



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN

Faculté des Sciences de la Nature et la Vie et Science de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Laboratoire des « Produits Naturels »
Laboratoire des Antibiotiques des Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et activité biologique

Mémoire

Présenté par :

M^r BOUAYED Abdellatif

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master

En Biologie, Option : Biochimie : Molécules Bioactives

Thème

**Contribution à l'étude du pouvoir antifongique et
antioxydant des huiles essentielles
de *Juniperus oxycedrus* (Taga) de la région de Tlemcen**

Soutenu le 15 -06-2017, devant le jury composé de :

Président : M^{me} ATIK-BEKKARA F. Professeur Université de Tlemcen

Examineur : M^{elle} BENARIBA N. Maître de Conférences « A » Université de Tlemcen

Encadreur : M^{me} BEKHECHI C. Professeur Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2016 – 2017

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements, sacrifices et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Puisse Dieu leur accorder santé, bonheur et longue vie.

A mes frères, à qui je dois tout l'amour, avec tous mes vœux de les voir réussir dans leurs vies.

A mes chers grands parents, que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A mes meilleurs amis, à qui je souhaite le succès pour l'amitié qui nous a toujours unis.

A tous ceux qui m'ont apporté l'aide de près ou de loin.

Remerciements

L'encadrement scientifique de cet humble travail a été réalisé au laboratoire des « Produits Naturels », sous la direction de M^{me} **BEKHECHI Chahrazed**, Professeur à l'Université de Tlemcen. Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon thème de recherche.

Mes plus grands remerciements vont à notre responsable de spécialité M^{elle} **BANARIBA Nabila**, Maître de Conférences « A » à l'Université de Tlemcen, son empathie, sa sincérité ainsi sa gentillesse n'auront eu de cesse de rendre le déroulement de la formation agréable. Je la remercie encore pour avoir bien voulu participer à ce jury.

Je tiens particulièrement à remercier M^{me} **ATIK-BEKKARA Fewzia** Professeur à l'Université de Tlemcen, en acceptant d'être le président de ce jury.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur **HASSANI Fayçal**, Docteur à l'Université de Tlemcen, pour son aide à l'identification de cette espèce végétale.

Je tiens à remercier également M^{elle} **BOUSSAID Maghnia**, Docteur en Biologie pour son aide, ses conseils et sa disponibilité au laboratoire durant tout le long de ce travail.

Enfin, ma profonde gratitude va à l'égard de toutes les personnes qui ont aimablement contribué à la réalisation de ce travail par leur aide et encouragement.

Résumé

Dans le but de valoriser les plantes médicinales algériennes, nous sommes intéressés dans ce mémoire à l'étude des activités biologiques des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* L. (Taga) poussant spontanément dans la région de Tlemcen.

Les huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* collectés au niveau de quatre stations différentes dans la région de Tlemcen ont été extraites par hydrodistillation. Les rendements obtenus sont très variables avec des moyennes de l'ordre de 0,10 à 0,28%.

L'activité antifongique de ces huiles essentielles a été étudiée par la méthode des disques vis-à-vis de huit souches fongiques de *Candida albicans* dont six souches d'origine de la cavité buccale des patients porteurs de prothèses amovibles et deux souches de référence. Tous ces champignons se sont montrés très résistants avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 6 et 11 mm.

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de la réduction du radical DPPH•. Les résultats révèlent que ces huiles ont une faible capacité réductrice avec une CI_{50} de 121 à 167 mg/ml, en comparaison avec l'antioxydant de référence ($CI_{50} = 0,062$ mg/ml).

Mots clés : *Juniperus oxycedrus*, huile essentielle, activité antioxydante, activité antifongique, CI_{50}

TABLE DES MATIERES

	Page
Introduction.....	1
1^{ère} partie : Synthèse bibliographique	4
Chapitre I : Synthèse bibliographique sur <i>Juniperus oxycedrus</i>	5
I.1 Présentation de la famille des Cupressacées	5
I.2 Généralité sur le genre <i>Juniperus</i>	5
I.3 Classification de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i>	6
I.4 Biogéographie du genre <i>Juniperus</i>	6
I.5 Description botanique	6
I.6 Usage de la plante.....	7
I.7 Travaux antérieurs	7
I.7.1 Composition chimique des huiles essentielles	7
I.7.2 Activités biologiques des huiles essentielle	10
Chapitre II : Les huiles essentielles	13
II.1 Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?	13
II.2 Localisation des huiles essentielles	13
II.3 Rôle des huiles essentielles	14
II.4 Composition chimique des huiles essentielles.....	14
II.4.1 Les terpène et les terpénoïdes	14
II.4.1.1 Les hydrocarbures	14
II.4.1.2 Les cétones	15
II.4.1.3 Les aldéhydes	15
II.4.1.4 Les éther-oxydes.....	15
II.4.1.5 Les esters	16
II.4.1.6 Les acides	16
II.4.1.7 Les phénols.....	16
II.4.1.8 Les alcools.....	16
II.5 Facteurs de variabilité des huiles essentielles	16

II.6 Modes d'extraction des huiles essentielle.....	17
II.6.1 Hydrodistillation	17
II.6.2 Par enfleurage.....	17
II.6.3 Extraction par CO ₂ supercritique	18
II.6.4 Extraction par solvants	18
II.7 Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles.....	18
II.7.1 Propriétés antiseptiques,antibactérienne.....	18
II.7.2 Propriétés anti-inflammatoires.....	18
II.7.3 Propriétés circulatoires.....	18
II.7.4 Propriétés digestives.....	18
II.7.5 Propriétés antispasmodiques.....	18
II.7.6 Propriétés désodorisante et purifiante	19
II.8 Utilisation des huiles essentielles	19
II.9 Toxicité des huiles essentielles	19
II.10 Méthodes d'analyses des huiles essentielles.....	20
II.10.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	20
II.10.2 Couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec une spectroscopie de masse (CPG/SM)	20
Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles.....	22
III.1 Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	22
III.1.1 Les antifongiques	22
III.1.2 Le biofilm prothétique	22
III.1.3 Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles.....	23
III.1.4 Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des HEs.....	24
III.1.4.1 Méthode de micro-atmosphère	25
III.1.4.2 Méthode des disques par diffusion sur milieu solide.....	25
III.1.5 Méthode sur milieu liquide	26
III.1.5.1 La dilution en bouillon	26
III.1.5.2 La dilution en milieu gélose.....	26

III.2 Pouvoir antioxydant des huiles essentielles	27
III.2.1 Les antioxydants et le stress oxydatif	27
III.2.2 Activité antioxydante des huiles essentielles	28
2^{ème} partie : Partie expérimentale	29
I. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles	30
I.1 Echantillonnage et période de récolte de la plante	30
I.2 Identification botanique	31
I.3 Extraction des huiles essentielles	31
I.3.1 Description de la technique d'hydrodistillation	31
I.3.2 Détermination des rendements en huile essentielle	32
II. Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles.....	32
II.1 Souches fongiques testées	32
II.2 Mise en culture des souches.....	32
II.3 Méthode d'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles	32
III. Méthode d'étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles	33
3^{ème} partie : Résultats et discussion	35
I. Rendements en huile essentielle des différentes stations	36
II. Activités biologiques des Huiles essentielles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	39
II.1 Pouvoir antifongique des huiles essentielles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	39
II.2 Pouvoir antioxydant des huiles essentielles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	42
Conclusion	45
Références bibliographiques.....	47
Annexes	54

Liste des figures

Figure 01 : Origine des huiles essentielles en fonction des différentes parties de la plante	13
Figure 02 : Structure chimique de quelques monoterpènes présents dans les huiles essentielles.....	15
Figure 03 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles.....	15
Figure 04 : Montage de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	17
Figure 05 : Méthode des disques par diffusion sur milieu solide	26
Figure 06 : Situation géographique des lieux de prélèvements.....	30
Figure 07 : Les rendements en huile essentielle de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Aïn Fezza.....	36
Figure 08 : Les rendements en huile essentielle de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Ouled Mimoun	36
Figure 09 : Les rendements en huile essentielle de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Terni	37
Figure 10 : Les rendements en huile essentielle de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Siphax	36
Figure 11 : Les moyennes des rendements en huile essentielle de <i>J. oxycedrus</i> des différentes stations	38
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Aïn Fezza	42
Figure 13 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Ouled Mimoun	42
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de <i>J. oxycedrus</i> de la région de Siphax.....	43

Figure 15 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles de *J. oxycedrus* testé par la méthode de DPPH.....43

Liste des tableaux

Tableau N°1 : Systématique de l'espèce *Juniperus oxycedrus*..... 6

Tableau N°2 : Lieux des prélèvements de *Juniperus oxycedrus* et situation géographique des différentes stations d'études..... 30

Tableau N°3 : Souches utilisées pour l'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles..... 32

Tableau N°4 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles des baies de *J. oxycedrus* des quatre stations relatives aux souches fongiques selon la méthode de disques..... 40

Tableau N°5 : Activité antioxydante des huiles essentielles des baies de *J. oxycedrus* vis-à-vis le piégeage du radical libre DPPH exprimée en CI_{50} 43

Liste des photos

Photo (1) : <i>Juniperus oxycedrus</i> ; baies mûres et vertes.....	7
Photo (2) : <i>Juniperus oxycedrus</i> ; inflorescence	7
Photo (3) : Montage d'un appareil d'hydrodistillation	31
Photo (4) : Inhibition de <i>Candida albicans</i> par les HEs de <i>J. oxycedrus</i>	41
Photo (5) : Inhibition de <i>Candida albicans</i> par le Fluconazole	41

Liste des abréviations

% : Pourcentage

µl : Microlitre

C.a : *Candida albicans*

CCM : Chromatographie sur couche mince

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique (absorbance)

DPPH : 2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

h : Heure

HE : Huile essentielle

CI₅₀ : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

ml : Mililitre

mm : Milimètre

mn : Minute

N : Nord (Latitudes)

O : Ouest (Longitudes)

Rdt : Rendement

RMN : Résonance magnétique nucléaire

SM : Spectrométrie de masse

SOD : Superoxyde dismutase

Introduction

Le secteur des plantes à parfum aromatiques et médicinales connaît dans le monde, une nette croissance. Il touche majoritairement des marchés tels que la parfumerie, la cosmétique, l'aromathérapie et l'agroalimentaire.

De nos jours de nombreux travaux consacrés à la chimie et la toxicologie des plantes médicinales ont contribué à améliorer la connaissance scientifique dans ce domaine et à l'élaboration de protocoles standards de phytochimie et de screening biologique. Ces derniers ont tenu une place prépondérante dans l'art de guérir. Les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroît tels que les antibiotiques, aussi à cause du coût élevé des produits pharmaceutiques de synthèse.

L'histoire de l'aromathérapie naquit ainsi et avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales d'authentiques médicaments.

L'Algérie par sa vaste étendue terrestre du nord au sud et de l'est à l'ouest, et par sa variation climatique, possède une flore abondante, riche et variée dans laquelle il a été dénombré de nombreuses espèces aromatiques susceptibles de fournir des huiles essentielles.

Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et de leurs constituants est l'une des activités biologiques les plus étudiées actuellement vu l'apparition et l'extension rapide du phénomène de résistance aux agents microbiens classiques qui constitue un problème majeurs de santé public même dans les pays les plus développés. Le principal déterminant de l'apparition de cette résistance est sans aucun doute, la pression de sélection des antibiotiques et des antifongiques à laquelle les populations microbiennes sont soumises.

Pour cela, nous nous sommes proposé d'étudier dans un premier temps l'activité antifongique des huiles essentielles d'une espèce végétale, à savoir *Juniperus oxycedrus* (Taga), poussant à l'état spontané dans la région de Tlemcen (Algérie). Dans un second temps, nous avons évalué le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de cette même plante.

Notre travail comporte trois parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres principaux :

- Le premier chapitre portera sur une étude bibliographique sur la description botanique de l'espèce étudiée et les travaux déjà réalisés sur cette plante.
- Dans le deuxième chapitre de ce manuscrit, nous avons rapporté des généralités sur les huiles essentielles.

- Au cours du dernier chapitre, nous avons évoqué l'étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles.

Dans la deuxième partie de ce manuscrit, nous présenterons le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.

La troisième et dernière partie du mémoire propose une synthèse et une discussion des résultats obtenus. Cette partie est divisée en deux axes :

Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction des huiles essentielles à partir des baies de l'espèce *Juniperus oxycedrus*. Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles par la technique de diffusion sur disques et enfin, nous avons évalué l'activité antioxydante de ces huiles essentielles par la méthode de DPPH.

Nous achevons ce manuscrit par une conclusion et des perspectives.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur *Juniperus oxycedrus*

I.1 Présentation de la famille des Cupressacées

La famille des Cupressacées nommée aussi conifères comprend des arbres et des arbustes qui sont généralement résineux et aromatiques, c'est une petite famille composée de moins de cent cinquante espèces réparties sur une trentaine de genres tout au plus, classées dans les plantes monoïques et dioïques.

Les plantes de la famille des Cupressacées présentent une écorce filandreuse ou écaillée avec un feuillage disposé en spirales avec des feuilles persistantes et simples, sessiles et pétiolées. Ces plantes ont une inflorescence en grappe terminale ou solitaire avec des fleurs unisexuées et qui produisent un fruit pouvant mettre jusqu'à deux ans pour murir (**Callen 1976 ; Quézel et Santa, 1962**).

I.2 Généralités sur le genre *Juniperus*

Arbres ou arbustes aromatiques à feuilles opposées ou verticillées en aiguille ou en écaille. Cônes mâles petits terminaux ou axillaires. Cônes femelles formés d'un petit nombre d'écaillés charnues plus ou moins concrescentes à maturité et donnant naissance à une sorte de baie charnue. Feuilles offrant en-dessus une nervure médiane verte, de part et d'autre, une bande blanchâtre (**Quézel et Santa, 1962**).

En Algérie le genévrier regroupe cinq (05) espèces : le genévrier de phénicie ; *Juniperus phoenicea* L., le genévrier thurifère ; *Juniperus thurifera* L., le genévrier sabine ; *Juniperus sabina* L., le genévrier commun ; *Juniperus communis* L. et le genévrier oxycèdre ; *Juniperus oxycedrus* L. (**Callen, 1976 ; Debazac, 1991**).

Le genévrier de cade, ou encore oxycèdre est une plante de la famille des Cupressacées. Il a été décrit par **Linné** en **1753** sous le nom de *Juniperus oxycedrus*. Le nom *oxycedrus* provient de deux mots grecs «oxys» et «cedros» qui signifient respectivement aigu et cèdre, c'est-à-dire «cèdre à feuilles épineuses» (**Garnier et al., 1961**).

