



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Etude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des
extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus***

Présenté par :

- AIDEL Manel
- HASNIOU Merbouha

Devant le jury :

Président : M^f . ZIAD Abedelaaziz MAA (Univ. Bordj Bou Arreridj)

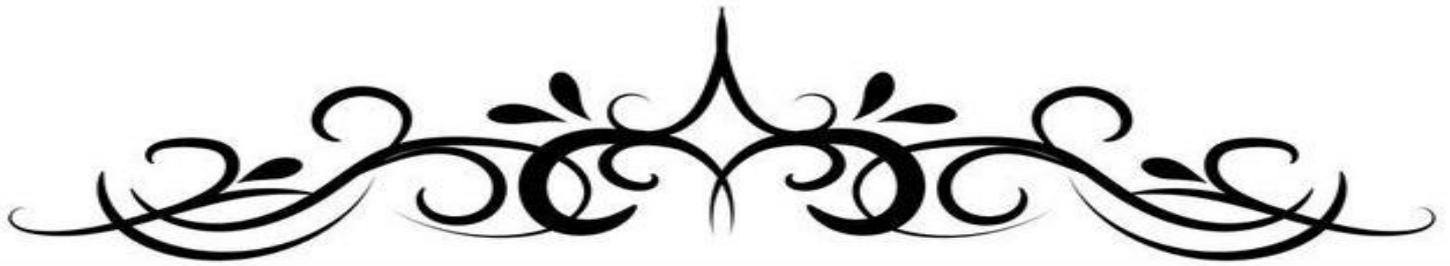
Encadrant : M^f . BELLIK Yuva MCA (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Examineur : M^{me} . MEZITI Asma MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۴۳۸ هـ



Remerciements

*En premier lieu, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la santé, la patience et le courage pour réaliser ce travail.*

Nous exprimons notre gratitude à Mr Ziad Abdelaaziz pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à notre Promoteur, le docteur Bellik Yuva pour nous avoir fait l'honneur de nous encadrer et guider pour réaliser ce travail, pour ses conseils et orientations constructifs, ses encouragements continus et la confiance qu'il nous a accordé.

Nous remercions Mme Meziti Asma d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nous exprimons également nos chaleureux remerciements à Mr Mekhoukh Nasreddine pour sa grande disponibilité, ses conseils pertinents et son aide hautement appréciable.

Nous adressons aussi nos remerciements à toute l'équipe du laboratoire de Chimie au niveau de l'université, pour leur aide et tous les enseignants, qui ont participé par leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques et qui ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et à répondre à nos questions durant nos recherches.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail





Dédicace

Après avoir accompli mes études grâce à DIEU le tout puissant.

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés à toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père pour son soutien et la confiance qu'il ma accordé.

A mes chers frères Mohammed et Walid.

A mes belles sœurs Afaf et Aicha.

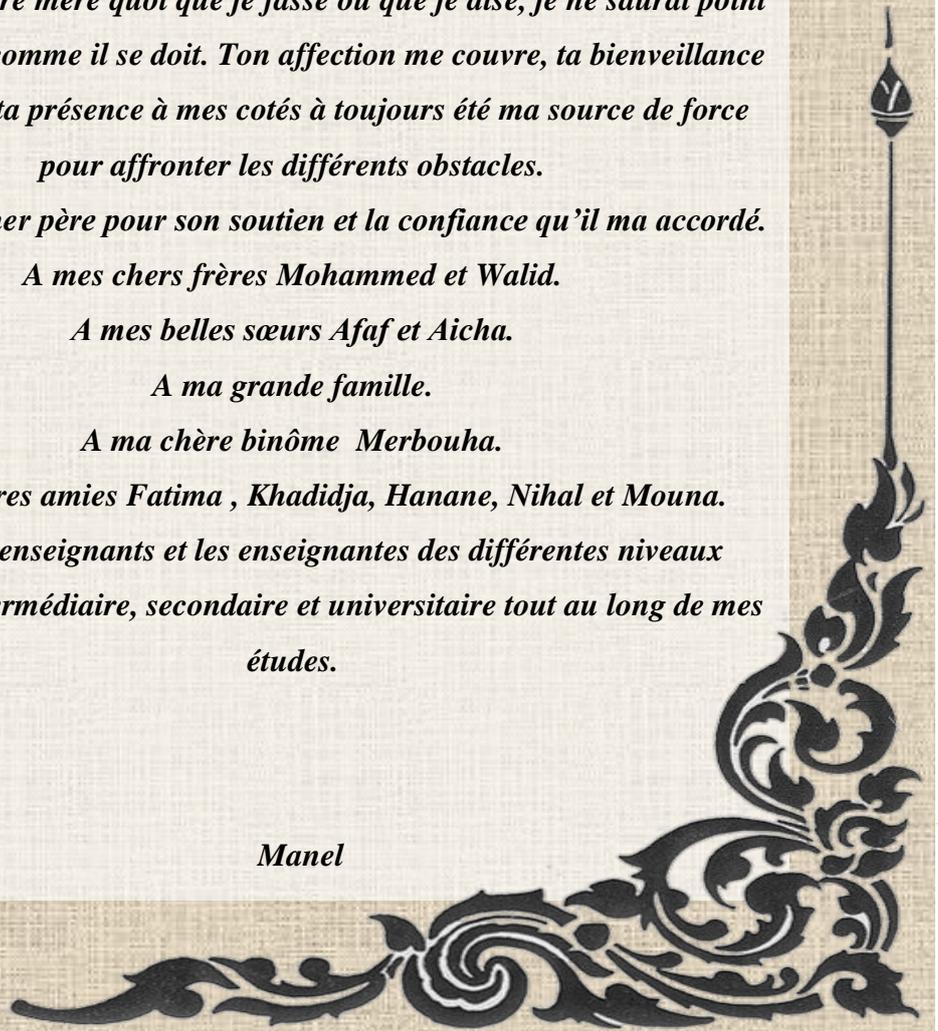
A ma grande famille.

A ma chère binôme Merbouha.

A mes chères amies Fatima , Khadidja, Hanane, Nihal et Mouna.

A tous les enseignants et les enseignantes des différentes niveaux primaire, intermédiaire, secondaire et universitaire tout au long de mes études.

Manel





Dédicace

Je dédie ce travail à Dieu le tout puissant de m'avoir donné la santé, la force et le courage afin d'achever ce travail.

A mes très chers parents qui m'ont toujours encouragé et poussé à réussir, sans votre affection, vos conseils, vos sacrifices, vos prières et vos efforts que vous avez déployé durant toute ma vie. Ce travail n'aurait jamais pu être réalisé.

A mes sœurs Karima et Farida .

A mes frères Amar et Aymen.

A ma cousine Iman.

A tous ma famille .

A ma binôme Manel avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

A mes proches amies Fatima , Nihal , Hanane , Chaima bouchakour.

A toutes les personnes qui m'ont encouragé ou aidé tout au long de mes études.



Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	01
Matériel et méthodes	
I. Matériel végétal.....	04
I.1. <i>Juniperus oxycedrus</i>	04
I.1.1. Description botanique.....	04
I.1.2. Répartition géographique.....	05
I.1.3. Classification botanique.....	05
I.2. <i>Dittrichia viscosa</i>	05
I. 2.1. Description botanique.....	05
I.2.2. Répartition géographique.....	06
I.2.3. Classification botanique.....	06
II. Méthodes.....	06
II.1. Séchage.....	06
II.2. Broyage et tamisage.....	07
II.3. Analyse physicochimique.....	07
II.3.1. Détermination du taux d'humidité.....	07
II.3.1.1. Teneur en eau.....	07
II.3.1.2. Humidité de la poudre	08
II.3.1.3. Détermination du taux de cendre.....	08
II.3.2. Teneur en matière grasse.....	09
II.3.3. Dosage des protéines	09
II.4. Etude phytochimique.....	10
II.4.1. Préparation des extraits.....	10
II.4.2. Calcul du rendement.....	10
II.4.3. Dosage des composés phénoliques.....	11
II.4.4. Dosage des flavonoïdes.....	11
II.4.5. Dosage des tanins condensés (Pro-anthocyanidines).....	11
II.4.6. Extraction et dosage des caroténoïdes.....	12
II.4.7. Détermination des pigments lipo-solubles.....	12
II.5. Évaluation de l'activité antioxydante.....	13

II.5.1. Activité anti-radicalaire.....	13
II.5.2. Pouvoir réducteur.....	13
II.5.3. Capacité antioxydante totale.....	14
II.6. Activité antimicrobienne.....	14
II.6.1. Préparation de l'inoculum.....	14
II.6.2. Mode opératoire.....	14
II.6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	15
II.6.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide/fongicide (CMB/CMF).....	15
II.7. Analyse statistique.....	15

Résultats

I. Résultats de l'étude physicochimique.....	16
I.1. Teneur en eau	16
I.2. Taux d'humidité.....	16
I.3. Taux de cendre.....	16
I.4. Teneur en matière grasse.....	16
I.5. Teneur en protéines.....	16
II. Résultats de l'étude phytochimique.....	17
II.1. Rendements d'extraction.....	17
II.2. Teneurs en polyphénols totaux.....	18
II.3. Teneurs en flavonoïdes totaux.....	19
II.4. Teneur en tanins condensés	20
II.5. Teneur en caroténoïdes.....	20
II.6. Teneur en pigments lipo-solubles.....	21
III. Résultats de l'activité anti-oxydante	21
III. 1 Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH.....	21
III. 2. Résultats du test du pouvoir réducteur.....	23
III. 3 Résultats de l'activité antioxydante totale.....	24
IV. 4. Résultats de l'activité anti-microbienne.....	25

Discussion	27
-------------------------	----

Conclusion	30
-------------------------	----

Références

Annexe

Résumé

Liste des figures

Figure 1 : Image montrant la situation géographique de la région d'étude (Google Earth)....	4
Figure 2 : Photographie de l'espèce <i>Juniperus oxycedrus</i>	5
Figure 3 : Photographie de l'espèce <i>Dittrichia viscosa</i>	6
Figure 4 : Séchage à l'ombre, puis à l'étuve des feuilles de <i>Juniperus oxycedrus</i> (a) et de <i>Dittrichia viscosa</i> (b).....	7
Figure 5 : Broyage et tamisage des deux plantes.....	7
Figure 6 : Etapes de préparation des extraits de <i>D. viscosa</i> et de <i>J. oxycedrus</i> par macération (a) macération sous agitation, (b) filtration.....	10
Figure 7 : Teneur en eau des feuilles fraîches de <i>Dittrichia viscosa</i> (a) et de <i>Juniperus oxycedrus</i> (b).....	16.
Figure 8 : Résultats de l'analyse des paramètres physico-chimiques de <i>Dittrichia viscosa</i> (a) et de <i>Juniperus oxycedrus</i> (b).....	17
Figure 9 : Histogrammes montrant le rendement d'extraction de <i>Dittrichia viscosa</i> (a) et de <i>Juniperus oxycedrus</i> (b).....	17
Figure10 : Histogrammes montrant les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Dittrichia viscosa</i> (a) et de <i>Juniperus oxycedrus</i> (b).....	18
Figure 11 : Histogrammes montrant les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits de <i>Dittrichia viscosa</i> (a) et de <i>Juniperus oxycedrus</i> (b).....	19
Figure 12 : Histogrammes montrant les teneurs en tanins condensés des différents extraits de <i>Dittrichia viscosa</i> (a) et de <i>Juniperus oxycedrus</i> (b).....	20
Figure 13 : Histogrammes montrant l'activité scavenger des différents extraits de <i>Dittrichia viscosa</i> à l'égard du radical DPPH.....	22
Figure14 : Histogrammes montrant l'activité scavenger des différents extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i> à l'égard du radical DPPH.....	22
Figure15 : Histogrammes montrant le pouvoir réducteur des extraits de <i>Dittrichia viscosa</i>	23
Figure16 : Histogrammes montrant le pouvoir réducteur des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	23
Figure17 : Histogrammes montrant l'activité anti-oxydante totale des extraits de <i>Dittrichia viscosa</i>	24
Figure18 : Histogrammes montrant l'activité anti-oxydante totale des extraits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	25

Liste des tableaux

Tableau I : Systématique du genévrier.....	5
Tableau II : Systématique de <i>Dittrichia viscosa</i>	6
Tableau III : Teneur en pigments lipo-solubles des différents extraits des deux plantes.....	21
Tableau IV: Diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence des différents extraits de <i>D.</i> <i>viscosa</i> et de <i>J. oxycedrus</i>	25
Tableau V : Concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB), et fongicides (CMF) des différents extraits vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Echirichia coli</i> (ATCC 259222), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778), et de <i>Candida albicans</i>	26

Liste des abréviations

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

ANOVA : Analyse de la variance.

ATCC : Collection de culture de type américain (American type culture collection).

BHA : Butylated hydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluene.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EtOH : Ethanol.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer ferrique.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

K₃Fe (CN)₆: Ferricyanure de potassium.

MeOH: Méthanol.

MF : Matière fraîche.

MH: milieu de Mueller Hinton.

MS : Matière sèche.

N : normalité.

Na₂CO₃ : Bicarbonate de sodium.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

PI : pourcentage d'inhibition.

R² : Coefficient de corrélation.

v/v : volume/volume

ZI : Zone d'inhibition.

INTRODUCTION

Introduction

Depuis de nombreuses années, les plantes médicinales jouent un rôle important dans la médecine et la pharmacologie. Aujourd'hui, on estime qu'environ 80% de la population mondiale recourt à des préparations botaniques comme médicaments pour répondre à leurs besoins de santé (**Ogbera et al., 2010**). En effet, l'homme a su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour se soigner et cela grâce à l'observation et à l'expérience à travers le temps. C'est ainsi, qu'est née la phytothérapie, i.e. le traitement des maladies par les plantes.

L'Algérie, de par sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des plantes aromatiques et médicinales. Parmi ces plantes, l'espèce *Juniperus oxycedrus* et l'espèce *Dittrichia viscosa*.

Juniperus oxycedrus L. ou genévrier cade, appartenant à la famille des cupressacées, est un petit arbre dioïque très apprécié pour sa richesse en métabolites secondaires et, en particulier, les huiles essentielles. Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle (**Adams et al., 1998**). Elle est fréquente dans les régions côtières méditerranéennes et présente des capacités remarquables de résistance aux environnements hostiles tels que la sécheresse et le froid (**Montagne, 1999 ; Moreno et al., 1998; Sanchez et al., 1994**). En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée dans le traitement de diverses maladies telles que l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite et la pneumonie (**Swanston-flatt et al., 1990**). Elle est également utilisée sous forme de décoction pour le traitement des troubles gastriques et comme un analgésique buccale (**Fernandez et al., 1996**). Elle est utilisée en dermatologie humaine comme antiseptique et parasiticide, sous forme de pommade pour traiter l'eczéma chronique et certaines affections de la peau (**Bouhlal et al., 1988 ; Tavares et al., 2012 ; Becker et al., 1982**).

