journal of essential oil research, 2008, 20(1) : 15-20.
- [48] IL. Messaoud, L. Takia, S. Hafsa, Z. Azzedine, C.Pierre, F.Gilles, M. Bouchaala and Z. Samra. Antibacterial Activity of Essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria, JApp Pharm Sci., 2013, 3 (11): 022-028.
- [49] P. A. Robert, A. F. Barrero and A. Lara. Comparisons of the Leaf Essential Oils of *Juniperus phoenicea*. J. Essent. Oil Res., 1996, 8, 367- 371.
- [50] SA. El-Sawi, HM. Motawae, MA. Amal. Chemical Composition, Cytotoxic Activity and Antimicrobial Activity of Essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea*, Grown in Egypt. African J. of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2007, 4(4) : 417- 426.
- [51] K. Mazari, N. Bendinerad, C. Benkhechi, X. Fernandez. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil Isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*, Medicinal Plants Research, 2010, 4(10) : 959-964.
- [52] E. Derwich, Z. Benziane, R. Taouil, O. Senhadji, MA. Touzani. Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus*, Middl-East J. Res, 2010, 5(5) : 416-424

[53] M. Nazik, S. Badr, G. Mohamed, E.G. Lahseu et A. Abderrahmau. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Junzperus phoenicea* ssp. *ttubinata* du Maroc, *Biotechnot Agron. Soc. Environ*, 2011, 15(3) : 415-424.

[54] C. Roger. *Phoenician Juniper, cones and seeds*. MHNT, 2015.

[55] N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Ben Halima, MM. Chaabouni. Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*, *Société Chimique de Tunisie*, 2008, 10 : 119-125.

Chapitre 1 : Les différentes sources d'énergie

Trois lignes doivent être laissées, entre le titre du chapitre et le premier paragraphe du chapitre. Une petite introduction du chapitre peut figurer au début de chaque chapitre, elle ne doit pas dépasser une demi-page.

1.1. Source d'énergie :

La numérotation des titres et sous titres dans un chapitre, doit être en 14 gras, elle doit comporter le numéro du chapitre et le numéro du titre ou le sous titre ;

1.1.1. Energies fossiles :

1.1.2.

Une ligne doit être laissée entre le dernier paragraphe du titre précédent et le titre suivant

1.2.

les équations doivent être centrée au milieu :

$$\Delta E = m.c^2 \text{ (Eq. 1.1)}$$

Les figures doivent avoir une légende qui contient une brève et suffisante description de la figure.

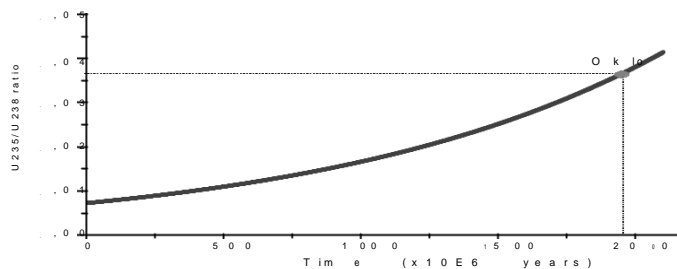


Figure 1.1. L'évolution de la composition isotopique de l'uranium en fonction du temps

Les tableaux également doivent être numérotés aussi

Tableau 1.1. Composition chimique du minerai riche en uranium

Chapitre 2 : L'Énergie Nucléaire

Trois lignes doivent être laissées, entre le titre du chapitre et le premier paragraphe du chapitre. Une petite introduction du chapitre peut figurer au début de chaque chapitre, elle ne doit pas dépasser une demi-page.

2.1. Source d'énergie :

La numérotation des titres et sous titres dans un chapitre, doit être en 14 gras, elle doit comporter le numéro du chapitre et le numéro du titre ou le sous titre ;

2.1.1.Énergies fossiles :

2.1.2.

Une ligne doit être laissée entre le dernier paragraphe du titre précédent et le titre suivant

2.2.

les équations doivent être centrée au milieu :

$$\Delta E = m.c^2 \text{ (Eq. 2.1)}$$

Les figures doivent avoir une légende qui contient une brève et suffisante description de la figure.

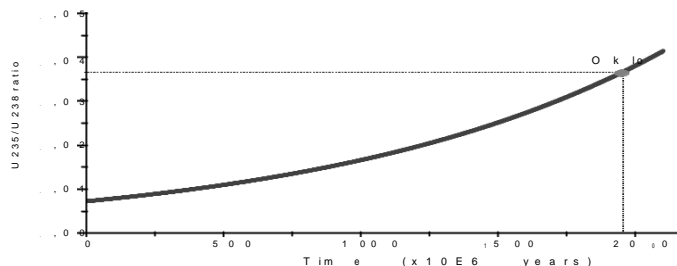


Figure 2.1. L'évolution de la composition isotopique de l'uranium en fonction du temps

Conclusion finale et recommandations.....

Dans cette partie, une conclusion de une à trois pages est requise.

Annexe 1

Dans cette section, une ou plusieurs annexes peuvent être attachées au documents,

Références bibliographiques

[1] A. Roger, « Energie Nucléaire », Edition Eyrolles, (2009)

[2]

Liste des tableaux.....

Liste des figures.....

Liste des symboles et Abréviations.....