En Algérie, **Quézel et Médail (2003)** notent deux sous espèces : la sous espèce *oxycedrus* localisée en montagnes et la sous espèce *macrocarpa* sur les dunes littorales.

Le genévrier oxycèdre est une espèce originaire de la région méditerranéenne. On distingue couramment trois sous espèces :

- subsp. *oxycedrus*, à port érigé, à feuilles très étroites et à fruits petits.
- subsp. *macrocarpa*, plus buissonnant et à gros fruits, commune sur tout le littoral.

- subsp. *rufescens*, fruit plus petit et de couleur brun rougeâtre. Elle est très commune dans toute l'Algérie (Quézel et Santa, 1962).

I.3 Classification de l'espèce *Juniperus oxycedrus*

La position systématique de *Juniperus oxycedrus* est définie comme suit :

Tableau N°1 : Systématique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Evans W, 1989)

<i>Juniperus oxycedrus</i>	
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermes
Classe	Conifères
Ordre	Coniférales
Sous ordre	Taxales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus oxycedrus</i> L.
Noms vernaculaires	En français : Genévrier oxycèdre En arabe : Taga

I.4 Biogéographie du genre *Juniperus*

Dans le monde le genre *Juniperus* se localise en grande majorité dans l'hémisphère Nord et pour l'hémisphère sud il est présent uniquement en Afrique du sub-saharienne (Mao *et al.*, 2010).

Ils sont généralement des éléments pionniers jouant un rôle déterminant dans la dynamique des groupements pré-forestiers surtout, mais également se développant dans des situations écologiques extrêmes (Quézel et médail, 2003).

Le genévrier oxycèdre est une espèce typique de la région méditerranéenne où elle représente un élément pionnier très dynamique, surtout en milieu forestier dégradé. Il se localise dans le Tell associé essentiellement au chêne vert et au chêne liège, présent sur les massifs montagneux où il est souvent abondant dans les chênaies (Quézel et Gast, 1998).

I.5 Description botanique :

Le genévrier oxycèdre est un petit arbre de 3 à 5 m de hauteur et peut atteindre exceptionnellement 15 à 20 m avec un système racinaire bien développé (Callen, 1976).

Le genévrier oxycèdre exige beaucoup de lumière et de chaleur, il résiste à la sécheresse et sensible au froid. Il se développe dans les étages méso et supra méditerranéennes, en bioclimat subhumide. Il peut apparaître très localement en bioclimat semi-aride où il arrive parfois à former des peuplements presque purs, notamment dans les vallées internes du Haut Atlas. Il colonise également les dunes littorales où il est présenté par un type particulier à gros fruits (*J. macrocarpa*) (Quézel *et al.*, 1998).

Le genévrier oxycèdre est une espèce typiquement de garrigue méditerranéenne, en moyenne altitude plutôt de 500 à 1000 m. Il se trouve sur tous les sols qui ne sont pas marécageux ; il préfère les sols légers, caillouteux, même argileux et les sables (Laszlo, 2000).



Photo (1): *Juniperus oxycedrus*

Baies vertes et mûres (Aljos Farjon, 2008)



Photo (2) : *Juniperus oxycedrus*

Inflorescence (Aïn Fezza 23/02/2017)

I.6 Usage de la plante

Les huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* sont utilisées dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et le domaine biomédical.

Ces huiles sont connues pour leur activité antimicrobienne et antioxydante. Elles sont également utilisées en médecine traditionnelle comme analgésique des inflammations, hypotenseur et anti-hyperglycémique. En dermatologie, elles sont prescrites pour traiter l'eczéma chronique et autres dermatoses (Medini *et al.*, 2012 ; Raho *et al.*, 2017 ; Loizzo *et al.*, 2007 ; Stassi *et al.*, 1996 ; Mansouri *et al.*, 2010).

I.7 Travaux antérieurs

Dans la suite de cet exposé, nous présenterons une synthèse des études portant sur les huiles essentielles de cette espèce.

I.7.1 Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique et la variabilité des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus*, a fait l'objet de plusieurs travaux.

Une étude rapporte la composition chimique de deux échantillons des baies d'Espagne dominée par l' α -pinène (70,5 et 59,8%), suivi du myrcène (15,2% et 14,8%) (**Velasco-Negueruela et al., 2005**).

Les principaux constituants des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* poussant à l'état spontané en Liban sont α -pinène (27,4%) et le myrcène (18,9%). D'autres composés sont présents en quantités appréciables, il s'agit principalement de l' α -phellandrène (7,1%), limonène (6,7%), épi-bicyclosquiphellandrène (2,3%) et δ -cadinène (2,2%). Ces auteurs rapportent également la composition chimique de l'HE du bois qui contient du δ -cadinène (14,5%) comme composé majoritaire, suivi de cis-thujopsène (9,2%) et de l' α -muurolène (4,9%) (**Loizzo et al., 2007**).

Une autre étude sur les HEs de cinq échantillons de baies de Taga de Corse révèle une composition chimique semblable, dominé par l' α -pinène dont la teneur varie de 56,4 à 78,9%. Deux autres composés sont présents à des teneurs appréciables, le germacrène D (4,5-12,4%), et le myrcène (2,2-11,9%) (**Ottavioli, 2009**).

En outre, une étude portant sur la composition chimique des HEs des baies avant et à maturité de *Juniperus oxycedrus* prélevées en Tunisie, indique que les composés majoritaires sont toujours l' α -pinène (37,6-61,1%) suivi de germacrène D (4,0-31,1%) (**Medini et al., 2012**).

D'après **Sela et al.** en **2013**, la composition chimique des HEs de deux échantillons de baies de *Juniperus oxycedrus* révèle des pourcentages élevés en α -pinène (22,54-27,12%), en myrcène (11,26-15,13%) et en limonène (2,78-18,06%).

Par ailleurs, une étude réalisée par **Stassi et al.** en **1995** avance que la teneur en HE des aiguilles et des baies obtenue par hydrodistillation de cette même espèce récoltée en Grèce est d'environ 0,15% pour les feuilles et 0,40% à 0,83% pour les baies. Dans les feuilles, Le constituant majoritaire est l' α -pinène (26,9%), suivi du cédrol (13,9%) et du dihydro-*p*-cymèn-8-ol (8,5%). Par contre, les baies sont très riches en α -pinène. D'autres composés sont présents en quantités appréciables, il s'agit essentiellement du myrcène (8%), et de l' α -terpinéol (4%).

En Espagne, **Salido et al.** en **2002** rapportent que les HEs des feuilles et des baies de Taga récoltés durant trois périodes différentes renferment une teneur élevée en α -pinène (23,1-65,1%), suivi de myrcène (0,6-6,8%). D'autres composés sont présents en teneurs

appréciables, tels que le limonène (0,9-2,1%), le germacrène D (0,4-4,2%) et le γ -muurolène (0,3-4,5%).

Angioni et al. en 2003 ont étudié la composition chimique d'un échantillon de feuilles et de deux échantillons de baies de *Juniperus oxycedrus* récolté en Sardaigne. L' α -pinène est le composé très majoritaire dans les feuilles avec un pourcentage de l'ordre de 85,95%. Les baies sont également très riches en α -pinène (62,26-70,64%), suivi de myrcène (10,24-17,07%).

Une étude portant sur quatre échantillons d'huile essentielle des feuilles et des baies de *Juniperus oxycedrus* de provenance d'Italie récoltées dans deux régions différentes a montré que les composés majoritaires étaient l' α -pinène (53%), suivi du myrcène (6%) dans le premier échantillon de baies alors que dans le second échantillon, l' α -pinène est ultra majoritaire (85%). L'huile essentielle des feuilles de montagne est composée très majoritairement d' α -pinène, quelle que soit la saison de récolte (81% en été et 73,5% à l'automne). Celle extraite de pieds poussant dans les dunes renferme essentiellement de l' α -pinène (23%), de l' α -terpinéol (18%), du 1,8-cinéole (9%) et du (Z,E)-farnésol (8%) (**Valentini et al., 2003**).

D'autre part, une étude réalisée sur la composition chimique des HEs des feuilles et des baies de *Juniperus oxycedrus* récoltées en Portugal. Le rendement en HE est de l'ordre de 2,0% pour les baies et 0,5 à 1% pour les feuilles. Les composés majoritaires dans l'HE des baies sont : α -pinène (54,7%) suivi de myrcène (17,8%) et de germacrène D (10,4%). Par contre, l'HE des feuilles est caractérisée par sa richesse en α -pinène (65,5%) et d'autres composés sont présents en quantités appréciables, à savoir : δ -3-carène (5,7%), β -phellandrène (3,2%) et myrcène (2,7%) (**Cavaleiro et al., 2006**).

Alan et al. en 2016 ont étudié la composition chimique des huiles essentielles des feuilles, des brindilles et des baies de *Juniperus oxycedrus* récolté en Turquie. Les rendements en HEs obtenus sont de l'ordre de 0,02 ; 0,01 et 2,12% respectivement. Les composés majoritaires sont l'oxyde de manoylène (32,8% ; 35,4%) et l'oxyde de caryophyllène (11,9% ; 16,8%) dans les feuilles et les brindilles, respectivement ; le myrcène (44,6%), l' α -pinène (19,8%) et le germacrène D (15,5%) dans les baies.

En 1999, une étude d'**Adams** portant sur un échantillon des feuilles prélevées en Espagne a montré que le sabinène (26,5%) et l' α -pinène (22,6%) sont les deux principaux constituants (**Adams et al., 1999**).

Sezik et al. en 2005, reportent l'étude de la composition chimique des HEs de trois échantillons de feuilles de Turquie récoltées à trois périodes de l'année (Mai, Aout, Octobre).

La teneur des trois constituants majoritaires varie sensiblement d'une saison à l'autre ; oxyde de manoyle (7,7 ; 21,9 ; 9,1%), α -pinène (7,6 ; 7,2 ; 11,1%) et cédrol (2,3 ; 9,7 ; 3,4%).

Par ailleurs, **Ottavioli** en **2009** a étudié la composition chimique de 18 échantillons des aiguilles de *Juniperus oxycedrus* de Corse. La teneur en α -pinène, qui est toujours le composé majoritaire, varie considérablement d'un échantillon à l'autre (28,7-76,4%), suivi de β -phellandrène, avec des pourcentages qui varient nettement d'un échantillon à l'autre (0,1-12,3%). En revanche, le δ -3-carène, dont la teneur est inférieure ou égale à 0,1% dans 11 échantillons, est ponctuellement présent à des teneurs appréciables (jusqu'à 17,3%).

Medini et al. en **2013** ont étudié la variabilité de la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de 62 échantillons d'HE extraite de deux sub-espèces de *Juniperus oxycedrus* récoltés dans plusieurs régions en Tunisie. Les composés majoritaires sont l' α -pinène (15,97-49,46%), suivi de sabinène (0,11-12,12%) et de *p*-cymène (0,39-14,50%).

Par ailleurs, une autre étude réalisée sur les feuilles fraîches de *Juniperus oxycedrus* récoltées en Tunisie montre qu'ils sont riches en α -pinène (42%) suivi par l'oxyde de manoyle (8,05%) (**Amri et al., 2011**).

En outre, la teneur en huile essentielle des rameaux de *Juniperus oxycedrus* originaire du Maroc est de l'ordre de 0,15%. Cette huile essentielle contient de l' α -pinène (52,13%) comme composé majoritaire suivi du limonène (7,32%) et de l' α -phellandrène (5,59%) (**Mansouri et al., 2010**).

En revanche, en Espagne, la composition chimique de l'HE du bois de Tago renferme le δ -cadinène (27,9%) et l'épi-cubéol (12,1%) comme composés majoritaires (**Barrero et al., 1993**).

Enfin, la seule étude réalisée en Algérie a été menée par **Dob et al.** en **2006** qui rapportent que l'huile essentielle des feuilles de *Juniperus oxycedrus* poussant à l'état spontané à Djelfa fournit un rendement d'environ 0,10%. L'analyse par CPG et CPG/SM de cet échantillon a permis d'identifier quatre vingt neuf constituants dont les composés majoritaires sont : le trans-pinocarvéol (7,0%), cis-verbénol (6,3%), l'oxyde de manoyle (6,0%), α -cadinol (5,5%), γ -muurolène (5,4%) et pinocarvone (5,1%).

I.6.1 Activités biologiques des huiles essentielles

D'autres études ont rapporté les activités antioxydante et antimicrobienne des HES de *Juniperus oxycedrus*.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles et des baies de *Juniperus oxycedrus* a été testée *in vitro* vis-à-vis de sept souches bactériennes et une levure. Seuls *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* et *Micrococcus luteus* se sont révélés

sensibles à l'HE des feuilles, inhibés à des concentrations variant entre 0,9 et 1,35 mg/ml. En revanche, l'HE des baies s'est révélée active vis-à-vis de toutes les souches microbiennes testées mais avec des CMI's plus importantes variant entre 0,86 et 8,6 mg/ml (Stassi *et al.*, 1996).

Cavaleiro *et al.* en 2006, montrent que l'huile essentielle des feuilles de Taga est considérée comme un agent antifongique contre les dermatophytes. Elle inhibe la croissance de toutes les souches testées avec des CMI's très faibles, variant entre 0,08 à 2,5 µl/ml. En revanche, les huiles essentielles des baies sont moins actives contre la plupart de ces micro-organismes testés avec des CMI's variant entre 2,5 et 20 µl/ml.

En revanche, Angioni *et al.* en 2003 avancent que les HEs des baies et des feuilles de *Juniperus oxycedrus* récoltés en Sardaigne ne sont actives vis-à-vis des bactéries testés, à l'exception de *Staphylococcus aureus* qui est inhibée par l'HE des feuilles à une CMI de l'ordre de 225 µg/ml. Les autres souches microbiennes se sont montrées résistantes à toutes ces HEs, leurs CMI's sont supérieures à 900 µg/ml. Ils rapportent également que tous les champignons testés se sont révélés très résistants.

En outre, une étude est réalisée sur l'activité antimicrobienne des HEs de Taga. Ces auteurs rapportent que *E. coli* s'est montré très résistante par contre *S. aureus* s'est révélée plus ou moins sensible avec une zone d'inhibition de l'ordre de 13 à 13,5 mm et une CMI variant entre 600-650 µg/ml, suivi de *Salmonella typhimurium* (6 mm ; CMI 850 µg/ml) (Medini *et al.*, 2013).

