

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Djilali bounaama de

Khemis Miliana



Faculté des sciences et de la technologie

Département des sciences de la matière

Mémoire du Projet de Fin d'Etudes

Pour l'obtention de diplôme

Master

En chimie

Option : chimie pharmaceutique et substances naturelles

THÈME

Etude de l'extraction et de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Allium sativum L.* de la région Djendel (Ain-defla)

Réalisé par :

- Touait Ahlem
- Bouitna Nadjia

Encadré par :

- Pr .M.Brada

Année Universitaire 2014/2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

« فلينظر

الإنسان إلى طعامه »

صدق الله العظيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"فادع لنا ربك يخرج لنا مما تنبت الأرض

من بقلها و قثائها و فومها وعدسها و

بصلها" "

صدق الله العظيم

Dédicace

*Je dédie le fruit de mon modeste effort à tous ceux qui m'ont aidé
dans la réalisation de ce travail en citant en particulier*

Je dédie cette mémoire

A ma mère, à ma mère, à ma mère et à mon père

A mes sœurs : Wahiba, CHahrazad, Fatima

A mes frères ; Salah, Abdearazake , Yacine, Ismail

A mon cousine, sabrina

A mes amies

A tous mes familles.

A tout la promotion 2014-2015

CPSN.GPH

.....Ahlam

Dédicace

Avec l'aide de ALLAH le tout puissant j'ai achevé ce modeste travail que je le dédie à :

Les personnes les plus chères au monde mes parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les Meilleures conditions et qui m'ont appris a ne jamais les aides.

Mes très chères sœurs et mes très chers frères.

ma sœur et sa filles Baraà et mierasdj .

Mes cousins et cousine et toute la familles Bouitna et Mokadame.

Mes amis (zahra ;fatima ; amina ; djamila ; souad ;

fatiha ;djazia ;djawhar ;nassira ;bakhta ;siham ;kadra ;

Ma cher binome ahlem et sa famille.

A tous mes collègues et mes amis de la promotion.

A tous ceux que j'aime.

.....Nadjia

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier temps dieu le tout puissant qui nous a donné la force, la sante et le pouvoir pour établir ce mémoire

فاللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك

Nos vifs remerciements à notre encadreur le Pr. BRADA MOUSSA. De nos avoir accepté de diriger ce travail

Nous remercions aussi mes dames et messieurs les membres de jury L'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner notre travail

Les enseignants Mr.Mekhaneg.B, Mr. Larbi Bouamrane.O, Mr.Halal.A, Mr. Touafri.A, Mr.Hachama.K, Dr.Gazala, Mlle.Boudergua, Madame Meslli et tous qui m'ont aide de près ou loin Pendant toutes mes années d'études
Mr. ELBAA.M. Chef de département des sciences de la matière et nos collègues
Lamia et aicha

L'ensemble du personnel du laboratoire de génie procédé et Mes amie surtout
AICHA, NOURA, SOUMIA, WIDAD, AMINA

Nous ne terminerai pas sans remercier madame Boussaha et Harrawi nassira ainsi que tous ceux qui nous ont Apporté L'aide de près ou de loin afin d'accomplir au mieux ce travail

:

في إطار تـمـيـن النـبـاتـات العـطـريـة في الشـمـال الجـزائـري قـمنا من خـلال هـذا العـمـل بـدراـسـة اسـتخـراج الزـيـوت الطـيارـة لنبـتـة الثـوم ودراسـة التـأثير النـوعـي و الكـمي لبعـض العـوامـل عـلى المـردود لـزبـوت الطـيارـة (طـريـقـة الاسـتخـراج حـالـة النـبتـة و فـتـرة القـطف) وكـذالك دراسـة الخـواص الفـيزيوكـيميائـية المـكونـات الكـيميائـية و الفـعاليـة المـضادـة للـبكتـيريا و الأوكسـدة للزيت المستخلص.

من النـتـائـج المـتـحصـل عـليـها نـذـكـر ماـيلي :

- مـردود المـتـحصـل عـليـه من اسـتخـلاص زبـوت رؤوس نـبتـة الثـوم الجـافـة عن طـريـقـة التـقـطـير المـائـي يـقـدر بـ0.41% و عن طـريـقـة التـحـريـض الكـهرومـغناطـيسـي بـ0.07%.

-دراسـة المـكونـات الكـيميائـية للزيت الطيار التي تمت عن طريق عملية كروماتوغرافيا الغازية-مطيافية الكتلة سمحت لنا بتحديد 13عنصر حيث يعتبر دألبل تريسولفيد (27.6%) و دألبل ديسولفيد (27.5%) هما المكونان الأساسيان.

-الزيت المستخلص ظهر وجود نشاط عالي ضد الأوكسدة باستعمال طريقة الإرجاع DPPH (84.23%) ومتوسط باستعمال طريقة إرجاع الحديد الثلاثي مقارنة مع مركب مرجعي فيتامين C .

-طريقة غوماتورام بينت أن الزيت الطيار لنبتة الثوم له تأثير على نمو اثنين من السلالات البكتيرية (المكورات العنقدية و الاشريكية القولونية)

الكلمات المفتاحية : النبتات الطبية الزبوت الطيارة الثوم المكونات الكيميائية الفعالية المضادة للأوكسدة والبكتيريا.

Résumé :

Dans le cadre de la valorisation des plantes algériennes, notre travail consiste à mettre en évidence l'extraction des huiles essentielles *d'Allium sativum*, leur caractérisation et l'influence qualitative et quantitative de certains paramètres sur le rendement en huiles essentielles (méthode d'extraction, l'état de plante et la période de récolte). Aussi, l'étude des propriétés physicochimiques, la composition chimique, l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile extraite ont fait part de cette étude. Les résultats obtenus montrent que le rendement obtenu de l'huile essentielle du bulbe de l'ail sec est de 0.41% par hydrodistillation et 0.07% par induction électromagnétique.

La composition chimique de l'huile essentielle extraite des bulbes *d'Allium sativum* a été étudiée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS); treize composés ont été identifiés dont les constituants majoritaires sont: diallyl trisulfide (27.6 %), diallyl disulfide (27.5%).

L'étude du pouvoir antioxydant de huile essentielle, par la méthode du DPPH•, a montré l'existence d'une forte activité antioxydante (84.23%) et moyenne par la méthode de réduction du fer comparé avec de standard vitamine C. Le test de l'aromatogramme a montré que l'huile essentielle de l'ail présente une activité variable vis -à- vis de deux souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*).

Mots clés: Plantes médicinales, huile essentielle, composition chimique, *Allium sativum*, activité antibactérienne, activité antioxydant.

Abstract:

As part of the development of medicinal aromatic plants in the north of Algeria, we are interested in this work to highlight the extraction of essential oils *Allium sativum* and their characterization. The qualitative and quantitative impact of certain parameters on the yield of essential oil (method of extraction, state of the plant, and period of the harvest)

The study the physico-chemical properties, the chemical composition and its antibacterial activity and antioxidant of the extract oil are done in this study

According to the results obtained we found that:

the yield of essential oils extracted is 0.41% by steam distillation of Clevenger type and 0.07% by electromagnetic induction.

The chemical composition of essential oil extracted from *Allium sativum* bulbs was studied by gas chromatography coupled with mass spectrometry; 13 (thirteen) compounds have been identified whose major constituents are: diallyl trisulfide (27.6%) diallyl disulfide (27.5%).

The study of the essential oil of antioxidant power by DPPH • method showed the existence of a strong antioxidant activity (84.23%) and average reduction method of iron compared with standard vitamin C.

The test chromatogram shows that the essential oil of the garlic has a variable activity against two bacterial strains tested (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*).

Key words: Medicinal plants, essential oil, chemical composition, *Allium sativum*, antibacterial activity, antioxidant activity.

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Différentes appellation de l'ail en plusieurs langues..... 25

Tableau I.2 : classification botanique de l'espèce *d'Allium sativum*..... 25

Tableau I.3 : Composition nutritifs de l'ail (*Allium sativum*) frais en g /100g..... 28

Tableau I.4:Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail..... 29

Tableau I.5:Statistiques de production d'ail dans le monde en 2007 37

Tableau II.1 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Allium sativum* de skikda, obtenue par l'hydrodistillation..... 38

Tableaux II.2. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Allium sativum* origine d'Egypte. Obtenue par l'hydrodistillation..... 40

Tableau II.3 : Composition chimique d'*Allium staviium L.* dans le monde..... 41

Tableau II.4 : Exemple de rendements obtenus en huile essentielle extraite des gousses de l'ail dans différents pays..... 41

Tableau II.5: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) d'EE et HE *d'Allium sativum*..... 43

Tableau II.6. : Diamètres (mm) des zones d'inhibition des jus de l'ail sur déférent souche bactériennes..... 44

Tableau II.7 : la valeur de CI50 par le test DPPH d'EE et HE de l'ail..... 45

Tableau II.8 :Pourcentage d'inhibition de DPPH par HE de l'ail et BHT..... 46

Tableau II.9 : Absorbance de déférentes concentrations d'HE et BHT (FRAP)..... 46

Tableau III.1:Situation géographique de la région de la récolte.....49

Tableau III.2:Conditions opératoires de l'extraction des HE par HD.....53

Tableau III.3 : conditions opératoire de l'extraction des HE par IEM.....55

TableauIV .1 : Teneur en humidité *d'ALLIUM SATIVUM* (gousses) en fonction de temps..... 63

Tableau IV.2 : Teneur en humidité *d'ALLIUM SATIVUM* (Feuille) en fonction de temps..... 63

Tableau IV.3 : Evolution du rendement des HE *d'ALLIUM SATIVUM* (gousses) fraiche récolté au mois de juillet 2014 en fonction de temps..... 64

TableauIV .4 : Evolution du rendement des HE *d'Allium Sativum* sèche récolté au mois de juillet 2014 en fonction de temps 64

TableauIV .5 : Evolution du rendement des HE *d'ALLIUM SATIVUM* gousse fraiche récolté durant les mois de juillet, d'avril et mais en fonction de temps..... 68

TableauIV .6 : Évolution du rendement d'extraction des HE de la gousse sèche *d'Allium sativum* par IEM en fonction du temps..... 69

TableauIV.7:Caractéristiques organoleptiques de l'HE de l'ail.....70

TableauIV .8: Caractéristiques physico-chimiques des HE de l'ail.....70

Tableau IV.9 : Composition chimique des HE *d'Allium sativum* L.....72

Tableau IV.10 : Absorbance de déférentes concentrations de HE et vit C (FRAP)..... 77

TableauIV .11 : la valeur d'IC50 par le test DPPH de l'ail et L'antioxydant de références (vit c)..... 78

Tableau IV.12 : la valeur des diamètres de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition d'HE pur vis-vis des souches testées.....79

Tableau IV.13 : la valeur des diamètres de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition des dilutions d'HE de l'ail vis-vis des souches testées 80

Tableau IV.14. Concentration minimales inhibitrice (CMI) d'HE *d'A.sativum*.....81

Listes des figures

| | |
|--|----|
| Figure I.1 : l'ail (<i>Allium sativum</i>) | 23 |
| Figure I.2: la Structure chimique des principaux composés soufrés identifiés dans HE d' <i>Allium sativum</i> | 30 |
| Figure II.1: Distribution en pourcentage des différents composants de l'huile essentielle d' <i>Allium sativum</i> de skikda..... | 39 |
| Figure II.2 : L'activité antioxydant d'EE et HE d' <i>Allium sativum</i> par La méthode DPPH..... | 46 |
| Figure II.3 : Effets de la dose d'HE et BHT sur le taux de piégeage du DPPH..... | 47 |
| Figure II.4 : Pouvoir réducteur d'huiles essentielle et BHT..... | 47 |
| Figure III.1: Préparation du matériel végétal..... | 50 |
| Figure III.2 : Montage de l'hydrodistillation..... | 52 |
| Figure III.3 Montage de l'extraction assisté par induction électromagnétique..... | 54 |
| Figure III.4 : Préparation des dilutions de l'huile essentielles..... | 57 |
| Figure III.5 : Ensemencement par écouvillon..... | 60 |
| Figure III.6: Schématisation de la technique de dilution des huiles essentielles..... | 62 |
| Figure IV.1 : Taux d'humidité de la matière végétale (gousse et feuille) de l'ail..... | 64 |
| Figure IV. 2 : Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses de l'ail fraiche au moins de juillet 2014 HD..... | 65 |
| Figure IV.3 : Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses de l'ail sec durant le moins de juillet 2014 par HD..... | 66 |
| Figure IV .4: le rendement des HE de l'ail sec et frais..... | 67 |

Figure IV .5 : Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses de l'ail fraiche durant les mois de juillet 2014, d'avril et mais 2015 par HD..... 68

Figure IV.6: Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses de l'ail sèche durant le mois de juillet 2014 par IEM 69

Figure IV.7 : Distribution en pourcentage des déférents constituent de l'huile essentielle extrait des bulbes *Allium sativum L*.....73

Figure IV.8 : Chromatogramme de la composition chimique de l'HE des bulbes d'*Allium sativum* obtenu par HD de la région d'Ain-defla..... 74

Figure IV.9:L'activité antioxydant de l'huile essentielle de l'ail et la vitamine c..... 75

Figure IV.10 : Structure de DPPH• et mécanisme de sa réduction par un antioxydant..... 76

Figure IV. 11 : Représentation schématique de la valeur CI50 de l'ail et vit c.....76

Figure IV .12 : L'activité antioxydant d'HE et vit C par la méthode de pouvoir réducteur..... 77

Figure IV .13: Représentation schématique de la valeur CE50 de l'ail et vit c.....78

Figure IV .14: Effet antibactérienne d'huile essentielle de l'*Allium sativum L* pur sur les souches testée.....80

Figure IV. 15 : Effet antibactérienne de la déférente dilution de d'huile essentielle de l'*Allium sativum L* sur les souches testée..... 81

Liste des abréviations

Abs : absorbance

ATCC = American Type Culture Collection

BHT : Butylhydroxytoluène

CMI : concentration minimale inhibitrice

CI50 : concentration inhibitrice à 50%

cm/sec : centimètre/second

GC/ SM: Chromatographie en phase gazeuse/ Spectre de masse

DPPH : Diphenylpicrylhydrazine

DPPH⁺ : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

DMSO : dimethyl sulphoxide

DADS : Diallyl disulfide

DAT : Diallyl trisulfide

DATS : Diallyl tetrasulfide

DAS : Diallyl sulfide

EO : Essentielle oil

EE : extrait éthanolique

EVE : entrainement à la vapeur d'eau.

eV : électronvolt

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

g/L : gramme / litre

g: gramme

H (%) : taux d'humidité

HCl : Acide chlorhydrique

HD : Hydrodistillation.

HE : Huile essentielle.

HI: huile infusée

HDL : High Density Lipoproteins (Lipoprotéine de haute densité).

IEM : induction électromagnétique

IR : Infrarouge

I₂₀ : Indice de réfraction à 20 degré Celsius

IA: Indice d'acide

IE: Indice d'ester

LDL : Low Density Lipoproteins (Lipoprotéine de faible densité).

l : litre.

mg : milligramme

M_{HE} : Masse en huile essentielle

MH: Muller-Hinton

ME : méthode d'extraction.

M_h : Poids de l'échantillon humide (g).

M_s : Poids de l'échantillon sec(g).

min : minute.

ml : millilitre.

mg/ml : milligramme par millilitre.

mol/L : mole/Litre

ml/min : millilitre/minute

M_v : Matière végétale

NCTC : National Collection of Type Cultures

nm: nanomètre

pH: Potentiel d'Hydrogène.

PR : Pouvoir de réduction

RHE : Rendement en Huile Essentielle

R• : Radical libre

TCA : Acide trichlorure acétique

TR : Temps de rétention

UV : Ultra Violet

% : Pourcentage.

µl : microlitre

µg/ml : microgramme / millilitre

°C : degré Celsius.

°C/min : Degré Celsius/minute

*Plan de
Travail*

Table de matière

RESUME

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

TABLE DE MATIERE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Chapitre I : Matière végétale : *Allium sativum*

| | |
|--|----|
| I.1. Introduction..... | 21 |
| I.2 .La famille des Alliaceae..... | 21 |
| I.3. L'espèce sativum..... | 22 |
| I.4. présentation de la plante | 22 |
| I.4.1. Historique | 24 |
| I.4. 2. Étymologie..... | 24 |
| I.4.3. Noms vernaculaires..... | 24 |
| I.4.4. Classification botanique..... | 25 |
| I.4.5. Aire géographique..... | 26 |
| I.4.6. Description botanique..... | 26 |
| I.4.7. Différent Variétés de l'ail..... | 27 |
| I.4.8. Composition nutritifs de l'ail..... | 27 |
| I.4.9. Composition chimique de l'ail..... | 28 |
| I.4.9.1. Huiles essentielles..... | 28 |
| I.4.9.2. Historique de l'huile essentielle de l'ail..... | 28 |
| I.4.10. Le chémotype..... | 31 |
| I.4.11. Utilisations et propriétés..... | 31 |
| I.4.11.1. Propriétés antimicrobiennes..... | 31 |
| I.4.11.2. Activité antivirale..... | 32 |
| I.4.11.3. Propriétés antioxydants..... | 32 |

| | |
|--|----|
| I.4.11.4. Propriétés anti-inflammatoires..... | 32 |
| I.4.11.5. Inhibition de l'agrégation plaquettaire..... | 33 |
| I.4.11.6. Propriétés hypocholestérolémiantes, diminution du taux de lipides sanguins et de l'athérosclérose..... | 33 |
| I.4.11.7. Propriétés préventives vis-à-vis du cancer | 34 |
| I.4.11.8. Action hypoglycémiant..... | 34 |
| I.4.11.9. Action antihypertension..... | 34 |
| I.4.11.10. L'activité hypolipémies..... | 35 |
| I.4.11.11. Propriétés cardiovasculaires..... | 35 |
| I.5. Toxicologie..... | 35 |
| I.6. l'activité biologique | 36 |
| I.7. Répartition de la production d'ail | 36 |
| I.7.1. Répartition dans le monde | 36 |
| I.7.1.1. Principales régions de culture..... | 36 |
| I.7.1.2 Principaux pays importateurs..... | 37 |

Chapitre II : Les Travaux antérieurs.

| | |
|--|----|
| II.1. Introduction..... | 38 |
| II.2. Composition chimique des huiles essentielles de l'ail..... | 38 |
| II.2.1. La composition chimique de H.E de l'ail algérien (skikda)..... | 38 |
| II.2.2. La composition chimique de H.E de l'ail d'Egypte..... | 39 |
| II.2.3. Les diverses huiles essentielles de l'ail dans le monde..... | 40 |
| II.3. L'activité biologique :..... | 42 |
| II.3.1. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail algérien (skikda) | 42 |
| II.3.1.1. Méthode de diffusion en disque (l'aromatogramme)..... | 42 |

| | |
|---|----|
| II.3.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution | 42 |
| II.3.2. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle et extrait éthanœique de l'ail tunisien | 43 |
| II.3.2.1. Méthode de diffusion en disque (l'aromatogramme)..... | 43 |
| II.3.3. L'activité antibactérienne de l'huile infusée et jus de l'ail (l'aromatogramme).. | 44 |
| II.3.3.1. L'activité antibactérienne de l'extrait frais de l'ail (jus)..... | 44 |
| II.3.3.2. L'activité antibactérienne de l'huile infusée de l'ail..... | 45 |
| II.3.2.3. Concentrations Minimales Inhibitrices d'huile infusée de l'ail | 45 |
| II.3.4. L'activité antioxydant de l'huile essentielle et extrait éthanœique de l'ail tunisien..... | 45 |
| II.3.5. L'activité antioxydant de l'huile essentielle de l'ail d'Inde..... | 46 |

Chapitre III : Matériels et méthodes

| | |
|--|----|
| III.1. Introduction | 49 |
| III.2. Extraction des huiles essentielles d' <i>Allium sativum</i> | 49 |
| III.2.1. Zones d'étude..... | 49 |
| III.2.2. Matériels :..... | 50 |
| III.2.2.1. Matériels biologique | 50 |
| III.2.2.1.1. Bulbes d' <i>Allium sativum</i> | 50 |
| III.2.2.1.2. Souches bactériennes..... | 50 |
| III.2.2.2. Matériel de laboratoire..... | 50 |
| III.3. Détermination du taux d'humidité..... | 51 |
| III.4. Calcul du rendement..... | 51 |
| III.5. Méthodes d'extraction..... | 51 |
| III.5.1. Extraction par hydrodistillation..... | 51 |
| III.5.2. Extraction assisté par l'induction électromagnétique..... | 53 |

| | |
|--|----|
| III.6. Caractéristiques des huiles essentielles..... | 55 |
| III.7. Analyse chromatographiques des huiles essentielles extraites..... | 55 |
| III.7.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse (GC/MS)..... | 55 |
| III.8. Evaluation de l'activité biologique..... | 56 |
| III.8.1. Evaluation de l'activité antioxydant..... | 56 |
| III.8.1.1. Méthode du DPPH..... | 56 |
| III.8.1.2. Méthode de FRAP | 57 |
| III.8.2. Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 58 |
| III.8.2.1. Evaluation qualitative de l'activité antimicrobienne | 59 |
| III.8.2.1.1. Méthode de diffusion en milieu gélosé (L'Aromatogramme) | 59 |
| III.8.2.2. Evaluation quantitative de l'activité antimicrobienne | 61 |

Chapitre IV : Résultats et discussion.

| | |
|--|----|
| IV.1. Introduction..... | 63 |
| IV.2. Matière végétale..... | 63 |
| IV.2.1. Détermination de taux d'humidité..... | 63 |
| IV.2.2. Extraction des HE <i>d'Allium sativum</i> par HD :..... | 64 |
| IV.2.2.1. Détermination de rendement :..... | 64 |
| IV.2.2.1.1. Etude cinétique de l'extraction des HE <i>d'Allium sativum</i> (gousse) fraîche | 64 |
| IV.2.2.1.2. Etude cinétique de l'extraction des HE <i>d'Allium Sativum</i> sec..... | 66 |
| IV.2.2.1.3. Variation du rendement en HE de l'ail (gousse) sèche et fraîche .67 | 67 |
| IV.2.2.2. Variation du rendement en fonction de la période de récolte | 67 |
| IV.2.2.2.1. Etude cinétique de l'extraction des HE <i>d'Allium sativum</i> (gousse) fraîche durant les moins de juillet 2014, d'avril et mai 2015..... | 67 |
| IV.2.3. Etude de l'extraction des HE <i>d'Allium sativum</i> par IEM..... | 69 |
| IV.2.3.1. Etude cinétique de l'extraction des HE <i>d'Allium sativum</i> (gousse) sec par IEM..... | 69 |

| | |
|--|----|
| IV.3. Caractérisation et analyse de l'huile essentielle obtenue | 70 |
| IV.3.1. Caractéristiques organoleptiques..... | 70 |
| IV.3.2. Les propriétés physicochimiques des HE..... | 70 |
| IV.3.3. Analyse chromatographiques..... | 72 |
| IV.4. Etude de l'activité antioxydante..... | 75 |
| IV.4.1. Méthode du DPPH..... | 75 |
| IV.4.2. Méthode de FRAP (pouvoir réducteur)..... | 77 |
| IV.5. Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 78 |
| IV.5.1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne..... | 79 |
| IV.5.2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne d'HE de l'ail..... | 80 |

Conclusion général

Références bibliographiques

Annexes

Glossaire

Introduction Générale

Introduction générale :

Les utilisations très vastes des plantes médicinales depuis des siècles par l'homme pour traiter les différentes pathologies courantes ont poussé les chercheurs à étudier les activités pharmacologiques des différents métabolites végétaux pour confirmer ses propriétés thérapeutiques d'une part et d'autre part pour identifier les principes actifs à l'origine de ces vertus et par conséquent l'usage de ces médicaments naturels à bon escient dans les systèmes de soins primaires. Certaines plantes peuvent constituer une source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires, ces derniers font et restent l'objet de nombreuses recherches in vitro comme in vivo notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides, les alcaloïdes et les huiles essentielles [1].