Dittrichia viscosa ou inule visqueuse est une plante vivace de la famille des Asteraceae (compositae). Elle est fréquente en région méditerranéenne où elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne, et est également présente dans les régions tempérées et froides du globe. L'inule visqueuse est considérée comme la reine des plantes médicinales en raison de ses multiples propriétés biologiques et pharmacologiques. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques, astringentes et vulnérinaires (**Benhammou et al., 2005 ; Reeb, 2010**).

Elle est aussi utilisée comme antiseptique au niveau de l'appareil génital (**Benguerba, 2008**), et elle est efficace pour le traitement des troubles gastriques (**Kattouf et al., 2009**). Les parties aériennes de la plante sont employées en décoction pour le traitement du diabète, l'hypertension et les maladies rénales notamment dans les régions méditerranéennes (**Zeggwagh et al., 2006**). L'inule visqueuse est considérée comme un désinfectant et un cicatrisant. Elle est indiquée contre les affections pulmonaires et les maux de tête (**Djerroumi et al., 2004**). Elle possède d'autres activités biologiques à savoir l'activité antivirale (**Sassi et al., 2008**), l'activité antitumorale, l'activité antimicrobienne, et l'activité antioxydante (**Rozenblat et al., 2008 ; Adam et al., 1989 ; Bssaibiss et al., 2009 ; Schinella et al., 2002 ; Remli, 2013**).

L'activité antioxydante est la capacité de toutes molécules d'empêcher ou de ralentir le phénomène d'oxydation en neutralisant les molécules oxydantes (radicaux libres). Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un électron célibataire qui le rend instable et capable de provoquer la détérioration oxydative des lipides (peroxydation lipidique), des protéines et de l'ADN. Dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire ou d'une diminution des capacités antioxydantes, il se produit un déséquilibre de la balance (oxydants – antioxydants) et l'installation du stress oxydatif (**Sohal et al., 2002**). Celui-ci peut favoriser la survenue de pathologies (cancers, maladies cardiovasculaires, maladies dégénératives) ainsi qu'un vieillissement prématuré (**Belaich et al., 2016**). De plus, l'une des principales conséquences provoquée par le stress oxydatif est la mort cellulaire programmée ou apoptose. Pour faire face à cet état de stress, l'organisme est doté de plusieurs systèmes de défense afin de limiter la surproduction ou de neutraliser ces molécules oxydantes. Ainsi, il existe deux systèmes antioxydants, des antioxydants endogènes et des antioxydants exogènes. Les antioxydants endogènes correspondent aux enzymes antioxydantes qui présentent un système de défense très efficace. Cette ligne de défense est constituée essentiellement de la superoxyde dismutase, la catalase, la peroxydase et la glutathion (**Favier, 2006**). Les antioxydants exogènes sont représentés notamment par la vitamine E, la vitamine C, les composés phénoliques, certains minéraux, ...etc.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et

la maturation des fruits (**Hennebelle et al., 2004**). Les principales classes de composés phénoliques sont les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide ferulique, acide chlorogénique,...), les flavonoïdes, les tanins, et les coumarines. Les composés phénoliques sont des molécules biologiquement actives et ils sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, et antimicrobiens (**Zoughlache, 2008**).

Au fait, les recours à l'usage des plantes médicinales constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et une voie prometteuse pour le développement de nouvelles molécules médicamenteuses. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales en raison de leur richesse en substances actives, ces substances possèdent des activités antioxydantes et antimicrobiennes (**Yala et al., 2001**). C'est dans cette optique que s'inscrit l'objectif de notre travail à savoir l'évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de deux plantes locales : *Dittrichia viscosa* et *Juniperus oxycedrus*

Les objectifs de la présente étude sont :

- Etude des analyses physicochimiques pour les deux plantes (taux en humidité, taux en eau, taux en cendre, matière lipidique, et matière protéique).
- Extraction des substances actives par différents solvants (méthanol, éthanol, acétone, acétate d'éthyle) à 70%.
- Dosage des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des caroténoïdes, et des pigments chlorophylliens des différents extraits des deux plantes.
- Evaluation des propriétés antioxydantes *in vitro* des différents extraits à travers différents tests complémentaires soit l'activité antioxydante totale, l'activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH, et le pouvoir réducteur.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, et *Pseudomonas aeruginosa*) et une souche de levure *Candida albicans*.

Matériel et méthodes

Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est les feuilles des plantes *Juniperus oxycedrus* et *Dittrichia viscosa*, récoltées le 07 mars 2021 dans la région de Tefreg, Daïra de Djaafra, wilaya de Bordj Bou Arreridj (Fig. 1).



Figure 1 : Image montrant la situation géographique de la région d'étude (Google Earth).

I.1. *Juniperus oxycedrus*

I.1.1. Description botanique

Le nom "*oxycedrus*" provient de deux mots grec "oxys" et "cedros" qui signifient respectivement aigu et cèdre, c'est-à-dire "cèdre à feuille épineuse" (Garnier *et al.*, 1961). C'est un arbrisseau ou arbuste dressé de 1 à 8 mètres, à bourgeons écailleux et à ranules obtusément triangulaires. Les feuilles très étalées, verticillées, et toutes linéaires en alène à pointe fine et piquantes articulées, non décurrentes, marquées de deux sillons blanchâtres, et séparées par nervure médiane en dessus et à carène obtuse non sillonnées en dessous.

Les fleurs dioïques, les fruits rouge et luisants à la maturité assez gros (**Chaouche, 2013**). Il pousse dans les forêts des régions côtières méditerranéennes (du Maroc à l'Iran) et préfère les endroits pierreux (**klimko et al., 2007**).

I.1.2. Répartition géographique

Juniperus oxycedrus est une espèce typique de la région méditerranéenne, sa répartition s'étend dans l'Afrique du nord (Maroc, Algérie et la Tunisie). Il se trouve aussi en Espagne, en France, en Italie, en Portugal, en Turquie, dans la péninsule Balkanique et aussi dans l'Est du Caucase et au Nord de l'Iran. C'est une espèce qui se développe sur des pentes sèches, mais aussi sur les dunes. Elle apprécie les lieux arides, rocailloux, sur calcaire ou sur sols acides, où il est fréquemment associé au chêne vert et au chêne kermès (**Brus et al., 2011**).

I.1.3. Classification botanique

Le tableau 1 présente la classification botanique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* selon **Adams (2001)**.

Tableau I : Systématique du genévrier

Règne	Plantae
Sous- règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	Juniperus
Espèce	<i>Juniperus oxycedrus</i> L
Nom vernaculaire	<i>Taga, Aar'Ar</i>



Figure 2 : Photographie de l'espèce *Juniperus oxycedrus*

I.2. *Dittrichia viscosa*

I.2.1. Description botanique

Dittrichia viscosa est une plante annuelle, herbacée, visqueuse et glanduleuse, à odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées (compositae). Elle peut atteindre 50cm à 1m de hauteur et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreuses au sommet de la tige avec une hauteur de 5-10cm. Les feuilles sessiles sont ondulées, dentées, aiguës,

rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre (Quzep, 1963). Sa racine pivotante lignifiée peut atteindre 30 cm de longueur (Haoui *et al.*, 2011).

I.2.2. Répartition géographique

L'espèce *Dittrichia viscosa* est répandue dans tout le bassin méditerranéen, sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau (Quzep, 1963). En Algérie, elle est largement répandue dans les rocailles et les terrains argileux (Benayache *et al.*, 1991).

I.2.3. Classification botanique

Le tableau 2 présente la classification botanique de l'espèce *Dittrichia viscosa* selon Quzep (1963).

Tableau II : Systématique de *Dittrichia viscosa*

Règne	Plantae
Sous- règne	Tracheobionta
Division	Coniferophyta
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnolipsida
Ordre	Asterales
Famille	Astéracées
Genre	Inula
Espèce	Viscosa
Nome vernaculaires	Magramane ou Amagramane



Figure 3 : Photographie de l'espèce *Dittrichia viscosa*

II – Méthodes

II.1. Séchage

La quantité des feuilles fraîches de *Dittrichia viscosa* après nettoyage était de 1757g alors que celle de *Juniperus oxycedrus* était de 1860g. Les feuilles de *Juniperus oxycedrus* et *Dittrichia viscosa* ont été séchées à l'aire libre à une température ambiante pendant 3 jours, puis mises à l'étuve pendant 24h à une température de 40 °C (Fig. 4).



Figure 4 : Séchage à l'ombre, puis à l'étuve des feuilles de *Juniperus oxycedrus* (a) et de *Dittrichia viscosa* (b).

II.2. Broyage et tamisage

Les feuilles séchées sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (Fig. 5). La quantité de poudre obtenue est de 344,04g pour *Dittrichia viscosa*, et de 844,09g pour *Juniperus oxycedrus*. Les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamis de granulométrie inférieure à 200 μm . Les poudres sont conservées dans des flacons en verre, fermés hermétiquement, à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur ($T^\circ = -4^\circ\text{C}$).



Figure 5 : Broyage et tamisage des deux plantes.

II.3. Analyse physicochimique

II.3.1. Détermination du taux d'humidité

II.3.1.1. Teneur en eau

Le test de la teneur en eau permet la détermination de la quantité d'eau existante dans la plante fraîche. La teneur en eau des deux plantes a été déterminée comme suit : une quantité précise des feuilles de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* fraîches est pesée, après séchage à l'air libre à température ambiante et à l'ombre pendant environ 3 jours, ces mêmes feuilles ont été pesées une deuxième fois pour déterminer la diminution du poids.

$$H\% = [(poids \alpha - poids \beta) / poids \alpha] \times 100\%$$

H% : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

α : poids (g) de l'échantillon "plante fraîche".

β : poids (g) de l'échantillon "plante sèche".

II.3.1.2. Humidité de la poudre

Pour déterminer l'humidité de la poudre pour les deux plantes, une quantité de 2 g de chaque plantes est mise dans un creuset en porcelaine préalablement taré. Chaque creuset est introduit dans une étuve (type Memmert) à 105 °C pendant 24h. Après refroidissement dans un dessiccateur renfermant un desséchant (gel de silice), les creusets sont pesés une deuxième fois.

Le taux d'humidité est déterminé selon la formule suivante :

$$H = [(m - m') / m] \times 100$$

m: masse de l'échantillon avant le séchage.

m': masse de l'échantillon après le séchage = masse (creuset + échantillon) – masse du creuset vide.

II.3.1.3. Détermination du taux de cendre

Les cendres totales représentent les résidus en composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. Les cendres représentent environ 1 à 5% de la masse d'un aliment sur une base humide.

Cette méthode consiste à calciner la poudre à 800°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant. Dans des creusets en porcelaine préalablement tarées, 2g de poudre sont pesées pour chaque plante et sont ensuite placés dans un four à moufle de type Memmert à une température de 800°C pendant 10 heures, jusqu'à l'obtention des cendres blanche. Les creusets sont pesés après refroidissement dans un dessiccateur.

Le taux de cendre est calculé par la formule suivante :

$$T_c = (M - M') / E \times 100$$

T_c : taux de cendre

M : masse finale (creuset + cendres totales).

M': masse du creuset vide.

E : prise d'essai de la matière.

II.3. 2. Teneur en matière grasse

L'extraction de la matière grasse totale a été effectuée par la méthode au Soxhlet. Cette méthode est très utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments ou végétaux solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début, et la matière grasse à la fin de l'extraction.

Des quantités de 10g de poudre de chaque plante (*Dittrichia viscosa* et d'*Oxycedrus juniperus*) sont introduites dans une cartouche puis placée dans l'appareil Soxhlet. Ensuite, 200 ml d'éther de pétrole est versé dans le ballon et 50 ml dans l'extracteur. Les ballons sont chauffés pendant 4 heures. Après l'élimination du solvant par distillation, les deux ballons sont séchés à une température de 70-80 °C, puis pesés après refroidissement dans un dessiccateur.

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$MG = (P1 - P2 / ME) \times 100$$

MG : taux de la matière grasse

P1 : poids du ballon après évaporation.

P2 : poids du ballon vide.

ME : masse de la prise d'essai.

II .3.3. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de **BIPEA (1976)** utilisant un distillateur Kjeldahl; cette méthode est basée sur le dosage de l'azote total, qui est ensuite converti en taux de protéines. La minéralisation de 1g d'échantillon des produits concernés par 20ml d'acide sulfurique se fait en présence de catalyseur composé de 10g sulfate de potassium (K_2SO_4) et de 02g d'oxalate de potassium ($K_2C_2O_4$) dans un digesteur type Buchi 430 (Digestor Germany), pendant 5 h. Ensuite, une distillation est effectuée dans un distillateur type Buchi 320 (Germany), après addition de 70 ml de solution de soude (NaOH) à 40% au minéralisat. Le distillat est recueilli dans 15ml d'une solution tampon d'acide borique préparée par dissolution de 40 g d'acide borique dans 1000 ml d'eau distillée et 10 ml d'une solution de rouge de méthyl 0,05% comme indicateur coloré. Le titrage du distillat se fait avec l'acide sulfurique 0,1 N. Les taux d'azote total et de protéines brutes sont obtenus avec des formules :

$$\text{Taux d'azote total (\%)} = V (H_2SO_4) \times N (H_2SO_4) \times 0,014 \times 100/P$$

$V(H_2SO_4)$ = volume H_2SO_4 de la chute de burette ;

$N(H_2SO_4)$ = normalité de l'acide sulfurique ;

0,014 = coefficient affecté à la concentration de la solution normale d'azote (14/1000) ;

P = poids de l'échantillon.

II .4. Etude phytochimique

II .4.1. Préparation des extraits

La préparation des extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* a été réalisée par la méthode d'extraction liquide - solide (macération) sous agitation. Des quantités de 10g de la matière végétale ont été extraites à l'aide de 150 ml de différents solvants (méthanol 70%, acétone 70%, éthanol 70% et acétate d'éthyle 70%) sous agitation continue pendant 24 heures à température ambiante. Après extraction, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre (Fig. 6). Une deuxième extraction est réalisée, dans les mêmes conditions, pour extraire un maximum de substances actives. Le mélange obtenu a été filtré et soumis à une évaporation à 45°C dans un rotavapor pour éliminer le solvant. Les extraits séchés ont été stockés à -4 °C avant analyse.