Par ailleurs, une étude montre que les HEs des rameaux de *Juniperus oxycedrus* sont active contre plusieurs agents microbiens. Le germe le plus sensible était le *Penicillium expansum* dont la croissance est inhibée à 1/1000 (v/v) alors que, *Aspergillus niger* est inhibé à 1/250 (v/v). Les résultats obtenus montrent que les champignons étaient plus vulnérable aux huiles essentielles de cette espèce que les bactéries qui sont inhibées à une concentration de 1/100 (v/v) (Mansouri *et al.*, 2010).

D'après Sela *et al.* en 2013, l'HE des baies de *Juniperus oxycedrus* n'a pas d'activité contre plusieurs micro-organismes testés tels que *Candida albicans* et *Pseudomonas aeruginosa* par contre une activité modérée a été observée vis-à-vis d'*E. coli*, de *Staphylococcus aureus* et de plusieurs espèces de *Streptococcus*, à des CMI's supérieurs à 500 µl/ml. De même, Raho *et al.* en 2017 ont testé l'activité des HEs des feuilles de Taga contre sept souches microbiennes. Seuls *Candida albicans*, *Bacillus sp.* et *Staphylococcus aureus* qui se sont montrés sensibles à une CMI égale ou supérieure 500 µl/ml et à 250 µl/ml, respectivement.

Les extraits méthanoliques des aiguilles et des écorces de racines de *Juniperus oxycedrus* sont très riches en polyphénols (133,08 GAE/g pour les feuilles). Les deux extraits ont une capacité antioxydante significative dont l'extrait d'écorces de racines présente le plus grand pouvoir antioxydant avec une CI_{50} faible de $2,9 \pm 0,2$ $\mu\text{g/ml}$ (**Chaouch et al., 2013**).

Par ailleurs, **Loizzo et al.**, en **2007**, ont évalué l'activité antioxydante des HEs des baies et du bois de Taga. Ils rapportent que l'HE du bois présente un fort pouvoir antioxydant avec des CI_{50} obtenues par le test de DPPH d'ordre de $1,45$ $\mu\text{l/ml}$ contre $7,42$ $\mu\text{l/ml}$ pour les baies.

Medini et al. (2012) ont étudié l'activité antioxydante des HEs des baies provenant de Tunisie par deux tests, à savoir : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) et le piégeage du radical-cation $ABTS^{+}$. Ces auteurs rapportent un fort pouvoir antioxydant, avec une inhibition de plus de 95% du radical $ABTS^{+}$ à une concentration de $2,5$ mg/ml et une CI_{50} très intéressante, variant entre $0,4$ et $0,6$ mg/ml en comparaison avec le Trolox ($CI_{50}=1,3-2,0$ mg/ml). De même, les résultats du test DPPH ont montré une bonne activité antioxydante avec des pourcentages d'inhibitions supérieures à 85% à une concentration de l'ordre 150 $\mu\text{g/ml}$ pour la plupart des échantillons testés.

Enfin, les huiles essentielles des feuilles de *Juniperus oxycedrus* peuvent être utilisées comme des herbicides naturels. Elles ont une activité vis-à-vis *Phalaris paradoxa*, *Trifolium campestre* et *Lolium rigidum* (**Amri et al., 2011**).

Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1 Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?

Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore l'esprit d'un végétal. Dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela, car il s'agit d'un produit parfumé et volatil, composé de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique. Le terme « volatil » s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement. C'est pourquoi il est nécessaire de les conserver correctement afin qu'elles gardent intacts leurs principes actifs (Moro-Buronzo, 2008).

II.2 Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment, que dans les végétaux, elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques (Figure 01).

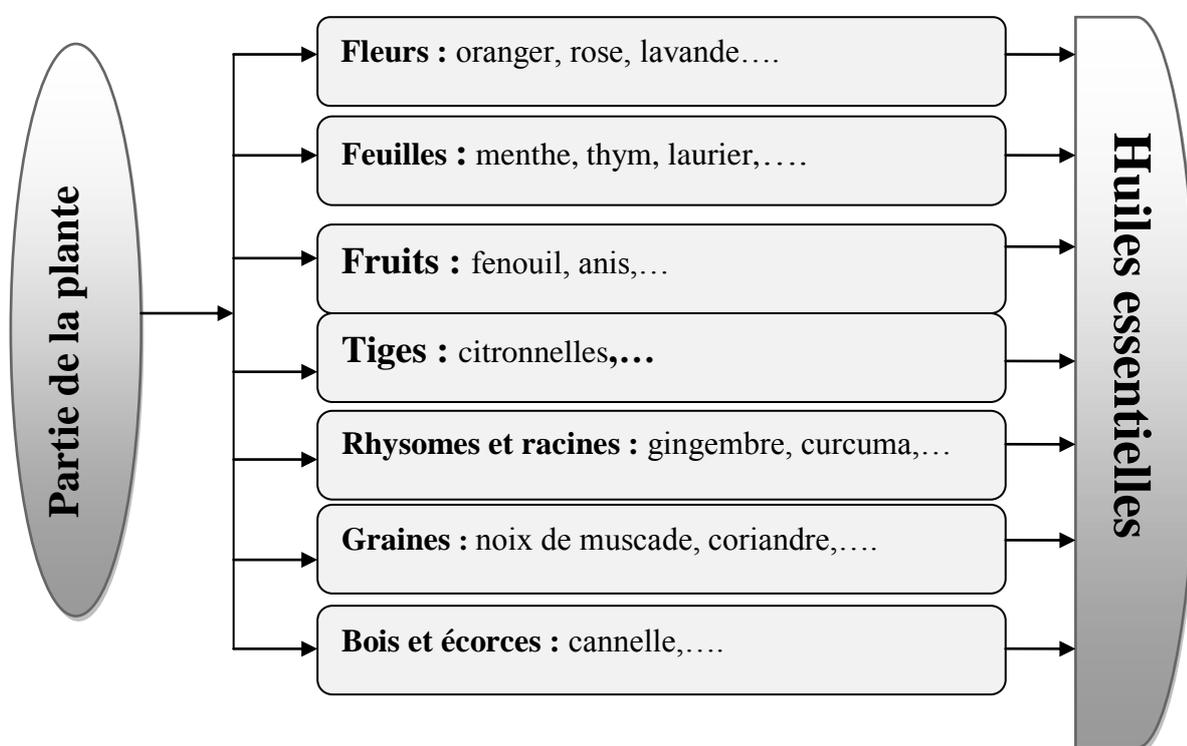


Figure 01 : Origine des huiles essentielles en fonction des différentes parties de la plante (Teixeira *et al.*, 2013)

II.3 Rôle des huiles essentielles

Nous ne savons pas exactement ce que représentent les huiles essentielles pour le règne végétal. Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales (Willem, 2009). Les essences constituent un moyen de défense

contre les prédateurs (microorganismes, champignons, insectes, herbivores) en modulant les comportements de ceux-ci vis-à-vis des plantes (**Lutz, 1940**).

Des travaux ont montré que les monoterpènes et les sesquiterpènes peuvent jouer des rôles importants dans la relation des plantes avec leur environnement (**Holley, 1999**).

Enfin, une mise au point de Croteau en 1986 montre que les huiles volatiles auraient en réalité un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Elles réguleraient la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs constituants insaturés. La présence et la teneur en huiles essentielles dans les plantes seraient donc en rapport avec la photochimie.

II.4 Composition chimique des huiles essentielles

Chaque huile essentielle est bien spécifique, les composants biochimiques sont d'une puissance très variable, et peuvent se trouver dans les huiles essentielles en forte concentration ou seulement à l'état de traces.

Comme toutes les plantes sont classées en familles, les produits naturels sont aussi classés en deux groupes. Il s'agit des terpènes et des terpénoïdes qui sont en général très nettement dominants et des composés aromatiques (phénylpropanoïdes) qui sont des composés moins fréquents mais néanmoins très importants (**Hurtel, 2006**).

II.4.1 Les terpènes et les terpénoïdes

II.4.1.1 Les hydrocarbures

Cette famille est la plus répandue dans les huiles essentielles. Les molécules la composant sont odorantes et volatiles, créées à partir de carbone et d'hydrogène. Les terpénoïdes sont quant à eux des terpènes se greffant à des molécules d'oxygène. Cette grande famille se divise en plusieurs genres distincts : Hémiterpéniques (C_5), monoterpéniques (C_{10} : limonène, α -pinène (géranium)) (**Figure 02**), sesquiterpéniques (C_{15} : β -caryophyllène (girofle), β -phellandrène) (**Figure 03**) (**Smadja, 2009**), diterpéniques (C_{20} : (Z)-biformène) (**Boussaïd et al., 2016**).

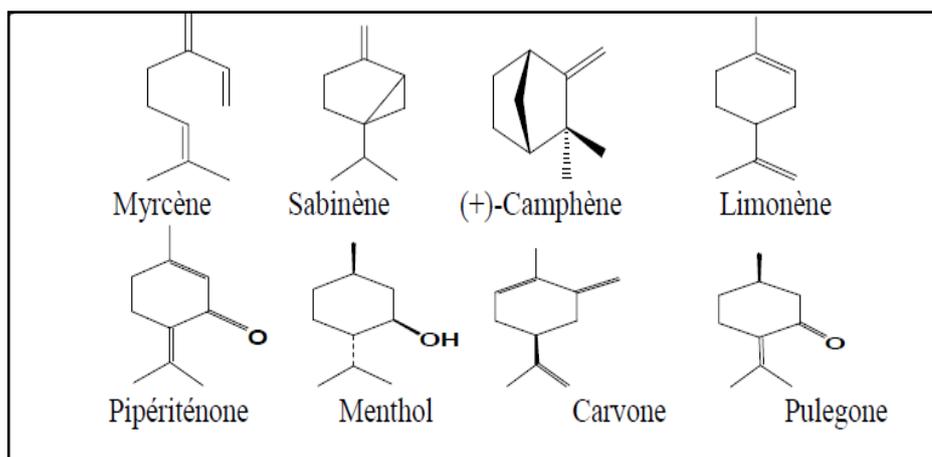


Figure 02 : Structure chimique de quelques monoterpènes présents dans les huiles essentielles (Teixeira *et al.*, 2013)

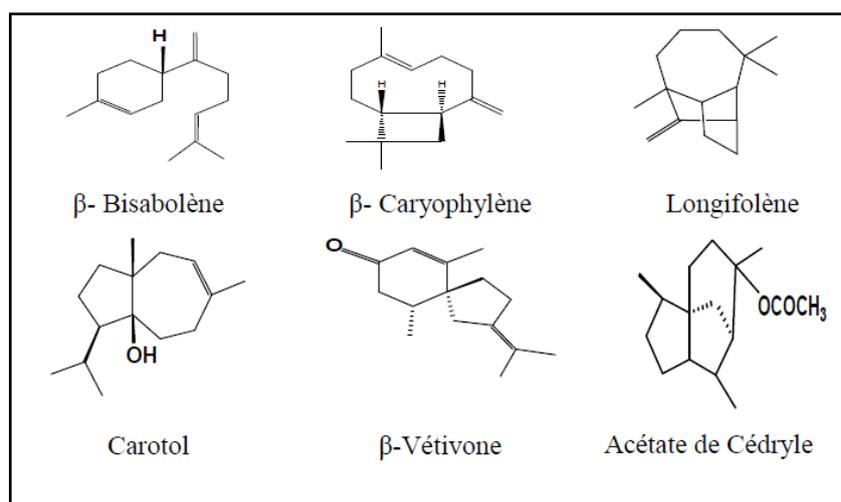


Figure 03 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles (Teixeira *et al.*, 2013)

II.4.1.2 Les cétones

Les cétones sont des composés organiques de la famille des carbonylés connus principalement pour leurs propriétés cicatrisantes et régénérantes mais également pour leurs toxicités (Nessie, 2011).

II.4.1.3 Les aldéhydes

Ce sont des dérivés des phénols, l'huile essentielle de cannelle est un très bon exemple de produit contenant des aldéhydes. Ses propriétés principales sont les suivantes : tonifiants, antiseptiques, aphrodisiaques et antidépresseurs (Valnet, 2003).

II.4.1.4 Les éthers -oxydes

L'eucalyptol est apprécié pour son odeur rafraîchissante et épicée semblable au camphre. Il est ainsi employé en parfumerie, dans les produits de soin ou autres cosmétiques.

Il est également indispensable dans les produits pharmaceutiques grâce à ses propriétés antifongiques, anti-infectieuse, bactéricide, antivirale mais aussi expectorante (**Valnet, 2003 ; Roulier, 2006**).

II.4.1.5 Les esters

L'Acétate de géranyle, de la famille des esters monoterpéniques, il est naturellement présent dans les huiles de Citronnelle, Palmarosa, Lemongrass ou encore de Coriandre (**Roulier, 2006**).

II.4.1.6 Les acides

Cette famille se trouve généralement dans les baumes, et non dans les huiles essentielles à l'état pur, mais il est quand même intéressant de démontrer leurs propriétés thérapeutiques qui sont : anti-inflammatoires, cicatrisantes et anti-infectieuses (**Roulier, 2006**).

II.4.1.7 Les phénols

L'action des phénols est très puissante, il faut porter une attention particulière à leur utilisation afin d'éviter les accidents et les effets secondaires. De plus, les huiles essentielles contenant de fortes doses de phénols sont dermocaustiques (**Roulier, 2006 ; Valnet, 2003**).

II.4.1.8 Les alcools

Le Menthol est une molécule organique que l'on retrouve principalement dans les huiles essentielles de menthe, dont la plus connue est la menthe poivrée. Ce composé peut aussi être obtenu synthétiquement (**Smadja, 2009**).

II.5 Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce, ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes.

La composition d'une HE varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'HE d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique. La composition et le rendement d'une HE varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite.

Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine ; une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes.

Les plantes doivent être séchées à l'air et à l'ombre. En effet, des modifications chimiques, physiques et biochimiques dues à l'action de la lumière et de la température peuvent influencer sur la qualité d'huile (Colette, 2008).

II.6 Modes d'extraction des huiles essentielles

II.6.1 Hydrodistillation

C'est l'une des **plus anciennes** (remonte à l'Antiquité). Elle est **très facile** à mettre en œuvre. Le principe est le suivant : dans un ballon, on **porte à ébullition un mélange d'eau et de la plante** dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales **éclatent et libèrent les molécules odorantes**, lesquelles sont alors **entraînées par la vapeur d'eau** créée. Elles passent par un réfrigérant où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient. Le récipient contient à ce moment deux phases : une phase aqueuse et une phase organique odorante appelée **huile essentielle** (Scimeca, 2007).