En Algérie, l'ail (*Allium sativum*L.) est une légume cultivée depuis des milliers d'années pour une utilisation alimentaire que médicinale; elle est largement cultivée (avec une superficie de 9 055 ha) et consommée en Algérie où la production est de 77 648 tonnes et le rendement atteint 8,57 t/ha en 2012 [2]. Dans le but de continuer à exploiter les plantes poussant en Algérie et réputée pour leurs vertus médicinales que représentent les alliées (Liliaceae), nous nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de l'ail "*Allium sativum* L." provenant de la région de la wilaya d'Ain-Defla.

L'ail (*Allium sativum* L.) est une plante aromatique bulbeuse riche en composés soufrés; elle est cultivée et utilisée comme condiment et parfois comme agent thérapeutique. La qualité de l'ail est évaluée par ses caractéristiques sensorielles, principalement la couleur et l'intensité de la saveur [3].

Notre travail a été subdivisé en cinq étapes:

- La première étape correspondant à l'extraction des huiles essentielles à partir des gousses d'*Allium sativum* L. cultivée à Ain-Defla(Algérie).
- La deuxième étape consiste à l'étude de l'influence qualitative et quantitative de certains paramètres sur le rendement en huile essentielle (période de récolte, méthode d'extraction).
- La troisième étape correspondant à la caractérisation des huiles extraites.
- La quatrième étape consiste à évaluer le pouvoir antioxydant des huiles essentielles obtenues par deux méthodes :
 - DPPH ou (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

- FRAP (FerricReducingAntioxidant Power) ou le pouvoir réducteur.
- La dernière étape est réservée à l'évaluation de l'activité antimicrobienne et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Chapitre 1
La Matière Végétale :
Allium sativum L.



Chapitre I : La matière végétale : *Allium sativum L.*

I.1. Introduction :

L'ail (*Allium sativum L.*) est l'une des plus anciennes plantes qui a été utilisée depuis plus de 4000 ans comme condiment ou aliment ou en médecine. Ses propriétés antimicrobiennes et antiseptiques datent bien avant le début de l'histoire humaine [4]. Plusieurs auteurs (environ 7000 travaux publiés) se sont intéressés à l'étude des substances bioactives de cette plante et leur mode d'emploi. D'autres propriétés comme l'activité antitumorale, anti-inflammatoire, antioxydante, ont été attribuées à l'extrait d'ail et leur effet potentiel biologique a été extensivement examiné sur la santé humaine. Toutes les activités biologiques de l'ail, sont liées à la présence des composés organosulfurés et phénoliques [5].

I.2. La famille des Liliaceae :

La famille des Liliaceae compte environ 3000 espèces. Elles sont caractérisées par des feuilles à nervures souvent parallèles. Beaucoup d'espèces présentent des organes souterrains (bulbes, racines tubérisées...). D'autres espèces sont cultivées en horticulture comme le muguet, la tulipe, le lis... Depuis peu, certains botanistes classent le genre *Allium* dans une nouvelle famille : celle des Alliaceae. Tous les *Allium* sont des plantes produisant un ou des bulbes. Ils ne sont pas tous cultivés à des fins décoratives, mais souvent comme légume ou condiment [6].

Le genre *Allium* comprend de nombreuses autres espèces couramment employées dans l'alimentation, notamment l'échalote, l'oignon, le poireau, la ciboulette ou encore l'ail des ours. [7]

I.3. L'espèce sativum :

L'espèce *sativum* est divisée en deux sous-espèces, l'*ophioscorodon* (ail blanc ou commun) résistant au froid et *sativum* (ail rose) très aromatique et excellent pour la conservation sont les plus répandus [7].

I.4. Présentation de la plante :

Depuis l'antiquité, les populations ont connu une large utilisation des plantes médicinales, vu leurs propriétés efficaces à combattre les maladies. L'ail (*Allium sativum*) est une plante bulbeuse riche en composés soufrés; il est cultivé depuis plusieurs centaines d'années, et est utilisé comme condiment et parfois comme agent thérapeutique [8].

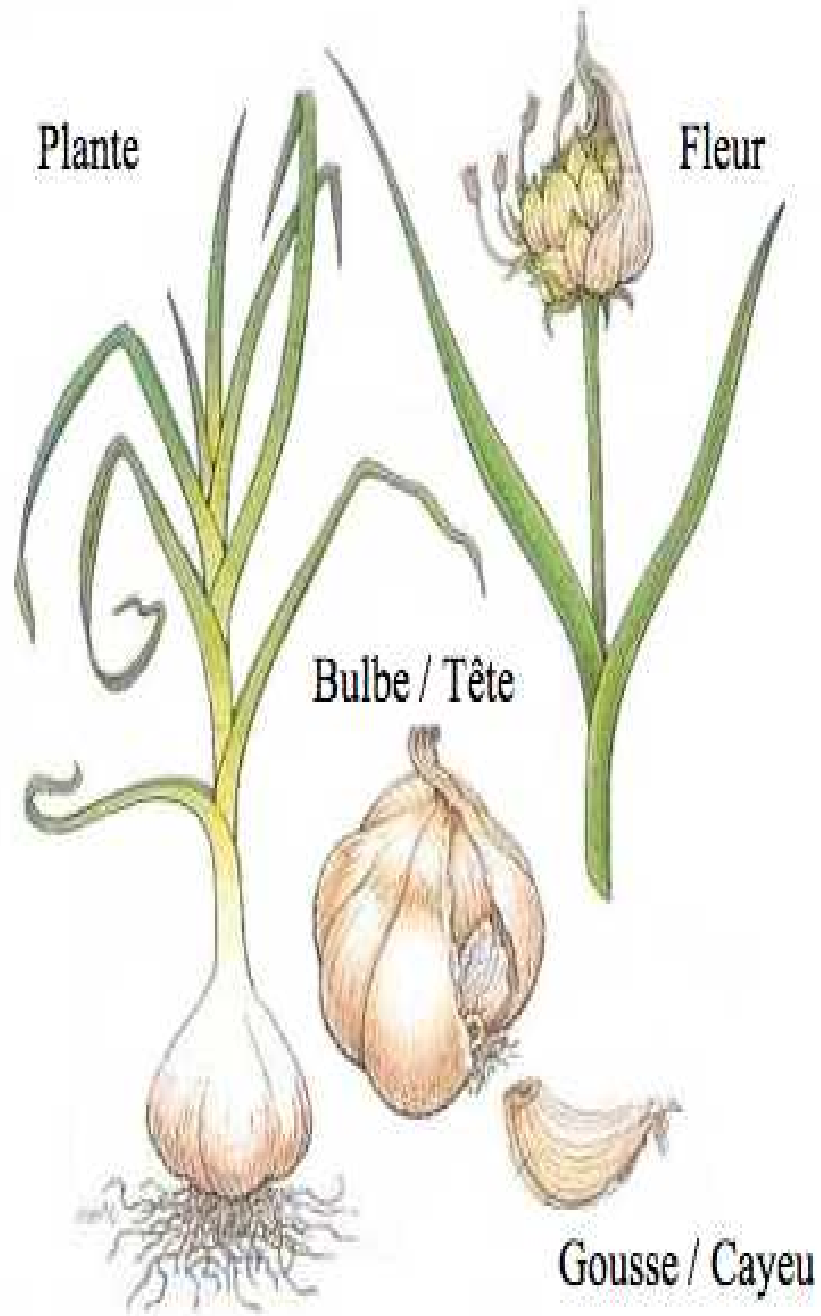


Figure I.1 : l'ail (*Allium sativum*) [7]

I.4.1. Historique :

Depuis l'Antiquité et au Moyen-âge, l'ail est employé comme condiment cru ou cuit. La culture de l'ail remonte à environ 6000 ans et a probablement débuté en Asie du sud-ouest. L'ail constitue ainsi l'une des plus anciennes plantes cultivées. Les constructeurs des pyramides consommaient beaucoup d'ail et l'avait élevé au rang de divinité! Les Hébreux l'introduisirent en Palestine. Les Grecs et les Romains en faisaient grand usage pour diminuer la fatigue et les Croisés le ramenèrent en France. Dans les temps anciens, on l'utilisait comme remède pour les désordres intestinaux, flatulences, les vers, les infections respiratoires, les maladies de la peau, les blessures et les symptômes de l'âge. Il a été également utilisé comme antiseptique contre diverses maladies (peste, choléra...), comme diurétique et vermifuge. Il a été employé dans le soin des blessures durant la deuxième guerre mondiale. De nos jours, il est employé comme antiseptique pulmonaire et intestinal, contre les oxyures et comme hypotenseur. Différentes formes sont utilisées: l'huile, les extraits, les poudres et les dragées. En homéopathie, il est utilisé sous forme de teinture de bulbe frais [9].

I.4.2. Étymologie :

Le nom commun "ail" et le nom botanique "*Allium*", viennent du mot celtique "*All*" qui signifie "*qui brûle*" [10].

I.4.3. Noms vernaculaires arabe :

THOUM,

Les différentes appellations de l'ail sont regroupées dans le tableau I.1.

Tableau I.1 : Différentes appellations de l’ail en plusieurs langues [11,12].

| LANGUE | APPELLATION |
|-----------|---|
| Arabe | Thoum |
| Française | Ail, ail cultivé, ail à tige tendre, thériaque des pauvres, ail de printemps, ail rose sans bâton |
| Anglaise | Garlic, common garlic |
| Espagnol | Ajo,ajo comun ,ajo vulgar |
| Allemand | Knoblauch,knobloch ,knobl,echter knoblauch, |
| Italien | Aglio, aglio comune |
| Portugais | Alho |

I.4.4. Classification botanique:

La classification botanique d’*Allium sativum* est récapitulée dans le tableau I.2

Tableau I.2 : Classification botanique de l’espèce *Allium sativum* [7].

| | |
|--------------------|-------------------------------------|
| Règne | Plantae |
| Sous- Règne | Tracheobionta = plantes vasculaires |
| Embranchement | Magnoliophyta= plantes à graines |
| Sous-embranchement | Magnoliophytina = plantes à fleurs |
| Classe | Liliopsida |
| Sous- Classe | Liliidae |
| Ordre | Liliales |
| Famille | Liliaceae ou Liliacées |
| Genre | <i>Allium</i> |
| Espèce | <i>Allium sativum L.</i> |

I.4.5. Aire géographique :

L'ail est originaire d'Asie Centrale, il passera ensuite en Egypte puis au le bassin méditerranéen. Aujourd'hui, sa culture est largement répandue en Europe. Il croît sans intervention humaine en France, en Espagne, en Egypte et en Algérie [13]. En Algérie, l'ail est très cultivés, les algériens le consomment et l'associent dans la composition et l'assaisonnement de nombreux plats. Aussi, les principales wilayas productrices d'ail sont : Biskra, Msila, Médéa, Boumerdes, Skikda, Batna, Tizi-Ouzou, Bejaia, Tlemcen, Guelma, Oum el Bouaghi et M'sila [14].

I.4.6. Description botanique :

L'ail cultivé, ou *Allium sativum L.*, est une plante monocotylédone, vivace, donnant des caïeux (gousses d'ail, bulbilles) appréciés dans le domaine culinaire pour leur goût et leur odeur caractéristiques. La figure I.1 représente la plante. La partie souterraine se compose d'un bulbe composé de nombreuses racines fibreuses. Le bulbe se prolonge à la surface en une tige entourée de feuilles engainantes, linéaires, planes et lisses, mesurant 1 à 2,5 cm de large et 30 à 60 cm de long. Les inflorescences sont des ombelles. De petites bulbilles sont produites dans Les inflorescences. Les fleurs sont variables en nombre et parfois absentes. Rarement ouvertes, elles peuvent se défraîchir dans le bourgeon. Les fleurs sont installées au bout de pédicelles minces et se composent d'un périanthe de 6 pièces d'environ 4-6 mm de long, rosâtre ou blanc, en cloche ; de 6 étamines ; et d'un ovaire supère triloculaire. Le fruit est une petite capsule à déhiscence loculicide. Les graines sont rarement produites. Les gousses rassemblent 12 à 16 bulbilles. Ces derniers ont un diamètre de 5 à 10 mm et sont composées d'une enveloppe externe, d'un épiderme renfermant un mésophylle non chlorophyllien ; de parenchyme et d'une assise de cellules épidermiques inférieures. [7]

I.4.7. Différentes variétés de l'ail :

Les cycles culturaux de l'ail sont sous la double dépendance du climat et de la variété.

*L'ail d'automne est cultivé de septembre à novembre, c'est de l'ail blanc ou violet qui est souvent plus précoce mais supporte moins bien le froid. Il produit très rarement des hampes florales. La récolte s'étale sur deux mois de mi-avril à mi-juin pour la récolte en frais et de mi-mai à mi-juillet pour la récolte en sec. Il se conserve jusqu'en décembre-janvier.

- ✓ Ail violet (Germidour, Valdour) ou blanc (Messidrome, Thermidrome, Therador) sans hampe florale.
- ✓ Ail violet ou blanc avec hampe florale (Primor).

*L'ail de printemps est planté entre décembre et janvier avec un mois en plus ou en moins selon les variétés et le climat et parfois même jusqu'au mois de mars. Lui aussi, il ne produit que très rarement des hampes florales. C'est de l'ail rose qui se récolte presque toujours en sec en juillet. Il se conserve jusqu'en mars-avril de l'année suivante [15,16].

- ✓ Ail rose à hampe florale (Goulurose, Iberose, Edenrose, Jardirose, Baltor).
- ✓ Ail rose sans hampe florale (Fructidor, Printanor, Moulinor, Cledor, Flavor).

I.4.8. Composition nutritifs de l'ail :

La gousse d'ail contient des polysaccharides de réserves (fructanes), des acides aminés, des enzymes (l'alliinase, la peroxydase et la catalase) ainsi que des composés soufrés responsables de la majorité de ses propriétés thérapeutiques. L'ail est riche en éléments minéraux: P, K, S, Zn, Ca, Cu, Mg et en oligo-éléments comme le sélénium et le germanium. Cette plante renferme aussi des vitamines A, B1, B2, PP et C et des acides gras essentiels (Vitamine F). Le tableau I.3 récapitule les principaux constituants de l'ail.

D'autres composants sont également identifiés, parmi lesquels : les saponines (- chlorogénine), les pigments phénoliques, les terpénoïdes, sapogénines, flavonols, flavonoïdes, les antibiotiques et les antioxydante [17].

Tableau I.3 : Composition nutritif d'*Allium sativum* frais en g /100g [18,19].

| Composant(g) | [18] | [19] | Minéraux (mg) | [18] | [19] | Vitamines (mg) | [18] | [19] |
|----------------------|------|-------|---------------|---------|------|---------------------------------|------|------|
| Eau | 63.7 | 64 | Minéraux | 1.42(g) | | C | 30 | 14 |
| Protéines | 7 | 6.05 | Na | 17 | | B12 | 1.2 | |
| Glucides disponibles | 24.5 | 28.41 | Mg | 21 | | Folates (µg) | 3 | |
| sucres | 2.4 | - | P | 134 | 136 | Proportion comestible/Déchets % | 87 | 12 |
| Amidon | 22.1 | - | K | 446 | | Energie STD (kcal) | 133 | 138 |
| Lipides | 3 | - | Ca | 38 | 38 | | | |
| Fibre | 0.5 | 0.12 | Fe | 1.4 | 1.40 | | | |

I.4.9. Composition chimique de l'ail :

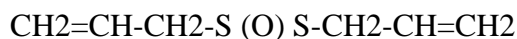
I.4.9.1. Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles, les essences ou les huiles volatiles sont des substances naturelles volatiles. Elles ont une composition chimique généralement assez complexe et sont caractérisées par une forte odeur et synthétisées par les plantes comme des métabolites secondaires [20-22].

I.4.9.2. Historique de l'huile essentielle de l'ail :

La chimie de l'ail est tout à fait complexe. Les études sur l'ail ont commencé en 1844 avec Wertheim qui a extrait et examiné l'huile essentielle puis il a établi le terme "allyl" pour le radical C_3H_5 . Son travail a été repris, continué et corrigé par Semmler en 1892 qui a publié plus de détails sur les constituants soufrés que contient l'huile de l'ail. Il a trouvé des di et trisulfures, dont le diallyl disulfure, comme constituant majeur, à la place du diallyl sulfure qu'a identifié Wertheim en 1844. En 1909, Rundqvist avance une théorie (plus tard réfutée) que le précurseur des disulfures était

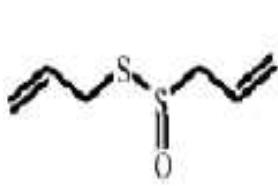
un glucoside qu'il a nommé "alliine" mais n'a pas pu l'isoler sous une forme pure. Les premiers exposés sur les propriétés physiques et la structure chimique du principal composé odorifiant et antibactérien de l'ail écrasé, étaient donnés par Cavallito et al. en 1944. Il a suggéré la structure suivante :



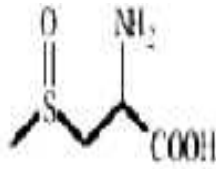
Et, il a introduit le terme "Allicine" pour ce composant. D'autres investigations par Stoll et Seebeck montraient que l'allicine est formée par une réaction enzymatique d'un amino acide, appelé "Alliine" . L'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur et sous pression, contient une variété de sulfures: diallyl disulfure (DADS), diallyl trisulfure (DATS)... Ses caractéristiques sont les suivantes: liquide claire, jaune pâle à rouge-orange, piquant, acide et odeur aromatique de l'ail. Les disulfures et les polysulfures sont moins volatils que les sulfures, mais possèdent une odeur plus offensive. Ils surviennent à travers des transformations secondaires provoquées par des enzymes de la plante et la chaleur de distillation [23].

Tableau I.4: Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail [23].