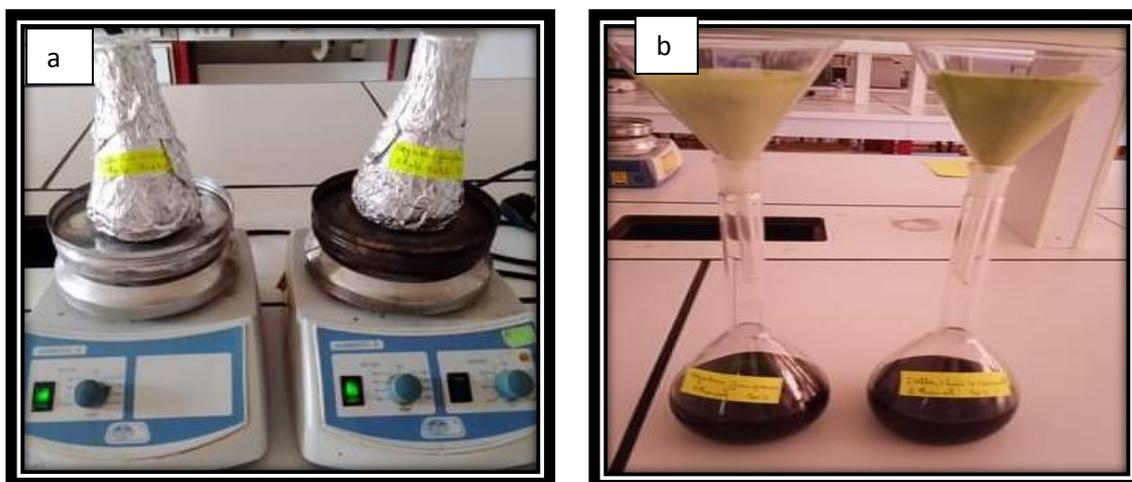


Figure 6 : Etapes de préparation des extraits de *D.viscosa* et de *J.oxycedrus* par macération (a) macération sous agitation, (b) filtration.

II .4.2. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après évaporation et la masse de la matière première végétale après séchage, exprimé en pourcentage.

$$R\% = ([MEX] / [MMV]) \times 100$$

MMV : masse de la matière végétale séchée et laminé (g)

MEX : masse de l'extrait obtenu après évaporation (g)

II .4.3. Dosage des composés phénoliques

Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits ont été estimées à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1965**). Brièvement, des aliquotes (200 µL) des différents extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* ou de solution d'acide gallique (50, 100, 150, 200, 250 et 300 µg/mL), utilisée pour établir la courbe d'étalonnage, ont été ajoutées à 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (10 %). Le mélange a été soigneusement mélangé par agitation, puis incubé à température ambiante pendant 5 min, avant l'ajout de 800 µL de Na₂CO₃ (7,5 %). Tous les échantillons ont été incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 2h. L'absorbance des mélanges bleus a été enregistrée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à double faisceau (Shimadzu UV-1601, Japon). Les teneurs totale en phénols sont exprimées en milligramme d'équivalent d'acide gallique (EAG)/g d'extrait sec en utilisant une équation obtenue à partir de la courbe standard de l'acide gallique (Annexe 1) : $Y = 0,006 X + 0,013$ ($R^2 = 0,998$).

II.4.4. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits ont été mesurées à l'aide d'une méthode colorimétrique (**Jain et al., 2011**), en utilisant la quercétine pour préparer la courbe d'étalonnage. Un volume de 1 mL de chaque extrait ou de solution étalon (quercétine) à différentes concentrations (2,5, 05, 10, 20, 30, 40 et 50 µg/mL) est réagi avec 1 mL de chlorure d'aluminium (2 %). Après incubation à température ambiante pendant 1h, l'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 430 nm. Les teneurs totales en flavonoïdes sont exprimées en milligramme d'équivalent de quercétine (QE)/g d'extrait en utilisant la courbe d'étalonnage de quercétine (Annexe 2): $y = 0,0315x - 0,0273$ ($R^2 = 0,998$).

II.4.5. Dosage des tanins condensés (Pro-anthocyanidines)

Les teneurs en pro-anthocyanidines sont mesurées selon le protocole décrit par **Sun et al. (1998)** avec quelques modifications. Le principe de la méthode est basé sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (**Ba et al., 2010**).

Mode opératoire

Un volume de 0,5 ml de la solution d'extrait (1 mg/ml) est mélangé avec 3 ml de la solution de vanilline (4%, W/V), préalablement préparée dans du méthanol, et 1,5 ml d'HCl (37%). Le mélange est bien agité, puis incubé pendant 15 min à température ambiante. L'absorbance est lue à 500 nm. Un témoin est préparé en mélangeant 0,5 ml d'extrait avec 3 ml de méthanol et 1,5 ml d'HCl.

II.4.6. Extraction et dosage des caroténoïdes

Le dosage des caroténoïdes est déterminé selon la méthode de **Sass-Kiss et al. (2005)**. Pour cela, un poids déterminé de la poudre est additionné à 10ml d'un mélange de solvant (hexane, acétone, éthanol) (2 :1 :1 , V/V/V). Après agitation pendant 15 min, le mélange est centrifugé à 4500 tours/min pendant 15 min. La phase supérieure contenant les pigments, est récupérée et le culot est soumis à une deuxième extraction dans les mêmes conditions. Les deux phases hexaniques sont mélangées puis l'absorbance du mélange est mesurée par spectrophotomètre UV-VIS à 450nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent β -carotène par g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la β -carotène ($\mu\text{g E } \beta\text{-C /g}$) (Annexe 3)

II .4.7. Détermination des pigments lipo-solubles

Les teneurs en β -carotène, en lycopène et en chlorophylle des différents extraits ont été déterminées par spectrophotométrie **Nagata et Yamashita (1992)**. Une quantité de 100 mg de chaque extrait est mélangée avec 10 ml acétone-hexane (4:6 V/V) puis agités vigoureusement pendant 1 min, ensuite le tous est filtré à travers un papier Whatman N°4. L'absorbance des filtrats est mesurée à différentes longueurs d'ondes : 453 nm, 505 nm, 645 nm et 663 nm. La teneur en pigments a été calculée selon les équations indiquées ci-dessous et les résultats ont été exprimés en mg de chlorophylle, de caroténoïde, de lycopène ou de β -carotène/g d'extrait.

- **β -Carotène** (mg/100 ml) = $0,216 \times A_{663} - 1,22 \times A_{645} - 0,304 \times A_{505} + 0,452 \times A_{453}$.
- **Lycopène** (mg/100 ml) = $- 0,0458 \times A_{663} + 0,204 \times A_{645} - 0,372 \times A_{505} + 0,0806 \times A_{453}$.
- **Chlorophylle a** (mg/100 ml) = $0,999 \times A_{663} - 0,0989 \times A_{645}$.
- **Chlorophylle b** (mg/100 ml) = $- 0,328 \times A_{663} + 1,77 \times A_{645}$.

II.5. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des différents extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* est évaluée en utilisant plusieurs tests complémentaires soit l'activité scavenger à l'égard du radical DPPH[•], le pouvoir réducteur, et l'activité antioxydante totale.

II .5.1. Activité anti-radicalaire

Les capacités anioxydantes des extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* ont été mesurées à l'égard du radical 2,2- diphénylpiptylhydrazyl (DPPH) (**Hinneburg et al., 2006**). Le DPPH est dissout dans 100 ml de méthanol pour préparer une solution mère qui est ensuite diluée pour obtenir une absorbance de 0,98 ($\pm 0,02$) à 517 nm. Un volume de 100 μ L de chaque extrait à différentes concentrations a été ajouté à 2,5 ml de la solution méthanolique de DPPH. Les mélanges sont agités puis incubés à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 517 nm.

La vitamine C, le BHT et le BHA, sont utilisé comme des standards. L'activité anti-radicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = [(Abs_{517} \text{ contrôle} - Abs_{517} \text{ échantillon}) / Abs_{517} \text{ contrôle}] \times 100$$

II.5.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des extraits des deux plantes est déterminé selon le protocole décrit par **Oyaïzu (1986)**. Les extraits qui possèdent un potentiel réducteur réduisent le Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ (Ferricyanure de potassium) en Fe^{2+} qui réagit à son tour avec le Chlorure ferrique ($FeCl_3$) pour donner un complexe mesurable à 700 nm (**Jayanthi et Lalitha, 2011**).

Un volume de 200 μ L de chaque extraits à différentes concentrations est mélangé avec 500 μ L de solution tampon phosphate (0,2 M ; pH = 6,6) et 2,5 ml de solution de Ferricyanate de potassium à 1% ($K_3Fe(CN)_6$) préparé dans l'eau distillée. Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min, puis les tubes à essais sont retirés. 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% (TCA) est ajouté, suivi d'une centrifugation à 650 rpm pendant 10min. Un volume de 500 μ L de surnageant est prélevé auquel sont ajoutés 2,5 ml d' H_2O distillée et 0,5 ml de $FeCl_3$ à 0,1%. La mesure de l'absorbance est effectuée à 700 nm. Un blanc est préparé en remplaçant l'extrait par le solvant. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans les mêmes conditions.

II.5.3. Capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés a été évaluée par le test du phosphomolybdène selon la procédure décrite par **Prieto et al. (1999)**. Une aliquote de 0,3 ml de chaque extrait ou étalon a été mélangée avec 3 ml du mélange réactionnel (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium). Ensuite, les mélanges ont été incubés à 95 °C pendant 90 min et l'absorbance a été enregistrée à 695 nm. L'activité antioxydante a été exprimée en mg d'équivalent acide ascorbique par g d'extrait sec (mg EAA /g de ES).

II.6. Activité antimicrobienne

II.6.1. Préparation de l'inoculum

Chaque espèce est inoculée au préalable sur une gélose nutritive afin d'obtenir une culture de 18 à 24 heures. L'inoculum est ensuite préparé. Ensuite, 4-5 colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans du bouillon nutritif (ou de l'eau physiologique contenant 0,9% de NaCl). Cette suspension est ensuite ajustée à la norme Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, ce qui correspond à une lecture de densité optique à 625 nm allant de 0,08 à 0,1, correspondant à une suspension contenant environ 10^8 UFC/mL (**CASFM, 2013**).

II.6.2. Mode opératoire

L'activité antimicrobienne des différents extraits étudiés a été réalisée suivant la méthode des puits sur gélose, en utilisant les microorganismes pathogènes suivants : 1) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), 2) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), 3) *Echerichia coli* (ATCC 25922), 4) *Bacillus cereus* (ATCC 11778), 5) *Candida albicans*. Des puits de 6 mm de diamètre ont été formés sur gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec des cultures jeunes de bactéries (10^8 UFC/ml) et de la levure (5×10^6 cellules/ml) respectivement, ces puits ont été ensuite remplis avec 80 µl de chaque extrait à différentes concentrations (128, 64, 32, 16,8 et 4mg/ml). Après une mise au réfrigérateur à 4°C pendant 6 heures, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour la levure. Les zones d'inhibition ont ensuite été mesurées (**Fatima et al., 2016**).

II. 6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance antibactérienne inhibant toute croissance visible après un temps d'incubation de 18h à 24h. Le principe de la méthode consiste à diluer la substance antimicrobienne à tester et à inoculer le milieu avec les microorganismes. L'extrait montrant la meilleure activité antimicrobienne, a subi des dilutions successives de concentration mère (SM =128mg/ml) (1/2, 1/4 ... etc.) afin de déterminer la moindre concentration donnant une zone d'inhibition. Cette concentration est considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Min et al., 2008**).

II .6.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide/Fongicide (CMB)

La CMB est la concentration de la substance antibactérienne exerçant un effet bactéricide et permettant d'obtenir, après 18 à 24 h d'incubation à 37 °C, 0,1 % de germes, c'est-à-dire une bactérie pour 1000 de l'inoculum initial (**Rodriquez-Vaquero et al., 2007**). Pour la détermination de la CMB, la surface de chaque zone d'inhibition obtenue avec les différentes dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32 (Test de CMI) est raclée à l'aide d'une pipette Pasteur. Ensuite des tubes de bouillon nutritif sont ensemencés par les morceaux de gélose raclés. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h. L'absence de croissance dans les tubes inoculés, indiquant un effet bactéricide et le tube contenant aucune croissance (pas de trouble) est déclarée comme contenant la CMB, égale à la concentration où on a raclé au départ (**Salama et Marraiki, 2010**).

II .7. Analyse statistique

Tous les essais réalisés dans la présente étude ont été répétés au moins trois fois et les résultats ont été exprimés par la moyenne \pm la déviation standard. Les graphes sont mis en forme par EXCEL. L'étude statistique est réalisée à l'aide d'un logiciel statistique (Stat View v5.0). Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec le test Student t ou les tests ANOVA. Les différences ont été jugées significatives à $p < 0,05$ ou à $p < 0,01$.

Résultats et discussion

Résultats

I. Résultats de l'étude physicochimique

I.1. Teneur en eau

Les analyses ont révélé que les feuilles fraîchement récoltées présentent une teneur importante en eau soit 80,42% pour *Dittrichia viscosa* et 55% pour et de *Juniperus oxycedrus* (Fig. 7).

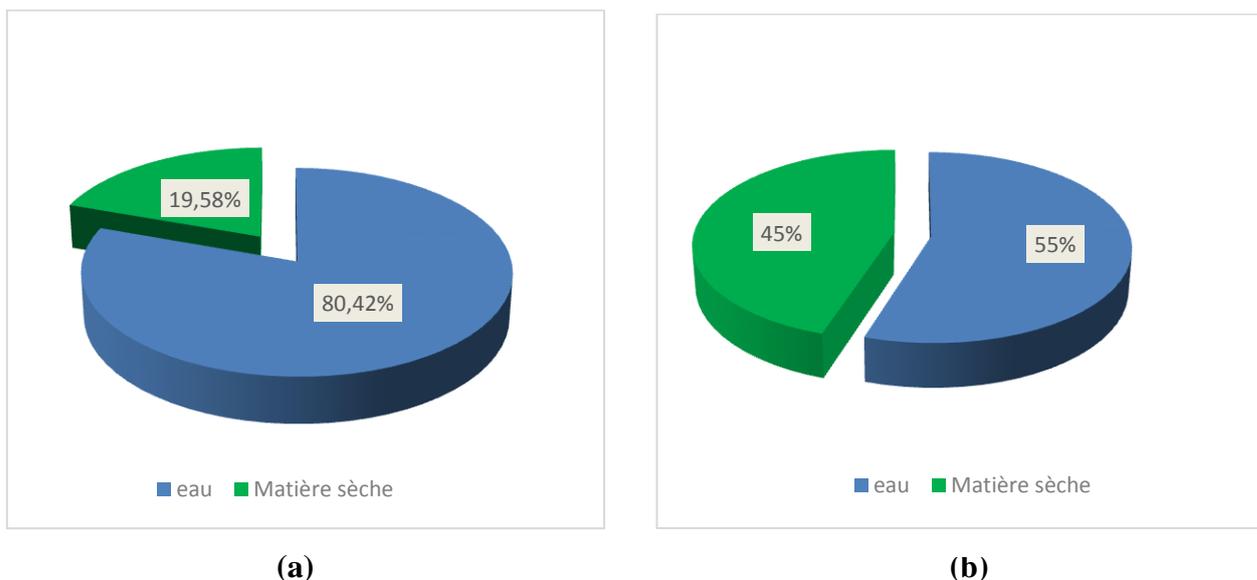


Figure 7 : Teneur en eau des feuilles fraîches de *Dittrichia viscosa* (a) et de *Juniperus oxycedrus* (b).

I. 2. Taux d'humidité

Le taux d'humidité pour *Dittrichia viscosa* est de $6,60 \pm 0,112\%$, alors que pour *Juniperus oxycedrus*, la valeur moyenne est de $3,68 \pm 0,066\%$ (Fig. 8).