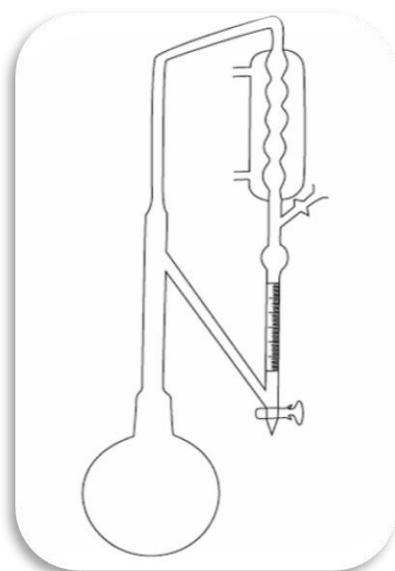


Figure 04 : Montage de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Anonyme 01)

II.6.2 Par enfleurage

C'est une méthode plus guère utilisée, car trop complexe sauf pour les fleurs principalement. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, nous remettons des fleurs fraîches, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les HES sont séparés (Moro, 2008).

II.6.3 Extraction par CO₂ supercritique

Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essence, et entraîne les HEs qui seront ensuite récupérées (**Scimeca, 2007**).

II.6.4 Extraction par solvants

Consiste à dissoudre la substance contenant l'huile essentielle recherchée dans un solvant, puis à éliminer le solvant et récupérer l'huile essentielle. On l'utilise sur des plantes telles que la rose, la violette, la fleur d'oranger, le jasmin, la tubéreuse, la cassie ou le réséda (**Lucchesi, 2006**).

II.7 Propriétés thérapeutiques des huiles essentielles

Les principales propriétés thérapeutiques observées lors de l'utilisation des huiles essentielles sont :

II.7.1 Propriétés antiseptiques, antibactériennes

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque et le bacille de koch (tuberculose). Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique) (**Lahlou, 2004**).

II.7.2 Propriétés anti-inflammatoires

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires (**Lahlou, 2004**).

II.7.3 Propriétés circulatoires

Un grand nombre d'huiles essentielles sont de puissants soutiens pour notre système circulatoire. Elles ont la capacité d'activer la circulation sanguine, de réduire les hémorroïdes et de soulager les jambes lourdes. Parmi ces huiles essentielles nous retrouvons : les huiles de citron, de genièvre, de menthe poivrée et sauge (**Lahlou, 2004**).

II.7.4 Propriétés digestives

Les huiles essentielles ont une action manifeste sur le système digestif. Elles sont efficaces contre la formation de gaz au niveau abdominal (huiles essentielles de basilic, d'anis) (**Scimeca, 2007**).

II.7.5 Propriétés antispasmodiques

Les huiles essentielles de marjolaine, de lavande peuvent arrêter les spasmes, c'est-à-dire les contractions qui se manifestent de façon involontaires dans le corps (**Festy, 2011**).

II.7.6 Propriétés désodorisantes et purifiantes

A la maison, les huiles essentielles diffusées régulièrement dans l'atmosphère parfument et assainissent l'air que nous respirons (**Festy, 2011**).

II.8 Utilisation des huiles essentielles

Les HE agissent selon leur tropisme ; ce terme signifie que chaque huile exerce ses pouvoirs curatifs sur un organe ou une zone en particulier, ces substances volatiles pénètrent les tissus et l'organisme. Par exemple, l'HE de basilic est particulièrement actif au niveau de la digestion. Celle de cyprès améliore la circulation. Il est donc très important de se renseigner sur les effets thérapeutiques des HEs car leur usage peut comporter des inconvénients. Par exemple, une HE de menthe des champs est indiquée pour stimuler les personnes fatiguées, elle soulage les douleurs névralgiques mais ne doit jamais être utilisée dans un bain, sous peine d'irritation sérieuse de la peau. Outre ces propriétés principales, elles ont toutes une vertu (**Blayn, 1980 ; Maach et Jemali, 1986**).

Une huile essentielle doit être utilisée uniquement sur conseils du médecin aromathérapeute. Nous conseillons de ne jamais prendre une huile pure dans la bouche sous peine de désagréments qui peuvent aller jusqu'à la brûlure.

Les HEs sont, très vite, absorbées par toutes les petites cellules ciliaires qui tapissent notre arbre respiratoire depuis les fosses nasales jusqu'au bout de nos alvéoles pulmonaires (**Garreta, 2007**).

La voie cutanée est la voie idéale car efficace et sans danger. Généralement, les huiles sont utilisées à des concentrations très diluées (**Scimeca et al., 2005**).

II.9 Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et al., 2008**).

Selon **Englebin** en **2011**, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quelque soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit : "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la

dose ». Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et/ou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

II.10 Méthodes d'analyse des huiles essentielles

II.10.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence et la rapidité. La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés (**Rouessac et al., 2007**). Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur. Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules (**Burgot, 2011**).

Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Les temps de rétention, bien que spécifiques d'un composé, ont tendance à varier d'une analyse à l'autre, notamment du fait du vieillissement des colonnes. Les indices de rétention sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence. C'est pourquoi la comparaison des indices sur deux colonnes de polarité différente est nécessaire.

Malgré tout, ceci ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse CPG/SM (**Burgot, 2011**).

II.10.2 Couplage de chromatographie en phase gazeuse avec une spectrométrie de masse (CPG/SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM (**Paolini, 2005**).

Les spectres de masse obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence. Lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle sont inconnus dans les bibliothèques de comparaison et qu'ils ne sont pas décrits dans la littérature. Il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques

chromatographiques préparatoires telles la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en Phase Gazeuse Préparatoire (CGP). L'objectif est d'aboutir à leur identification structurale par les techniques spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN ^1H) et du carbone 13 (RMN ^{13}C), SM, IRTF,... (**Paolini, 2005**).

Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles

III.1 Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

III.1.1 Les antifongiques

Les antifongiques sont des molécules capables de traiter les mycoses, c'est-à-dire les infections provoquées par des champignons microscopiques. Un antifongique agira soit en s'attaquant directement à la paroi fongique, provoquant ainsi la mort de la cellule (action fongicide), ou en bloquant la division cellulaire, arrêtant ainsi la reproduction des champignons (action fongistatique) (Harrison, 2013).

- **Les champignons**

Les champignons, ou plus justement les mycètes, regroupent de nombreuses espèces, formant ensemble l'un des six règnes du vivant. Les mycètes présentent une grande diversité, certains étant unicellulaires (les levures) tandis que la plupart sont pluricellulaires. Leurs cellules, pourvues d'une paroi chitineuse, sont immobiles et se nourrissent par l'absorption des molécules organiques directement dans le milieu. Leur appareil végétatif est un thalle : ce sont donc des thallophytes (Janlou, 2001).

- *Candida albicans*

Les levures du genre *Candida* sont des levures unicellulaires non capsulées, aérobie et mesurant de 4 à 6 µm de long, Elles poussent sur gélose Sabouraud pour avoir plus de spores, les colonies de levures sont visibles en 24 à 48 h.

Candida albicans est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. C'est un organisme vivant à l'état naturel dans les muqueuses de l'être humain. Elle se reproduit de façon asexuée par bourgeonnement d'une cellule mère (le blastopore), formant ainsi des colonies blanches crémeuses.

III.1.2 Le biofilm prothétique

L'insertion d'une prothèse amovible influence la physiologie orale et crée souvent un nouvel écosystème buccal. Cette modification de la flore en rapport avec le port prothétique est à l'origine de la formation, à la surface des appareils, d'un biofilm microbien de structure et de composition complexe. Les dépôts bactériens et fongiques ainsi établis sont des réservoirs infectieux alimentant en permanence les biofilms. Elles participent ainsi à l'établissement d'une stomatite candidosique sous-prothétique qui constitue la forme de candidose la plus fréquente en bouche. Cette maladie est considérée comme la lésion buccale la plus fréquente chez les porteurs de prothèses amovibles (Mammar *et al.*, 2017).

La spécialité de la flore microbienne sub-prothétique réside dans la présence de levure en quantité importante. Une étude a révélé que les espèces de *Candida* étaient les micro-organismes les plus fréquemment isolés dans les prothèses adjointes. La température de l'environnement oral et la pellicule acquise exogène facilite l'adhésion de *Candida albicans* sur la résine acrylique (Levine, 1992).

Après un certains temps, tout solide de la cavité buccale est couvert d'un matériel salivaire résultant du dépôt de protéines, de glycoprotéines et autres molécules généralement connues sous le nom de pellicule acquise. Suite à l'insertion initiale d'une prothèse amovible complète, la formation du biofilm est semblable à celle qui se produit sur les surfaces dentaire à savoir, la mise en place des protéines salivaires à la surface de la résine, puis dans un second temps la colonisation par les microbes de la pellicule acquise exogène. Le biofilm mature forme une couche de près de 2 à 6 µm d'épaisseur (Budtz, 1974).

III.1.3 Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales, et sont actuellement des alternatives potentielles aux antibiotiques pour traiter diverses maladies infectieuses. Les recherches ont montré que la fonction antimicrobienne s'exerce de deux manières selon les types de micro-organismes et de biomolécules :

- Activité inhibitrice ou microbiostatique : blocage de la multiplication des cellules microbiennes.
- Activité létale ou microbicide : mort des cellules microbiennes (Fernandez et Chemat, 2012).

Les HEs sont constituées d'un mélange complexe de substances qui appartiennent à diverses classes de la chimie organique : les composés terpéniques, les alcools, aldéhydes, cétones, esters, éther et phénols. L'activité antimicrobienne est le résultat de groupes fonctionnels présents dans les métabolites et leur synergie. Les plus actifs de ces groupes fonctionnels sont : phénols, aldéhydes, cétones, alcools, éther et les hydrocarbures.

La plupart des études portant sur l'action des HE ont observé qu'elles sont généralement plus actives contre les bactéries à Gram positif. Par ailleurs, certaines bactéries résistantes aux antibiotiques peuvent être inhibées par les HEs, comme c'est le cas des staphylocoques dorés résistants à la méthicilline et les entérocoques résistants à la vancomycine. Vardar Ünlu et al. en 2006 ont montré une importante activité antimicrobienne des HEs d'origan contre les bactéries du genre *Campylobacter* résistante à la

ciprofloxacine, responsable de gastro-entérites essentiellement d'origine alimentaire (Oussalah et al., 2007).

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Lis Balchin, 2002).

Les huiles essentielles sont des alliées de choix pour lutter contre les mycoses, les soigner et éviter leur récurrence. Certaines huiles essentielles seront particulièrement adaptées pour traiter le *Candida* ou les organismes fongiques, par voie externe et/ou interne : le palmarosa, le lemongrass, le géranium rosat d'Égypte, le laurier noble, la sauge officinale, le thé ou encore la lavande aspic et la litsée citronnée. Pour compléter le spectre antifongique, par voie interne pour le traitement digestif, on pourra associer des huiles essentielles plus puissantes encore, riches en phénols aromatiques : le thym à thymol, le clou de girofle ou encore l'origan compact et la cannelle (Maillard, 2013).

Les propriétés antibactériennes des plantes aromatiques et médicinales sont dues à la fraction d'huile essentielle contenue dans les plantes. Ces derniers ont un spectre très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antibactérienne est principalement fonction de leurs composition, chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Caillet et Lacroix, 2007).

Le champ d'action des huiles essentielles est très vaste, le plus étudié est celui ayant trait à leurs propriétés bactéricides (Larivee, 2002). Les huiles essentielles inhibent le développement de nombreuses bactéries pathogène, y compris celles qui résistent aux antibiotiques (Abrassart, 2001).

Outre leur pouvoir antibactérien, les huiles essentielles offrent plusieurs moyens pour inhiber la prolifération des champignons et des levures telles que le *Trichophytes* et les *Aspergillus*. Il a été démontré que les phénols, certains monoterpénols et des aldéhydes sont des puissants fongicides pouvant lutter de façon très efficace contre le *candida albicans* (Larondo et Calvo, 1991).

III.1.4 Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les techniques classiques mises au point *in vitro* permettent soit de caractériser le pouvoir antimicrobien soit de le quantifier en termes de concentration minimale inhibitrice ou

concentration minimale microbicide. Ces méthodes sont appliquées en milieu solide ou milieu liquide (Fernandez et chemat, 2012).

III.1.4.1 Méthode de micro-atmosphère

Cette technique permet de mettre en évidence l'action des composants volatils des HEs sur le développement des germes en milieu solide dans une boîte de Pétri. Le micro-organisme est ensemencé en surface sur le milieu gélosé, quelques gouttes d'HE sont déposées sur un papier-filtre ou dans une petite cupule placée au fond et au centre du couvercle. La boîte de Pétri est incubée à une température optimale du germe. L'évaporation des substances volatiles agit sur la croissance des germes. Cette méthode ne permet de quantifier l'activité antimicrobienne réelle des HEs, elle ne montre que l'activité des composants volatils à la température d'incubation (Fernandez et chemat, 2012).

III.1.4.2 Méthode des disques par diffusion sur milieu solide

Elle est appelée aussi technique de l'antibiogramme. C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles chémotypées (Jacob et al., 1979).

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disque ou méthode de diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester. Puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencées avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition (figure 5). Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistance. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'HE sur le germe testé. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (Guerin et Carret, 1999).