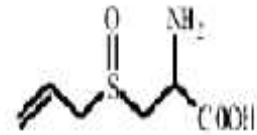
| Constituants | Concentrations (mg / g) | Pourcentages |
|-------------------------|-------------------------|--------------|
| D.A. disulfure | 530 ± 7 | 53.0 |
| Diallyl monosulfure | 106 ± 7 | 10.6 |
| D.A. trisulfure | 115 ± 4 | 11.5 |
| D.A. tetrasulfure | 43 ± 2 | 4.3 |
| D.A. pentasulfure | 10.5 ± 0.4 | 1.1 |
| D.A. hexasulfure | 0.14 ± 0.01 | 0.01 |
| Méthyle allyl disulfure | 44.1 ± 2 | 4.4 |
| M.A. trisulfure | 69.9 ± 2.2 | 7 |
| M.A. tetrasulfure | 24.6 ± 2.0 | 2.5 |
| M.A. pentasulfure | 6.3 ± 0.6 | 0.6 |
| M.A. hexasulfure | 1.5 ± 0.1 | 0.2 |
| Diméthyl trisulfure | 12.0 ± 1.3 | 1.2 |
| D.M. tetrasulfure | 4.3 ± 0.6 | 0.2 |
| D.M. pentasulfure | 2.0 ± 0.4 | 0.2 |



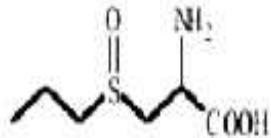
Diallyl Thiosulfinate (Allicine)



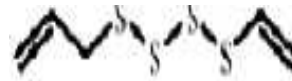
S-méthylcysteine sulfoxide



S-allylcysteine sulfoxide



S-propylcysteine sulfoxide



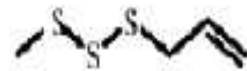
Diallyl tétrasulfures



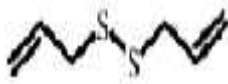
Dipropyl disulfures



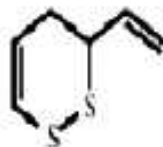
Diméthyl sulfures



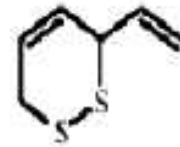
Méthyl allyl trisulfures



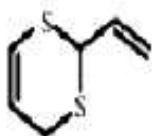
Diallyl sulfure



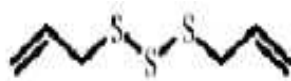
3-vinyl-4H-1,2-dithiin



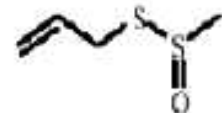
3-vinyl-6H-1,2-dithiin



2-vinyl-6H-1,3-dithiin



Diallyl trisulfures



Allyl méthyl thiosulfinate



Méthyl propyl disulfures

Figure I.2: la Structure chimique des principaux composés soufrés identifiés dans l'HE d'*Allium sativum* [24]

I.4.10. Le chémotype :

Il définit la molécule aromatique révélatrice des principales propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle. Une plante de même variété botanique peut produire des huiles essentielles de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat, son sol. Une huile essentielle peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes [25].

I.4.11. Utilisations et propriétés :

L'ail est d'abord utilisé en cuisine pour relever le goût des aliments, mais ses nombreuses propriétés thérapeutiques en font un complément alimentaire prisé. En effet, des qualités antimicrobiennes, antioxydants, anti-inflammatoires, antivirale...etc., lui ont été reconnues. En outre, il aurait le pouvoir d'inhibant la coagulation, de réduire l'hypercholestérolémie et le taux de lipides sanguins, ou encore de faciliter la digestion. L'ail prévient aussi le risque de thrombose et d'athérosclérose. Enfin, il diminue l'hyperglycémie et la tension sanguine [26].

I.4.11.1. Propriétés antimicrobiennes :

L'ail possède un large spectre d'activité antibactérienne et ceci contre des germes Gram positif et négatif, notamment les espèces appartenant aux genres *Bacillus* et *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Erwinia carotovora*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* [27].

L'étude de l'activité antibactérienne de gousses d'ail frais a été réalisée vis-à-vis de germes pathogènes alimentaires : *Staphylococcus aureus*, *Salmonellatyphi*,

Escherichia coli et *Listeria monocytogenes*. L'effet inhibiteur maximal fut observé contre *E. coli*.

Le principe actif responsable est l'allicine dont le mécanisme d'action consiste en un changement du profil lipidique de la membrane cellulaire bactérienne.

L'huile essentielle extraite de l'ail inhibe, à différents degrés, la prolifération *in vitro* de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus enteritidis*.

Les souches d'entérocoques et autres bactéries pathogènes intestinales, responsables de diarrhées aussi bien chez les humains que chez les animaux, sont plus facilement inhibées par l'ail que par la flore commensale intestinale.

Pour *Helicobacter pylori*, agent impliqué dans la majorité des ulcères et des cancers d'estomac, on note une inhibition de la croissance de 90 % avec un extrait aqueux d'ail à 5 mg/ml (*in vitro*) [27].

I.4.11.2. Activité antivirale :

Des extraits issus d'*Allium sativum* présentent une activité antivirale à l'encontre de *Verruca vulgaris*, Cytomegalovirus et *Herpes simplex virus*. L'activité exercée vis-à-vis de Cytomégalovirus a été attribuée à l'allitridine (diallyl trisulfure) qui inhibe *in vitro* l'expression des antigènes et la prolifération virale [27].

I.4.11.3. Propriétés antioxydants :

En 2006, Chung [28] a comparé l'action antioxydante de plusieurs composés de l'ail : la désoxyalliine, l'alliine, l'allicine, et le diallyl disulfide. Ces quatre molécules captent les hydroxyles HO•, mais seule l'alliine capte les superoxydes O₂•- (alors que l'allicine empêche leur formation). Les flavonoïdes de l'ail sont également reconnus pour leurs capacités antioxydantes.

Les radicaux oxygénés libres, dont font partie les hydroxyles et superoxydes, sont connus pour leur action sur le vieillissement et la formation de cellules cancéreuses. Les antioxydants permettant de neutraliser ce type de composés.

I.4.11.4. Propriétés anti-inflammatoires :

L'activité anti-inflammatoire et antiarthritique de la thiacremonone, un composé organosoufré de l'ail sont mises en évidence par Ban et al. [27]. Les diallyl disulfide et trisulfide ainsi que l'huile d'ail, administrées à des doses précises, diminuent

l'apoptose et l'ulcération de cellules intestinales endommagées [28]. Cependant, si la quantité conseillée est outrepassée, des effets toxiques sont observés.

I.4.11.5. Inhibition de l'agrégation plaquettaire :

L'ail inhibe l'agrégation plaquettaire aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Des extraits aqueux, chloroformique ou méthanolique issus de la drogue inhibent le collagène, L'ADP, l'acide arachidonique, l'épinephrine et la thrombine induite *in vitro* par l'agrégation plaquettaire. L'administration intragastrique prolongée (3 mois) d'huile essentielle ou d'extrait chloroformique de bulbe d'ail inhibe l'agrégation plaquettaire chez le lapin. Les composés responsables de l'inhibition de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaires sont les vinyldithiines et les dialkyloligosulfures [29-33].

I.4.11.6. Propriétés hypocholestérolémiantes, diminution du taux de lipides sanguins et de l'athérosclérose :

Un extrait d'ail (dans du chloroforme ou dans un mélange acétone/chloroforme) inhibe la synthèse du cholestérol de 44 à 52 % *in vitro*. Les composés soufrés ajoène, méthylajoène, allicine, 1,3-vinyldithiine et diallyl disulfide, pris individuellement, inhibent celle-ci dans des proportions situées entre 37 et 72 %.

D'après Masuura [27], les saponines de l'ail inhibent l'absorption du cholestérol dans la lumière de l'intestin, probablement par formation d'un complexe entre les deux molécules. Un second effet constaté est la diminution du cholestérol LDL dans le plasma sanguin, sans diminuer le taux de HDL chez un animal souffrant d'hypercholestérolémie. Une revue des effets de l'ail sur les lipides et les lipoprotéines du sérum, effectuée en 1994 par Silagy et al. [26] reprend vingt-cinq tests aléatoires d'une durée moyenne de douze semaines. D'une façon générale, les individus supplémentés en ail (sous diverses formes : poudre d'ail, ail cru, macérât, ou extrait d'ail âgé) montrent une diminution de 12 % en moyenne de leur cholestérol total, ainsi qu'une réduction de 13 % des triglycérides sanguins (uniquement dans le cas de la poudre). Les auteurs suggèrent néanmoins une étude mieux conçue avant d'en tirer des conclusions. Un accroissement de l'activité fibrinolytique, dans le sérum de patients souffrant d'athérosclérose et à qui des extraits d'ail aqueux, des huiles essentielles ou de la poudre d'ail furent administrés, a été observé [27].

I.4.11.7. Propriétés préventives vis-à-vis du cancer :

La prise régulière d'ail dans l'alimentation quotidienne semble avoir un rôle dans la prévention des cancers. Le principe actif impliqué dans cette propriété serait l'allicine, qui a montré une action inhibitrice sur des tumeurs. Lorand a émis l'hypothèse que l'ail augmenterait la sécrétion de suc gastrique et désinfecterait l'intestin [27]. La S-allylcystéine (composé stable et inodore) inhiberait le processus de cancérogénèse [9]. Les saponines ont également montré une activité antitumorale. Toutes les saponines dérivées du spirostanol et les sapogénines semblent avoir des effets inhibiteurs. L'éruboside aurait également une action cytotoxique. Le furostanol, quant à lui, n'a aucune activité [27].

Des études épidémiologiques réalisées au Japon et en Chine ont montré qu'une consommation régulière d'ail (ainsi que d'oignon et de ciboulette chinoise) provoque une diminution du risque d'apparition de cancers de l'estomac ou de l'œsophage. De même, l'ail améliore la photoprotection et diminue les risques de cancers de la peau en réduisant les effets pro-oxydants nocifs des rayons UV [27].

I.4.11.8. Action hypoglycémiante [27].

Les effets hypoglycémiants du bulbe d'ail ont été démontrés *in vivo*. L'administration par voie orale d'extraits aqueux, éthanoïque, chloroformique, à l'éther de pétrole ou d'huile essentielle d'ail abaisse les taux de glycémie chez le lapin et le rat. L'administration per os d'allicine chez le rat rendu diabétique par l'alloxane est à l'origine d'une diminution de la glycémie et de l'augmentation dose-dépendante de l'activité de l'insuline. L'action hypoglycémiante de l'extrait d'ail serait due à une augmentation de la production d'insuline. Quant à l'allicine, elle protégerait l'insuline contre l'inactivation.

I.4.11.9. Action antihypertension [26, 27].

L'activité antihypertensive de l'ail a été mise en évidence *in vivo*. L'administration intragastrique ou par voie orale de bulbes d'ail hache, d'extraits alcooliques ou aqueux de la drogue abaisse la pression artérielle chez le chien, le cobaye, le lapin, et chez le rat. La drogue serait responsable d'une diminution de la résistance vasculaire par un relâchement direct du muscle lisse.

I.4.11.10. L'activité hypolipémies :

BELAICHE [13] a étudié l'activité hypolipémiante de l'huile essentielle d'*Allium sativum*. Il a administré à 23 malades, 6 centigrammes d'huile essentielle d'ail. Chez 12 malades, il a constaté une diminution du cholestérol total, du LDL cholestérol, des triglycérides avec un retour à la normale et une augmentation de 15 % du HDL-cholestérol. Chez 6 malades, il a retrouvé une diminution du cholestérol total (toujours supérieur à 2,85 g/L), une diminution discrète du LDL-cholestérol et des triglycérides mais aucune augmentation du HDL-cholestérol. Les différences constatées pourraient provenir des différences de qualité entre les huiles essentielles utilisées.

I.4.11.11. Propriétés cardiovasculaires

En 1992, Mac Mahon et Jain ont administré, à 9 patients souffrant d'hypertension artérielle sévère, 2400 mg d'une poudre d'ail standardisée en une prise. Ils ont constaté une diminution significative des pressions artérielles diastoliques et systoliques avec une diminution nette de la tension au bout de 4 h et ce, pendant 8 h sans effets indésirables. L'ail est surtout utile dans le cas de maladies légères, limitées et souvent à titre prophylactique chez les patients à haut risque. L'ail inhiberait la libération des catécholamines (thiocyanate d'allyle; prostaglandines A, B, F) et en diminuerait l'effet [34].

I.5. Toxicologie

Divers accidents consécutifs à une utilisation par voie externe (cataplasmes d'extraits d'ail par exemple) peuvent être rencontrés lors d'utilisations à fortes concentrations: phlyctènes étendus et nécroses ...

Des accidents consécutifs à une utilisation par voie interne sont également possibles: 3 ou 4 têtes d'ail riches en principes soufrés agressifs pour les muqueuses peuvent entraîner des brûlures d'estomac, une irritation des voies urinaires qui peut aller jusqu'à une cystite accompagnée de fièvre [35]. Des lavements à base d'ail (dans le but d'expulser des vers intestinaux) à fortes doses peuvent provoquer une dysenterie.

Les composés organosulfurés lipophiles de l'ail, actifs dans la diminution des lipides présentent à haute dose une certaine cytotoxicité (ce qui n'est pas le cas des

composés organosulfurés hydrophiles [27]. L'alliine est un des plus irritants et le DAS est le plus allergie.

L'allicine peut se comporter comme un agent oxydant et entraîner des irritations de l'estomac et l'intestin [27].

I.6. l'activité biologique :

Plusieurs antioxydants de synthèse tels que la vitamine C et le BHT sont largement utilisés comme additifs alimentaires pour prévenir la détérioration des aliments. Bien que ces antioxydants synthétiques montrent une activité antioxydants plus puissante que celle des antioxydants naturels comme l'acide ascorbique, il y a une préoccupation concernant leurs effets néfastes sur la santé, car ils peuvent être impliqués dans les dommages hépatiques et la carcinogénèse [36]. De même, le traitement par les antibiotiques classiques est associé à plusieurs effets indésirables tels que l'augmentation du risque de saignement, l'émergence importante d'espèces bactériennes résistantes.

Ce sont les raisons pour lesquelles, la recherche scientifique s'est focalisée récemment sur l'investigation de nouvel agents antioxydants et antibactériens d'origine végétale particulièrement les huile essentielles, les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes et tannins) qui peuvent être des alternatifs aux substances synthétiques [37]. Dans ce cadre s'inscrit ce travail qui consiste à tester les activités antioxydants et l'activité antibactérienne de la plante *Allium sativum*.

I.7. Répartition de la production d'ail :

I.7.1. Répartition dans le monde :

Dans le monde, l'ail est cultivé sur environ 380 000 ha, dans les deux hémisphères. Il occupe le 14^{ième} rang parmi les 15 espèces légumières les plus cultivées dans le monde, avec une production assez stable de 2,7 millions de tonnes [38].

I.7.1.1. Principales régions de culture :

Les principales régions de culture sont : la Chine, l'Inde, la Thaïlande, la Corée du sud, l'Egypte, la Turquie, l'Espagne, l'ex-Yougoslavie, l'Italie, la France et les Etats-Unis [38].

I.7.1.2.Principaux pays importateurs :

Selon les statistiques de la FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) de 2007, la Chine est le principal producteur d'ail, cultivant à elle seule 76 % des produits mondiaux. Cette même source estime la production mondiale en 2008 à 1,64 millions de tonnes. Les principaux producteurs d'ail sont regroupés dans le tableau I.5 [39].

Tableau I.5: Statistiques de producteur d'ail dans le monde en 2007 [39].

| Rang | Pays | Production en 2007 (t) | % de la production Mondiale |
|-------------|--------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | Chine | 12 575 036 | 76,6 |
| 2 | Inde | 645 000 | 3,9 |
| 3 | Corée du Sud | 375 463 | 2,3 |
| 4 | Égypte | 258 608 | 1,6 |
| 5 | Russie | 220 000 | 1,3 |
| 6 | États-Unis | 194 270 | 1,2 |
| 7 | Myanmar | 147 000 | 0,9 |
| 8 | Bangladesh | 144 817 | 0,9 |
| 9 | Espagne | 142 500 | 0,9 |
| 10 | Argentine | 140 000 | 0,9 |



Chapitre 2
Les Travaux Antérieurs

Chapitre II : Travaux antérieurs

II.1. Introduction :

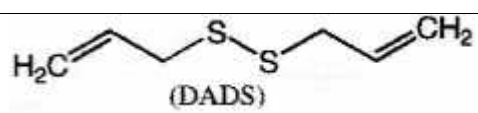
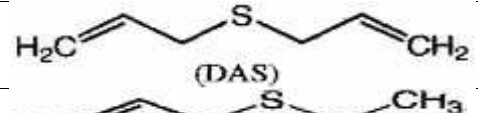
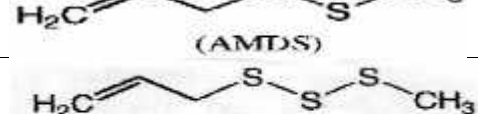
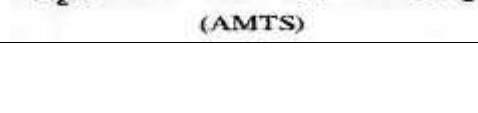
Plusieurs travaux ont été effectués sur *Allium sativum* pour connaître la composition chimique, l'effet antibactérien et l'activité antioxydants. Nous présentons ci-après quelque uns.



II.2. Composition chimique de H.E de l'ail :

II.2.1. La composition chimique de H.E de l'ail algérien (Skikda) :

Selon Khadri S., l'analyse de l'huile essentielle d'*Allium sativum* récolté en juin 2007 de la région d'El Harrouche (W. Skikda) a permis d'identifier huit composants constitués des composés sulfides avec des teneurs différentes dont les principaux constituants sont l'allyl méthyl trisulfide (34.61%) et le diallyl disulfide (31.65%). Alors que les autres composants identifiés sont relativement faible: allylméthyl disulfide (9.27%), diallyl sulfide (6.8%), diallyl trisulfide(1.47%) et diallyl tétrasulfide(4.92%) (Tableau II.1 et Figure II.1).

Tableau II.1 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Allium sativum*, de la région de Skikda, obtenue par l'hydrodistillation [40].

| Composé | tr (mn) | Teneur (%) | Structure chimique |
|-------------------------|---------|------------|--|
| Diallyl disulfide | 3.823 | 31.65 |  (DADS) |
| Diallyl sulfide | 4.024 | 6.80 |  (DAS) |
| Allyl methyl disulfide | 4.588 | 9.27 |  (AMDS) |
| Allyl methyl trisulfide | 6.868 | 34.61 |  (AMTS) |

| | | | |
|----------------------|--------|------|--|
| Diallyl trisulfide | 10.605 | 1.47 |  |
| Diallyl tetrasulfide | 22.120 | 4.92 |  |

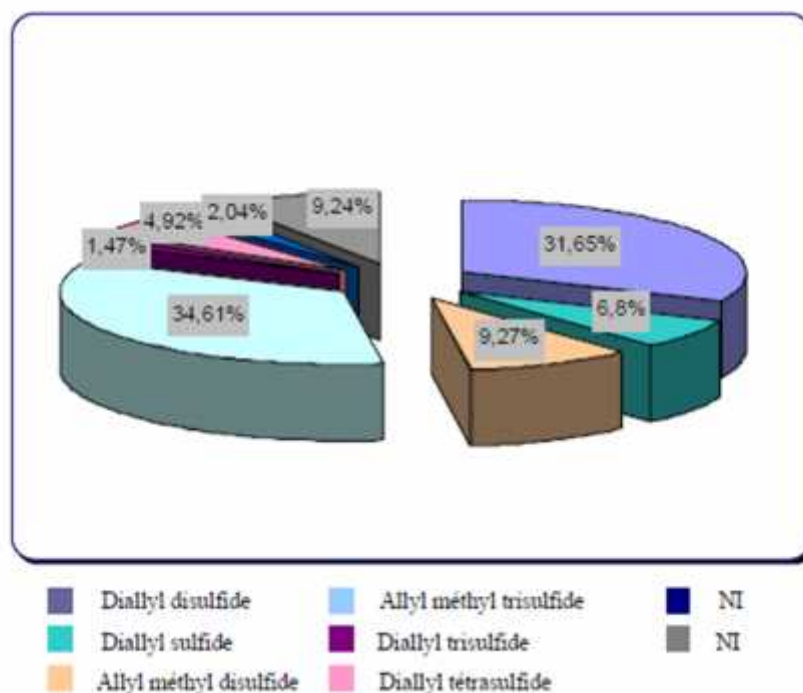


Figure II.1 : Distribution en pourcentage des différents composants de l'huile essentielle d'*Allium sativum* de skikda [40].

II.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle de l'ail d'Égypte :

D'après Shalaby et coll., l'analyse des HE de l'ail égyptien a permis d'identifier vingt composants (tableau 2.2.) dont les principaux sont :diallyl disulfide (25.18%),allyl méthyle trisulfide (23.8%) et diallyl trisulfide (21.05%) [41].