I.3. Taux de cendre

Les résultats du taux de cendre montrent des valeurs moyennes de $7,04 \pm 0,087$ pour *Dittrichia viscosa* et $4,97 \pm 0,125\%$ pour *Juniperus oxycedrus* (Fig 8).

I.4. Teneur en matière grasse

Les résultats du dosage de la fraction lipidique ont montré une teneur moyenne de $2,44 \pm 0,035\%$ pour *Dittrichia viscosa* et de $6,65 \pm 0,076\%$ pour *Juniperus oxycedrus* (Fig 8).

I.5. Teneur en protéines

Les résultats du dosage de la fraction protéique ont montré une teneur moyenne de $11,03 \pm 0,085\%$ pour *Dittrichia viscosa* et de $2,80 \pm 0,037\%$ pour *Juniperus oxycedrus* (Fig 8).

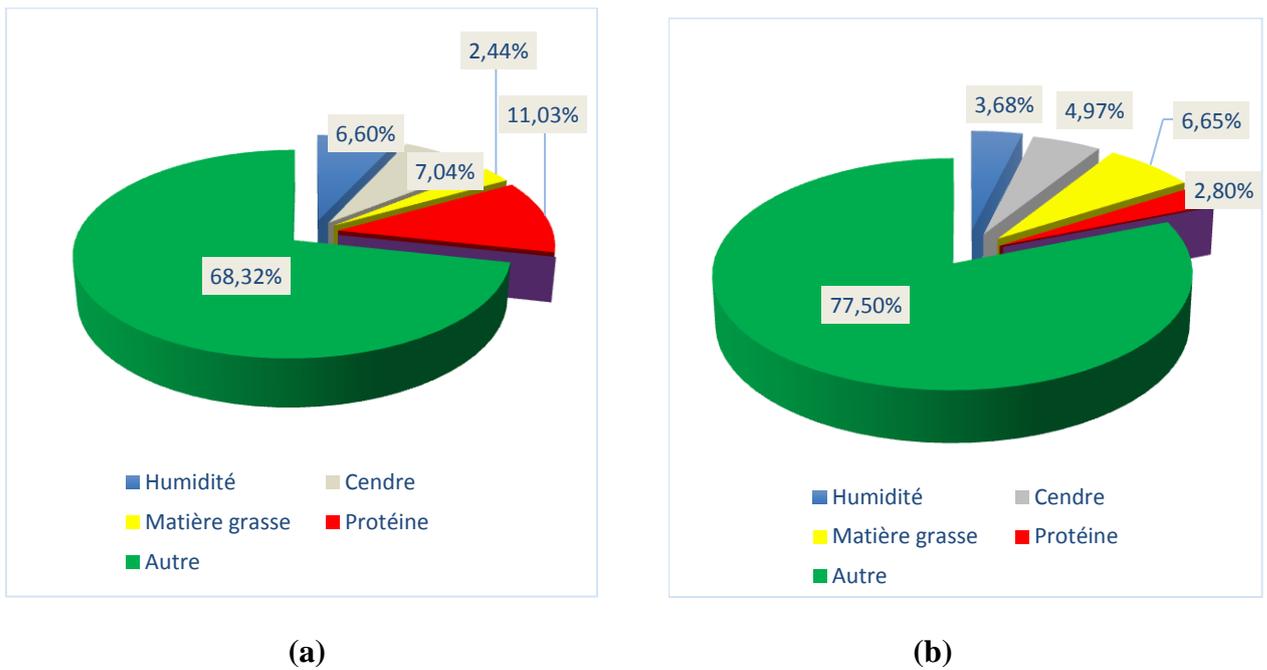


Figure 8 : Résultats de l'analyse des paramètres physico-chimiques de *Dittrichia viscosa* (a) et de *Juniperus oxycedrus* (b)

II. Résultats de l'étude phytochimique

II .1. Rendements d'extraction

Dans la présente étude, quatre solvants ont été utilisés pour l'extraction des composés bioactifs à partir de la partie aérienne des deux plantes *Dittrichia viscosa* et *Juniperus oxycedrus*. La figure 9 illustre les résultats des rendements d'extraction de ces plantes. Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction varie en fonction du solvant utilisé.

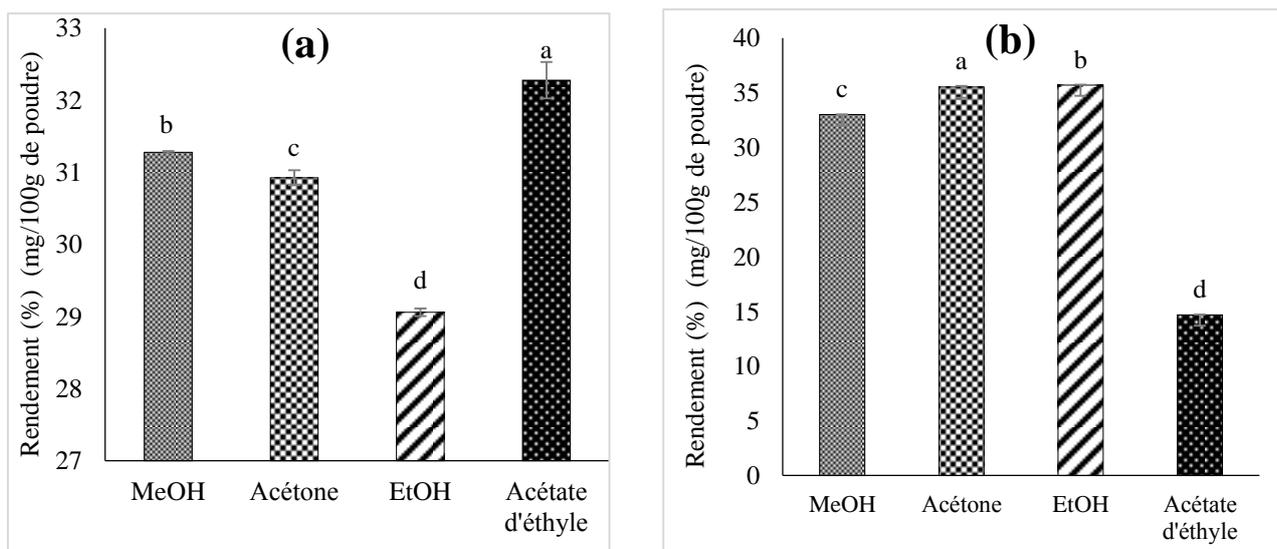


Figure 9 : Histogrammes montrant le rendement d'extraction de *Dittrichia viscosa* (a) et de *Juniperus oxycedrus* (b)

Concernant *Dittrichia viscosa*, le taux le plus élevé a été détecté dans l'extrait acétate d'éthyle ($32,28 \pm 0,25 \text{ mg/g}$), suivi par l'extrait méthanolique ($31,27 \pm 0,015 \text{ mg/g}$), puis l'acétone ($30,92 \pm 0,105 \text{ mg/g}$), et en fin l'éthanol qui a montré le rendement le plus bas ($29,05 \pm 0,05 \text{ mg/g}$). Alors que dans le cas de *Juniperus oxycedrus*, le taux le plus élevé a été détecté dans l'extrait éthanolique ($35,75 \pm 0,028$), suivi par l'extrait acétonique ($35,53 \pm 0,079$), puis l'extrait méthanolique ($33,01 \pm 0,008$), et en fin l'extrait acétate d'éthyle ($14,69 \pm 0,01$).

II .2. Teneurs en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que les teneurs en polyphénols varient également en fonction des solvants utilisés (Fig. 10).

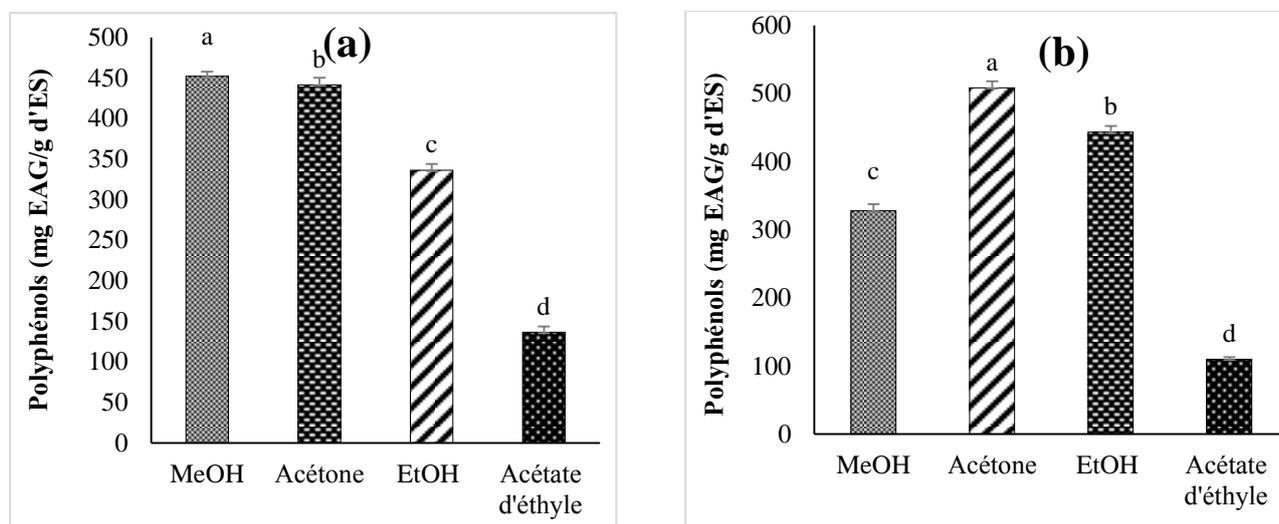


Figure 10 : Histogrammes montrant les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits de *Dittrichia viscosa* (a) et de *Juniperus oxycedrus*(b).

La teneur la plus élevée pour *Dittrichia viscosa* a été détectée dans l'extrait méthanolique ($452,01 \pm 5,78 \text{ mg EAG/g ES}$) et l'extrait Acétonique ($441,27 \pm 8,84 \text{ mg EAG/g ES}$) avec absence de différence significative entre les deux extraits, suivi par l'extrait éthanolique ($336,19 \pm 7,75 \text{ mg EAG/g ES}$), et l'extrait acétate d'éthyle ($136,50 \pm 7,27 \text{ mg EAG/g ES}$).

La teneur la plus élevée pour *Juniperus oxycedrus* a été détectée dans l'extrait acétonique ($508,3 \pm 9,61 \text{ mg EAG/g ES}$) suivi de l'extrait éthanolique ($443,33 \pm 9,09 \text{ mg EAG/g ES}$), puis l'extrait méthanolique ($327,82 \pm 9,57 \text{ mg EAG/g ES}$), et l'extrait acétate d'éthyle ($15,46 \pm 0,18 \text{ mg EAG/g ES}$).

II .3. Teneurs en flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* sont représentées dans la figure 11.

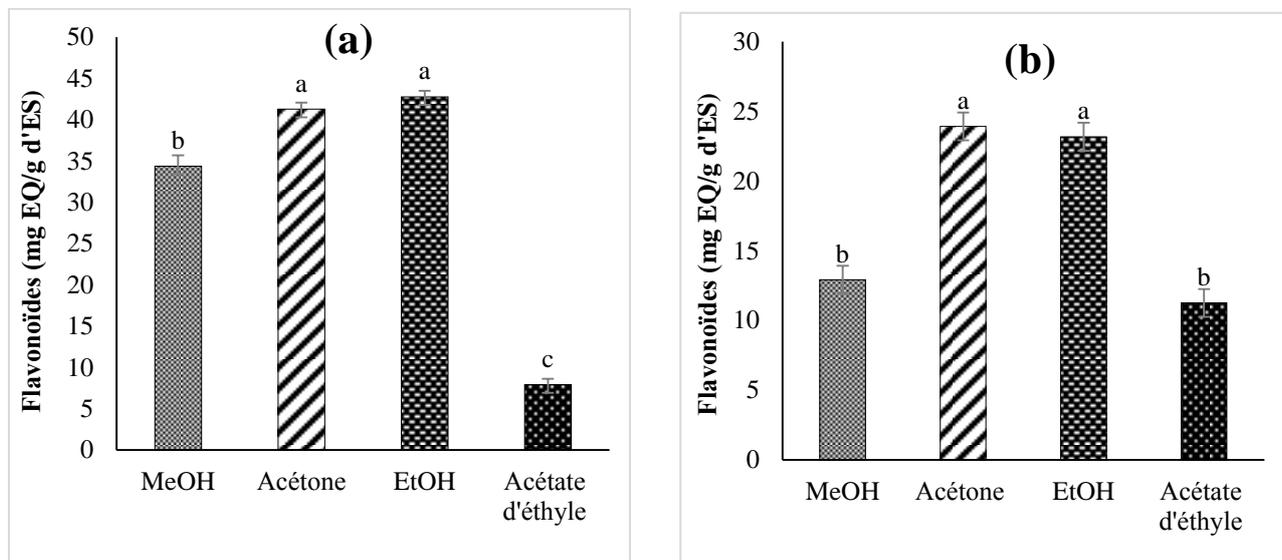


Figure 11 : Histogrammes montrant les teneurs en flavonoïdes totaux des différents extraits de *Dittrichia viscosa* (a) et de *Juniperus oxycedrus* (b).

D'après les résultats obtenus, il apparaît là aussi que les teneurs en flavonoïdes totaux varient en fonction du solvant utilisé.

Pour *Dittrichia viscosa*, l'extrait éthanolique et l'extrait acétonique présentent les plus grandes concentrations en flavonoïdes avec des valeurs moyennes de $42,77 \pm 0,72$ mg EQ/g ES et de $41,28 \pm 0,75$ mg EQ/g ES, respectivement. L'extrait méthanolique montre une teneur moyenne de l'ordre de $34,37 \pm 1,29$ mg EQ/g ES, alors que l'extrait acétate d'éthyle montre la plus faible teneur en flavonoïdes ($7,91 \pm 0,68$ mg EQ/gES).

De même pour *Juniperus oxycedrus*, l'extrait éthanolique et l'extrait acétonique présentent les plus grandes concentrations en flavonoïdes avec des valeurs moyennes de $23,16 \pm 0,43$ mgEQ/gES et $23,91 \pm 0,87$ mgEQ/gES, respectivement. L'extrait méthanolique montre une teneur moyenne de $12,91 \pm 0,17$ mgEQ/gES), et l'extrait acétate d'éthyle montre une teneur moyenne de $11,25 \pm 0$ mg EQ/gES.

II .4. Teneur en tanins condensés

La figure 12 illustre les résultats des teneurs en tanins condensés des différents extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus*.