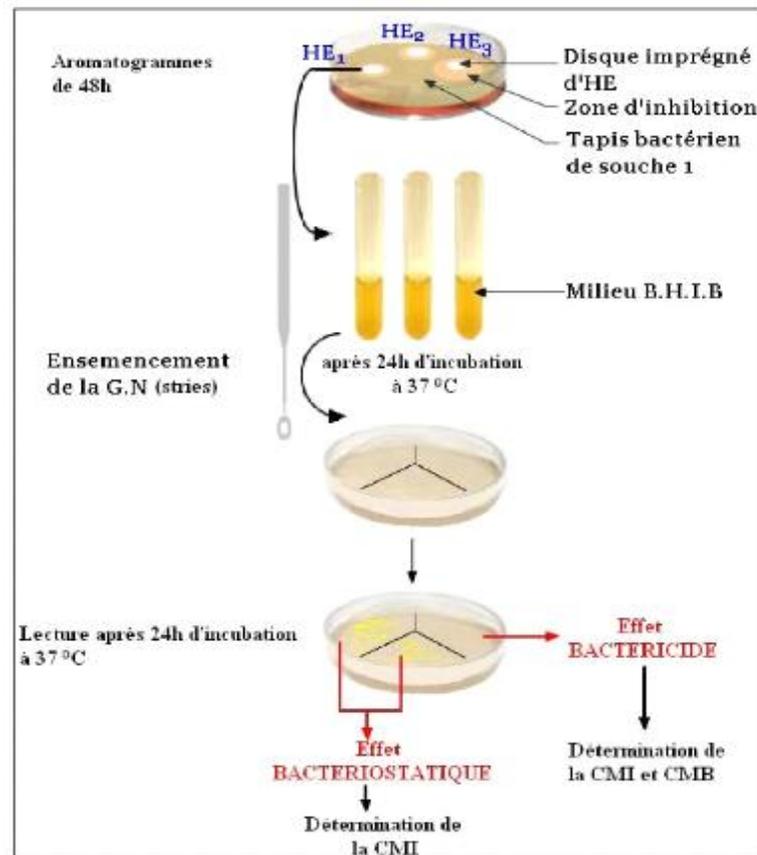


Figure 05 : Méthode des disques par diffusion sur milieu solide (Anonyme 02)

III.1.5 Méthode sur milieu liquide

Il s'agit de la méthode en bouillon de culture dans une série de tubes à essai, dont le but est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la concentration minimale inhibitrice : CMI, généralement exprimée $\mu\text{l/ml}$ ou mg/l) (Chaker, 2010).

III.1.5.1 La dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 mL (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution). L'utilisation de ces plaques avec un protocole documenté, y compris les précisions sur les micro-organismes de référence approprié, peut faciliter la comparaison des résultats entre analyses (Chaker, 2010).

III.1.5.2 La dilution en milieu gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie

de l'ensemencement d'un inoculum microbien défini à la surface de la gélose de la boîte (Chaker, 2010).

III.2 Pouvoir antioxydant des huiles essentielles

III.2.1 Les antioxydants et le stress oxydatif

Le terme antioxydant était à l'origine utilisé pour désigner les substances chimiques qui empêchent les réactions avec l'oxygène (Reynal et Multon, 2009).

L'oxygène est un élément vital qui joue un rôle indispensable dans l'oxydation des cellules. Lorsque cette oxydation est incomplète, il se forme des molécules nocives appelées radicaux libres. Le rôle des espèces oxygénées activées est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans les conditions normales, elles sont générées en faible quantité et participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction des signaux cellulaires, à la défense immunitaire, à la différenciation cellulaire et la régulation des gènes (Haleng *et al.*, 2007).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} (Favier, 2003).

Les antioxydants d'origine alimentaire sont nombreux, certains sont liposolubles comme : tocophérols (vitamine E) et β -carotène, d'autres sont hydrosolubles comme l'acide ascorbique (vitamine C), et d'autres sont plus hydrosolubles que liposolubles comme les polyphénols (Colette, 2003).

Il existe de plus des composés endogènes synthétisés par les cellules qui sont des piègeurs de radicaux libres, les plus importants sont : le glutathion peroxydase, superoxyde dismutase SOD et les catalases (Favier, 2003).

Dans les conditions physiologiques, la production des EOA est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense de notre organisme ; la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Le stress oxydant résultera d'une situation où l'organisme ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques. Il est potentiellement impliqué dans le développement de vieillissement ou de pathologies tels le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'asthme... (Haleng *et al.*, 2007).

III.2.2 Activités antioxydantes des huiles essentielles

Des études ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments où l'application par vaporisation en surface de l'aliment contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Oussalah *et al.*, 2007**). L'activité antioxydante de l'huile essentielle de menthe a été évaluée par la méthode de DPPH en comparaison avec l'antioxydant synthétique l'acide ascorbique. Les résultats obtenus révèlent que l'huile essentielle de menthe a une activité antioxydante plus importante que celle de l'acide ascorbique (**Lagouiter *et al.*, 2015**). L'huile essentielle de thym a montré un potentiel antioxydant important par rapport à d'autres HEs testées suivie de celle de clou de girofle, de cannelle, de basilic, d'eucalyptus et de camomille (**Wei et Shibamoto, 2010**).

Deuxième partie

Partie expérimentale

I. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles

I.1 Echantillonnage et période de récolte de la plante

L'espèce *Juniperus oxycedrus*, a été récoltée dans différentes régions de la wilaya de Tlemcen (**Figure 05**) durant le mois de novembre 2016 (**Tableau 02**). La matière végétale (baies) est ensuite, déposée dans un endroit sombre, sec et aéré afin de la sécher. Ensuite, elle est conservée dans des sacs en papier jusqu'à son utilisation. Nous avons effectué 36 échantillons. Les prélèvements ont été réalisés sur des pieds individuels adultes.

Tableau N°2 : Lieux des prélèvements du *Juniperus oxycedrus* et situation géographique des différentes stations d'étude

Stations	Latitude « N »	Longitude « O »	Altitude « m »
Ouled Mimoun	34°54'10''	1°2'11''	702
Aïn Fezza	34°52'38''	1°14'7''	846
Terni	34°47'44''	1°21'32''	1201
Siphax	35°17'28''	1°28'58''	51

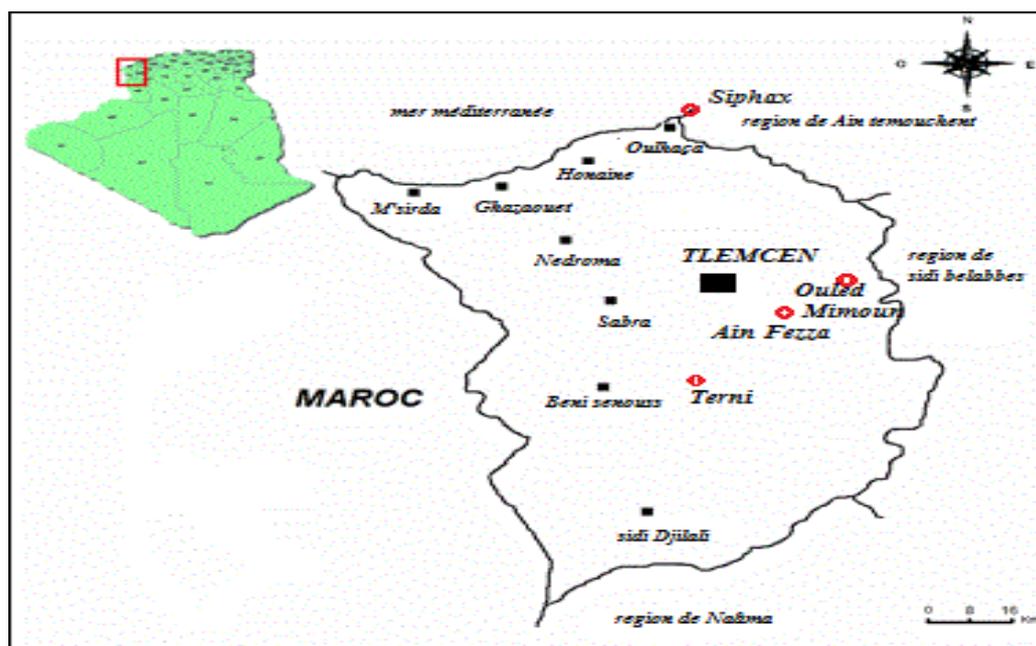


Figure 06 : Situation géographique des lieux des prélèvements

I.2 Identification botanique

L'identification botanique de cette espèce a été réalisée par le Docteur **HASSANI F.** (Laboratoire d'Écologie et Gestion des Écosystèmes, Université de Tlemcen). Un spécimen a été déposé au niveau du laboratoire des « Produits Naturels » (Département de Biologie, Université de Tlemcen), sous le numéro de référence C. 48.

I.3 Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au laboratoire par hydrodistillation .

I.3.1 Description de la technique d'hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée en mélangeant 250 g de matières végétales avec de l'eau dans un ballon de 2 litres. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2h30. Le chauffage permet l'éclatement des glandes contenant l'huile essentielle dans la structure végétale puis la libération des molécules volatiles. Les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide conduisant à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'hydrolat par décantation.



Photo (03) : Montage d'un appareil d'hydrodistillation

I.3.2 Détermination des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matériel végétale à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rat}\% = M/M_0 \times 100$$

Rat% : Le rendement en huile essentielle

M : Masse d'huile essentielle récupéré (g)

M₀ : Masse de matière végétale à traiter (g)

II. Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles

II.1 Souches fongiques testées

Les souches utilisées dans cette étude sont huit levures de type *Candida albicans*. Ces dernières ont été choisies pour leur implication dans la formation du biofilm prothétique de la cavité buccale.

Tableau N°3 : Souches utilisées pour l'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles

<i>Candida albicans</i> : 01
<i>Candida albicans</i> : 02
<i>Candida albicans</i> : 03
<i>Candida albicans</i> : 04
<i>Candida albicans</i> : 05
<i>Candida albicans</i> : 06
<i>Candida albicans</i> : ATCC 10231
<i>Candida albicans</i> : IP 444

II.2 Mise en culture des souches

Une préculture des souches fongiques est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée avec un spectrophotomètre à $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures ($DO = 0.12$ à $0.15 / \lambda = 530$ nm) (NCCLS, 2001).

II.3 Méthode d'étude du pouvoir antifongique des huiles essentielles

Le test antifongique a été réalisé par la méthode de l'antibiogramme. Elle est basée sur la diffusion à partir de disques imprégnés de substances à tester selon un gradient de concentration.

Pour les levures du genre *Candida*, l'ensemencement est réalisé sur milieu Sabouraud par inondation de 1ml de suspension fongique. L'excédant de l'inoculum est éliminé par aspiration.

Des disques en papier filtre de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 15 µl d'huile essentielle et 5 µl de DMSO. Ensuite, ces disques chargés sont transférés dans les boîtes de Pétri inoculées.

En parallèle, nous avons utilisé des disques témoins positifs à base d'un antifongique qui est le Fluconazole (25 µg/disque). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24h à 48h. Le diamètre des zones d'inhibition est mesuré (mm), disque inclus.

III. Méthode d'étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles

Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* d'un extrait naturel différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que les radicaux libres ou les complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux.

Dans ce travail on a choisi la méthode de piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl). Ce test permet de mesurer la capacité réductrice d'un antioxydant en présence d'un radical libre, le DPPH•. C'est un radical libre très stable à l'état cristallin, de coloration violette. La forme réduite (jaune pâle) n'absorbe plus, ce qui se traduit par diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

L'effet des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* sur le DPPH• est mesuré par le protocole expérimental de **Benhamou et al. (2007)**. 50 µl de chaque échantillon sont ajoutés à 1,95 ml d'une solution méthanolique de DPPH• (0,025 g/L) fraîchement préparée. Pour chaque concentration un blanc est préparé. Un contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1,95 mL de la solution méthanolique de DPPH•. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La diminution de l'absorbance de la solution DPPH• indique une augmentation de l'activité de piégeage des radicaux DPPH•. Cette activité, donnée en % de piégeage des radicaux DPPH•, est calculée avec l'équation suivante

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_C - A_T) / A_C] \times 100$$

A_C : Absorbance du contrôle

A_T : Absorbance du test effectué

- **Calcul des CI_{50}**

La concentration inhibitrice de 50%, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les CI_{50} sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

Troisième partie

Résultats et discussion

I. Rendements en huile essentielles des différentes stations

Les huiles essentielles des baies de cette espèce végétale sont obtenues par hydrodistillation. Elles sont d'aspect liquide, de couleur transparente et caractérisée par une forte odeur. Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche et représentés dans les figures ci-dessous.

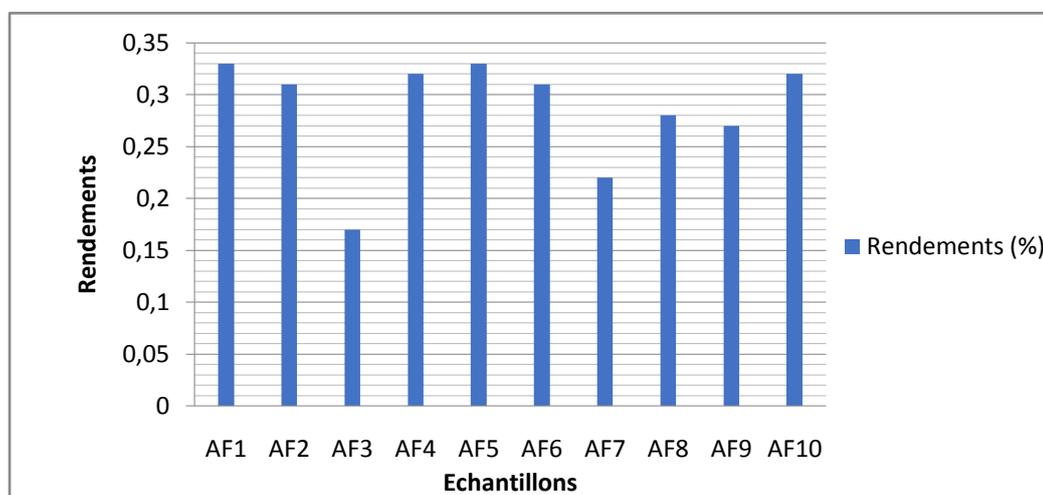


Figure 07 : Les rendements en huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* de la région de Aïn Fezza

Les échantillons de baies récoltées à Aïn Fezza fournissent des valeurs de rendements plus ou moins importantes, variant de 0,17 à 0,33% (**Figure 07**).