Tableaux II.2.Composition chimique de l'huile essentielle d'*Allium sativum* origine d'Égypte. Obtenue par l'hydrodistillation [41].

| Constituent | Pourcentage(%) |
|---------------------------------|----------------|
| 3,3'-thiobis-1-Propène | 3.27 |
| Disulfide | 4.60 |
| Methyl-trans-propényl-disulfide | 0.20 |
| Méthyl cis-Propenyldisulfide | 0.47 |
| acide propandioique | 3.23 |
| Dimethyltrisulfide | 2.63 |
| Limonene | 0.14 |
| di-2-propényle disulfide | 25.18 |
| Methyl-2-propényle trisulfide | 23.80 |
| 3-vinyl-[4H]-1,2-dithiine | 1.30 |
| 2, 4, 5,6-Tetraméthylpyrimidine | 1.12 |
| 2-vinyl-[4H]-1,3-dithiine | 1.85 |
| di-2-propényl trisulfide | 21.05 |
| Isobutyl isothiocyanate | 0.18 |
| 2,3-Dicarboxythiophene | 1.45 |
| Diallyltetrasulfide | 3.56 |
| Diallylpentasulfide | 2.45 |
| Diallylhexasulfide | 1.15 |
| Méthyle allyle pentasulfide | 0.22 |
| Méthyle allylehexasulfide | 0.15 |

II.2.3. Les diverses huiles essentielles de l'ail dans le monde

La composition chimique des huiles essentielles d'*Allium sativum* dans le monde est très variable (Tableau II.3). Les principaux composants sont Diallyl disulfide (32.8 à 44.6%), Allyl méthyle trisulfide (7.4 à 13.1%), Diallyl trisulfide (24 à 29.1%).

Tableau II.3 : Composition chimique d'*Allium sativum L.* dans le monde [42-44].

| Composés | Tunisie [42] | Corée du Sud [43] | Argentine [44] |
|--------------------------------------|-----------------|----------------------|-------------------|
| (DADS) | 44.6 | 32.8 | 34 |
| Allyl méthyle tétrasulfide (DATS) | 27.7 | 29.1 | 24 |
| Allyl méthyle trisulfide | 11.8 | 7.4 | 13.1 |
| Allyl méthyle disulfide | 6.5 | / | 0.13 |
| Allyl méthyle sulfide | / | / | 0.9 |
| 3-vinyl-1,2-dithiine | 4.04 | 1.99 | 2.1 |
| Diméthyle trisulfide | / | 0.51 | 2.3 |
| 2-vinyl-1,3-dithiine | 1.2 | 5.9 | 1.6 |
| Diallylsulfide(DAS) | 4.1 | / | 2.2 |

Les rendements en huile essentielle des gousses d'ail provenant de différents pays sont récapitulés dans le tableau ci-dessous.

Tableau II.4 : Rendements en huile essentielle des gousses d'ail dans différents pays.

| Pays | Algérie (Biskra) | Algérie (Mostaganem) | Egypte | Tunisie | Turquie | Inde | Nigeria |
|------|---------------------|-------------------------|--------|---------|---------|------|---------|
| ME | HD | HD | HD | EVE | HD | HD | HD |
| R(%) | 1 | 0.2 | 0.073 | 0.15 | 0.14 | 0.4 | 0.16 |
| Réf. | [48] | [45] | [41] | [42] | [46] | [47] | [49] |

II.3. Activité biologique :

II.3.1. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail algérien (skikda) :

II.3.1.1. Méthode de diffusion en disque (l'aromatogramme) :

D'après Khadri S, l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail de la région de Skikda sur différentes souches (53 souches) de *Pseudomonas aeruginosa* (bactérie Gr⁻) montre que l'HE possède une activité antibactérienne. L'huile essentielle d'*Allium sativum* a montré une activité antibactérienne vis-à-vis seulement des 30 souches (56.6%) parmi les 53 souches testées de *P.aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition faible entre 9mm et 11mm. Aucune zone d'inhibition n'a été enregistrée autour des disques pour 43.4% des souches testées [40].

II.3.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution :

Selon Khadri, l'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'huile a été effectuée par la détermination de la CMI par les deux variantes de la méthode de dilution: méthode de dilution en milieu liquide et méthode de dilution en milieu solide.

Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne ont confirmé que l'huile essentielle d'*Allium sativum* témoigne d'une activité antibactérienne vis-à-vis des 30 souches testées de *P.aeruginosa* avec des CMI relativement moyenne entre 32 μ g/ml et 128 μ g/ml. Par ailleurs les résultats observés illustrent bien que les valeurs des CMI obtenues par la méthode de dilution en milieu solide (64 μ g/ml et 128 μ g/ml) sont élevées par rapport à celles obtenues par la méthode de dilution en milieu liquide (32 μ g/ml et 64 μ g/ml). Il paraît évident que la méthode de dilution en milieu liquide est la méthode adéquate pour l'évaluation de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle vue que la volatilisation de l'huile est réduite en présence d'un milieu liquide ainsi que son amélioration par l'ajout de l'agar qui augmente la durée de stabilité du mélange (huile essentielle + milieu de culture). Contrairement à la méthode de dilution en milieu solide, une surévaluation de l'activité à cause de la volatilisation élevée de l'huile essentielle [40].

II.3.2. Activité antibactérienne de l'huile essentielle et extrait éthanoïque de l'ail tunisien :

II.3.2.1. Méthode de diffusion en disque (l'aromatogramme) :

Selon les travaux de Chekki [42] relatifs à l'activité antibactérienne de l'extrait éthanoïque (EE) et de l'huile essentielle (HE) de *A. sativum* originaire de Tunisie sur différentes souches bactériennes Gram+ (*Bacillus cereus* NCTC 7464 , *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P et *Listeria monocytogenes* NCTC 11994) et Gram négatif (*Escherichia coli* ATTC25922 , *Salmonella typhi* ATTC 14028 , *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 10145 et *Yersinia entérocolitiques*), les résultats montrent que l'EE de l'ail montre une activité anti- bactérienne supérieure à l'HE contre toutes les souches testées. Cette activité était plus importante avec les bactéries Gram+ surtout *Staphylococcus aureus* qui a montré le diamètre d'inhibition (18 mm) le plus élevé (tableau II.5).

Tableau II.5: Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'EE et HE d'*A. sativum*[42].

| Bactéries | Concentrations | | | | |
|--------------------------------|----------------|-----|-----|----|------|
| | EE | | | | HE |
| | 100% | 25% | 10% | 5% | 100% |
| Bactéries Gram négatif | | | | | |
| <i>Escherichia. coli</i> | 7 | AA | AA | AA | AA |
| <i>Salmonella typhi</i> | 9 | 2 | AA | AA | 4 |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | 5 | AA | AA | AA | 4 |
| <i>Pseudomonasaeruginosa</i> | 7 | AA | AA | AA | AA |
| Bactéries Gram positif | | | | | |
| <i>Listeria monocytogene</i> | 9 | 5 | AA | AA | AA |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 | 5 | AA | AA | 12 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 9 | 5 | AA | AA | 9 |

AA:Aucune activité

II.3.3. L'activité antibactérienne de l'huile infusée et du jus d'ail (l'aromatogramme) :

D'après son étude sur l'activité antibactérienne d'huile infusée d'ail dans l'huile de palme et jus de l'ail sur différentes bactéries isolées à partir de prélèvements des malades ayant différentes infections, intoxications alimentaires, fièvre typhoïde, infections urinaires, abcès et pus (*Escherichiacoli*, *Enterobactersp.*, *Klebsiellapneumoniae*, *Klebsiellaoxytoca*, *Salmonella typhi*, différentes *Salmonella* mineures, *Proteus mirabilis*, *Morganellamorganii*, *Citrobactersp.*, *Acinetobactersp.*, *Serratiasp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*.) et des souches de référence (*E. coli* ATCC 25922– *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853– *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) fournies par l'Institut Pasteur d'Alger, Benzeggouta [17] montre que l'huile et jus d'ail possède une activité antibactérienne.

II.3.3.1. L'activité antibactérienne de l'extrait frais de l'ail (jus):

Selon les résultats obtenus, le jus d'ail présente une activité antibactérienne. Ce dernier dilué perd son efficacité mais pur il possède un pouvoir puissant vis-à-vis de toutes les souches, surtout les bactéries à Gram+ avec des diamètres arrivant à 40 et 42mm pour les deux *Staphylococcus*. Par ailleurs d'autres espèces sont moins sensibles au jus d'ail et ayant des diamètres d'inhibition entre 13 - 15 mm. Ce pouvoir du jus d'ail est dû à la présence de plusieurs substances possédant une activité antibactérienne.

Tableau II.6. : Diamètres des zones d'inhibition (mm) du jus d'ail sur différentes souche bactériennes [17]

| Bactéries | Dilué ~ 1:1 | Pur |
|---------------------------------|--------------------|------------|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | - | 14 |
| <i>Enterobacte rsp</i> | - | 35 |
| <i>Salmonella typhi</i> | - | 24 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 9 | 13 |
| <i>Escherichia coli</i> | - | 15 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 7 | 38 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | 13 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 | - | 15 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | 40 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923 | 9 | 42 |

(-): aucune zone d'inhibition.

II.3.3.2. L'activité antibactérienne des huiles infusées d'ail:

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles infusées (HI) d'ail obtenus montrent des diamètres des zones d'inhibition trop faibles par rapport aux diamètres d'inhibition généralement trouvées avec les antibiotiques, quelque soit le milieu de culture utilisé, avec une dose simple ou une double dose, à cause de leur insolubilité dans le milieu de culture[17]. Pour cela il fallait dissoudre les huiles infusées dans l'éthanol, afin de permettre aux constituants actifs de diffuser dans la gélose et exercer l'activité souhaitée, sans que ce solvant puisse avoir un effet sur les bactéries ou sur l'huile. Les zones d'inhibition qui ne dépassent pas les 7mm de diamètre montrent le faible pouvoir de cette huile par rapport aux extraits frais (jus), avec un grand écart entre les zones d'inhibition du jus et l'huile infusée, parfois il n'y a aucune zone visible. Cette différence est due au problème de diffusion dans le milieu de culture.

II.3.3.3. Concentrations minimales inhibitrices d'huile infusée de l'ail :

Les résultats, obtenus par Benzeggouta N. [17], montrent une présence de croissance faible à n'importe quelle concentration de l'huile infusée chez toutes les bactéries et une exception de *Klebsiella pneumoniae* qui est sensible avec tous les extraits. *Pseudomonas aeruginosa* présente une CMI de 10mg/ml et *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* présente une CMI de 5 mg/ml. La concentration de 20mg/ml de l'huile d'ail, s'est montrée insuffisante pour inhiber la plupart des souches bactériennes in vitro.

II.3.4. L'activité antioxydants de l'huile essentielle et de l'extrait éthanoïque de l'ail tunisien :

D'après l'étude de Chekki et al. [42] sur l'activité antioxydant de l'huile essentielle et de l'extrait éthanoïque d'*A. sativum* de Tunisie par la méthode du DPPH. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau 2.7 et la figure II.2.

Tableau II.7 : la valeur de CI50 par le test DPPH d'EE et HE de l'ail [85].

| Echantillon | I C ₅₀ (mg/ml) |
|--------------------|---------------------------|
| Extrait éthanoïque | 0.6 |
| Huile essentielle | 0.3 |

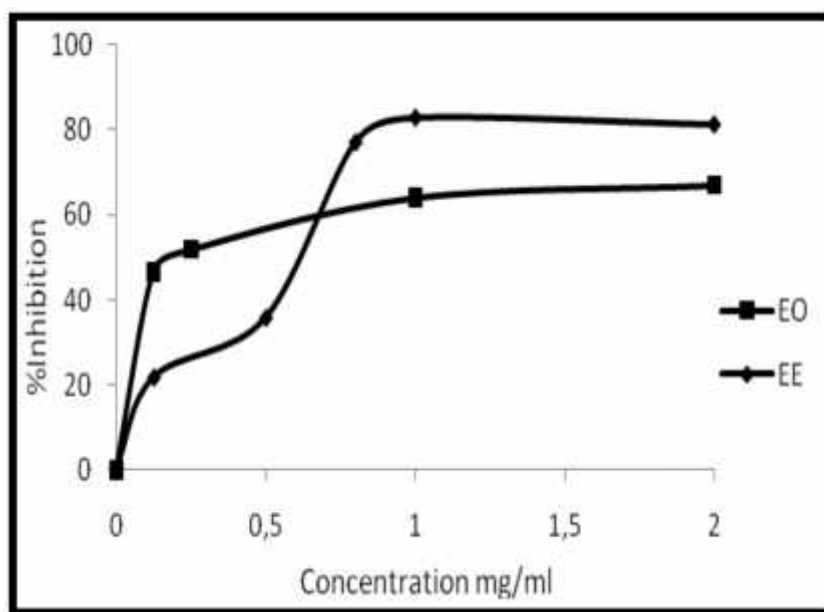


Figure II.2 :L'activité antioxydants de l'EE et de l'HE d'*A.sativum* par la méthode DPPH [85].

Les résultats obtenus par Chekki et al montrent que le pourcentage d'inhibition d'huile essentielle (HE) et extrait éthanoïque (EE) sont croissant avec l'augmentation de la concentration. Donc nous avons compris que HE et EE réduit la formation des radicaux DPPH. Avec CI50 très faible vari respectivement 0.6mg/ml et 0.3mg/ml.

II.3.5. L'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'ail d'Inde :

Les résultats de l'étude de Lawrence R. et Lawrence K. [47] sur l'activité antioxydants de l'huile essentielle de l'ail originaire d'Inde par deux méthodes piégeage du radical libre (DPPH) et du pouvoir réducteur (FRAP), sont présentés dans les tableaux II.8 et II.9 et les figures II.3 et II.4.

Tableau II.8. Pourcentage d'inhibition de DPPH par HE de l'ail et BHT.

| C (mg/ml) | 0.125 | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 |
|-----------|-------|------|------|------|------|
| BHT | 54.1 | 58 | 61.2 | 68.3 | 70.1 |
| HE | 46.6 | 51.9 | 52.6 | 64.1 | 67 |

Tableau II.9. Absorbance de différentes concentrations d'HE et BHT (FRAP).

| C (µg/ml) | 0.125 | 0.25 | 0.5 | 1 | 2 |
|-----------|-------|------|-------|-------|-------|
| BHT | 0.415 | 0.56 | 0.867 | 1.227 | 1.625 |
| HE | 0.12 | 0.34 | 0.634 | 0.712 | 0.812 |

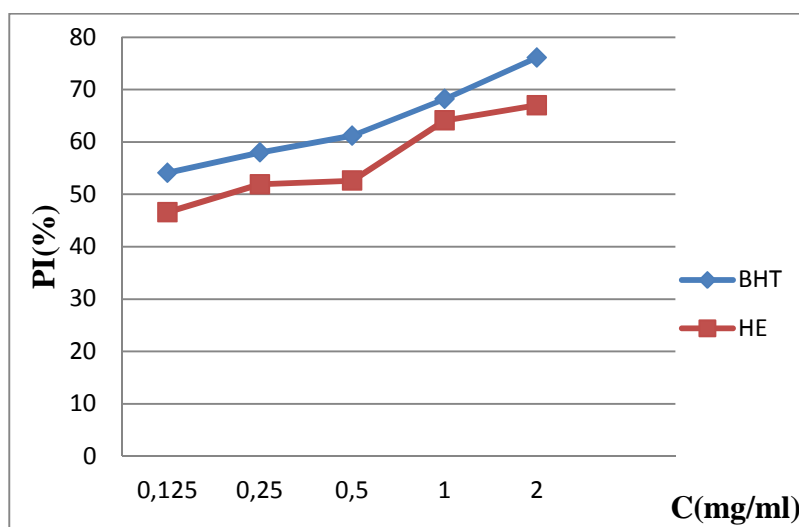


Figure II.3. Effets de la dose d'HE et BHT sur le taux de piégeage du DPPH.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour BHT ou pour l'huile essentielle de l'ail. On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile essentielle est voisin à celui de BHT pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 2mg/ml, l'huile essentielle a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 67 % tandis que la BHT est de 70.1%.

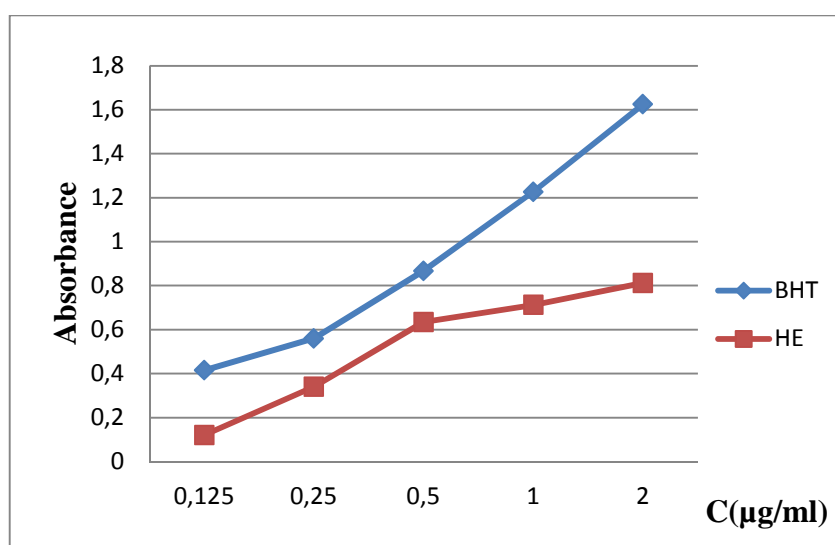


Figure II.4. Pouvoir réducteur d'huiles essentielle et BHT.

La figure II.4 montre que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'échantillon. L'huile essentielle présente alors une activité antioxydants nettement inférieure à celle du produit de référence (BHT).

Chapitre 3

Matériels et Méthodes



LABORATOIRE

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Introduction

Notre étude a porté sur l'extraction des HE, à partir des bulbes *d'Allium sativum*, et l'étude de ses propriétés physico-chimiques ainsi que l'étude des paramètres influençant le rendement. Le travail expérimental été effectuée au niveau des laboratoires de :

- Génie des procédés de la Faculté des Sciences et Technologie à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Milana (UDBKM),
- Biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Terre(UDBKM)
- Analyse médicale privé zibouche d'Ain-Defla.

III.2. Extraction de l'huile essentielle *d'Allium sativum* :

III.2.1. Zone d'étude :

Notre étude a porté sur les bulbes *d'Allium sativum* récoltés de la région de Djendel de la wilaya d'Ain-Defla (Algérie) durant les mois de juillet de l'année 2014, avril et mais 2015. La situation de la région de la récolte est illustrée dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Situation géographique de la région de la récolte.

| Région | Altitude | Latitude | Longitude |
|---------|------------|-----------|-----------|
| DJENDEL | 315 mètres | 36°13'6"N | 2°24'38"E |

❖ Identification

Notre étude consiste sur l'étude de l'ail rose de la variété de printemps (*Allium sativum.sativum L*)

III.2.2. Matériels :**III.2.2.1. Matériels biologique :****III.2.2.1.1. Bulbes *d'Allium sativum* :**

L'extraction d'HE est réalisée à la partie terrestre (bulbes) et la partie aérienne (Feuilles), Bulbes à l'état fraîche et sec et les feuilles à l'état sec à l'air libre et a l'ombre, a température ambiant.

➤ Préparation du matériel végétal :

250g de bulbes *d'Allium sativum* sont coupés en petits morceaux (figure III.1).

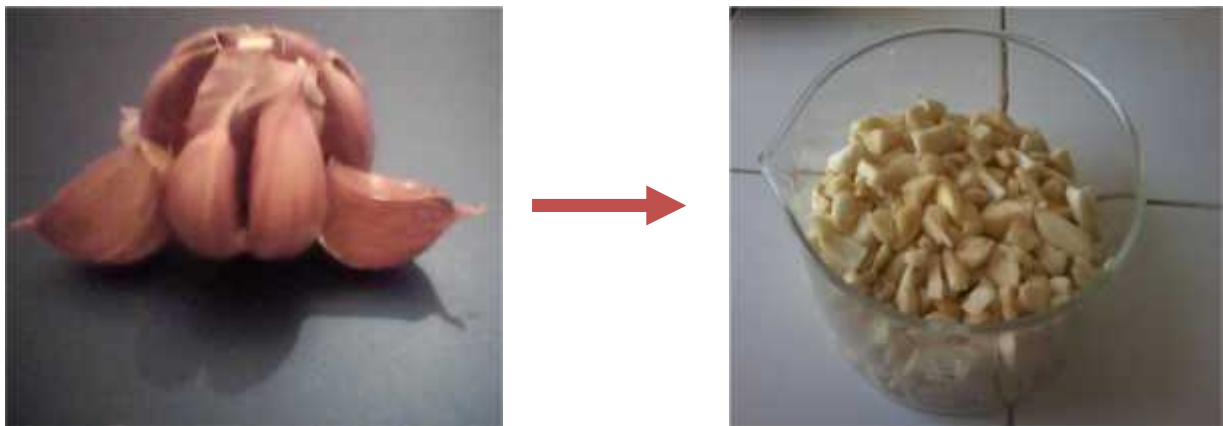


Figure III.1 : Préparation du matériel végétal

III.2.2.1.2. Souches bactériennes :

Les souches bactériennes à tester sont représentées par :

- ✓ *Escherichia coli* (gram⁻) ATCC 25922.
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* (gram⁻) ATCC 27853.
- ✓ *Staphylococcus aureus* (gram⁺) ATCC 29213.

III.2.2.2. Matériel de laboratoire :

Le matériel de laboratoire est constitué des dispositifs d'extraction suivant :

- 1- Un extracteur de type CLEVANGER (hydrodistillation).
- 2 -montage de l'induction électromagnétique.
- 3- Soxhlet.