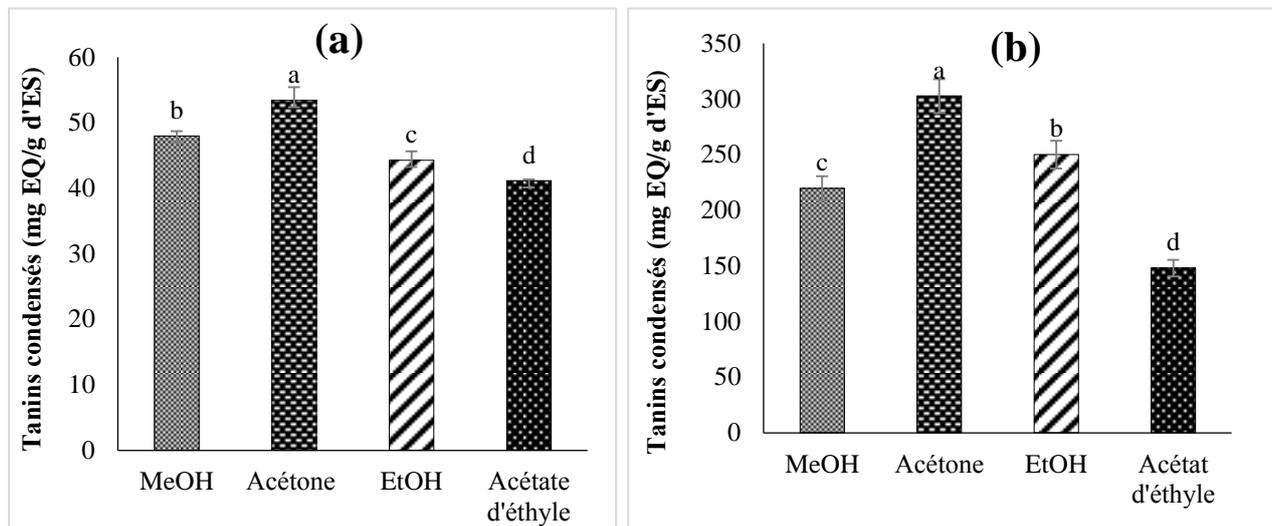


Figure 12 : Histogrammes montrant les teneurs en tanins condensés des différents extraits de *Dittrichia viscosa* (a) et de *Juniperus oxycedrus* (b).

Concernant l'espèce *Dittrichia viscosa*, le taux le plus élevé a été détecté dans l'extrait acétonique ($55,38 \pm 2,026 \text{ mg/g}$), suivi par l'extrait méthanolique ($47,95 \pm 0,75 \text{ mg/g}$), puis l'extrait éthanolique ($44,24 \pm 1,37 \text{ mg/g}$), et en fin l'extrait acétate d'éthyle qui a montré le taux le plus bas en tanins condensés ($41,13 \pm 0,2291 \text{ mg/g}$).

De même pour *Juniperus oxycedrus*, le taux le plus élevé a été détecté dans l'extrait acétonique ($302,81 \pm 0,74 \text{ mg/g}$), suivi par l'extrait éthanolique ($250,07 \pm 1,12 \text{ mg/g}$), puis l'extrait méthanolique ($219,65 \pm 1,13 \text{ mg/g}$), et en fin l'extrait d'éthyle acétate ($148,01 \pm 1,02 \text{ mg/g}$).

II.5. Teneur en caroténoïdes

La teneur moyenne en caroténoïdes est de $22,49 \mu\text{g/g}$ pour *Dittrichia viscosa* et est de $11,76 \mu\text{g/g}$ pour *Juniperus oxycedrus*.

II.6. Teneur en pigments lipo-solubles

Le **tableau III** : les teneurs en pigments lipo-solubles des différents extraits des deux plantes étudiées (*Dittrichia viscosa* et *Juniperus oxycedrus*).

plantes	pigments solvants	Chlorophylle a	Chlorophylle b	Lycopène	β-carotène
<i>Juniperus oxycedrus</i>	Méthanol	26,53	21,86	7,68	/
	Ethanol	220,85	250,84	253,87	/
	Acétone	200,69	134,26	46,15	42,36
	Acétate d'éthyle	339,76	346,45	136,64	/
<i>Dittrichia viscosa</i>	Méthanol	155	46,37	11,49	/
	Ethanol	330	276	89,36	/
	Acétone	299	96,98	37,57	42,36
	Acétate d'éthyle	301	53,85	30,93	49,84

D'après ce tableau, on peut voir que tous les extraits présentent des concentrations très élevées en chlorophylle a et b. En termes de teneurs en lycopène et β-carotène, les extraits montrent des teneurs variables et parfois insignifiantes, notamment en β-carotène pour les solvants polaires (éthanol et méthanol).

III. Résultats de l'activité anti-oxydante

III. 1 Activité scavenger à l'égard du radical libre DPPH

L'évaluation de pouvoir anti-radicalaire d'un extrait de plante peut se faire par différents tests *in vitro*. La méthode choisie pour l'évaluation des extraits préparés dans cette étude est le piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats obtenus pour *Dittrichia viscosa* révèlent que l'extrait méthanolique semble être le plus actif avec une IC_{50} de 0,211mg/ml, suivi de l'extrait acétonique et de l'extrait éthanolique avec des valeurs d' IC_{50} de 0,269 mg/ml, et 0,277 mg/ml, respectivement. L'extrait d'acétate d'éthyle a montré la plus faible activité anti-radicalaire ($IC_{50} = 0,868$ mg/ml) (Fig. 13).

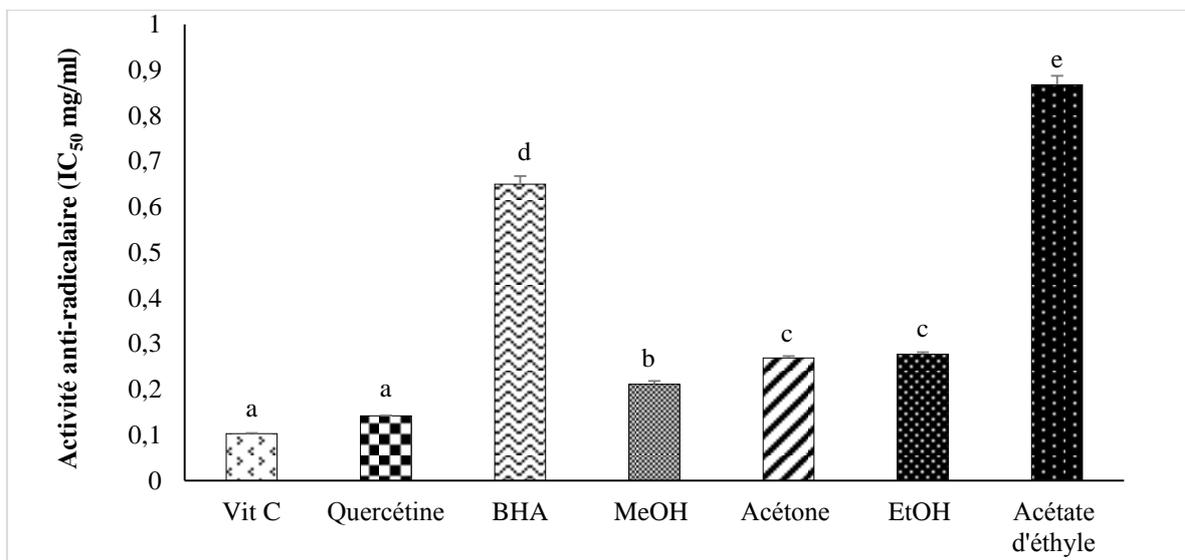


Figure 13: Histogrammes montrant l'activité scavenger des différents extraits de *Dittrichia viscosa* à l'égard du radical DPPH.

Dans le cas de *Juniperus oxycedrus*, les mêmes extraits (l'extrait acétonique, l'extrait méthanolique, et l'extrait éthanolique) sont les plus actifs avec des IC₅₀ de l'ordre de 0,210mg/ml, 0,223mg/ml, et 0,233mg/ml, respectivement (avec absence de différence significative entre ces extraits). L'extrait acétate d'éthyle a montré la plus faible activité anti-radicalaire (0,690 mg/ml) (Fig. 14).

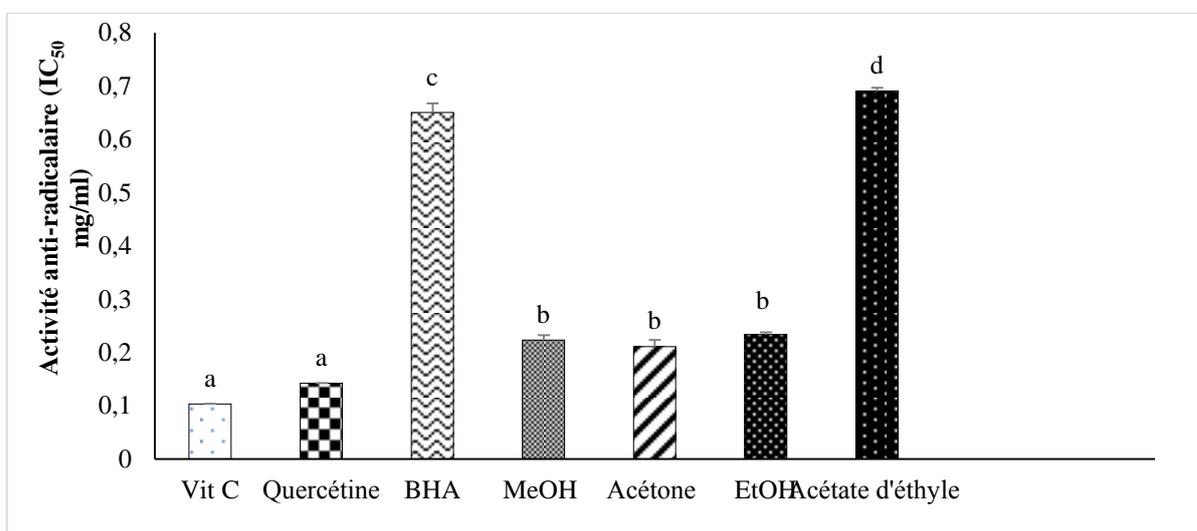


Figure 14 : Histogrammes montrant l'activité scavenger des différents extraits de *Juniperus oxycedrus* à l'égard du radical DPPH.

Dans ce test, plusieurs antioxydants standards ont été utilisés à des fins comparatives. La quercétine, la Vit c et le BHA ont montré une très forte activité antiradicalaire avec des IC₅₀ de 0,142 mg/ml, 0,103 mg/ml, et de 0,65 mg/ml, respectivement.

III.2. Résultats du pouvoir réducteur

Les résultats de ce test ont montré que le pouvoir réducteur des extraits étudiés varie en fonction du solvant utilisé (figure15 et 16).

Dans le cas de *Dittrichia viscosa*, il a été constaté que les extraits éthanolique, méthanolique, et acétonique sont les plus actifs avec des IC_{50} de 0,44 mg/ml, 0,463mg/ml, et 0,549 mg/ml, respectivement. L'extrait acétate d'éthyle a montré le plus faible pouvoir réducteur (2,083 mg/ml) (Fig.15).

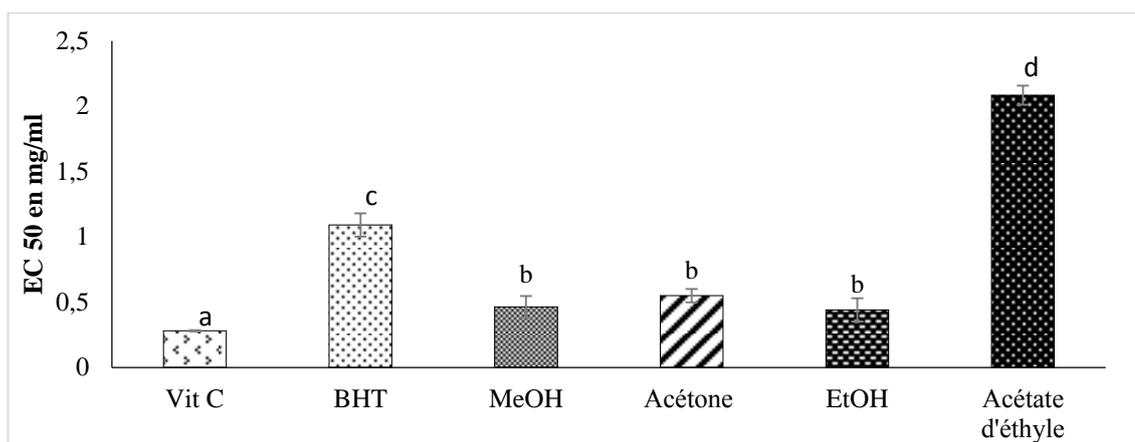


Figure15 : Histogrammes montrant le pouvoir réducteur des extraits de *Dittrichia viscosa*.

Les résultats obtenus pour *Juniperus oxycedrus* révèlent que l'extrait méthanolique est le plus actif avec une IC_{50} de 0,392 mg/ml, suivi de l'extrait acétonique avec une valeur de 0,593 mg/ml, et l'extrait éthanolique avec une valeur de 0,949 mg/ml. L'extrait acétate d'éthyle a montré un faible pouvoir réducteur avec une IC_{50} de 2,083 mg/ml (Fig.16).

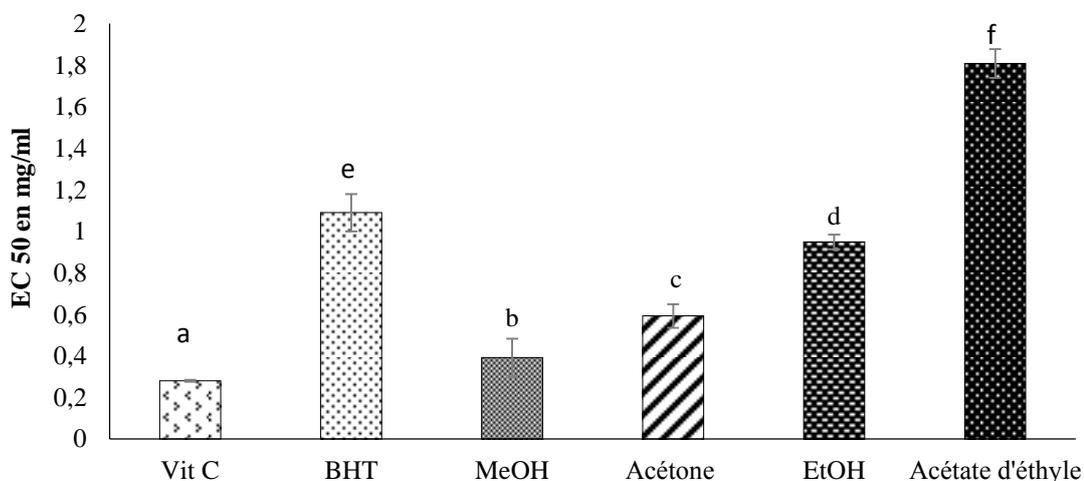


Figure16 : Histogrammes montrant le pouvoir réducteur des extraits de *Juniperus oxycedrus*.

Dans ce test, deux antioxydants standards ont été également utilisés à des fins comparatives. La vitamine C et le BHT ont montré les plus forts pouvoirs réducteurs avec des IC_{50} de 0,28 mg/ml et 1,09mg/ml, respectivement.

III.3. Résultats de l'activité antioxydante totale

Les résultats obtenus ont montré que l'activité antioxydante totale varie également en fonction des différents extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* (Fig.17 et 18).