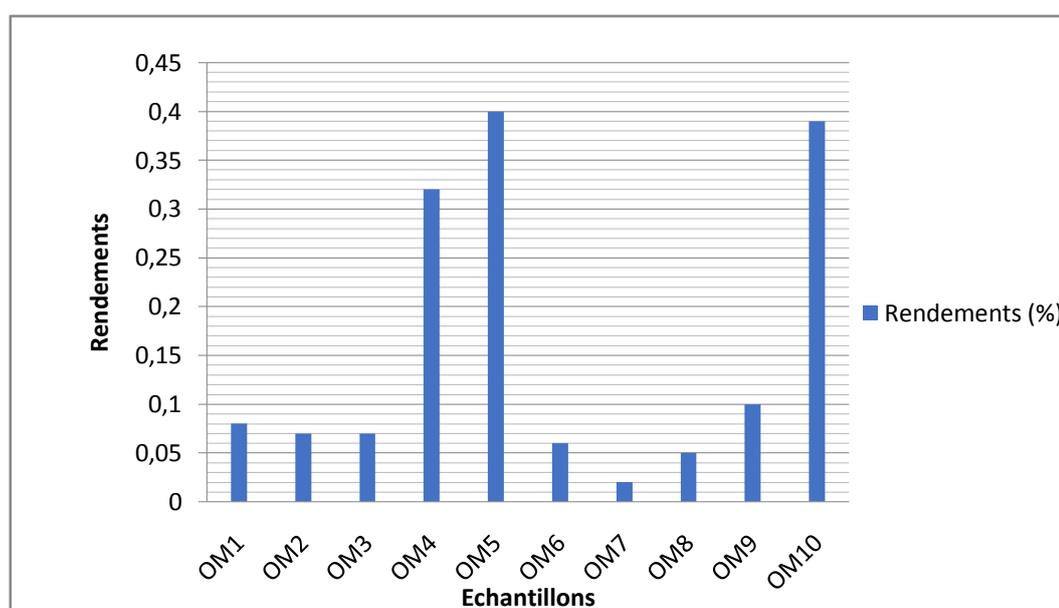


Figure 08 : Les rendements en huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* de la région de Ouled Mimoun

Bien que les échantillons appartiennent à la même station, les teneurs en huile essentielle de cette station sont très variables d'un pied à un autre, variant de 0,02 à 0,40% (Figure 08).

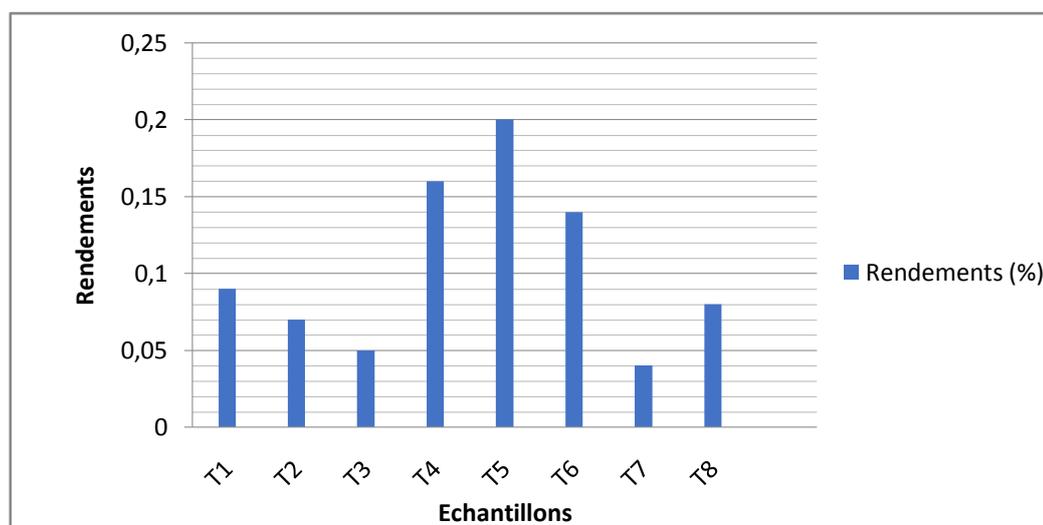


Figure 09 : Les rendements en huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* de la région de Terni

Les échantillons de la station de Terni montrent des valeurs de rendements relativement faibles allant de 0,04 à 0,20% (Figure 09).

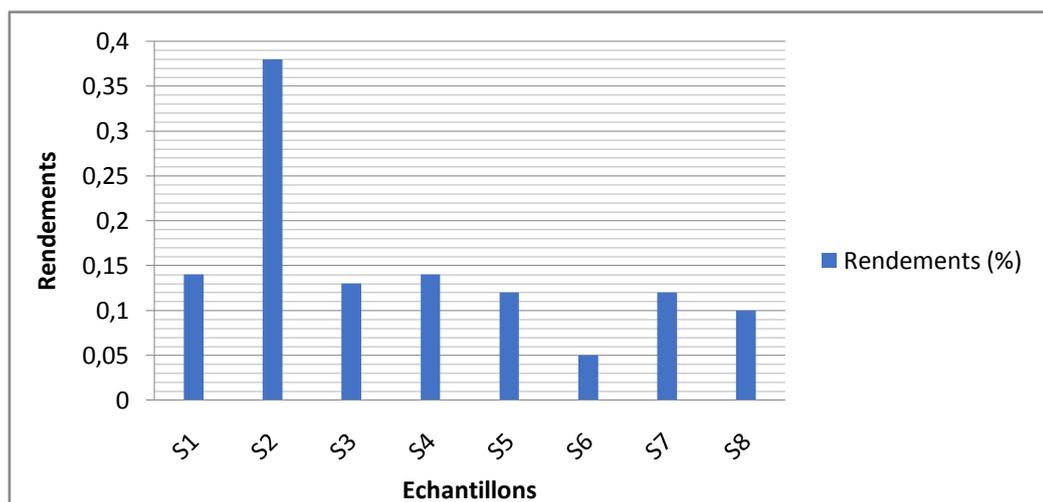
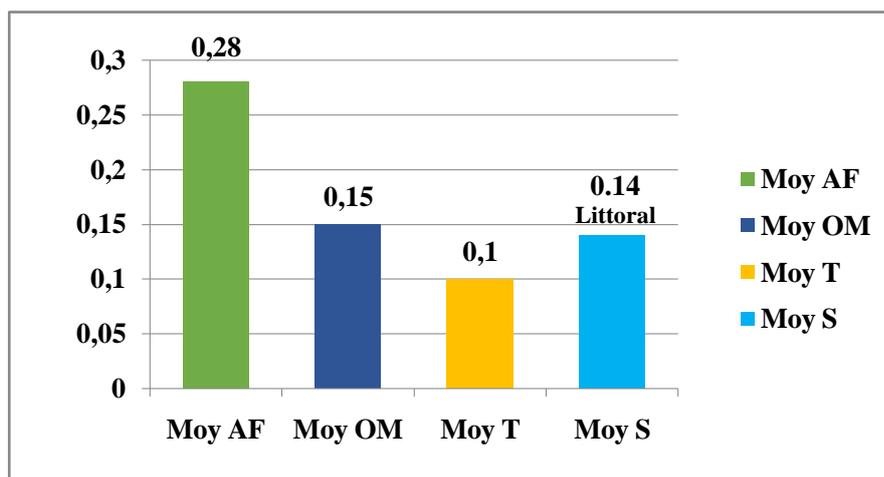


Figure 10 : Les rendements en huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* de la région de Siphax

Les échantillons de la station de Siphax présente des rendements peu variables à l'exception d'un seul échantillon qui est contient une teneur élevée en HE de l'ordre de 0,38% (Figure 10).

Dans la figure 11, nous avons rapporté les rendements moyens des différents lieux de prélèvements.



(Les stations : AF : Aïn Fezza ; OM : Ouled Mimoun ; T : Terni ; S : Siphax)

Figure 11 : Les moyennes des rendements des différentes stations

Nous avons noté que les teneurs en huiles essentielles des différents échantillons de *Juniperus oxycedrus* sont très variables, variant entre 0,02% et 0,40%. On constate également que les échantillons de *J. oxycedrus* de provenance de Aïn Fezza sont les plus riches en huile essentielle. Par contre, nous n'avons constaté aucune corrélation directe entre le rendement en huile essentielle et l'altitude. En effet, les valeurs moyennes des rendements semblables (environ 0,14% à 0,15%) ont été calculées pour Siphax (51 m) et Ouled Mimoun (702 m). En revanche, les échantillons de la station de Terni présente des rendements relativement faible (Moy = 0,10%) par rapport aux autres stations étudiées.

La teneur en HE des baies de *Juniperus oxycedrus* récoltées en Liban et en Tunisie sont de l'ordre de 0,72% et de 0,7 à 1,5%, respectivement (Loizzo *et al.*, 2007 ; Medini *et al.*, 2012). De même, les baies de *J. oxycedrus* de provenance d'Espagne ont fourni un rendement en huile essentielles d'environ 1,14% (Salido *et al.*, 2002). Une autre étude montre également que la teneur en HE des baies de *J. oxycedrus* originaire de Portugal est élevée de l'ordre de 2,0% (Cavaleiro *et al.*, 2006). De même, Alan *et al.* (2016) rapportent des rendements élevés de l'ordre de 2,12%. Ces rendements sont nettement plus importants que les nôtres. Par contre, Dob *et al.*, en 2006 rapporte que les baies de *Juniperus oxycedrus* poussant à l'état spontané à Djelfa en Algérie ont une teneur de 0,10% en moyenne. De même pour un échantillon de Tunisie qui fournit une teneur en HE de l'ordre de 0,2% (Medini *et al.*, 2012). Les rendements en HE des échantillons de baies récoltées en Corse sont également faibles variant entre 0,10 et 0,22% (Ottavioli, 2009). Ces résultats concordent avec les valeurs que nous avons obtenues en particulier pour la station de Terni. En outre, les baies de *J. oxycedrus* récoltées en Sardaigne et en Grèce ont fourni des rendements de l'ordre de 0,49% et 0,40%,

respectivement (Angioni *et al.*, 2003 ; Stassi *et al.*, 1995). Ces valeurs sont très proches que celle d'un échantillon provenant de Ouled Mimoun (0,40%).

II. Activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus*

Cette partie est divisée en deux axes : le premier est consacré à l'activité antifongique de quatre échantillons des huiles essentielles des baies de Taga récoltées dans quatre stations différentes. Dans le deuxième axe, nous avons déterminé l'activité antioxydante de ces HES des baies par la méthode de DPPH.

II.1 Pouvoir antifongique des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus*

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des baies de Taga a été testé contre des *Candida albicans* en appliquant la méthode de diffusion sur disque.

Il est à noter que ces champignons ont été prélevés du biofilm prothétique de la cavité buccale, et qui sont responsables des stomatites. L'identification des *Candida albicans* a été réalisée tout d'abord par la révélation des deux caractères suivants :

- Formation de chlamydospores caractéristique, 24 à 48 heures après repiquage en étalant avec un râteau la suspension de levure (aérobiose) sur un milieu pauvre en sucre et en tensio-actif (rice cream) ;
- Filamentation en sérum à 37°C en 03h.

L'identification de ces levures a été réalisée également en utilisant la galerie AUXACOLOR TM² qui est un système d'identification dont le principe repose sur l'assimilation des sucres. La croissance des levures est visualisée par le virage d'un indicateur de pH (Mammar *et al.*, 2017).

Les résultats de l'activité antifongique des HES et la résistance de chaque souche vis-à-vis un contrôle positif, sont donnés dans le tableau 05.

Comme cela est souvent indiqué dans la littérature, nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action fongistatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 15 mm. Ainsi, les huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* des différentes stations étudiées sont inactives contre les *Candida albicans* testées avec des zones d'inhibition variant entre 6 et 11 mm.

Les résultats obtenus révèlent que les huiles essentielles de *J. oxycedrus* de provenance de quatre régions éloignées, présentent une faible activité antifongique. Les différentes souches de *Candida albicans* testées se sont montrées très résistantes à toutes les huiles essentielles.

Tableau 04 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* des quatre stations relatives aux souches fongiques selon la méthode de disques

Souches fongiques	Antifongique		Les huiles essentielles (15 µl)								DMSO
	FLU (25µg)		Ain Fezza		Ouled Mimoun		Terni		Siphax		
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	
<i>Candida albicans 1</i>	10,0±0,0	10,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	7,3±1,7	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0
<i>Candida albicans 2</i>	11,3±0,8	6,0±0,0	9,0±0,0	8,3±0,4	11,3±0,8	11,6±0,4	8,3±0,4	8,0±0,0	9,3±1,7	8,6±0,8	6,0
<i>Candida albicans 3</i>	6,0±0,0	6,0±0,0	8,6±2,2	8,0±1,3	10,6±0,8	10,0±1,3	6,6±0,8	6,6±0,8	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0
<i>Candida albicans 4</i>	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	7,3±1,7	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0
<i>Candida albicans 5</i>	6,0±0,0	6,0±0,0	7,6±0,4	6,3±0,4	6,0±0,0	6,0±0,0	8,3±0,4	7,3±1,1	8,0±0,0	7,6±0,4	6,0
<i>Candida albicans 6</i>	8,6±1,7	8,6±1,7	8,6±0,4	8,3±0,4	10,6±0,8	6,0±0,0	8,0±0,0	8,0±0,0	9,3±1,7	8,6±0,8	6,0
<i>Candida albicans</i>	AC	10,6±2,2	9,3±2,2	9,3±2,2	7,3±1,7	6,3±0,4	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0	6,0
<i>Candida albicans</i>	6,0±0,0	6,0±0,0	6,6±0,8	6,3±0,4	9,6±0,4	8,6±0,4	8,0±0,0	7,3±0,8	6,6±0,8	6,6±0,8	6,0

AC : aucune croissance

FLU : Fluconazole

Ces résultats concordent avec ceux de **Stassi et al. (1995)** qui des rapportent une très faible activité des huiles essentielles des baies vis-à-vis de *Candida albicans*, avec des CMI de l'ordre de 4,3 et 8,6 mg/ml. Nos résultats sont également en accord avec ceux de **Cavaleiro et al. en (2006)**. Ces auteurs avancent aussi une très faible activité des HEs des baies de *J. oxycedrus* contre *Candida albicans*, avec des CMI variant entre 10 et 20 µl/ml. De même, *Candida albicans* s'est révélée également résistante vis-à-vis de des huiles essentielles des baies de *J. oxycedrus* (CMI > 900 µg/ml) (**Angioni et al., 2003**). D'après aussi **Sela et al. en 2013**, l'HE des baies de *Juniperus oxycedrus* n'a pas d'activité contre plusieurs micro-organismes testés tel que *Candida albicans*. Selon la littérature, les huiles essentielles des feuilles, des rameaux et des baies de *Juniperus oxycedrus* possèdent généralement un faible pouvoir antimicrobien contre la plupart des souches microbiennes testées (**Mansouri et al., 2010 ; Medini et al., 2013 ; Raho et al. en 2017**).