4- milieux de culture (MH), les réactifs (KOH, Na Clect.).

5- burette, fiole, bicher, balances analytique, plaque chauffantect.

III.3. Détermination du taux d'humidité:

L'humidité relative d'un solide appelé aussi le titre en eau, ou bien teneur en eau à base humide s'exprimé par la masse de liquide contenue dans le produit par rapport à sa masse humide Selon la formule suivant [50] :

$$H (\%) = [(M_h - M_s) / M_h] \times 100$$

III.1

M_f : Poids de l'échantillon fraîche (g).

M_s : Poids de l'échantillon sec(g).

H (%) : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

III.4. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport de la quantité d'huile récupéré après hydrodistillation sur la quantité de la plante à traiter exprimé en pourcentage [51]. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE} / M_S) \times 100$$

III.2

R_{HE} (%) : rendement de l'huile essentielle en(%)

M_{HE} : quantité de l'huile essentielle en (g).

M_S : quantité de la plante en (g).

III.5. Méthodes d'extraction

III.5.1. Extraction par l'hydrodistillation :

L'extraction des HE par l'hydrodistillation a été effectuée dans un appareil de type clevenger (figure III.2).

➤ **Principe**

La méthode la plus simple et plus anciennement utilisée [52] qui consiste à immerger le matériel végétale directement dans un récipient rempli d'eau placé sur une source de chaleur. L'ébullition de l'eau entraîne alors les huiles essentielles qui au contact d'un réfrigérant elles se condensent, et se récupèrent sous forme d'une émulsion (eau + huile essentielle) et se séparent par la suite de l'eau par simple différence de densité [53].

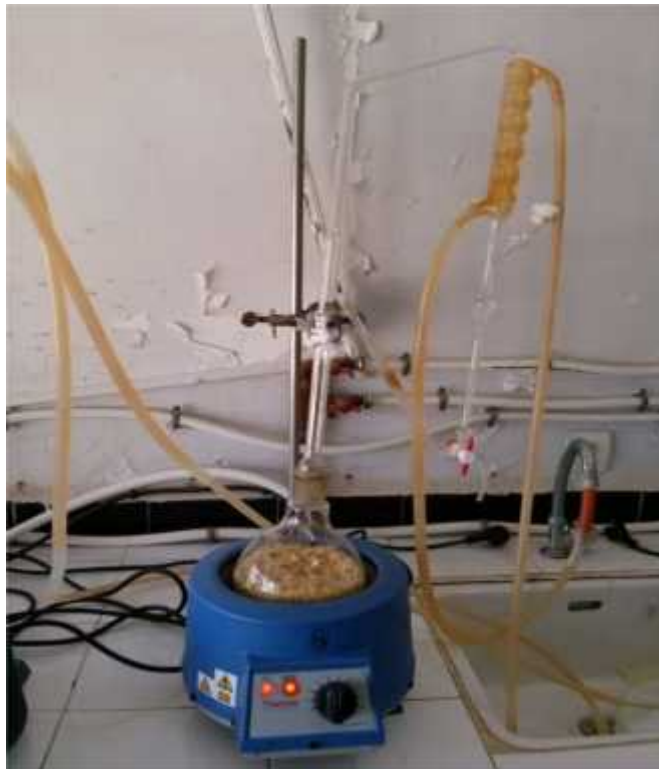


Figure III.2 : Montage de l'hydrodistillation

Le montage de l'hydrodistillation comprend essentiellement les parties suivantes :

- ❖ **Ballon** : Sert à contenir la matière végétale émergée dans l'eau distillée.
- ❖ **Réfrigérant** : C'est un échangeur de chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide provenant du ballon.
- ❖ **Cohobe**: colonne de recyclage de l'eau aromatique

➤ Protocole d'extraction

Les huiles essentielles sont extrait par la méthode d'hydrodistillation. 250g de l'ail (*Allium sativum*) fraîche ou sec ont été coupés en petits morceaux sont introduit dans un ballon de 1 litre avec de l'eau distillée. l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 heure.les vapeur chargées au substances volatiles traversant la réfrigérant se condensant puis elles sont récupérées dans un ampoule à décanter, l'eau et HE se séparant par différent de densité .

- **Phase organique:** huileuse et très odorante appelée " huile essentielle"
Contenant la majorité des composés odorants.
- **Phase aqueuse:** odorante appelée " eaux aromatiques" contenant que
Très peu des composés odorants.

Le volume d'essence obtenue est noté pour le calcul du rendement.

Tableau III.2 : Conditions opératoires de l'extraction des HE par HD.

| Mois de récolte | Partie utilisé | Etat de M _v | M _v (g) | V _{eau distillé} (ml) |
|-----------------|----------------|------------------------|--------------------|--------------------------------|
| Juillet(2014) | Bulbes | Sec | 250 | 400 |
| Juillet(2014) | Bulbes | Fraiche | 250 | 300 |
| Avril(2015) | Les feuilles | Sec | 250 | 400 |
| | Bulbes | Fraiche | 250 | 300 |
| Mai(2015) | Bulbes | Fraiches | 250 | 300 |

Le deuxième cas de l'extraction des huiles essentielles nous avons changé le mode de chauffage.

III.5.2. Extraction assisté par l'induction électromagnétique :

L'extraction des huiles essentielles par induction électromagnétique a été réalisée au niveau du Laboratoire de Valorisation des Substances Naturelles de l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

➤ Principe :

Le chauffage par induction est une application très directe. Tout conducteur parcouru par un courant périodique crée un champ magnétique, qui engendre des courants induits dans un autre conducteur (récipient) placé dans ce champ. Ce courant

induit provoque dans la paroi métallique du distillateur des courants qui vont produire de la chaleur par effet Joule [54].

Le montage de l'extraction par induction électromagnétique comprend essentiellement les parties suivantes :

- ✚ Une cocotte minute.
- ✚ Condenseur (réfrigèrent).
- ✚ Ampoule à décanter.
- ✚ Source de chaleur (plaque chauffent).



Figure III.3 : Montage de l'extraction assisté par induction électromagnétique.

➤ **Protocole d'extraction :**

400g des gousses d'ail sèche coupé en petite morceaux sont placées dans l'extracteur avec 3 L d'eau distillé, l'ensemble est porté à ébullition après 15 min, les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant le réfrigèrent (condenseur) se condensent et sont récupérés dans une ampoule à décanter après l'ajout d'une solution aqueuse saturée en NaCl. En fin de décantation deux phases sont obtenues (huile essentielle + hydrolat) ensuite, les HE sont récupérées. Les conditions opératoires de l'extraction des HE par IEM sont rassemblées dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : conditions opératoire de l'extraction des HE par IEM.

| | |
|--------------------|---------------|
| Période de récolte | Juillet(2014) |
| Partie utilisé | Bulbe |
| Etat de MV | Sec |
| MMV (g) | 400 |
| Veau distillé (l) | 3 |

III.6. Caractéristiques des huiles essentielles:

Après l'extraction des huiles essentielles de l'ail, les paramètres suivants sont déterminées

- ❖ L'indice de réfraction.
- ❖ L'indice d'acide
- ❖ l'indice d'ester.
- ❖ pH

A ces paramètres, on peut aussi ajouter les caractéristiques organoleptiques telles que l'aspect, la couleur et l'odeur. La composition chimique d'HE a été effectuée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

III.7. Analyse chromatographique des huiles essentielles extraites :

L'analyse des huiles essentielles de nos échantillons a été réalisée au Laboratoire de Chimie Générale et Organique, Département Agro Bio Chem, Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech(Belgique).

III.7.1. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) :

La composition des huiles essentielles est très complexe. Les principaux constituants sont représentés par Terpènes, aldéhydes, cétone, phénols, ester....Très volatiles,

Les huiles essentielles ne rancissent pas ; elles sont solubles dans l'huile et dans l'alcool, mais pas dans l'eau.

Le spectromètre de masse, de type Agilent 5973 à quadripole est couplé à un chromatographe en phase gazeuse de type Agilent 6890. La colonne utilisée est identique à celle mentionnée ci-dessus. Les conditions opératoires sont

- la température de l injecteur splitless : 250 °C ;
- la programmation de température : de 40 °C à 250 °C à raison de 6 °C/min ;
- le gaz vecteur : He à 1 ml/min (vitesse linéaire moyenne = 36 cm/sec).

Les températures de la source et du quadripole sont fixées à 230 °C et 150 °C respectivement; énergie d ionisation 70 eV, gamme de masse : 35 à 400 amu. L identification des différents constituants est réalisée à partir de leurs spectres de masse en comparaison avec ceux des composés standards de la banque de données informatisées. Pour les hydrocarbures terpéniques diverses confirmations sont obtenues par comparaison des spectres de masse et de leurs indices de rétention selon Kovats donnés par la littérature [55].

III.8. Evaluation de l'activité biologique :

III.8.1. Evaluation de l'activité antioxydant :

III.8.1.1. Méthode du DPPH :

Le pouvoir antioxydant d'huiles essentielles et de leurs principaux constituants a été évalué *in vitro* en utilisant le test du DPPH.

- **Principe**

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectrale maximale à 517nm. En présence d'antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet (forme radicalaire DPPH•) au jaune (forme réduite DPPH-H) .

Cette décoloration représente donc la capacité d'échantillon de piéger ce radical [56].

- **Mode opératoire :**

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH*. Le test de DPPH est réalisé selon la méthode décrite par Bruits et Bucar[57]. ; Où 50µl de chacune des solutions méthanoliques des HE testées à différentes concentrations sont mélangées avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%). Après 30 mm, l'absorbance est lue à 517nm. Le contrôle négatif est composé de 50µl d'éthanol et de 5 ml de la solution de DPPH•.Le contrôle positif est

représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celle de l'huile essentielle.

Pourcentage d'inhibition: Pourcentage d'inhibition du DPPH (%) est calculé de la manière suivant:

$$PI\% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) / A \text{ blanc} * 100$$

III.3

PI: pourcentage d'inhibition (%).

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol),

A échantillon: Absorbance du composé d'essai.

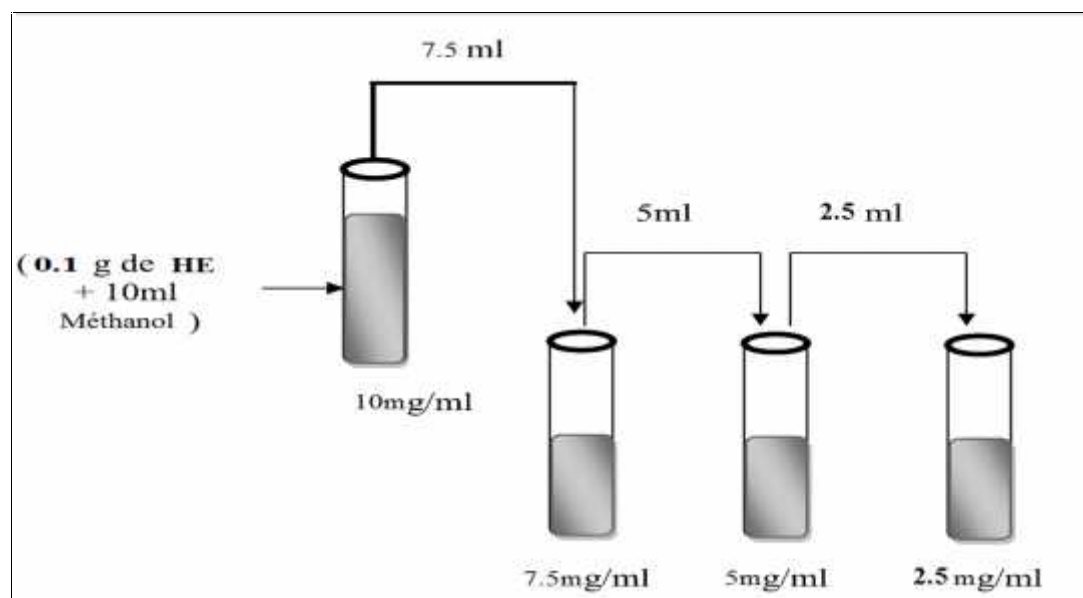


Figure III.4 : Préparation des dilutions de l'huile essentielle.

Calcul des IC₅₀:

IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH, Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations.

III.8.1.2. Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le test sur le pouvoir réducteur met en avant la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron [58].

- **Principe :**

La méthode FRAP est basé sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{+3}) en ion ferreux (Fe^{+2}) en présence d'un antioxydante qui agissent en tant que réducteur dans ce cas alors, la couleur jaune de la solution d'essai Chang en vert selon la puissance de réduction de l'extrait. Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (les huiles essentielles), a été décrit par OYAIZU, M [59] avec quelques modifications.

- **Mode opératoire :**

Dans 4 tube à essai contenant 1 ml de solution d'échantillon (les dilutions suivant : 2.5, 5, 7.5, et 10mg/ml), 1 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une pipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2.5 ml d'une solution $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%), 2.5 ml de solution tampon phosphaté (pH=6.6 C=0.2M). Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils sont maintenus dans un bain marie pendant 20 minutes à une température de 50 °C. Ensuite, on ajoute 2.5 ml de l'acide trichloracétique (TCA 10%). on centrifuge pendant 10min (3000 rpm). Le surnageant est mixé avec 1.5 ml de l'eau distillé, 150 μ l de solution de FeCl_3 (0.1 %). L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique l'augmentation du pouvoir réducteur.

Calcul de l'IC₅₀ :

IC₅₀ est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et est calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

III.8.2. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Les souches bactériennes conservées ont été fournies par le laboratoire privé des analyses médicales d'Ain-Defla, le pouvoir antibactérien des HE est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

III.8.2.1. Evaluation qualitative de l'activité antimicrobienne :**III.8.2.1.1.Méthode de diffusion en milieu gélosé (L'Aromatogramme) :****❖ Principe :**

La technique utilisée est le teste par la méthode de Vincent (Aromatogramme) qui permet d'étudier d'une manière fiable et reproductible la sensibilité et la résistance des germes aux huiles essentielles [60].La mise en évidence de la sensibilité et de la résistance des agents microbiens consiste à les mettre sur un milieu de culture solide (dans notre cas milieu Mueller-Hinton) au contact d'huiles essentielles, dans le but d'apprécier leur effet antibactérien.

Placé dans une étuve à 37C°, dans des conditions optimales de culture, les germes pathogènes se développent rapidement sur le milieu nutritif. Sur ces colonies microbiennes, plusieurs séries (6 à 8 par boîte) de petits disques de papier filtre imprégné d'huiles essentielles à tester sont ensuite disposées. Après un temps de latence à 37.5C° le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire, montre la destruction des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des huiles essentielles utilisées.

❖ Mode opératoire :**1. Préparation de l'inoculum :**

On a prélevé, à l'aide d'une pipette pasteur, une colonie des souches testées. Puis, on a traversé le contenu de la pipette dans un tube stérile contenant 2.5ml d'eau physiologique stérile (0.9%) : les colonies sont émulsionnées sur le bord du tube en dehors de l'eau puis peu à peu dans le liquide. Ensuite on a agité vigoureusement, une culture bactérienne fraîche est préparée et incubé pendant 18H-24H à 37°c.

2. Préparation de la suspension bactérienne :

Une colonie bien isolée issue d'une culture de 18-24 H a été introduite dans 5 ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai bien homogénéiser la suspension bactérienne.

3. Ensemencement :

Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

-tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse).

-l'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

-frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

-répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

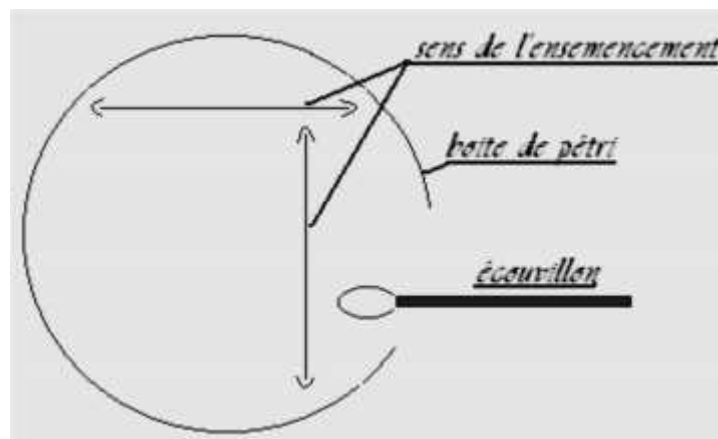


Figure III.5 : Ensemencement par écouvillon

4. Préparation des disques d'aromatogramme:

Les disques sont fabriqués à partir de papier Whatman stérile de 9 mm de diamètre. Une fois les géloses Muller – Hinton sont ensemencées, les disques imbibés dans HE sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

5. Incubation et Lecture:

Les boîtes de pétri sont placées dans l'incubateur pendant 18 à 24 heures à 37°C, et les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition.

La présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organisme dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique est calculé par la formule suivant [61]:

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}}/D_{\text{control}})*100$$

III.4

D_{test} :diamètre de la zone d'inhibition.

D_{control} :diamètre de la boîte de pétri .

III.8.2.2. Evaluation quantitative de l'activité antimicrobienne :

Cette méthode permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir gamme de concentration d'extrait dans un solvant.

➤ Principe

La préparation des dilutions est réalisée selon la méthode décrite par Bouzidi [62].Les huiles essentielles sont diluées dans le TWEEN 80. Pour cela, 100µl d'huile sont dilués dans 200µl de TWEEN 80 (la solution obtenue est dite solution 1/2). De cette dernière sont prélevés 100µl dilués de leurs tours dans 200µl de TWEEN 80 (la solution obtenue est dite solution 1/4). De même, la solution 1/8 et 1/16 et 1/32 est obtenue (fig3.8) dans le but de tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles à différentes concentrations.

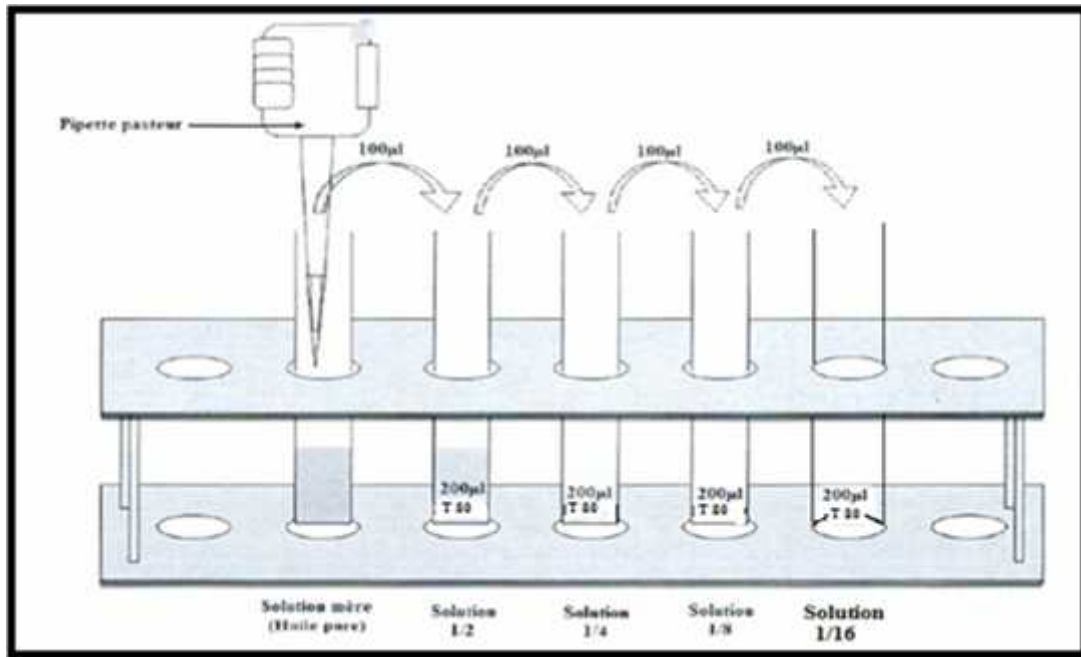


Figure III.6: Schématisation de la technique de dilution des huiles essentielles

Les disques de papier Whatman stérile de 9 mm de diamètre sont imbibés dans différentes dilution, puis disposés à la surface de la gélose ensemencées avec les différentes souches bactériennes, l'ensemble est incubé à 37°C.

Pour cette méthode, la CMI est définie comme la plus petite concentration d'extrait pour laquelle, il peut avoir un effet.

Chapitre 4

Résultats et Discussions



Chapitre IV: Résultats et discussions

IV.1. Introduction :

Dans cette partie d'étude, l'extraction des huiles essentielles d'*Allium Sativum*, leur caractérisation physico-chimique ainsi que leur activité antioxydants et antibactérienne font l'objet de discussion.

IV.2. Matière végétale:

IV.2.1. Détermination du taux d'humidité:

Pour calculer le taux d'humidité de l'ail, nous avons pesé la plante fraîche (gousses et feuilles) en suivant son poids jusqu'à sa stabilité (tableau IV.1 et tableau IV.2.)