Pour *Dittrichia viscosa*, l'extrait le plus actif est l'extrait éthanolique (275,53 $\mu\text{g EAA/ mg}$), suivi par l'extrait méthanolique (240,56 $\mu\text{g EAA/ mg}$), puis l'extrait acétonique (117,9 $\mu\text{g EAA/ mg}$), et en fin l'extrait acétate d'éthyle (79,06 $\mu\text{g EAA/ mg}$) (Fig.17).

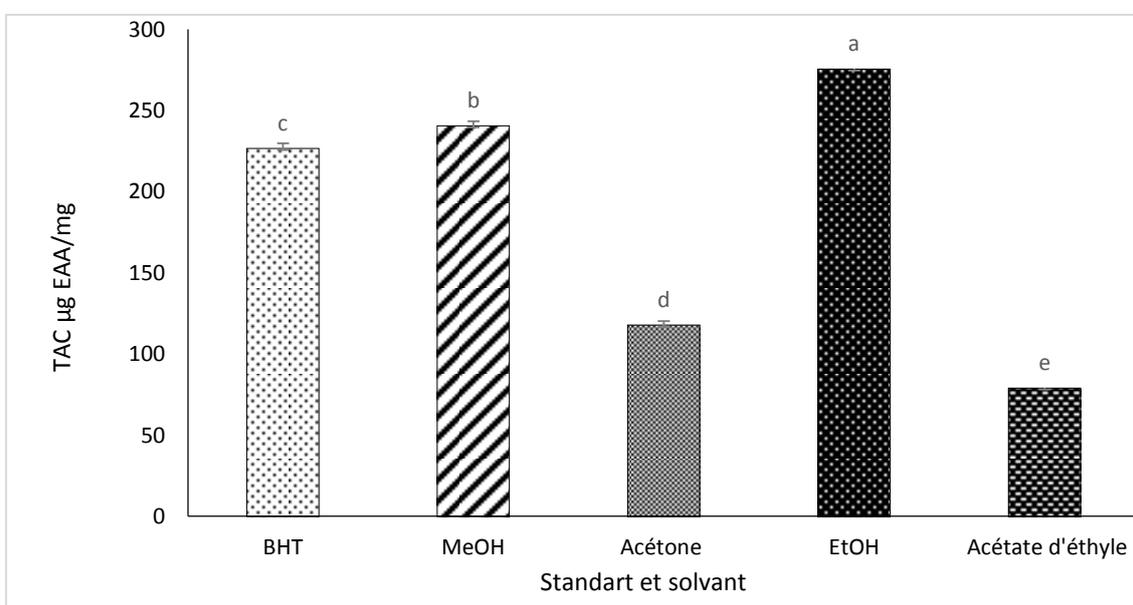


Figure17 : Histogrammes montrant l'activité anti-oxydante totale des extraits de *Dittrichia viscosa*.

Les résultats obtenus pour *Juniperus oxycedrus* révèlent que l'extrait méthanolique est le plus actif avec une valeur moyenne de 498,26 $\mu\text{g EAA/ mg}$, suivi de l'extrait acétonique (223,16 $\mu\text{g EAA/ mg}$), puis l'extrait acétate d'éthyle (208,33 $\mu\text{g EAA/ mg}$) et enfin l'extrait éthanolique (130,51 $\mu\text{g EAA/ mg}$) (Fig.18).

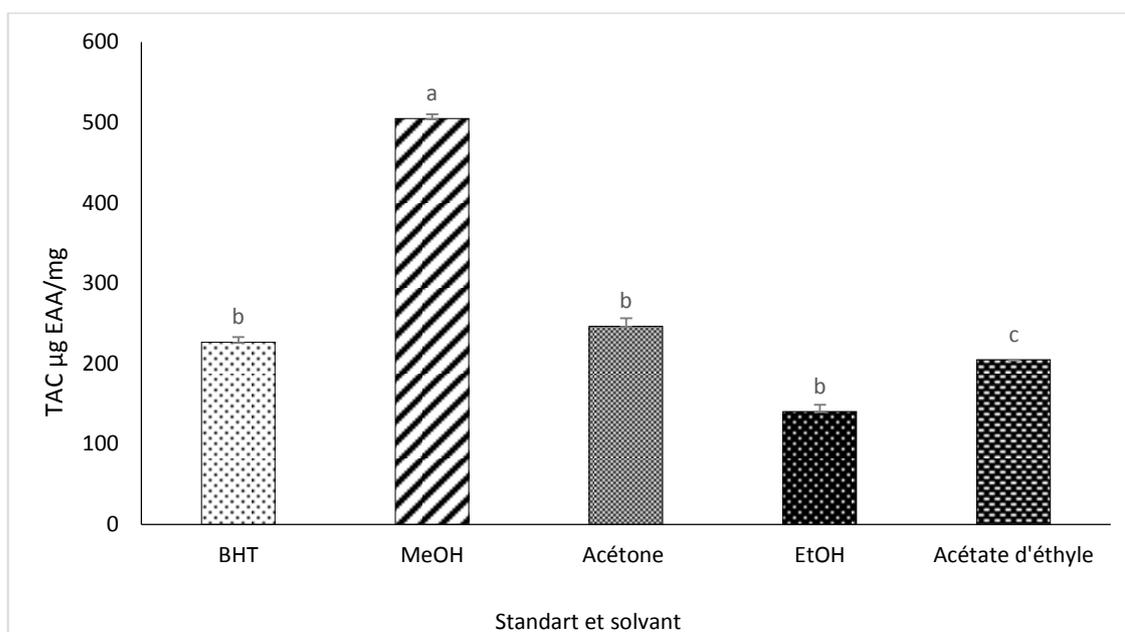


Figure 18 : Histogrammes montrant l'activité anti-oxydante totale des extraits de *Juniperus oxycedrus*.

IV.4. Résultats de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits extraits de *D. viscosa* et *J. oxycedrus* a été déterminée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des puits contenant les extraits vis-à-vis de cinq germes pathogènes dont quatre bactéries (Gram + et Gram -) et une levure (Tableau 4).

Tableau IV: Diamètres des zones d'inhibition (mm) en présence des différents extraits de *D. viscosa* et *J. oxycedrus*.

Plantes	Solvant	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Dittrichia viscosa</i>	méthanol	13,93	/	9,85	19,13	18,34
	éthanol	21,91	/	8,65	24,54	20,44
	acétone	13,11	/	/	22,42	15,35
	acétate d'éthyle	13,42	/	7,35	24,25	19,74
<i>Juniperus oxycedrus</i>	méthanol	16,22	/	/	15,37	20,66
	éthanol	16,28	/	/	15,85	16,56
	acétone	17,16	/	/	15,84	21,36
	acétate d'éthyle	15,86	/	/	23,77	14,23
	Gentamicine	30,25	42,76	12,16	19	38,63

Dans le présent travail, la concentration maximale des extraits était de 128mg/ml et est de 40mg/ml pour la gentamicine.

D'après le tableau 4, nous pouvons voir que dans le cas de *D. viscosa*, l'extrait éthanolique présente la plus forte activité antimicrobienne vis –à –vis de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec des diamètres de 21,91 mm, 24,54, et 20,44 mm, respectivement. Alors que dans le cas de *J. oxycedrus*, c'est plutôt l'extrait acétonique qui exerce une forte activité antimicrobienne vis –à –vis de *Bacillus cereus* et de *Candida albicans* avec des diamètres de 17,16mm et 21,36 mm, respectivement. *Staphylococcus aureus* est beaucoup plus sensible à l'action de l'extrait acétate d'éthyle avec une grande zone d'inhibition (23, 77mm).

Les extraits de *D. viscosa* ont montré un effet modéré sur *Echerichia coli*, alors qu'aucun effet n'est observé avec l'espèce *Juniperus*. *Pseudomonas aeruginosa* semble insensible à l'action des extraits des deux plantes.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides /fongicides (CMB et CMF) des extraits de de *D. viscosa* et *J. oxycedrus* sont représentées dans le tableau 5.

Tableau V : Concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB), et fongicides (CMF) des différents extraits vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Echerichia coli* (ATCC 259222), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), et de *Candida albicans*.

Plantes	Extraits	<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>E.coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>C. albicans</i>	
		CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMF
<i>Dittrichia viscosa</i>	MeOH	8mg/ml	128mg/ml	/	/	64mg/ml	64mg/ml	8mg/ml	64mg/ml	16mg/ml	128mg/ml
	EthOH	32mg/ml	128 mg/ml	/	/	64mg/ml	128mg/ml	8mg/ml	32mg/ml	32mg/ml	128mg/ml
	Acétone	16mg/ml	64mg/ml	/	/	/	128mg/ml	8mg/ml	32mg/ml	32mg/ml	128mg/ml
	Act. d'éthyle	16mg/ml	128mg/ml	/	/	128mg/ml	128mg/ml	8mg/ml	128mg/ml	16mg/ml	64mg/ml
<i>Juniperus oxycedrus</i>	MeOH	16mg/ml	128mg/ml	/	/	/	128mg/ml	8mg/ml	64mg/ml	8mg/ml	64mg/ml
	EthOH	16mg/ml	128mg/ml	/	/	128mg/ml	128mg/ml	8mg/ml	32mg/ml	16mg/ml	128mg/ml
	Acétone	8mg/ml	64mg/ml	/	/	/	128mg/ml	8mg/ml	128mg/ml	8mg/ml	32mg/ml
	Act. d'éthyle	8mg/ml	64mg/ml	/	/	/	64mg/ml	8mg/ml	64mg/ml	8mg/ml	64mg/ml

Discussion

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal. Elle est influencée par la nature chimique du solvant utilisé, la technique utilisée, la taille de l'échantillon étudié, ainsi que la présence de substances interférentes (**Stalikas, 2007**). D'après **Djahra et al. (2013)**, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ces constituants.

Dans la présente étude, les valeurs obtenues concernant l'analyse des paramètres physicochimiques de *Juniperus oxycedrus* et de *Dittrichia viscosa* n'ont pas dépassé les normes décrites dans la pharmacopée européenne i.e. le taux d'humidité ne dépasse pas 10 % et le teneur en cendres totales est inférieure à 14,0 %, ceci confère à la poudre étudiée une meilleure conservation à long terme (**Fettah, 2019**).

L'extraction des composés phénoliques par quatre solvants de différentes polarités (méthanol, éthanol, acétone et acétate d'éthyle à 70%) à partir des deux plantes étudiées, a permis d'avoir des rendements différents. En effet, l'extrait acétate d'éthyle de *D.viscosa* a montré le rendement le plus élevé (32,102%) qui est supérieur à celui obtenu par **Chahmi et al, (2015)** qui ont travaillé sur la même espèce de plante d'origine du Maroc et qui ont rapporté un pourcentage de 21,30%. Alors que, l'extrait acétate d'éthyle de *J. oxycedrus* a montré un rendement très faible (14,68%). L'extrait éthanolique de *J. oxycedrus* donne le rendement le plus élevé (35,70%), ceci est sans doute lié à la nature des substances phytochimiques des deux plantes. Plusieurs auteurs ont souligné que le rendement d'extraction dépend de la nature des composants de la plante qui varient selon la période, le lieu de la récolte, et la durée de séchage de la matière végétale, la méthode d'extraction, la nature du solvant, les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée, et la partie de la plante étudiée (**Smith e et al., 2005**).

L'étude phytochimique consiste à rechercher les grandes classes de composés chimiques appartenant aux métabolites secondaires (**Virginie et al., 2015**). Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux dans les quatre extraits de *D. viscosa* étudiés varient de 136 à 452 mgEAG/ g et de 7,91 à 42,77 mgEQ /g, respectivement.

Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues par **Rhimi et al, (2019)** et **Chahmi et al, (2015)**. Ces derniers ont étudié l'espèce *I. viscosa* de différentes régions du Maroc et ont rapporté des teneurs en polyphénols qui varient de 140 à 274 mg EAG/ g d'extrait en utilisant l'acétate d'éthyle et l'éthanol. Toutefois, nos résultats en termes de flavonoïdes restent inférieurs par rapport à ceux de **Chahmi et al, (2015)**. Les résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes de *J. oxycedrus* sont supérieurs à ceux de **Djerdane et al, (2006)**.

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et les solutions aqueuses et sont peu solubles dans les solvants organiques apolaires (**Macheix et al, 2005**). C'est ce qui a été observé dans le cas de notre étude où nous avons constaté que les teneurs des extraits en ces composés sont beaucoup plus concentrées dans les extraits organiques polaires (méthanol, éthanol, acétone) plutôt que les extraits organiques apolaires (acétate d'éthyle).

L'activité antioxydante des plantes médicinales est attribuée essentiellement à leur richesse en composés phénoliques mais aussi à d'autres molécules bioactives (**Geethae et al., 2009 ; Balasundram et al., 2006**).

Le test de réduction du radical DPPH est largement utilisé pour l'évaluation des propriétés antioxydantes en raison de sa stabilité, facilité et rapidité d'exécution (**Rice-Evans et al, 1997**). L'activité anti-radicalaire est due à la présence de groupements hydroxyles, à la structure moléculaire du composé, à la disponibilité de l'hydrogène phénolique, et à la stabilisation du radical formé résultant d'un donneur d'hydrogène (**Chung et al., 2006**). Dans ce travail, les extraits des deux plantes montrent une activité antioxydante importante. Les résultats de l'activité anti-radicalaire (DPPH) et du pouvoir réducteur de *D. viscosa* sont en accord avec ceux **Chahmi et al, (2015)**. Nos résultats concernant ces mêmes tests pour *J. oxycedrus* sont supérieurs à ceux de **Merradi et al, (2018)**.

Les résultats de l'activité antioxydante totale de *D. viscosa* sont supérieurs à ceux obtenus par **Chahmi et al, (2015)**. La différence dans la capacité antioxydante totale d'un extrait à un autre peut être expliquée par la capacité des substances à transférer des électrons dans le milieu réactionnel (**Hinneburg et al, 2006**).

Par ailleurs, la richesse de *D.viscosa* et de *J. oxycedrus* en métabolites secondaires, particulièrement, en polyphénols et en flavonoïdes soutient leurs propriétés antimicrobiennes. L'effet inhibiteur des composés phénoliques et des flavonoïdes sur la croissance des bactéries peut être expliqué par plusieurs mécanismes d'action tels que la chélation du fer qui est nécessaire à la croissance microbienne, l'action sur les membranes des micro-organismes conduisant à la perte de son intégrité structurale (**Akiyama et al., 2001 ; Funatogawa et al., 2004**).

Les extraits de *J. oxycedrus* et de *D. viscosa* ont montré une bonne activité inhibitrice et ce avec les différentes concentrations testées sur les souches bactériennes à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) par comparaison aux souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Nos résultats, concernant les extraits de *J. oxycedrus* sont en accord avec ceux de **Merradi et al, (2018)** qui ont étudié la plante *J. thurifera* L., appartenant à la même famille que *J.oxycedrus*, et qui ont constaté également l'absence d'activité antimicrobienne sur les bactéries à Gram négatif. De même, nos résultats concernant les extraits de *D.viscosa* corroborent ceux de **Oskay et al, (2007)** qui ont montré l'efficacité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des feuilles d' *I. viscosa*.