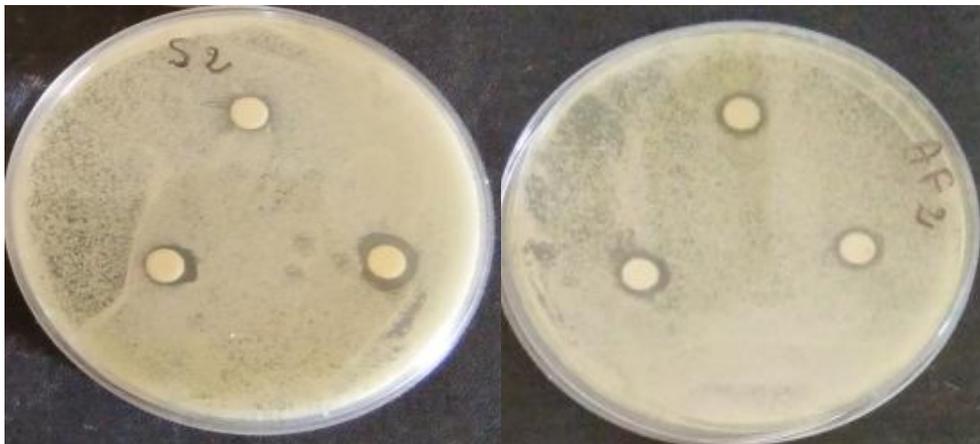


Photo 04 : Inhibition de *Candida albicans* par les HEs de *J. oxycedrus*



Photo 05 : Inhibition de *Candida albicans* par le Fluconazole

II.2 Pouvoir antioxydant des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus*

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos échantillons a été réalisée par la technique de piégeage du radical libre DPPH. Pour ce test, une gamme de concentration a été préparée pour chaque échantillon d'huile essentielle. Les valeurs des densités optiques obtenues montrent une augmentation proportionnelle du pouvoir réducteur en fonction des concentrations. Ces résultats ont permis de tracer des courbes représentées dans les figures suivantes.

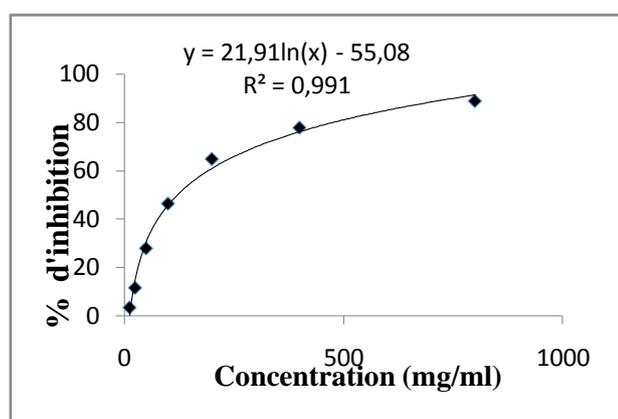


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Aïn Fezza

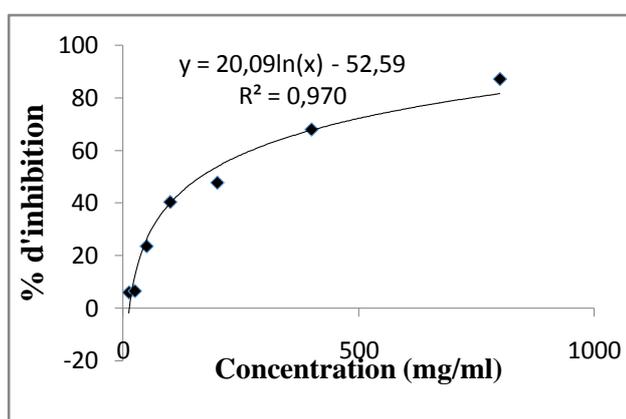


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Ouled Mimoun

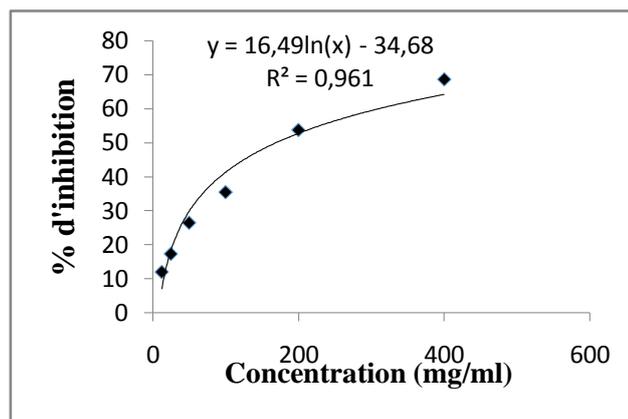


Figure 14 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Siphax

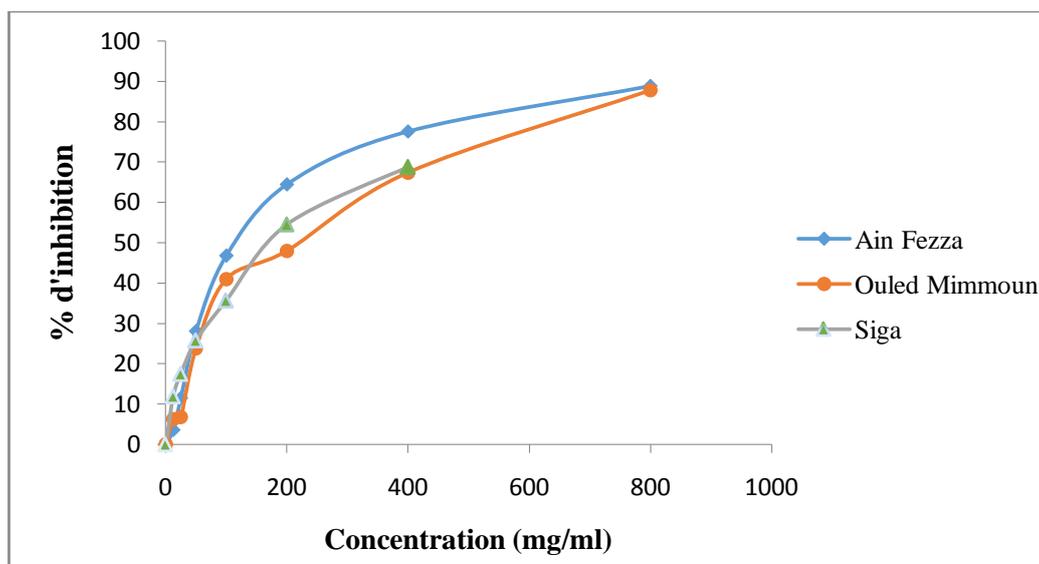


Figure 15 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* testé par la méthode de DPPH

Le tableau 05 rapporte les valeurs de la CI_{50} des échantillons des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de chaque station.

Tableau N°5 : Activité antioxydante des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH exprimée en CI_{50}

	CI_{50} (mg/ml)
Aïn Fezza	121,51±0,7
Ouled Mimoun	167,21±3,8
Siphax	163,72±1,9
Acide ascorbique	0,062

D'après les données du tableau 5, l'huile essentielle des baies de *Juniperus oxycedrus* de la station de Aïn Fezza a montré un pouvoir antioxydant plus ou moins important par rapport à celui des autres stations avec une CI_{50} de l'ordre de $121,51 \pm 0,7$ mg/ml. Cependant, ces valeurs restent très faibles par comparaison à l'antioxydant de référence utilisé (acide ascorbique $CI_{50}=0,062$ mg/ml).

Ces résultats montrent que nos huiles essentielles ont un faible pouvoir antioxydant et ne sont en accord avec la littérature. En effet, **Medini et al. (2012)** ont étudié l'activité antioxydante des HEs des baies provenant de Tunisie par deux tests, à savoir : le piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) et le piégeage du radical-cation ABTS⁺. Ces auteurs rapportent un fort pouvoir antioxydant, avec une inhibition de plus de 95% du radical ABTS⁺ à une concentration de 2,5 mg/ml et une CI_{50} très intéressante, variant entre 0,4 et 0,6 mg/ml en comparaison avec le Trolox ($CI_{50}=1,3-2,0$ mg/ml). De même, les résultats du test DPPH ont montré une bonne activité antioxydante avec des pourcentages d'inhibitions supérieures à 85% à une concentration de l'ordre 150 µg/ml pour la plupart des échantillons testés.

De même, **Loizzo et al.**, en **2007**, ont évalué l'activité antioxydante des HEs des baies et du bois de Taga. Ils rapportent que l'HE du bois présente un fort pouvoir antioxydant avec des CI_{50} obtenues par le test de DPPH d'ordre de 1,45 µl/ml contre 7,42 µl/ml pour les baies.

Nous avons constaté que les huiles essentielles des baies *Juniperus oxycedrus* possèdent une activité antioxydante, mais elle reste faible en comparaison avec les antioxydants standards.

Conclusion

La flore Algérienne est riche en plantes aromatiques et médicinales et bon nombre d'entre elles sont des espèces endémiques pouvant être en tant que source de produit à forte valeur ajoutée.

Ces plantes par leur grande diversité, représentent un réservoir important de produits, notamment des huiles essentielles, ayant des activités diverses et par conséquent, pouvant avoir de multiples applications commerciales, tant dans la parfumerie et l'industrie alimentaire que dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux.

L'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antimicrobiennes ou antioxydantes, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes.

Le travail de recherche entrepris dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales. Nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante ainsi que l'activité antifongique des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus*. Ce travail nous a permis de conclure que :

L'obtention de l'huile essentielle par hydrodistillation reste une méthode simple et efficace, et donne un rendement intéressant. Le calcul de rendement moyen en huile essentielle de notre plante nous a révélé des valeurs variant de 0,10 à 0,28% pour les différentes stations étudiées. Il est à noter que les teneurs en HE sont très variables au sein d'une même station.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH des huiles essentielles s'est traduite par des pourcentages d'inhibition des radicaux avec des CI_{50} de l'ordre de 121 à 167 mg/ml. Donc, elles possèdent un effet antioxydant très faible en comparaison avec l'antioxydant de référence testé.

Ensuite, nous avons étudié le pouvoir antifongique des huiles des baies de *Juniperus oxycedrus* qui se sont montrées inactives contre les différentes souches de *Candida albicans* testés avec des diamètres d'inhibition variant entre 6 et 11 mm.

Enfin, nos perspectives de recherche sont les suivantes :

- Poursuivre l'étude phytochimique de l'espèce de *Juniperus oxycedrus* afin d'isoler d'autres molécules bioactives.
- Etudier l'activité antioxydante avec d'autres méthodes.
- Etudier d'autres activités biologiques de ces métabolites tels que l'activité anti-inflammatoire et antidiabétique.

Références

bibliographiques

- Abrassart JL. 2001.** Aromathérapie essentielle, huiles essentielles et parfums pour le corps et l'âme. Ed. Guy Tredaniel, Alger, pp. 5-10.
- Adams RP, Altarejos J, Fernandez C, Camacho A. 1999.** The leaf essential oils and taxonomy of *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus*, subsp. *badia* (H. Gay) Debeaux, and subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. *J Essent Oil Res* **11**: 167-172.
- Alan, S, KÜRKCÜOĞLU M., & ŞENER, G. 2016.** Composition of the Essential Oils of *Juniperus oxycedrus* L subsp. *oxycedrus* Growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, *13*(3).
- Aljos Farjon 2008.** A Natural History of Conifers. ISBN 10 : 0881928690.
- Amri I, Hamrouni L, Hanana M and Jamoussi B. 2011.** Chemical composition of *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* essential oil and study of their herbicidal effect on germination and seedling growth of weeds. *Asian journal of applied science*. *4* (8) : 771-779.
- Angioni A, Barra A, Russo M T, Coroneo V, Dessí S, Cabras P. 2003.** Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(10), 3073-3078.
- Barrero AF, Oltra JE, Altarejos J, Barragán A, Lara A, Laurent R. 1993.** Minor components in the essential oil of *Juniperus oxycedrus* L. wood. *Flavour and fragrance journal*, *8*(4), 185-189.
- Benhamou N, Atik-Bekkara F, Kadifkova Panovskar T. 2007.** Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advences in Food Science* ; *29* (3), 155-161.
- Blayn JF. 1980.** Parfums Cosmétique Arômes. N°117.
- Boussaïd M. 2016.** Caractérisation des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* de la région de Tlemcen et étude de leurs activités biologiques. *Thèse de doctorat en Biologie*.
- Budtz J. 1974.** Proteolytic activity of *Candida* spp. as related to the pathogenesis of denture stomatitis- Sabouaud. *12*: 26671.
- Burgot GJ. 2011.** Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : Méthodes chromatographiques électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques. p.10.
- Caillet S, Lacroix M. 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).
- Callen C. 1976.** Les conifères cultivés en Europe, volume I, édition J-B Ballière, 428p.

- Cavaleiro C, Pinto E, Goncalves MJ, Salgueiro L. 2006.** Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1333-1338.
- Chaouche T M, Haddouchi F, Ksouri R, Medini F, & Atik-Bekara F. 2013.** In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Phytothérapie*, 11(4), 244-249.
- Chakir S , El Amrani F, Rhallab A, Alaoui T, El Badaoui K. 2010.** Étude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès-Tafilalet (Maroc). *Phytothérapie*, 8(3), 161-165.
- Colette B. 2008.** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques à *La Rochelle*. *Applications généralisées*. pp 40/289.
- Colette E. 2003.** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de Doctorat Pharmacie université de Bamako, 147p.
- Debazac E. 1991.** Manuel des conifères E.N.G.R.E.F. – Nancy. 2^{ème} édit, 172p.
- Degryse A, Delpla I, Voinier M. 2008.** Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire, atelier santé environnement.
- Dob T, Dahmane D, Chelghoum C. 2006.** Essential Oil Composition of *Juniperus oxycedrus* Growing in Algeria. *Pharmaceutical Biology*, 44(1), 1-6.
- Evans WC. 1989.** Pharmacognosy. 13ème éd. Baillière Tindall. London. pp 15-62.
- Favier A. 2003.** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108p.
- Fernandez X, Chemat F. 2012.** La chimie des huiles essentielles - Tradition et innovation Broché.
- Festy D. 2011.** Les huiles essentielles ça marche ! Avec 78 formules à commander en pharmacie. Ed LEDUC, ISBN : 978-2- 84899-316-4. p. 22-26.
- Garnier G, Bezanger-Beauquesne L. 1961.** Ressources médicinales de la flore française 2 tomes. Vigot frères. Paris, 1511p.
- Garreta R. 2007.** Des simples à l'essentiel : de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales. Presses Université, p.308-312.
- Guerin V, Carret G. 1999.** L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales GTV-INRA, p. 5-12.
- Haleng J, Pincemail J, Defraigne JO, Charlier C, Chapelle JP. 2007.** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10), 628-38.
- Harrison TR. 2013.** Principes de médecine interne. La 18^e éd. Flammarion.