Tableau IV.1 : Teneur en humidité d'*Allium Sativum* (gousses) d'ail récolté durant le moins de juillet 2014 en fonction de temps.

| | | | | | | | |
|-----------------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| T (jour) | 0 | 1 | 3 | 6 | 8 | 10 | 14 |
| Mv (gr) | 87 | 55 | 40.7 | 31.4 | 31.3 | 26 | 26 |
| Gousse | | | | | | | |
| H(%) | 0 | 36.78 | 53.21 | 63.90 | 64.02 | 70.11 | 70.11 |

Tableau IV.2 : Teneur en humidité d'*Allium Sativum* (feuilles) récolté durant le moins d'avril 2015 en fonction de temps.

| | | | | | | | |
|-----------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| T (jour) | 0 | 1 | 4 | 8 | 13 | 17 | 21 |
| Mv (gr) | 105 | 94 | 71 | 55 | 38 | 20 | 20 |
| Feuille | | | | | | | |
| H(%) | 0 | 11.70 | 32.38 | 47.61 | 63.38 | 80.95 | 80.95 |

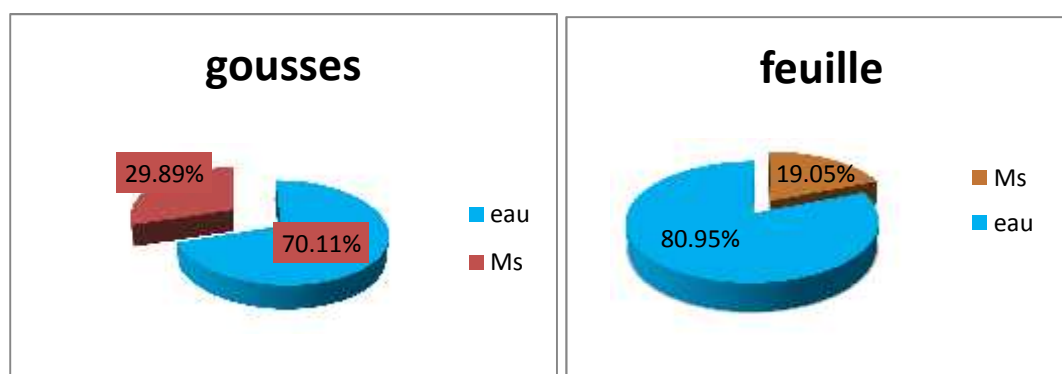


Figure IV.1 : Taux d'humidité de la matière végétale (gousses et feuilles) de l'ail.

Les résultats obtenus montrent que l'ail (gousses ou feuilles) renferme une quantité importante d'eau qui dépasse 70% pour les gousses et 80% pour les feuilles alors que la matière sèche représente une faible quantité (Fig IV.1).

La valeur d'humidité des gousses est similaire à celle obtenue par Raja Zouari Chekki et al. [42] originaire de Tunisie (66%) et supérieur à celle obtenue par Haciseferogullari[b]originaire de Turquie (62%).

IV.2.2. Extraction des HE d'*Allium sativum* par hydrodistillation

IV.2.2.1. Détermination de rendement :

IV.2.2.1.1. Etude cinétique de l'extraction des HE d'*Allium sativum* des gousses fraîches :

La cinétique d'extraction consiste à déterminer le rendement en fonction du temps d'extraction. Cette étude a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et pour éviter les pertes de temps et d'énergie. Le rendement en huile essentielle est exprimé par le gramme d'huile essentielle obtenue pour 250g de matière végétale fraîche. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV.3 et représentées par la figure IV.2.

Tableau IV.3 : Evolution du rendement des HE d'*Allium Sativum* (gousses fraîches) récoltées durant le mois de juillet 2014 en fonction de temps :

| | | | | | | | | | |
|---------------------|---|----|------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| t (min) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 |
| R _{HE} (%) | 0 | 0 | 0.05 | 0.067 | 0.08 | 0.085 | 0.096 | 0.096 | 0.096 |

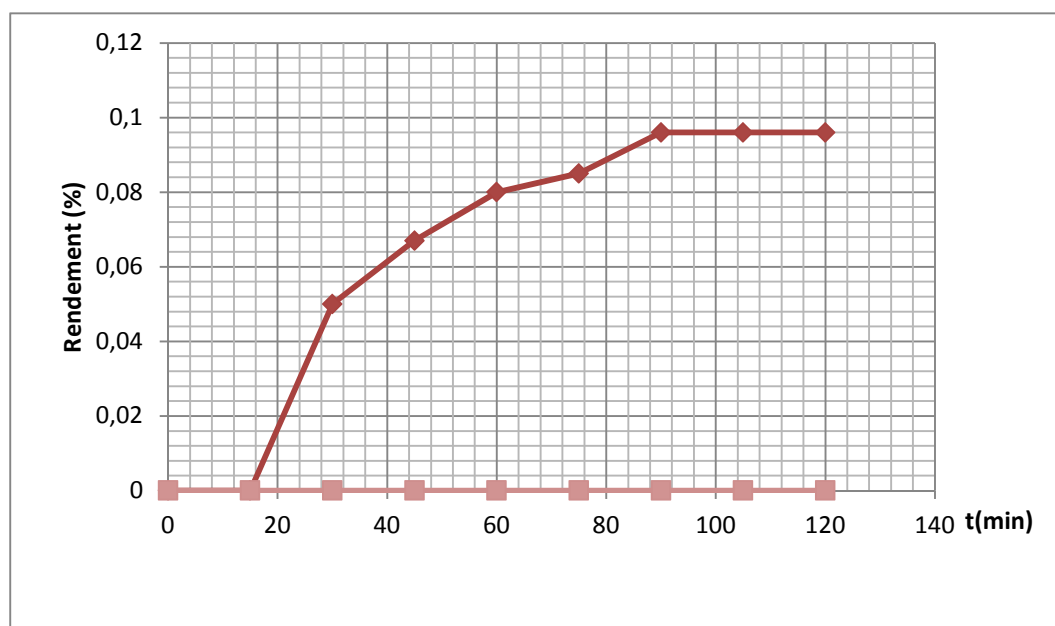


Figure IV.2 : Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses fraîches d'ail durant le mois de juillet 2014 par HD.

La cinétique se divise en trois étapes :

- dans la première, nous observons un pallier pour un rendement nul, correspondant à la phase de chauffage de la matrice.
- la seconde correspond à un saut marqué de la quantité d'HE récupérée (15-90mn).
- enfin, au cours de la troisième étape, la courbe tend vers un second pallier qui correspond au rendement maximum possible à atteindre.

La figure IV.2 montre que le rendement augmente en fonction du temps puis il se stabilise. Ce rendement augmente rapidement puis il tend vers un pallier à partir de 90mn où la matière végétale est alors totalement épuisée. La durée optimale d'extraction a été déterminée par 90min.

Le rendement en huile essentielle obtenue est comparable à celui obtenu par Khadri [40] avec la même espèce (plante fraîche) de la région de Skikda (0.09%). Il est très faible par rapport à celui de la région de Mostaganem (0.2%), obtenu par Benkeblia [45], et celui de la région de Biskra (1%) obtenu par Safa et al. [48].

Remarque :

Nous avons réalisé l'extraction de l'huile essentielle de l'ail à partir des feuilles fraîches et des feuilles séchées à l'air libre. Et les résultats obtenus montrent que les feuilles de l'ail ne contiennent pas des huiles essentielles.

IV.2.2.1.2. Etude cinétique de l'extraction des HE d'*Allium Sativum* sec :

Les résultats de la cinétique d'extraction par hydrodistillation et le rendement d'HE de l'ail sec récolté durant le mois de juillet 2014 sont récapitulés dans le tableau IV.4 et représentés par la figure IV.3.

Tableau IV.4. : Evolution du rendement des HE d'*Allium Sativum* sec récolté durant juillet 2014 en fonction de temps :

| t (min) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 |
|-----------------|---|----|-------|------|-------|------|------|------|------|
| HE de l'ail (%) | 0 | 0 | 0.067 | 0.20 | .0.29 | 0.38 | 0.41 | 0.41 | 0.41 |

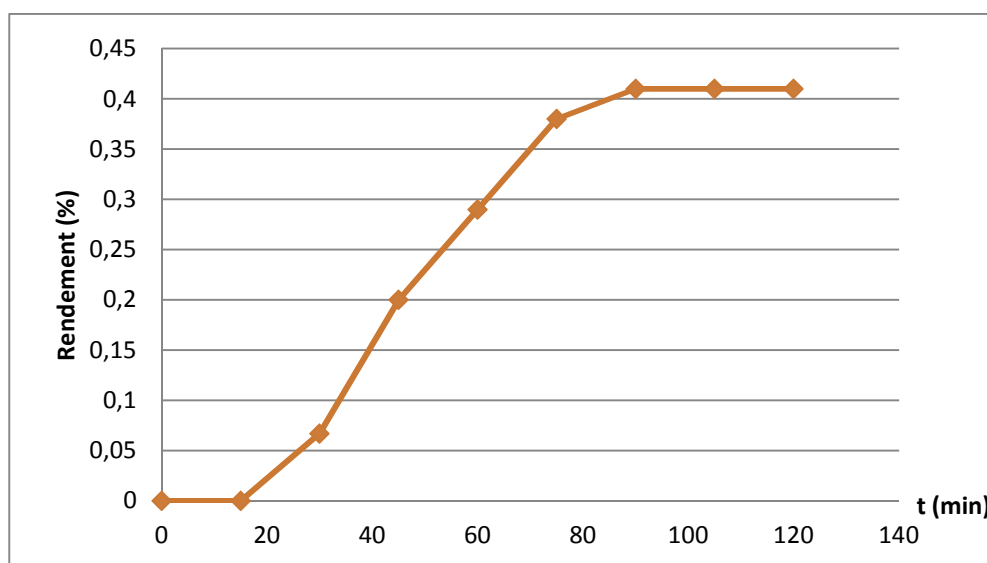


Figure IV.3 : Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses sèches d'ail récoltées en juillet 2014 par HD.

Les résultats montrent que le rendement des HE extraites à partir de la plante sèche varie proportionnellement en fonction de la durée d'extraction jusqu'à sa stabilité à

0.4% au bout de 90 min où la matière végétale est alors totalement épuisée. La durée optimale d'extraction déterminée est de 90 min.

IV.2.2.1.3 : Variation du rendement en HE des gousses sèches et fraîches d'ail

Les résultats obtenus du rendement des HE des gousses sèches et fraîches d'ail sont représentés sous forme d'histogramme.

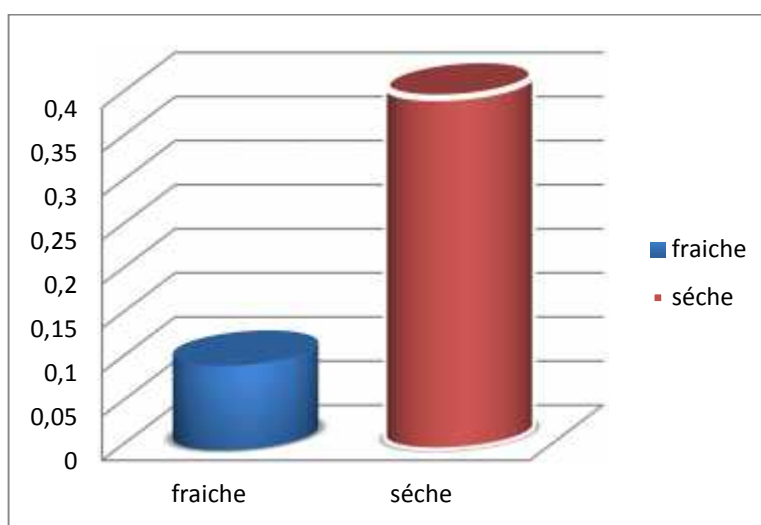


Figure IV.4: Rendement des huiles essentielles d'ail sec et frais

Les résultats obtenus montrent que le rendement en HE de l'ail sec (0.41%) est supérieur à celui de l'ail frais (0.096%) à savoir que l'ail contient plus de 65% d'eau, ce qui bien explique l'influence du taux d'humidité de l'ail sur le rendement en huile essentielle.

IV.2.2.2 : Variation du rendement en fonction de la période de récolte :

IV.2.2.2.1. Etude cinétique de l'extraction des HE des gousses fraîches d'*Allium sativum* (durant les mois de juillet 2014, avril et mai 2015)

Les résultats obtenus exprimant l'évolution du rendement d'extraction des HE des gousses fraîches de l'ail par HD et la cinétique d'extraction en fonction du temps

durant les mois de juillet 2014, d'avril et mai 2015 sont représentées dans le tableau IV.5 et la figure IV.5.

Tableau IV.5 : Evolution du rendement des HE des gousses fraîches d'*Allium Sativum* récoltées durant les mois de juillet, avril et mai en fonction du temps :

| t (min) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 |
|--|---|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| R_{HE} (%) (avril) | 0 | 0 | 0.014 | 0.027 | 0.032 | 0.043 | 0.043 | 0.043 | 0.043 |
| R_{HE} (%) (mai) | 0 | 0 | 0.02 | 0.035 | 0.045 | 0.050 | 0.058 | 0.058 | 0.058 |
| R_{HE} (%) (juillet) | 0 | 0 | 0.05 | 0.067 | 0.08 | 0.085 | 0.096 | 0.096 | 0.096 |

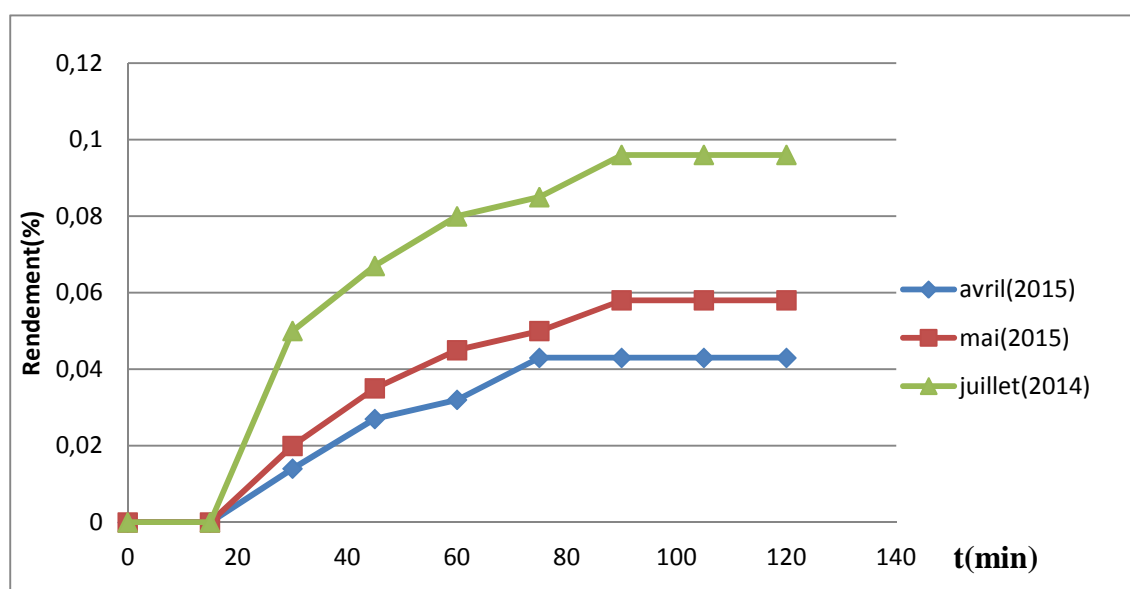


Figure IV.5 : Évolution du rendement d'extraction par HD des HE des gousses fraîches d'ail durant les mois de juillet 2014, d'avril et mai 2015

La figure IV.5 montre que le rendement des HE varie proportionnellement en fonction de la durée d'extraction. Le rendement d'extraction du mois de juillet 2014 est plus important que celui obtenu au mois d'avril et de mai 2015. Le meilleur rendement est celui de la plante récoltée au mois de juillet avec (0.096%) alors que celui du mois d'avril (0.043%). Ceci est dû peut être au fait que la culture de la plante n'a pas suffisamment accompli son cycle végétatif.

IV.2.3. Etude de l'extraction des HE *d'Allium sativum* assisté par induction électromagnétique (IEM):

IV.2.3.1. Etude cinétique de l'extraction des HE des gousses sèches *d'A. sativum* par IEM :

Les résultats obtenus de l'extraction des HE par IEM sont regroupés dans le tableau IV.6 et représentées par la figure IV.6.

Tableau IV.6 : Évolution du rendement d'extraction des HE des gousses sèches *d'Allium Sativum* (juillet 2014) par IEM en fonction du temps.

| Temps (min) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 |
|--------------|---|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| RHE (%) (IM) | 0 | 0 | 0,07 | 0,071 | 0,076 | 0,077 | 0,077 | 0,077 | 0,077 |

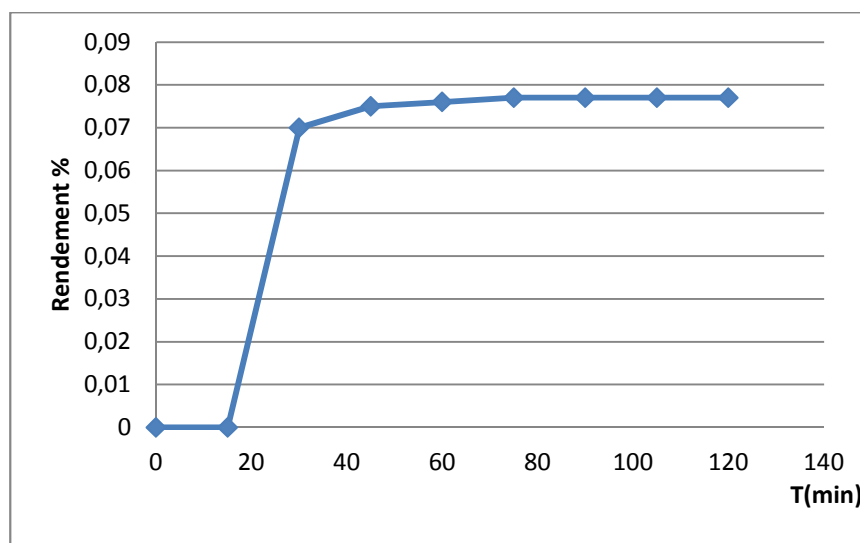


Figure IV.6 : Évolution du rendement d'extraction par IEM des HE des gousses sèches d'ail durant le mois de juillet 2014.

Les résultats montrent que le rendement des HE extraites à partir de la plante sèche varie proportionnellement en fonction de la durée d'extraction jusqu'à sa stabilité à 0,077% au bout de 60min. Le rendement obtenu par HD (0,41%) est plus élevé que celui obtenu par IEM (0,077%).

IV.3. Caractérisation et analyse de l'huile essentielle obtenue :

IV.3.1. Caractéristiques organoleptiques:

Les caractéristiques organoleptiques des HE de l'ail extraites par hydrodistillation à partir des gousses sont représentées dans le tableau IV.7.

Tableau IV.7. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de l'ail :

| Caractéristiques | Aspect | Odeur | Couleur |
|-----------------------|----------------|-----------------------------------|-------------|
| Notre HE | Liquide mobile | Caractéristique de l'ail frais | Jaune pâle |
| HE d'Iran [63] | Liquide mobile | Piquante | jaune clair |

Les résultats obtenus montrent que notre huile essentielle est un liquide jaune pâle, l'odeur est très forte soufrée.

IV.3.2. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles :

Les propriétés physicochimiques telles que : l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester...etc., constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité des huiles essentielles.

Les résultats des analyses physicochimiques des huiles essentielles de l'ail frais extrait par HD sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IV.8: Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de l'ail

| Caractéristiques | Notre HE | Iran [63] |
|---|----------|-----------|
| Indice de réfraction | 1.553 | 1.43344 |
| Ph | 3.5-4 | / |
| Indice d'acide(IA)(mg KOH/g HE) | 4.48 | 2.70 |
| Indice d'ester (IE)(mg KOH/g HE) | 196.35 | 194.74 |

✓ L'indice de réfraction des huiles essentielles *d'Allium sativum* est élevé, il est supérieur à celui de l'eau à 20°C (1.3356), cela dévoile leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.

✓ L'indice d'acide est un paramètre qui renseigne sur le taux d'acides gras libres existant dans une huile essentielle, sa valeur obtenue est de 4.48 mg de KOH/g de corps gras signifie que notre huile essentielle possède un taux d'oxydation élevé ce qui provoque une dégradation rapide des huiles essentielles.

✓ L'indice d'ester renseigne sur la longueur des chaînes d'acide gras. Pour un poids donné d'huile essentielle, l'indice d'ester augmente avec la diminution de la longueur des chaînes. Notre huile essentielle a une valeur de 196.35 mg de KOH/g de l'huile essentielle.

✓ Le pH obtenu indique que notre huile essentielle a un caractère acide.

Les résultats obtenus montrent que les valeurs sont voisines de celles obtenues par Ali Raf pour l'ail d'Iran [63].

IV.3.3. Analyses chromatographiques :

Les résultats de l'analyse des HE de l'ail sont représentés dans le tableau IV.9 et par les chromatogrammes (Fig.IV.8) et la figure IV.7.