Plusieurs études ont montré que les bactéries à Gram positif sont très sensibles par rapport aux bactéries à Gram négatif (**Okoro et al., 2010 ; Oumaskour et al., 2012**). **Masibo et He (2009)** expliquent que la résistance d'*E. coli* (bactérie à Gram négatif) aux agents antimicrobiens est liée à la présence d'une enveloppe qui comprend une membrane cellulaire riche en lipopolysaccharides et une paroi qui limite l'accès aux agents antimicrobiens contrairement aux bactéries à Gram positif qui sont moins protégées contre les agents externes (détergents et antibiotiques).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent une source inépuisable de principes actifs doués de propriétés thérapeutiques. Cette diversité en propriétés biologiques et thérapeutiques est liée certainement à une gamme extraordinaire de molécules bioactives.

Le présent travail concerne l'étude physicochimique, phytochimique, et l'activité antioxydante et antimicrobienne de différents extraits méthanolique, éthanolique, acétonique et acétate d'éthyle de deux plantes locales soit *Dittrichia viscosa* appartenant à la famille des Astéracées, et *Juniperus oxycedrus* appartenant à la famille des Cupressacées.

Tous les extraits montrent une richesse en polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes, et en tannins. Les résultats de l'activité antioxydante montrent que les extraits exercent une bonne capacité de piégeage des radicaux libres et un bon pouvoir réducteur.

Les résultats de l'étude microbiologique montrent que les extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* exercent une bonne activité inhibitrice à l'égard, notamment, des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*) par rapport aux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Ces résultats préliminaires ouvrent des perspectives vers des études plus approfondies :

- Séparation et identification des composés actifs des deux plantes par des techniques d'analyse avancées (HPLC), et étude de leur toxicité.
- Elargir le spectre de l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo*.
- Orienter l'étude vers d'autres activités biologiques telles que les activités, antiinflammatoire, anticancéreuse,...etc. et détermination des mécanismes d'action des composés actifs.
- Réaliser des études sur les autres parties de la plante (fruits de *Juniperus oxycedrus*).
- Envisager la formulation d'un médicament à base de la plante.

*Références
bibliographiques*

(A)

Adam K., Sivropoulou A, Kokkini S., Laranas T, Arsenakis M. 1989. J.Agric, Food Chem, Vol 46 :1739-1745.

Adams R. P. (1998). The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect *Juniperus*. *Biochemical Systematics and Ecology*.26: 637–645.

Adams,R.P.(2001).Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy.Allured publishing corporation ,carol stream.455p.

Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O. and Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (4): 487-491.

(B)

Ba,K.,Tine,E.,Destin,J.,Cissé,N&Thonart,P.(2010).Etude comparative des composés phénoliques ,du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt .*Biotechnol.Agron.Soc .Environ.*14(1):131-139.

Balasundram, N., Sundram, K. et Samman. S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99:191–203.

Becker M., Picard J.-F., Timbal J. (1982). Larousse des arbres et arbustes. Librairie Larousse, 151-152 et 194-195.

Belaich, and Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés : effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(1), pp.38-42 .

Benayache S ;Benayach F ;Dendougui H ;Jay M.(1991).plantes médicinales et phytothérapie.Tome xxv.N°4.170-179.

Benguerba, A. (2008). Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inula crithmoides* L. Thèse de magister. Université Mentouri-Constantine, faculté des sciences exactes, département de chimie.

Benhammou, N., Atik bekkara, F. (2005). Contribution à l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle d'*Inula viscosa*.pp :9.

BIPEA (1976). Recueil des Méthodes d'Analyse des Communautés Européennes. BIPEA: Genevilliers; 51-52 .

Bouhlal K, Meynadier JM, Peyron JL, Peyron L, Marion JP, Bonetti G, Meynadier J. (1988). Le cade en dermatology. *Parfums, Cosmétiques et Aromes*, 83:73-82.

Brus R., Ballian D., Zhelev P., Pandz M., Bobinac M., Acevski J., Raftoyannis Y. And Jarni K. (2011). Absence of geographical structure of morphological variation in *Juniperus oxycedrus* L. *Subsp. Oxycedrus*. *European Journal of Forest Research*. 130 (4): 657-67

BSSAIBIS F., GMIRA N. & MEZIANE M. (2009). Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* W. Greuter. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 3(1):44-45.

(C)

CA-SFM. (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr>.

Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Abdellah, F., Sendide, K., El Hassouni, M.(2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco . *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3): 228-233.

Chaouch T .M . (2013). Contribution a l'étude des activités anti oxydantes et anti microbiennes des extraits de quelques plantes médicinal. *TLEMCE Functional Ecology of Plants*.**202**: 133–147.

Chung, Y., Chien, C., Teng, K. et Chou, S. (2006). Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb & zucc. *Food Chemistry*, 97: 418-425.

(D)

Djahra AB, Bordjiba O, Benkharara S.2013 Extraction , Séparation et activité antimicrobienne des tannins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L). *Phytothérapie* ,11 :348-352 .

Djeridane,A.,Yousfi,M.,Nedjemi,B.,Brouttassouna,D.,Stocker,P.,Vidal,N.(2006).Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounads .*Food Chemistry*,97: 654-660.

Djerroumi A ;Nacef M.(2004).100 plantes médicinal d'Algérie.Edd Palais du livre.P.83

(F)

Fatima N, Mukhtar U, Ihsan-Ul-Haq, Qazi MA, Jadoon M, Ahmed S. (2016). Biological evaluation of endophytic fungus *Chaetomium* sp. NF15 of *Justicia adhatoda* l.: A potential candidate for drug discovery. *Jundishapur J Microbiol.* 9:e29978.

Favier A(2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006; 64: 390-396.

Fernández A., Ortuilo I., Martos A., Fernández C. (1996). Saber y utilizacién de plantas en la provincia de Jaén. *Campafia de 1993. Boletmn de!Instituto de Estudios Giennenses*, 161, 199-318. *Fiavonoids in Health and Disease*, **10** : 253-276.

Fettah, A. (2019). Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra. Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider, Biskra. 94p.

Funatogawa, K., Hayshi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito H. and Hirai, Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plant against *Helicobacter pylori*. *Microbiology and Immunology*, 48(4): 251-261.

(G)

Garnier G., Bézanger-Beauquesne L., Debraux G. (1961).Ressources médicinales de la flore française. Tome 1. Vigot Frères Éditeurs, Paris, 124-133*rphology, Distribution*,

Geetha, T., Rohit, B. et Pal, K.I. (2009). Sesamol: An Efficient Antioxidant with Potential Therapeutic Benefits. *Medicinal Chemistry*, 5 : 367-371.

(H)

Haoui, I.E., Derriche, R., Madani, L., Oukali, Z. (2011). Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*. in press.

Hennebelle T., Sahpiz S. et Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 1 : 3-6.

Hinnenbeurg, I., Damier-Dorman, H.J. & Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs. *Food Chemistry*, 97:122-129.

(J)

Jain, D.P., Pancholi, S.S., Rakeshpatel, R. (2011). Synergistic antioxidant activity of green tea with some herbs. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2, 177-183.

Jayanthi, P. & Lalitha, P. (2011). Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (MART) Solms. *International Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 3(3):126-128.

(K)

Kattouf, J., Belmoukhtar, M., Harnafi, H., Mekhfi, H., Ziyat, A., Aziz, M., Bnouham, M., Legssyer, A. (2009). Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*. *Pharmacognosie*. 7: 309-312.

Klimko M., Boratynska K., Montserrat JM., Didukh Y., Romo A., Gomez D., Kluza-Wieloch M., Marcysiak K. and Boratynski A. (2007). Morphological variation of *Juniperus oxycedrus* subsp. *Oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean region. *Flora— Mo*

(M)

Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes

Masibo, M and He, Q. (2009). In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera indica* L. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(2): 73-80.

Merradi, M., Heleili, N., Mekari, R., Mekkaoui, I., Achouachria, S. and Ayachi, A. (2018). Antibacterial and antioxidant activity of *Juniperus thunifera* L. Leaf extracts growing in East of Algeria, 11: 373-378.

Min, B.R., Pinchak, W.E., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G & Anderson, R.C. (2008). Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay*. 3(2): 66-73.

Montagne, P. (1999). *The Concise Larousse Gastronomique*. London, UK: Hamlyn, p. 691.

Moreno, L., Bello, R., Beltrán, B., Calatayud, S., & Primo-Yufera, E. (1998). Free radical scavengers from the heartwood of *Juniperus chinensis*. *Journal of Pharmaceutical Toxicology*, 82, 108-112.

(N)

Nagata M, Yamashita I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J. Japan. Sco Food SciTechnol*, 39 (10), 925-928

(O)

Ogbera A.O., Dada O., Adeyeye F. And Jewo P.I. (2010). Complementary and Alternative medicine use in diabetes mellitus. *West African Journal Of Medicine*. **29**:158–162 .

Okoro, I.O., Osagie, A. and Asibor, E.O. (2010). Antioxydant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 9 (20): 2989-2993.

Oskay M,Sar D . (2007).Antimicrobial sceening of some turkish medicinal plants. *Pharm Biol*.45(3):176-181.

Oumaskour, K., Boujaber, N., Etahiri, S. and Assobhei, O. (2012). Screening of antibacterial and antifungal activities in green and brown algae from the coast of Sidi Bouzid (El Jadida, Morocco). *African Journal of Biotechnology*, 11(104): 16831- 16837

Oyaizu,M.(1986).Studies on products of browning reaction :antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine .*Jpn .Nutr.*44,307-315.

(P)

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, 269, 337-341.

(Q)

Quzep ;santaS.(1963).Nouvelle flore de l'Algériert des régions désertique méridionales.edition des centre National de la recherche scientifique.Tome **II**.

(R)

Reeb, C. (2010).Plantes mellifères l'inule visqueuse. *Abeilles & Fleurs*720:19-20. **Rozenblat S., Grossman S., Bergman M., Gottlieb H., Cohen Y., Dovrat S., 2008.**Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in humain melanoma cell lines.*Biochem Pharmacol* 75, 369-382.

Remli, B. (2013). Extraction des flavonoïdes de la plante *Inula viscosa*, de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de Magister en chimie. Université d'Oran : 77p.

Rhimi W., Hleli R., Ben salem I., Boulila A., Rajebe A., Saidi M., (2019). *Dittrichia viscosa* L. Ethanolic Extract Based Ointement With Antiradical, Antioxydant, and Healing Wond Activities, 10P.

Rice-Evans C.A., Miller N.J. and Paganga G., (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4) : 152-159. In : Wojdyło A., Oszmian'ski J., Czemerys R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105: 940–949

Références bibliographiques

Rodriguez-Vaquero, M.J., Alberto, M.R & Manca, De., Nadra, M.C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*. 18: 93-101.

Rozenblat S.,Grossman S.,Bergman M., Gottlieb H., Cohen Y.,Dovrat S .,(2008).INDUCTION OF G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in human melanoma cell lines *biochem pharmacol* 75, 369-382.

(S)

Salama, H.M.H. & Marraiki, N. (2010). Antimicrobial activity et phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (polygonaceae), naturally growing in Egypt, Saudi. *Journal of biological sciences*. 17:57-63.

Sanchez de Medina F., Gamez M. J., Jimenez I., Jimenez J.,Osuna J. I., Zarzuelo A. (1994). Hypoglycemic activity of juniper berries. *Planta Medica*, 60 :197-200

Sass-Kiss A., Kiss j., Milotay P., Kerek M.M., Toth-Markus M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruit and vegetables. *Food research international*, 20:1023-1029.

Sassi A.B., Harzallah-Skhiri F., Bourguignon N., Aouni M., (2008).Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against Herpes simplex virus type 1. *Nat Prod Res* 22, 53-65.

Schinella G.R., Tournier H.A., Prieto J.M., Mordujovich de Buschiazzo P., Rios J.L., 2002. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sciences* 70, 1023-1033.

Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med.* 2002; 33: 575-586 .

Singleton,V.L.,Rossi,J.A.(1965).Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acids reagents .*Am.J.Enol.Vitic.*16,144-158.

Sohal R. S., Mockett R.J. and Orr W .C .Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis *Free Radical Biol. Med.* 2002;33:575-58

Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., Portoghese, P.S., Waddell, W.J., Wagner, B.M. et al.(2005). A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food Chem. Toxicol*, 43: 345–363.

Stalikas C D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 3268–3295

Sun, B., Richardo-da-Silvia, J.M., Spranger, I. (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Agric. Food Chem.* 46 :4267–4274.

Swanston-Flatt S. K., Day C., Bailey C. J., Flatt P. R. (1990). Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia*, 33 :462-464.

(T)

Tavares L, Gordon J, Fortalezasa S, Stewart D, Ricardo BF, Cláudia N. (2012).The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four Juniperus species found in Portugal. *Food Chemistry*, 135 (2): 562-570.

Références bibliographiques

(V)

Virginie, G., Espérance, M.S., Guévara, N., Reine, B-A.G. S., Pascal, A.D. C. et Dominique, S.C.K. (2015). Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpus erinaceus* acclimaté au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12 (2) : 325-333.

(Y)

Yala D, Merad A S, Mohamedi D and Ouar Korich M N (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, n° 91

(Z)

Zeggwagh N.A ;Ouahidi M.L ;Lemhadri A;Eddoks M.(2006).*J.Ethno*.vol.108.223-227.

Zoughlache S. (2008),Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.