- Holley A. 1999.** Eloge de l'odorat. Ed. Odile Jacob, p. 276.
- Hurtel J. 2006.** Phytothérapie, plantes médicinales et aromathérapie.
- Jacob M, Pellecuer J, Tomei R. 1979.** Centre régional d'étude et développement des plantes à usage pharmaceutique. *Rivista Italiana EPPOS*, 11-26-30.
- Janlou C. 2001.** Futura-sciences/classification-vivant-champignon-14469.
- Lagouiter O, Gherib A, Laghouiter H. 2015.** Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa. *Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes*, Vol. 8(1), 84-93.
- Lahlou M. 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.
- Larivee L. 2002.** Les huiles essentielles, un arsenal de guerre contre les microbes. Publication 4 temps Vol. 21, n°4.
- Larondo JV, Calvo MA. 1991.** Effect of essential oil on *Candida albicans* : a scanning éléction microscope study. *Biomedical letters*, 46(184) : 269-272.
- Laszlo P., 2000.** Le savoir des plantes. Ed. Ellipes, 125p.
- Levine MJ. 1992.** Characterization of an amylase-binding component of *Streptococcus gordonii* G9B. *Infect. Immun.*, 60:4726-4733.
- Lis-Balchin M. 2002.** Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. pp: 37, 40,50, 155-200.
- Loizzo MR, Tundis R, Conforti F, Saab A, Statti GA, Menichini F. 2007.** Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food Chemistry*, 105(2), 572-578.
- Lucchesi ME. 2006.** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles. p. 16-59.
- Lutz. 1940.** The structure of interest rates. *The Quarterly Journal of Economics*, 55(1), 36-63.
- Maach A, Jemali A. 1986.** Etude des caractéristiques physico-chimiques des HEs de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc: Menthe, Coriandre. IAV Hassan II, Rabat, Maroc.
- Maillard A. 2013.** Aromathérapie familiale : Les mycoses : des solutions aromatiques curatives et préventives. Aroma-Zone.
- Mammar NEI-I, Ramdane N, Ayad SH. 2017.** Etude mycologique de biofilm prothétique chez les patients présentant une stomatite sous-prothétique. *Mémoire de doctorat en médecine dentaire*. Université de Tlemcen, 141p.

- Mansouri N, Satrani B, Ghanmi M, El Ghadraoui L, Aafi A, Farah A. 2010.** Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du Maroc. *Phytothérapie*, 8(3), 166-170.
- Mao K, Hao G, Liu J, Adams R, Milne R. 2010.** Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytologist*, 188(1), 254-272.
- Medini H, Ameer E, Larbi K M, Piras A, Porcedda S, Falconieri D, Chemli, R. 2012.** Chemical composition of the essential oils of the berries of *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *rufescens* (LK) and *Juniperus oxycedrus* L. ssp. *macrocarpa* (S. & m.) Ball. and their antioxidant activities. *Natural product research*, 26(9), 810-820.
- Medini H, Manongiu B, Neffati A, Chekir, Ghedira, Harzalla-Skhiri, Larbi K. 2013.** Chemical and Antibacterial Polymorphism of *Juniperus oxycedrus* ssp. *Oxycedrus*.
- Moro-Buronzo A. 2008.** Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien-être Hachette pratique, p.14.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2001.** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : eleventh informational supplement. NCCLS document M100- S11. USA : Villanova ; 21 (1).
- Nessie 2011.** Les familles Biochimiques : Les cétones et aldéhydes. Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Vol.2 Dermatologie, Ed. Inspir
- Ottavioli J. 2009.** Contribution de la RMN ¹³C a l'analyse d'huiles essentielles et d'oleoresines: Caractérisation de genévriers et du pin maritime de Corse. Thèse de Doctorat en Chimie, Université Pascal Paoli-Corse.
- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria. *Food control*, 18(5), 414-420.
- Paolini J. 2005.** Caractérisation des huiles essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE ET IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux Astéracées endémiques de Corse : *Eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *Doronicum corsicum*, pp.26, 38.
- Quézel P et Gast M. 1998.** Genévrier, encyclopédie berbère. ED. sud, vol. 20, pp 3016-3023.
- Quézel P et Santa S. 1962.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Paris. Tome I (1962), 1170 p.
- Quézel P et Médail F. 2003.** Que faut-il entendre par "forêts méditerranéennes". Forêt méditerranéenne. T. XXIV. N°1. pp:11-30.

- Raho BG, Otsmane M, Sebaa F. 2017.** Inhibitory Effects of *Juniperus oxycedrus* Essential Oils Against Some Pathogens. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol. 2 (1) pp. 29-33.
- Reynal B, Multon JL. 2009.** Additif et auxiliaire de fabrication dans les industries agroalimentaire, Ed. Tec & Doc, p.119.
- Rouessac F, Rouessac A, Brooks S. 2007.** Modern instrumentation methods and techniques. Ed. JohnWiley and Sons, p.31
- Roulier G. 2006.** Les huiles essentielles pour votre santé. Ed Dangles.
- Salido S, Altarejos J, Nogueras M, Sánchez A, Pannecouque C, Witvrouw M, De Clercq E. 2002.** Chemical studies of essential oils of *Juniperus oxycedrus* ssp. *badia*. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1), 129-134.
- Scimeca D. 2007.** Les plantes du bonheur. Ed. Alpen, pp12-17.
- Sela F, Karapandzova1 M, Stefkov G, Cvetkovik J, Trajkovska E et Kaftandzieva S. 2013.** Chemical composition and antimicrobial activity of berry essential oil of *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressaceae) grown wild in Republic of Macedonia. 59(1, 2) 41-48.
- Sezik E, Kocakulak E, Baser KHC, Ozek T. 2005.** Composition of the essential oils of *Juniperus oxycedrus*
- Smadja J. 2009.** Les Huiles Essentielles Colloque GP3A. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA).
- Stassi V, Verykokidou E, Loukis A, Harvala C, & Philianos S. 1995.** The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. *Flavour and fragrance journal*, 11(1), 71-74.
- Teixeira B, Marques A, Ramos C. 2013.** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. 43: 587-595.
- Vardar-Ünlü G, Ünlü M, Dönmez E, & Vural, N. 2007.** Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Origanum minutiflorum* O Schwarz & PH Davis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(2), 255-259.
- Valentini G, Bellomaria B, Maggi F, Manzi A. 2003.** The leaf and female cones oils. of *Juniperus oxycedrus* L. *oxycedrus* and *Juniperus* ssp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.), Ball. From Abruzzo. *J Essent Oil Res* 15: 418-421
- Valnet J. 2003.** Aromathérapie. 11ème édition Vigot.
- Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso MJ, Palà-Paul, Íñigo A, Lopez G. 2005.** The volatile oil composition of the berries of *Juniperus macrocarpa* Sibth. & Sm., Gathered in Spain. *J. Essent. Oil Res.*, 17: 61-63.

Wei A, Shibamoto T. 2010. Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(12), 7218-7225.

Willem JP. 2009. 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les minipockets de santé. p.7-17.

Anonyme 01 : <https://www.pinterest.com>.

Anonyme 02 : <http://www.memoireonline.com>.

Annexes

Annexe 01 : Rendements (en %) en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Aïn Fezza

Echantillons	Rendements (%)
AF1	0,33
AF2	0,31
AF3	0,17
AF4	0,32
AF5	0,33
AF6	0,31
AF7	0,22
AF8	0,28
AF9	0,27
AF10	0,32
Moyenne	0,28

Annexe 02 : Rendements (en %) en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Siphax

Echantillons	Rendements (%)
S1	0,14
S2	0,38
S3	0,13
S4	0,14
S5	0,12
S6	0,05
S7	0,12
S8	0,10
Moyenne	0,14

Annexe 03 : Rendements (en %) en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Ouled Mimoun

Echantillons	Rendements (%)
OM1	0,08
OM2	0,07
OM3	0,07
OM4	0,32
OM5	0,40
OM6	0,06
OM7	0,02
OM8	0,05
OM9	0,10
OM10	0,39
Moyenne	0,15

Annexe 04 : Rendements (en %) en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Terni

Echantillons	Rendements (%)
T1	0,09
T2	0,07
T3	0,05
T4	0,16
T5	0,20
T6	0,14
T7	0,04
T8	0,08
Moyenne	0,10

Annexe 05 : Zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Aïn Fezza contre *Candida albicans*

Aïn Fezza	24h			48h		
<i>Candida albicans</i> 1	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 2	9	9	9	8	8	9
<i>Candida albicans</i> 3	6	12	8	10	8	6
<i>Candida albicans</i> 4	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 5	7	8	8	6	6	7
<i>Candida albicans</i> 6	9	8	9	8	9	8
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	12	10	6	12	10	6
<i>Candida albicans</i> IP444	6	6	8	6	6	7

Annexe 06 : Zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Ouled Mimoun contre *Candida albicans*

Ouled Mimoun	24h			48h		
<i>Candida albicans</i> 1	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 2	10	12	12	11	12	12
<i>Candida albicans</i> 3	12	10	10	10	12	8
<i>Candida albicans</i> 4	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 5	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 6	12	10	10	6	6	6
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6	6	10	6	6	7
<i>Candida albicans</i> IP444	10	9	10	9	9	8

Annexe 07 : Zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Terni contre *Candida albicans*

Terni	24h			48h		
<i>Candida albicans</i> 1	6	6	10	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 2	9	8	8	8	8	8
<i>Candida albicans</i> 3	6	6	8	6	6	8
<i>Candida albicans</i> 4	10	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 5	8	9	8	9	7	6
<i>Candida albicans</i> 6	8	8	8	8	8	8
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> IP444	8	8	8	8	8	6

Annexe 08 : Zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de la station de Siphax contre *Candida albicans*

Siphax	24h			48h		
<i>Candida albicans</i> 1	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 2	8	12	8	8	8	10
<i>Candida albicans</i> 3	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 4	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 5	8	8	8	8	8	7
<i>Candida albicans</i> 6	8	8	12	8	8	10
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> IP444	6	6	8	6	6	8

Annexe 09 : Zones d'inhibition (mm) de l'antifongique contre *Candida albicans*

Fluconazole	24h			48h		
<i>Candida albicans</i> 1	10	10	10	10	10	10
<i>Candida albicans</i> 2	12	12	10	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 3	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 4	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 5	6	6	6	6	6	6
<i>Candida albicans</i> 6	10	10	6	10	10	6
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Aucune croissance			10	8	14
<i>Candida albicans</i> IP444	6	6	6	6	6	6

Annexe 10 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles des différentes stations par la méthode de DPPH

Stations	Concentrations (mg/ml)						
	12,5	25	50	100	200	400	800
Aïn Fezza	3,55±0,1	11,44±0,3	28,03±0,1	46,42±0,6	64,41±0,6	77,55±0,4	88,73±0,1
Ouled Mimoun	6,26±0,3	6,79±0,3	23,79±0,3	40,96±0,8	47,94±0,3	67,35±0,6	87,75±0,6
Siphax	11,90±0,2	17,49±0,2	25,74±0,6	35,66±0,6	54,48±	68,75±0,3	-

Résumé :

Dans le but de valoriser les plantes médicinales algériennes, nous sommes intéressés dans ce mémoire à l'étude des activités biologiques des huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* L. (Taga) poussant spontanément dans la région de Tlemcen.

Les huiles essentielles des baies de *Juniperus oxycedrus* collectés au niveau de quatre stations différentes dans la région de Tlemcen ont été extraites par hydrodistillation. Les rendements obtenus sont très variables avec des moyennes de l'ordre de 0,10 à 0,28%.

L'activité antifongique de ces huiles essentielles a été étudiée par la méthode des disques vis-à-vis de huit souches fongiques de *Candida albicans* dont six souches d'origine de la cavité buccale des patients porteurs de prothèses amovibles et deux souches de référence. Tous ces champignons se sont montrés très résistants avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 6 et 11 mm.

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de la réduction du radical DPPH•. Les résultats révèlent que ces huiles ont une faible capacité réductrice avec une CI_{50} de 121 à 167 mg/ml, en comparaison avec l'antioxydant de référence ($CI_{50} = 0,062$ mg/ml).

Mots clés : *Juniperus oxycedrus*, huile essentielle, activité antioxydante, activité antifongique, CI_{50}

Abstract :

In order to value the Algerian medicinal plants, we are interested in the study of the biological activities of the essential oils of the *Juniperus oxycedrus* L. (Taga) berries growing in Tlemcen region.

The essential oils of the *Juniperus oxycedrus* berries collected at four different stations in the Tlemcen area were extracted by hydrodistillation. The yields obtained were very variable with averages of the order of 0.10 to 0.28%.

The antifungal activity of these oils was studied by the method of the disks with respect to eight different strains of *Candida albicans* which were very resistant with diameters inhibitions zones varying between 6 and 11 mm.

The antioxidant activity was evaluated by the method of reduction of the DPPH radical. The results reveal that these oils have a low reducing capacity as compared to the reference antioxidant with IC_{50} of 121 to 167 mg/ml.

Key words: *Juniperus oxycedrus*, essential oil, antioxidant activity, antifungal activity, IC_{50}

التلخيص :

من أجل تطوير النباتات الطبية الجزائرية، نحن مهتمون في هذه الذاكرة إلى دراسة النشاط البيولوجي من الزيوت الأساسية المستخلصة من *Juniperus oxycedrus* تنمو بصورة طبيعية في منطقة تلمسان. تم استخراج الزيوت من أربع محطات مختلفة في منطقة تلمسان بطريقة التعصير البخار. وكانت عائدات اختلافا كبيرا مع متوسطات حول 10,0-28,0 %.

وقد تمت دراسة نشاط مضاد الفطريات لهذه الزيوت من خلال طريقة أقراص ضد ثمانية سلالات مختلفة من *Candida albicans*. وكانت هذه الأخيرة مقاومة جدا مع أقطار منطقة الموانع بين 6 و 11 ملم.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من طريقة للحد من DPPH•. وأظهرت النتائج أن هذه الزيوت ذات نشاط مؤكسد ضعيف جدا بالمقارنة مع مضادات الأكسدة المرجعية مع IC_{50} من 121 إلى 167 mg/ml.

كلمات البحث : *Juniperus oxycedrus* والزيوت الأساسية، مضادات الأكسدة، النشاط المضاد للفطريات، IC_{50} .