Tableau IV.9 : Composition chimique des huiles essentielles d'*Allium sativum* L.

| Composé | temps de rétention (mn) | Aire (%) |
|------------------------------|-------------------------|-------------|
| NI | 6.281 | 4.1 |
| Methylallyldisulfide | 6.396 | 3.1 |
| 1-Methylbutanol | 6.549 | 1.3 |
| α -pinène | 6.824 | 0.9 |
| NI | 8.659 | 0.6 |
| Acetaldiethylque | 9.014 | 0.4 |
| Limonene | 9.286 | 0.6 |
| NI | 9.915 | 4.1 |
| Diallyldisulfide | 10.641 | 27.5 |
| Dithio(1-propenyl)propionate | 11.182 | 5.5 |
| NI | 11.605 | 7.5 |
| Methylallyltrisulfide | 12.157 | 4.9 |
| Camphor | 12.355 | 0.6 |
| Iso-bornylacetate | 15.875 | 8.2 |
| Diallyltrisulfide | 16.218 | 27.6 |
| Diallyltetrasulphide | 21.573 | 0.9 |
| Caryophylleneoxide | 22.531 | 0.5 |
| Total identifié | 81.1% | |

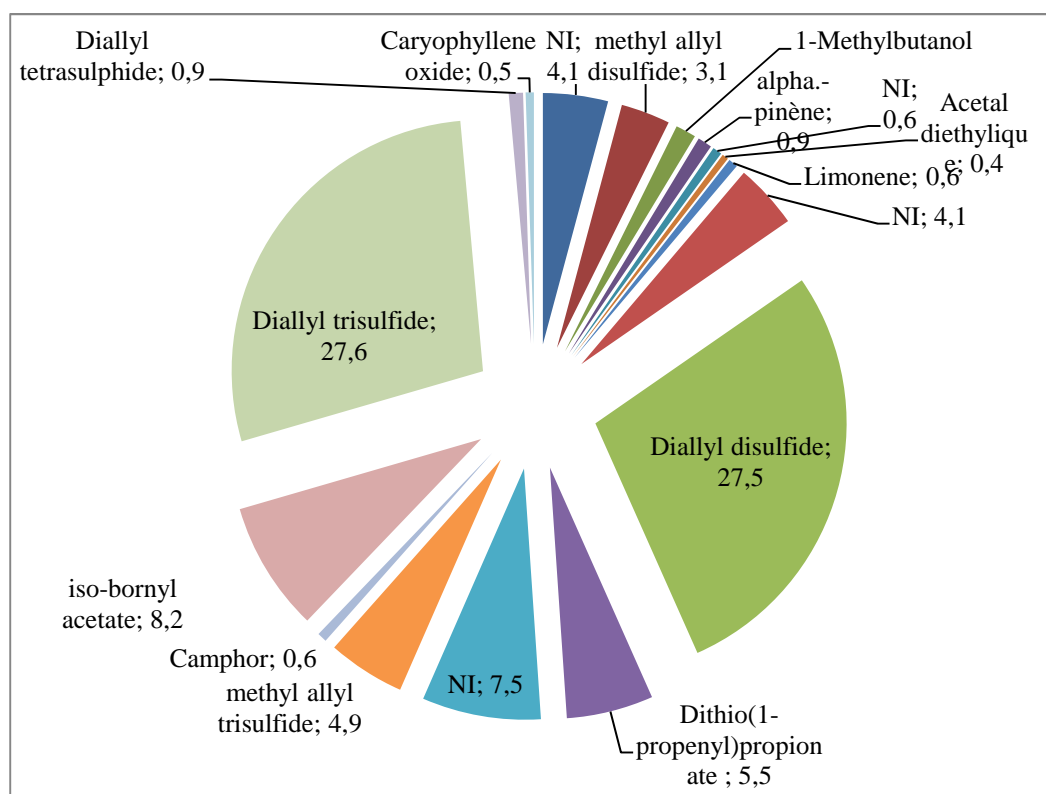


Figure IV.7 : Distribution en pourcentage des différents constituants de l'huile essentielle extraite des bulbes d'*Allium sativum*L.

L'analyse chimique par CG/SM a permis d'identifier treize composés représentant 81.1% de l'huile essentielle.

La figure IV.7 donne une distribution des différents composés contenus dans l'huile essentielle. Les principaux composés majoritaires sont : Diallyltrisulfide (27.6%), Diallyldisulfide (27.5%), Isobornylacetate (8.2%). Alors que les autres composants identifiés sont d'un pourcentage relativement faible.

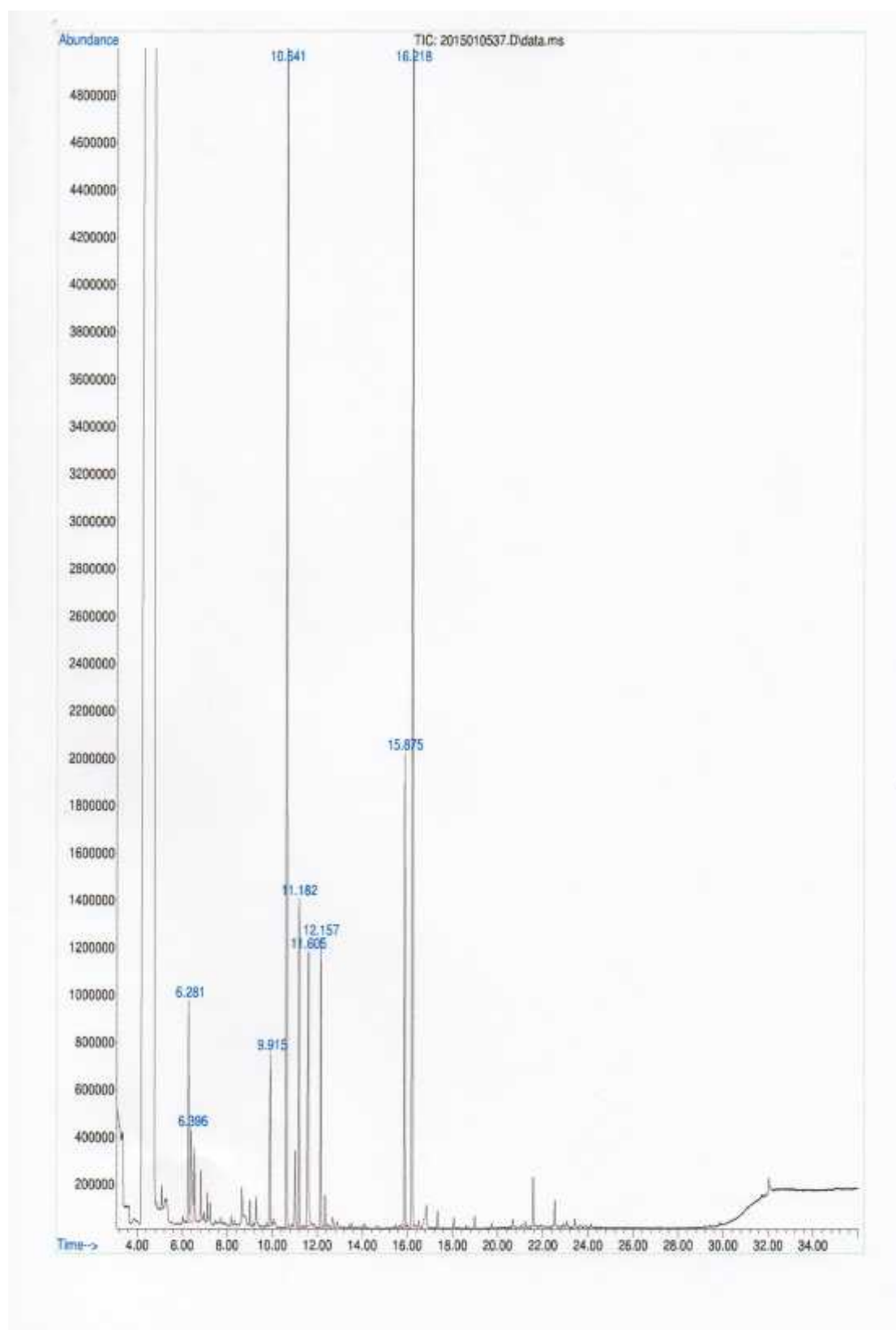


Figure IV.8 : Chromatogramme de l'huile essentielle des bulbes d'*Allium sativum*
Obtenu par hydrodistillation de la région d'Ain-Defla.

IV.4. Etude de l'activité antioxydante :

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante selon les deux méthodes (DPPH et FRAP) sont représentés dans les tableaux et les figures ci-dessous :

IV.4.1. Méthode du DPPH :

Le pourcentage d'inhibition du DPPH par l'huile essentielle d'ail et de la vitamine c sont représentés par la figure suivante :

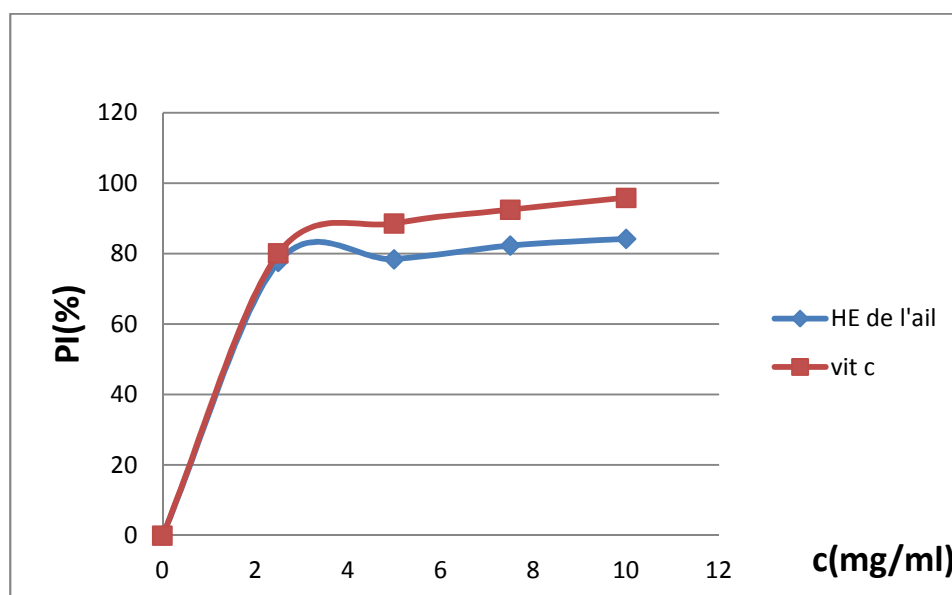


Fig. IV.9 : Activité antioxydants de l'huile essentielle de l'ail et de la vitamine c.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour l'huile essentielle de l'ail.

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile essentielle est inférieur à celui de la vitamine c pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 10mg/ml, l'huile essentielle a révélé un pourcentage d'inhibition du DPPH de 84.23% tandis que pour la vitamine C, il est de 95.9%. Notre HE présente alors une forte activité antioxydants, Il semble aussi que cette activité est liée à la présence de diallyl trisulfide et diallyl disulfide dans l'huile. Ces composés sont responsables de la réduction des radicaux libres fournis par le DPPH, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet au jaune la figure IV.11

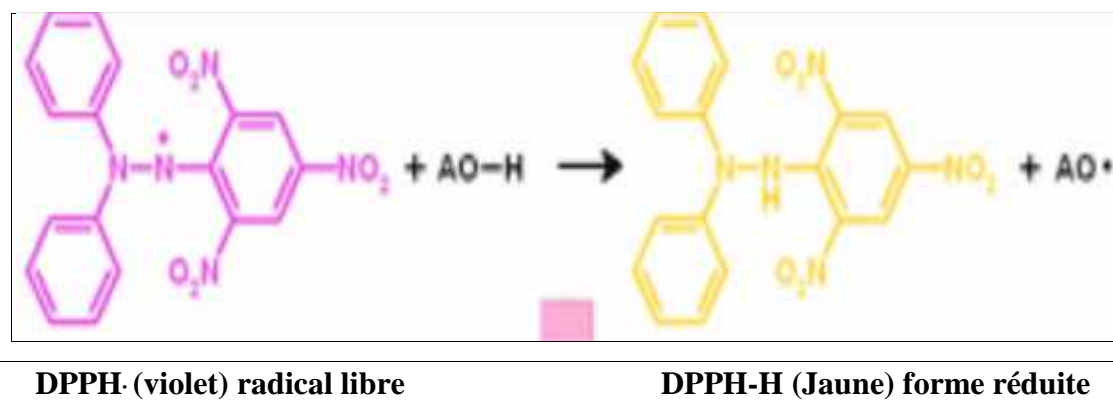


Figure IV.10 : Structure et mécanisme de réduction du DPPH• par un antioxydant [56].

- **Détermination IC₅₀ :**

L'IC₅₀ a été déterminée graphiquement à partir de la figure représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations.

Les valeurs d'IC₅₀ de l'huile essentielle de l'ail et de la vitamine C sont représentées par la figure IV.11 :

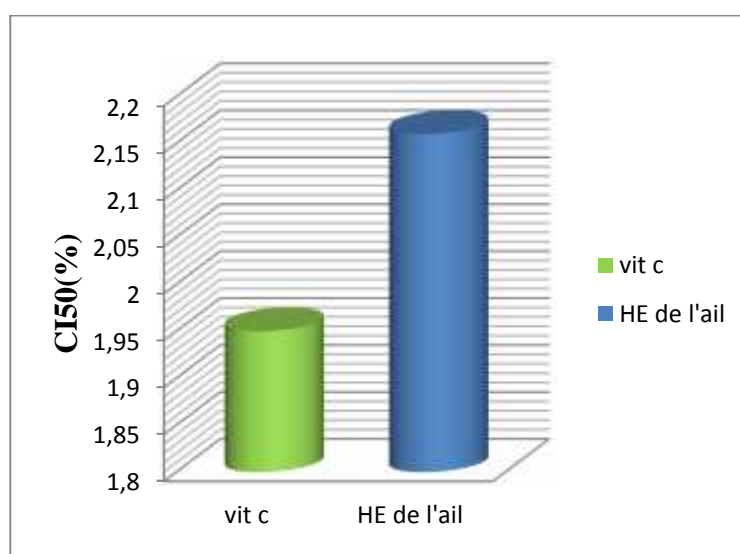


Figure IV.11 : Représentation schématique de la valeur IC₅₀ de l'ail et de la vitamine C

L'huile essentielle de l'ail pouvait ramener le radical libre stable (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec un IC₅₀ de 2.16 mg/ml montrant une activité antioxydants inférieure à celle de la vitamine C. Il semble, d'après ces

résultats, que la vitamine C est l'antioxydant le plus efficace avec un IC_{50} de 1.95mg /ml par rapport à l'huile essentielle étudiée.

IV.4.2. Méthode de FRAP (pouvoir réducteur) :

Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux et les figures suivant :

Tableau IV.10 : Absorbance de différentes concentrations de l'HE et la vitamine C (FRAP).

| Concentration (mg /ml) | 0 | 2,5 | 5 | 7.5 | 10 |
|------------------------|---|-------|-------|-------|-------|
| Abc(HE) (à700nm) | 0 | 0.405 | 0.430 | 0.440 | 0.661 |
| Abc (Vit C) (à 700nm) | 0 | 2.442 | 2.48 | 2.550 | 2.577 |

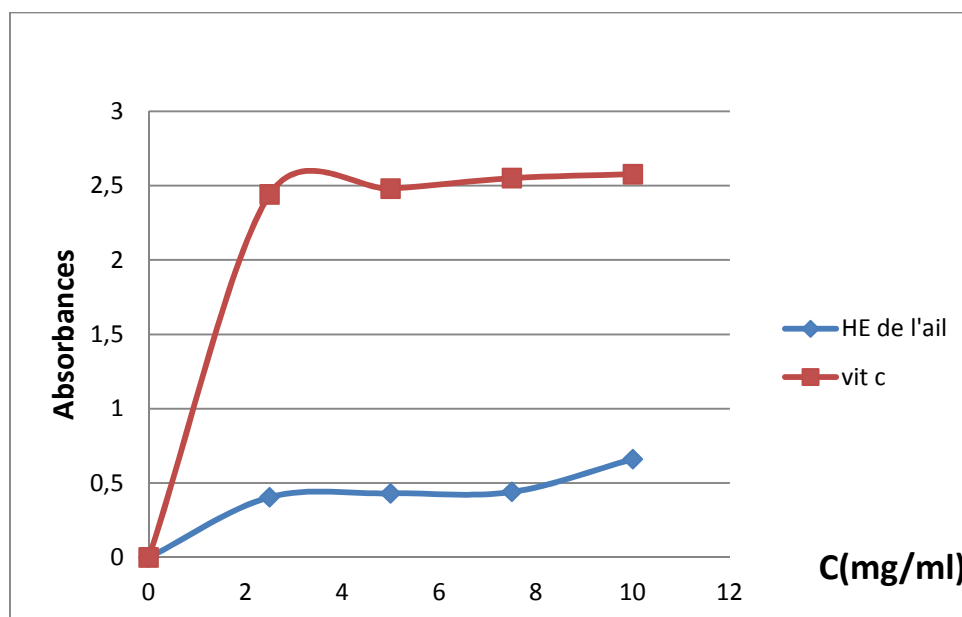


Figure IV.12 : Activité antioxydant de l'HE et de la vitamine C par la méthode du pouvoir réducteur

Les résultats obtenus dans la figure IV.12. Montrent que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'échantillon. Donc l'huile essentielle présente une activité antioxydants nettement inférieures à celles du produit de référence (vitamine c).

- **Détermination de l'IC₅₀**

L'IC₅₀ est déterminée graphiquement à partir des graphes représentant les valeurs de l'absorbance en fonction de la concentration. Le résultat est rassemblé dans le tableau IV.11.

Tableau IV.11 : Valeur de IC₅₀ par le test DPPH de l'ail et l'antioxydant de référence (vit C).

| Antioxydant | IC ₅₀ (mg/ml) |
|-------------|--------------------------|
| Ail | 3.84 |
| Vit c | 0.13 |

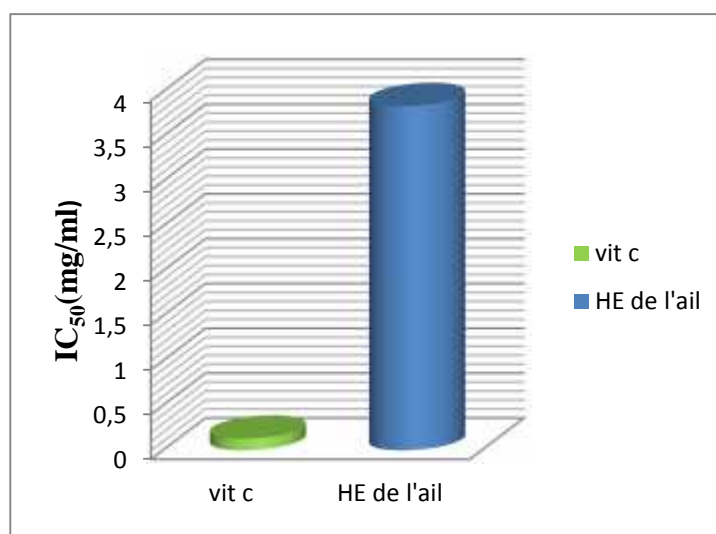


Figure IV.13 : Représentation schématique de la valeur IC₅₀ de l'ail et vit c

L'ensemble (HE et vitamine C) révèle des propriétés antiradicalaires intéressantes qui se manifestent par des faibles valeurs d'IC₅₀.

D'après ses résultats, un fort pouvoir antiradicalaire est noté pour la vitamine C se traduisant par un IC₅₀ assez bas.

IV.5. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Pour plus de précision, les tests sont répétés trois fois, donc pour chaque souche bactérienne on aura six boîtes de pétris dont la moyenne dans la zone d'inhibition sera plus significative.

IV.5.1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne :

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al [64]. Les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne sont classés comme suit :

- Très fortement inhibitrice : D > 30mm
- Fortement inhibitrice : 21mm < D < 29mm
- Modérément inhibitrice : 16mm < D < 20mm
- Légèrement inhibitrice : 11mm < D < 16mm
- Non inhibitrice : D < 10mm

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IV.12 et par la figure IV.14.

Tableau IV.12 : Diamètres de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition d'HE pur vis-vis des souches testées.

| Souches bactériennes | Diamètre de la zone (mm) | Pourcentage d'inhibition(%) |
|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 18 | 20 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 12 | 13.33 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 0 | 0 |

Selon l'échelle citée par Mutai et al. L'HE de l'ail pure présente une activité modérément inhibitrice pour *Escherichia coli*, et légèrement inhibitrice pour *Staphylococcus aureus* et aucune activité sur *Pseudomonas aeruginosa*. L'HE pure diminue la masse mycélienne d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* respectivement de 20 et 13.33%. Le diamètre d'inhibition le plus élevé est obtenu avec *Escherichia coli* et le plus faible avec *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure IV .14: Effet antibactérien de l'huile essentielle de l'*Allium sativum* pur sur les souches testées

IV.5.2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail

Les résultats de l'activité antibactérienne des dilutions des HE sont représentés dans les tableaux (IV.13, IV.14) et par la figure IV.15.