Annexe

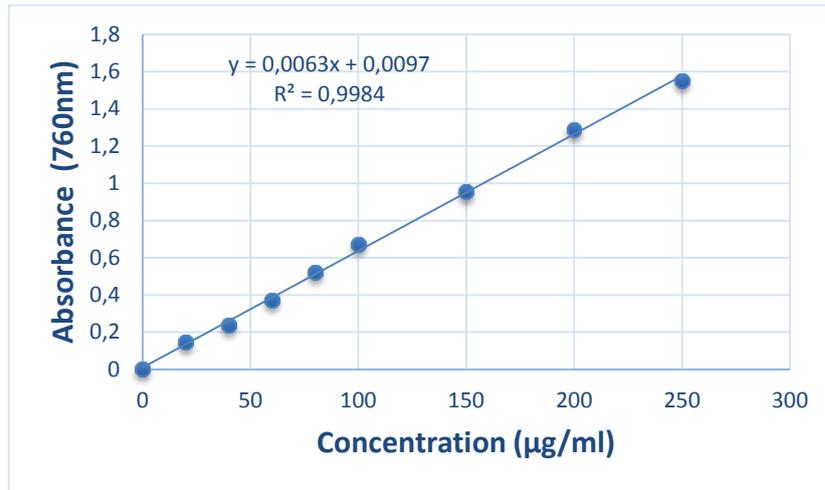


Figure 1 : courbe standard de l'acide gallique

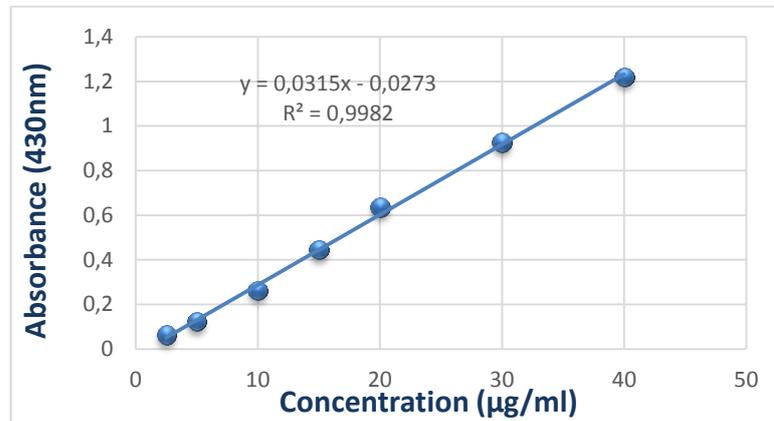


Figure 2 : courbe d'étalonnage de la quercétine

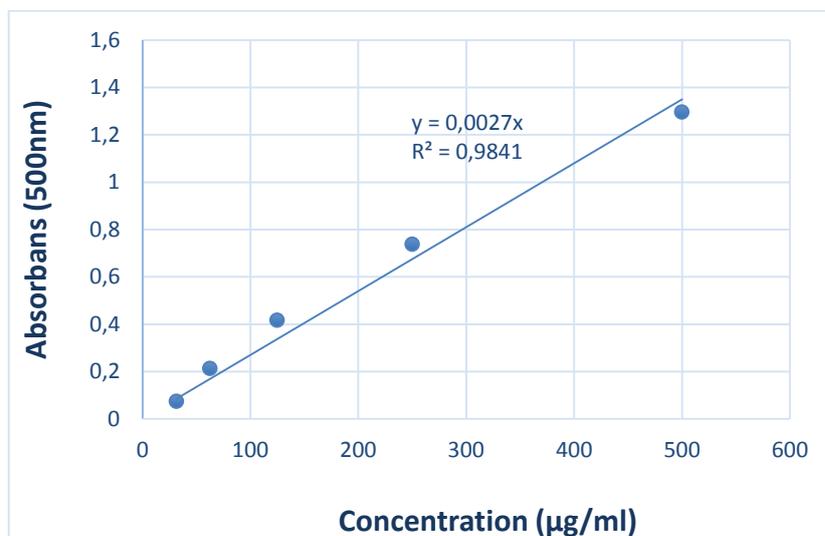


Figure 3 : courbe d'étalonnage de β -carotène

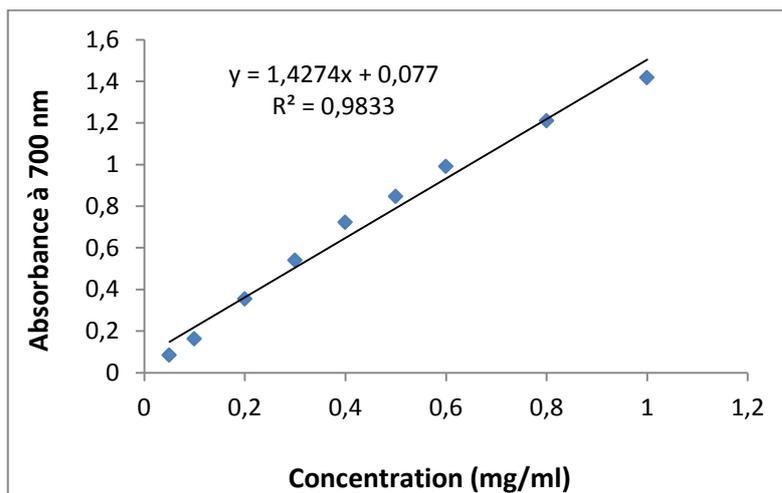


Figure 4 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

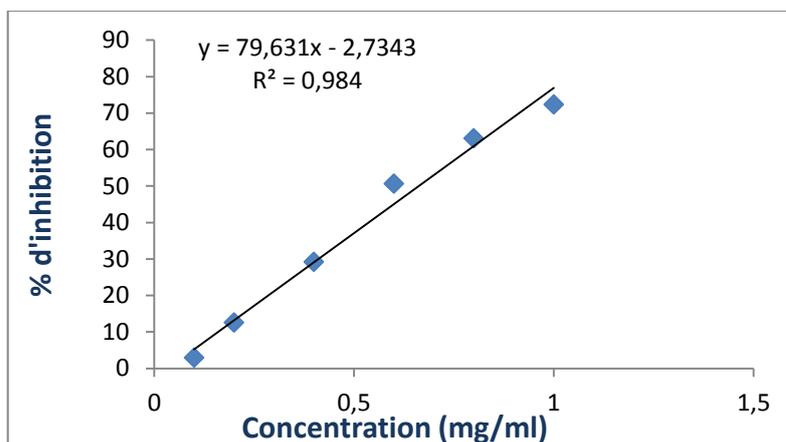


Figure 5: Activité anti-radicalaire (DPPH) du BHA.

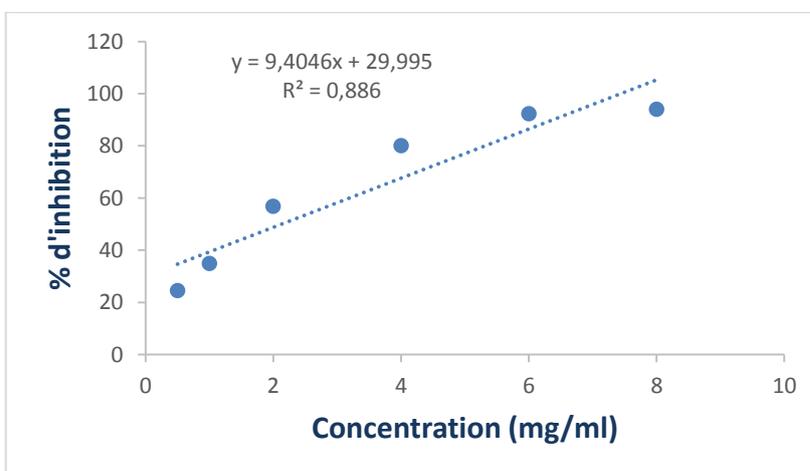
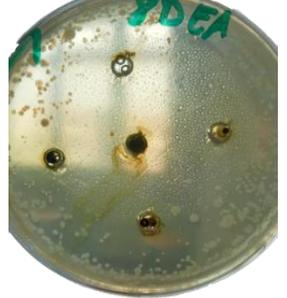
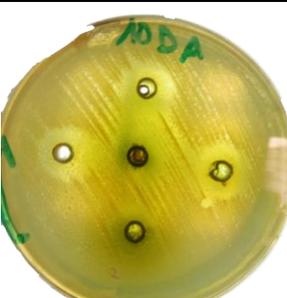
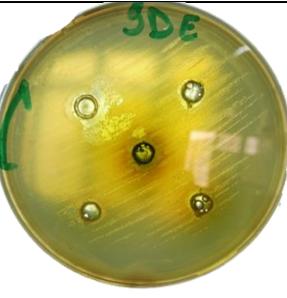
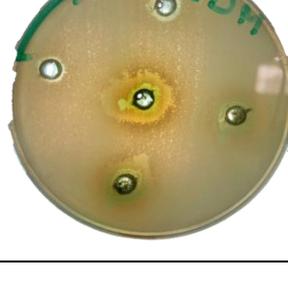
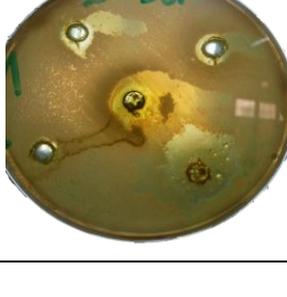
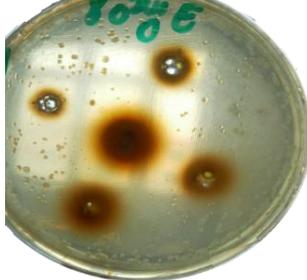
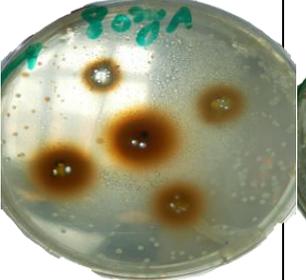
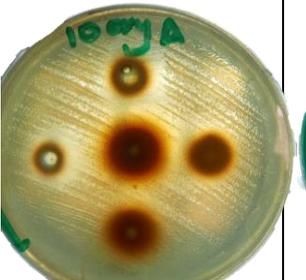
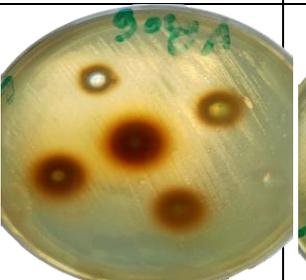


Figure 6: Activité anti-radicalaire (DPPH) du BHT.

DITTRICHIA VISCOSA

Solvants	Méthanol	Ethanol	Acétone	Acétate d'éthyle
Souches				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Echerichia coli</i>				
<i>Bacillus cereus</i>				
<i>Candida albicans.</i>				

JUNIPERUS OXYCEDRUS

Solvants	Méthanol	Ethanol	Acétone	Acétate d'éthyle
Souches				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Echerichia coli</i>				
<i>Bacillus cereus</i>				
<i>Candida albicans</i>				

Résumé

Le présent travail s'intéresse à la détermination des constituants phytochimiques et l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus*. L'extraction a été réalisée par la macération sous agitation en utilisant différents solvants (méthanol, éthanol, acétone et acétate d'éthyle). Les rendements obtenus sont respectivement de 31,26 %, 29%, %, 30 ,80%, 32,10% pour *D. viscosa* et 33%, 35,7%, 35,56%, 14,68% pour *J. oxycedrus*. La quantification des polyphénols totaux, des flavonoïdes, et des tanins condensées dans les quatre extraits montrent la richesse des deux espèces en ces métabolites secondaires. L'activité antioxydante est évaluée par différentes tests (activité scavenger du DPPH, activité antioxydante totale, pouvoir réducteur). L'extrait acétonique de *J. oxycedrus* et l'extrait méthanolique de *D. viscosa* montrent la plus grande capacité de piégeage du radical DPPH (IC₅₀ ~0.21 mg/ml). L'extrait méthanolique de *J. oxycedrus* et l'extrait éthanolique de *D. viscosa* révèlent le plus fort potentiel réducteur avec des IC₅₀ de 0.392 et 0.44 mg/ml, 0.463mg, respectivement. De même, l'extrait éthanolique de *D. viscosa* et l'extrait méthanolique de *J. oxycedrus* montrent la plus grande activité antioxydante totale avec des IC₅₀ de 275,53 µgEAA et 498,26 µgEAA, respectivement. L'activité antimicrobienne a été évaluée sur quatre souches bactériennes (*B. cereus*, *P. airogeuosa*, *E.coli* et *S. ceurus*) et une levure (*C. albicans*). Les extraits de *Dittrichia viscosa* et de *Juniperus oxycedrus* montrent une bonne activité antimicrobienne.

Mots clés : *Dittrichia viscosa*, *Juniperus oxycedrus*, polyphénols, flavonoïdes, tanins condensées, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

This work aimed to evaluate phytochemical constituents and the antioxidant as well as antimicrobial activity of leaves extracts of *Dittrichia viscosa* and *Juniperus oxycedrus*. The extraction is carried out by maceration with stirring using different solvents (methanol, ethanol, acetone and ethyl acetate). The obtained yields are respectively 31.26%, 29%, %, 30, 80%, 32.10% for *D. viscosa* and 33%, 35.7%, 35.56%, 14.68% for *J. oxycedrus*. The quantification of total polyphenols, flavonoids, and condensed tannins in the four extracts shows the richness of both species in these secondary metabolites. Antioxidant activity is evaluated by various tests (scavenging activity of DPPH, total antioxidant activity, reducing power). Acetone extract of *J. oxycedrus* and methanolic extract of *D. viscosa* show the greatest capacity for scavenging DPPH radical (IC₅₀ ~ 0.21 mg / ml). Methanolic extract of *J. oxycedrus* and ethanolic extract of *D. viscosa* show the strongest reducing potential with IC₅₀s of 0.392 and 0.44 mg / ml, 0.463 mg, respectively. Likewise, ethanolic extract of *D. viscosa* and methanolic extract of *J. oxycedrus* show the greatest total antioxidant activity with IC₅₀s of 275.53 µgEAA and 498.26 µgEAA, respectively. Antimicrobial activity was evaluated on four bacterial strains (*B. cereus*, *P. airogeuosa*, *E.coli* and *S. ceurus*) and one yeast (*C. albicans*). Extracts of *Dittrichia viscosa* and *Juniperus oxycedrus* show good antimicrobial activity.

Key words: *Dittrichia viscosa*, *Juniperus oxycedrus*, polyphenols, flavonoids, condensed tannins, antioxidant activity, antimicrobial activity.

المخلص

الهدف من هذا العمل هو دراسة المواد الفعالة النباتية وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لمستخلصات أوراق *Dittrichia viscosa* و *Juniperus oxycedrus*. تم استخلاص المواد الفعالة عن طريق النقع مع التقليب باستخدام محلولات مختلفة (ميثانول ، إيثانول ، أسيتون ، أسيتات إيثيل). الغلة التي تم الحصول عليها هي على التوالي 31.26% ، 29% ، % ، 30 ، 80% ، 32.10% لـ *D. viscosa* و 33% ، 35.7% ، 35.56% ، 14.68% لـ *J. oxycedrus*. يُظهر القياس الكمي لمجموع البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف في المستخلصات الأربعة ثراء كلا النوعين في هذه المستقبلات الثانوية. تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال اختبارات مختلفة (القدرة ضد جذر DPPH، النشاط الكلي لمضادات الأكسدة، و القدرة الإرجاعية). يُظهر مستخلص الأسيتون لـ *J. oxycedrus* والمستخلص الميثانولي لـ *D. viscosa* أكبر قدرة ضد جذر DPPH (IC₅₀ ~ 0.21 mg / ml). يُظهر المستخلص الميثانولي لـ *J. oxycedrus* والمستخلص الإيثانولي لـ *D. viscosa* أقوى إمكانات اختزال مع IC₅₀s من 0.392 و 0.44 مجم / مل ، 0.463 مجم ، على التوالي. وبالمثل ، فإن المستخلص الإيثانولي لنبات *D. viscosa* والمستخلص الميثانولي لـ *J. oxycedrus* يظهران أكبر فعالية لمضادات الأكسدة الكلية مع IC₅₀s من 275.53 ميكروغرام و 498.26 ميكروغرام ، على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية (*B. cereus*، *P. airogeuosa*، *E.coli* و *S. ceurus*) وخميرة واحدة (*C. albicans*). تظهر مستخلصات *Dittrichia viscosa* و *Juniperus oxycedrus* نشاطاً جيداً مضاداً للميكروبات.

الكلمات المفتاحية:

Dittrichia viscosa ، *Juniperus oxycedrus* ، البوليفينول ، الفلافونويد ، العفص المكثف ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.