Tableau IV.13 : Valeur des diamètres de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition des dilutions d'HE de l'ail vis-vis des souches testées.

| concentration (V/V) Souches bactériennes | 1/2 | PI % | 1/4 | PI % | 1/8 | PI% | 1/16 | PI% |
|---|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| | <i>Escherichia coli</i> | 16 | 17 | 13 | 14 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 17 | 18 | 17 | 18 | 15 | 16 | 14 | 15 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tableau IV.14. Concentration minimales inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle d'ail.

| Souches | CMI (V/V) |
|-------------------------------|-----------|
| <i>Escherichia coli</i> | 1/4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1/16 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 0 |

D'après les résultats nous constatons que l'HE de l'ail présente une activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries testées, sauf *Pseudomonas aeruginosa* qui se révèle résistante, contrairement à *Staphylococcus aureus* qui est montré le plus sensible. Il a été inhibé à partir de la concentration minimale de 1/16 (v/v). La concentration de 1/4 (v/v) a été suffisante pour arrêter la croissance d'*Escherichia coli*.



Figure IV.15 : Effet antibactérien des différentes dilutions d'huile essentielle d'*Allium sativum* L sur les souches testées.

Conclusion Générale

Conclusion générale

L'objectif de ce travail consiste à réaliser l'extraction, la caractérisation et les tests de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Allium stivium* de la région d'Ain-Defla.

L'extraction a été réalisée par un procédé avec deux modes de chauffage : l'extraction par l'hydrodistillation (HD) et l'extraction assistée par l'induction électromagnétique (IEM). Les résultats obtenus montrent que l'extraction des bulbes de l'ail sec par HD donne un rendement en huile essentielle (0.41%) supérieur à celui de l'IEM (0.077%), aussi ce rendement dépend de la période de récolte et l'état de la plante.

Les résultats de l'analyse par CG/SM des huiles essentielles a permis d'identifier 13 composants. Le diallyl trisulfide (27.6%), diallyl disulfide (27.5%), et l'iso-bornyl acétate (8.2%) représentent les composés majoritaires.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de réduction de fer et celle du piégeage de radical libre DPPH a montré que notre huile essentielle présente une forte activité antioxydante avec la grande capacité de capturer les radicaux libres fournis par le DPPH en comparaison à la vitamine C. la concentration d'inhibition du 50% du radical libre DPPH, varie selon le produit examiné (1.95 mg/ml pour la vitamine C), notre huile 2.16 mg/ml. Il est à noter que le pouvoir réducteur de l'huile essentielle est moyen mais nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique avec $IC_{50}=0.13$ mg/ml pour la vitamine C et 3.84 mg/ml pour l'huile.

L'étude de l'effet antibactérien des huiles essentielles extraites d'*Allium sativum* a été illustrée par le test de l'aromatogramme en les émulsifiant avec le DMSO pour assurer une bonne incorporation de différentes concentrations (1/2, 1/4, 1/8 et 1/16) dans le milieu de culture. Les résultats obtenus ont montré que *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* présente une sensibilité moyenne alors que *Pseudomonas aeruginosa* présente une résistance très importante.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenu in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront confirmer les performances mise en évidence de la plante.

Références

Bibliographiques



Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] Guignard J-L., Henry M. Abrégé de phytochimie. Masson; Prs New York Barcelone Mexico Sao Paulo (1985). P 121-124
- [2] FAO -The Food and Agriculture Organization, 2014.
- [3] Cui Z-W., Xu S-Y., Sun D.W., Dehydration of garlic slices by combined microwave-vacuum and air drying. *Drying Technology*, 2003, 21 (7): 1173-1184
- [4] Choi MK, Chae K, Lee J, Kung K. antimicrobial activity of chemical substances derived from *S-alk(en) l-cysteine sulfoxide (allin)* in garlic, *Allium sativum* food – biotechnol, 2007 ;16 :16 :1-7.
- [5] Moore GS, Atkins SR. The fungicidal and fungistatic effects of an aqueous garlic extract on medically important yeast-like fungi. *Mycologia*, 1997, 69:341-84.
- [6] Anonyme. Savoir reconnaître et utiliser les bulbes à fleurs – Centre International des Bulbes à Fleurs –Pays-Bas, 1993.
- [7] Bernice Dethier, contribution à l'étude de la synthèse de l'alliine de l'ail, université de Liège. p2-10, 2009.
- [8] Cui Z-W., Xu S-Y., Sun D.W., Dehydration of garlic slices by combined microwave-vacuum and air drying. *Drying Technology*, 2003, 21 (7): 1173-1184
- [9] Séverine J. apport des drogues végétales dans la présentation des maladies cardiovasculaires liées à l'hypercholestérolémie thèse de doctorat université Henri Poincaré-Nancy 1 p 36 2005
- [10] Block E. The organosulfur chemistry of the genus *Allium*. Implications for the organic chemistry of sulphur. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1992) .31 (9) 1135-1178.
- [11] Teuscher E, Anton R, Lobstein A. Plantes aromatiques. Épices, aromates, Condiments et huiles essentielles, Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 2005, p. 361-5
- [12] WHO monographs on selected medicinal plants vol. I, World Health Organization, Geneva, 1999, pp. 16-32
- [13] Girre, L. Connaître et reconnaître les plantes médicinales Rennes: Ouest France, 1980.- 333 p
- [14] Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles –Alger 2010
- [15] Clément J.M. Larousse agricole. Librairie Larousse Paris 1981, p1208.

Références bibliographiques

- [16] Chaux Cl., FouryCl. Production légumière - tome1. Généralités (série Agriculture d'aujourd'hui) Edition Tec et Doc Lavoisier Paris, Londres, New York 1994.
- [17] Benzeggouta N..Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Thèse de Magister en Pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine. 2005.
- [18]Favier J.C, Ireland Ripet J, Toque C, FeinbergM. « Répertoire général des aliments » Table de composition INRA, CNEVA, CiquaTec et Doc /Paris1995 p 897.
- [19]Souci S.W, FachmannW, Krant H, La composition des aliments ; Tableaux de valeurs nutritives5ème editionMedpharm, CRC preo/Germany, 1994,p 1091.
- [20] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils –A review. Food and Chemical Toxicology2008; 46: 446–475.
- [21] Pourmortazavi SM, Hajimirsadeghi SS. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. Journal of Chromatography A2007; 1163:2–24.
- [22] Bruneton J. Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales Techniques et documentations, 3ème Edition, Lavoisier. (1999).
- [23] Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S and Itakura Y. Intake of garlic and its bioactive components. Journal of Nutrition.2001, 131, 955s-962s.
- [24] Meddeb wiem Etude des effets des rayonnement ionisants sur les proprietes biochimique et biologiques de l'ail (allium sativum) mémoire de magistare Université 7 novembre a cartage 28 Août 2008.
- [25] Baudoux, D., ZHIRI, A. Huiles essentielles chemotypées et leurs synergies Edition Inspir, 2009.
- [26] Silagy C.A., Neil H.A., A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. Journal of Hypertension, 1994.12 (4) : 463-468.
- [27]Paul Goetz Kamel Ghedira Phytothérapie anti-infectieuse Université de Monasti 978-2-8178-0057-8 Springer-Verlag France, Paris, 2012.
- [28] Chiang Y., Jen L., Su H., Lii C., Sheen L., Liu C., Effects of garlic oil and two of its major organosulfur compounds, diallyl disulfide and diallyltrisulfide, on intestinal damage in rats injected with endotoxin. Toxicology and Applied Pharmacology, 2006.213 (1): 46-54.

Références bibliographiques

- [29] Ali M, Bordia T, Mustafa T) Effect of raw versus boiled aqueous extract of garlic and onion on platelet aggregation. ProstaglandinLeukot Essent Fatty Acids, 1999 ; 60(1): 43-7
- [30] Makheja AN, Bailey JM ,Antiplatelet constituents of garlic and onion. Agents and actions 1990.29: 360-3
- [31] Srivastava KC, Justesen U. Isolation and effects of some garlic components on platelet aggregation and metabolism of arachidonic acid in human blood platelets. Wiener KlinischeWochenschrift,1989 ;101: 293-9
- [32] Srivastava KC, Tyagi OD. Effects of a garlic-derived principle (ajoene) on Aggregation and arachidonic acid metabolism in human blood platelets. Prostagland LeukotrEssent Fatty Acids,1993 ;49: 587-95
- [33] Steiner M, Li W. Aged garlic extract, a modulator of cardiovascular risk factors: a dose-finding study on the effects of AGE on platelet functions. J Nutr,2001 ; 131: 980S-4S
- [34] Les plantes et les médicaments: l'origine végétale de nos médicamentsParis: Delachaux et Niestlé, 2001, 253 p.
- [35] Chaux cl., Foury cl. Production légumière - tome1. Généralités (série Agriculture d'aujourd'hui). Edition Tec et Doc. Lavoisier Paris, Londres, New York(1994).
- [36] Bougatef A, Hajji M, Balti R, Lassoued I, Triki-Ellouz Y and Nasri M Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelusmustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry, (2009). 114, 1198-1205.
- [37] Gulcin I, Alici H A and Cesur M (2005).Determination of *in vitro* antioxidant and radical scavenging activities of propofol.Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 53(3), 281-285
- [38] Deblmas A-M.Guide des plantes dangereuses - 2e éd.Paris: Maloine, 1983.- 200 p.
- [39] FAOSTAT, banque de données de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. <http://faostat.fao.org/> (17/03/2010).
- [40] Khdiri S. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'ail cultivé (*Allium sativum*) de l'est Algérien vis-à-vis de différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa*.Mémoire de Magister,UnivBadji Mokhtar de Annaba. 2010, **11** (4), pp. 421 – 428

Références bibliographiques

[41] Emad A. Shalaby¹, N. F. Nasr and Samia M. El Sherief. An *in vitro* study of the antimicrobial and antioxidant efficacy of some nature essential oils. *J. of Med. Plants Res.* Vol. 5(6), pp. 922-931, 18 March, 2011

[42] Zouari Chekki R., Snoussi A., Hamrouni I. and Bouzouita N. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2014, 3(4), 947-956

[43] Pyun M.S., Shin S., *Phytomedicine*, 2006, 13, 394-400.

[44] Andreatta, A. 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering, 2005, 19.

[45] Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*; 2004, 37:263-268.

[46] Haciseferogullari H., Ozcan M., Demir F., Calisir S. (2005). Some nutritional and Technological properties of garlic. *J. of Food Eng.*, 68: 463-469.

[47] Lawrence R., Lawrence K. Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium Sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2011), 1-3.

[48] Benmedour Tarek, Laouar Hocine, Benabdi Amira Afaf, Brahimi Safa, évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de trois espèces du genre *Allium* : *A. cepa*, *fistulosum* et *sativum* cultivées dans le périmètre agricole de Doussan (wilaya de Biskra) Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, Mars 2015, pp.09-14.

[49] Johnson Oo, Ayoola GA, Adenipekun T. Antimicrobial Activity and the Chemical Composition of the Volatile Oil Blend from *Allium sativum* (Garlic Clove) and *Citrus reticulata* (Tangerine Fruit). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, octobre 2013; 5(4): 187-193

Références bibliographiques

[50] Boughal S. Etude et optimisation du séchage solaire des produits agro-alimentaires dans les zones arides et désertiques. Thèse de Doctorat en Génie mécanique, Université de Batna, 2010, pp.28.

[51] Caree P. Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed. Ballière JB. Et fils, (1953).

[52] Food and Agriculture organisation (FAO), industrial development organization (UNIDO). Herbs, spices and essential oil-post harvested operations in developing countries, 2005

[53] Bruneton J. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3^{ème} Ed), Technique et Documentation (Paris), 1999; pp: 484.

[54] Rivera L. Etude de l'extraction des métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe; thèse de doctorat ; Institut National Polytechnique de Toulouse, Juillet 2006.

[55] Adams RP. Identification of essential oil component by gas chromatography /quadrupole mass spectroscopy. carolstream, il, USA : allured publishing co. 2001.

[56] Ramadan MF. Rapid antiradical method for screening deep fried oils. Journal of Consumer Protection and Food Safety 2010; 5: 47-50.

[57] Burits M. et Bucar F.: Antioxidant activity of *Nigella sativa*, essential oil phytotherapy Research, (2000), 14, p. 323-328

[58] Jayprakash, G. K., R.P. Singh. "Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro." Food Chemistry, (2001). 73 (3): pp 285-290

[59] Oyaizu M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. Jpn. J. Nutr. 1986, 44, pp. 307-315.

Références bibliographiques

[60] Haddouchi F. et Benmansour A. (2008). Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques: Applications à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire. 8 (3), pp. 20-27.

[61] Essawi T. et Srour M. Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. J. Ethnopharm. 2000. 70p. 343-349

[62] Bouzidi M.A., Latrèche A., Attaoui I., Mehdadi Z., Benyahia M., Bouguenaya N. et Meliani H. Caractérisation et valorisation des polysaccharides pariétaux d'*Urginea panchratium* (Steinh) Phil. de Djebel Tessala (Nord-Ouest Algérien). Les Technologies de Laboratoire. (2010). 5 (19): 23-29.

[63] Ali Rafe, Mohsen Saberi Nadjafi. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) oil: Effect of extraction procedure International Journal of Nutrition and Food Sciences 2014; 3(6-1): 1-5

[64] Mutai C, Bii C, Vagias C, Abatis D, Roussis V ; « Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupanetripenes » ; Journal of Ethnopharmacology; doi:10.1016/j.jep. 02.007. 2009.

Annexes

Annexe 1



Fiole de DPPH (violet)

DPPH réduit (jaune)

Figure 1 : représentation de la couleur DPPH avant et après la réduction.



Figure 2 : photo représente la réduction de l'ion ferrique (Fe^{+3}) en ion ferreux (Fe^{+2}) en présence d'un antioxydant(HE).

Annexe 2



Figure 3 : photo représente la plante de l'ail durant le moins d'avril 2014



Figure 4 : photo représente la plante de l'ail durant le moins de mai 2014.

Annexe 3

1. Les propriétés organoleptiques : [anonyme.2001]

➤ Aspect :

L'aspect d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent qui peut nous apparaître sous forme solide .il est lié à la nature du produit désiré ainsi qu'au pouvoir de dissolution de la matière végétale.

➤ L'odeur :

L'odorat est un sens chimique très sensible, de plus, d'après la nature du système olfactif, une substance pour être sentie, elle doit être volatile.

➤ Couleur :

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui constituent l'extrait. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigment, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée.

2. Indice physico-chimique des huiles essentielles étudiées :

2.1. Les propriétés physiques :

Pour obtenir des données sur la composition et le degré de pureté des HE et dans certains cas, pour identifier, on procède à l'étude de ses propriétés physiques et chimiques.

Les méthodes physiques d'examen pour l'analyse des HE s'attachent surtout à la détermination de la densité, l'indice de réfraction, du point de congélation, et sur le pouvoir rotatoire.

➤ Détermination de L'indice de réfraction :[Hellal.Z,2011]

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un réfractomètre d'Abbé Prisma-CETI convexe. Le produit étalon de qualité pour réfractométrie servant à ajuster le réfractomètre c'est l'eau distillée (1,333). Quand la détermination est réalisée à une température différente de 20 °C, on effectue la correction à 20 °C par le biais de la formule suivante [67] :

$$I_{20} = I_T + 0,00045 (T - 20 \text{ } ^\circ\text{C})$$

2.1

I₂₀ : indice à 20 °C ;

IT : indice à la température ambiante ;

T : température ambiante.

❖ **Détermination:**

On dépose quelques goutte d'huile essentielles de l'ail sur le prisme de réfractomètre, et on attend que la température se stabilise (on lit la température sur le thermomètre fixé sur le réfractomètre) puis on lit l'indice de réfraction à l'aide des échelles.

➤ **Détermination de pH:**

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un papier pH.

Remarque : Cette mesure a été effectuée en utilisant du papier pH au lieu d'un pH-mètre en raison de l'insuffisance du produit (huile essentielle).

2.2. Les propriétés chimiques [Normes AFNOR, 1992]:

• **Détermination de l'indice d'acide :**

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE.

❖ **Principe :**

L'indice d'acide des huiles essentielles revient à neutraliser les acides libres de celles-ci par l'hydroxyde de potassium (KOH).

❖ **Réactifs:**

Au cours de l'analyse on utilise uniquement des réactifs de qualité reconnus.

- Ethanol, à 95 % (v/v) à 20 °C,
- Hydroxyde de potassium, KOH (0.1 mol/L),
- Phénolphtaléine (indicateur coloré), à 2 g/L dans de l'éthanol.
- L'huile essentielle de l'ail.

❖ Détermination:

Introduire 0.5 gr d'huile essentielle de l'ail dans une fiole. Ajouté 5 ml d'éthanol, et 5 gouttes de Solution de phénolphtaléine comme indicateur, et neutraliser le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium contenue dans la burette. Quelque secondes. si la couleur de la solution est variée on arrête le titrage.

En fin de titrage lire le volume de KOH consommé pour calcul l'indice d'acide à l'aide de la relation suivant :

$$IA = (56.1 \times N \times V) \div m$$

2.2

V : Volume en ml de la solution éthanolique de KOH utilisé pour le titrage.

m : Masse en grammes de huiles essentielles.

N: Concentration de KOH.

Réserver éventuellement la fiole et son contenu (A) pour la détermination de l'indice d'ester.

• Détermination de l'indice d'ester [Normes AFNOR, 1992] :

L'indice d'ester (IE), est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium Nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme d'huile.

❖ Principe:

Hydrolyse des esters par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium, et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique

❖ Réactifs:

- Solution prévenant de la détermination de l'indice d'acide.
- Hydroxyde de potassium, KOH (0.5 mol/L).
- Phénol phtaléine (indicateur coloré), à 2 g/L dans de l'éthanol.
- Acide chlorhydrique, HCL (0.5 mol/L).
- l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente

❖ Détermination:

Dans un ballon, on introduit la solution prévenant de la détermination de l'indice d'acide, on ajoute 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (0.5 mol/L). On adapte le tube en verre ou un réfrigérant et on place le ballon sur le bain d'eau bouillant et on l'y laisse pendant 1 h. On laisse refroidie puis on démonte le tube et on ajoute 20ml d'eau puis 5 gouttes de la solution de phénol phtaléine. On titre l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique. L'indice d'ester IE est donné par la formule suivante:

$$IE = [(28.05 \times (v_0 - v_1)) \div m] - IA$$

2.3

V₀: est le volume, en millilitre, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc (même mode opératoire, en éliminant l'huile).

V₁ : est le volume, en millilitre, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour la Détermination.

m : est la masse, en gramme, de la prise d'essai.

IA : la valeur de l'indice d'acide déterminée.

Annexe 4

1. Agar Muller Hinton (MH) :

Pour tester l'activité biologique des souches bactériennes nous avons utilisé le milieu gélose Muller Hinton (MH) ; Ce milieu est composé de:

- 300g d'infusion de viande de boeuf.
- 17,5 g. Hydrolysate acide de caséine
- 1,5 g d'amidon.
- 17 g d'agar.

❖ Préparation MH :

38g de MH sont fondus dans 1L d'eau distillée. Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 7,3 et Stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.

Glossaire

Glossaire

Analgésique : démunie ou supprime la douleur.

Antiseptique: ce qui détruit les microbes et évite l'infection.

Aromate: substance végétale odoriférante utilisée en médecine, en parfumerie ou en cuisine.

Aromathérapie: Thérapeutique par ingestion, massage du corps ou inhalation d'huiles essentielles végétales ou d'essences aromatiques.

Anti-inflammatoires : qui combat les inflammations

Cholérétique: toute substance qui stimule la sécrétion de la bile.

Etamine: organe mâle des végétaux.

Inflorescence : Mode de groupement des fleurs sur une plante, ou l'ensemble de ces fleurs. Les principaux types d'inflorescence : grappe, épi, ombelle, capitule, cyme

Périanthe: Ensemble des enveloppes florales (calice et corolle) qui entourent les étamines et le pistil.

pH : l'abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes (H+) (appelés aussi couramment protons) en solution

Ombelle : Inflorescence dans laquelle les pédoncules partent tous d'un même point pour s'élever au même niveau.

Vermifuge : expulse les vers de l'intestin

Diurétique: stimule la sécrétion de l'urine et augmente l'élimination des toxiques

Alcaloïde molécule cyclique comportant un atome d'azote ce qui la rend Basique

Flavonoïdes molécules appartenant à la famille des polyphénols (constitués de plusieurs groupes phénols). Ils possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitué de 2 phényl- (A et B) reliés par une chaîne en C3

Monocotylédones ou Monocots = plantes dont l'embryon possède un cotylédon lui servant de réserve d'énergie

Polysaccharide complexe moléculaire formé par l'assemblage de plusieurs Monosaccharides (on parle de polymérisation d'unités osidiques)

LDL: Ils transportent le cholestérol du foie vers les tissus périphériques. Les cellules Présentent des récepteurs sur lesquels se logent les LDL

HDL: Ils contiennent des proportions plus faibles de cholestérol. Ils transportent le surplus de lipides des tissus périphériques vers le foie.