



République Algérienne Démocratique Et Populaire



Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La

Recherche Scientifique

Université Abbès Laghrou-Khenchela

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département De Biologie Moléculaire Et Cellulaire

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master Académique

FILIERE : Sciences Biologiques

OPTION: Biochimie appliquée

THÈME

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des huiles
essentielles extraites des galbules de

Juniperus phoenicea L.

Présenté par:

AZIZI Asma

Encadré par:

ZERAIB Azzeddine

Soutenu le : 19/06/2018

Membres du jury :

Présidente : Dr. KRIM Meriem MCB Univ. Abbès Laghrou *Khenchela*

Promoteur : Dr. ZERAIB Azzeddine MCB Univ. Abbès Laghrou *Khenchela*

Examineur: Mr. RAHAL Khaled MAA Univ. Abbès Laghrou *Khenchela*

Promotion : 2017/2018

Laboratoire où le travail a été réalisé : laboratoire de l'université Abbès Laghrou Khenchela



REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de mon avoir donné la patience, la santé et pour mon avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail

Car sans lui rien n'est possible.

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mon profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué mon promoteur Dr. ZERAIIB Azzeddine, qu'a accepté de me encadrer et dirigé ce travail avec la plus grande rigueur scientifique, ses encouragements, sa compréhension, son aide et sa très gentillesse durant tout le long de mon mémoire et ses nombreux conseils et ses compétence scientifique et ses orientations, sa patience et sa correction sérieuse de ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent aux membres de jury ; d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je adresse mes plus sincères remerciements à Dr. KRIM Meriem Maitre-Assistant à l'université Abbès Laghrour d'avoir accepté de présider le jury.

J'offre mes plus sincères remerciements à Mr. RAHAL Khaled pour ses précieuses remarques Qui j'ai permet de corriger ce travail et pour l'assistance par des conseils objectifs et éclairés.

Je saisis cette occasion pour vous exprimer mon profonde gratitude tout en vous témoignant mon respect. Pour toutes mes enseignants

J'adresse mon profond remerciement aussi à l'équipe du laboratoire de la faculté des SNV .Pour leur aidées qu'ils j'ai donné et les efforts déployés pour faciliter mon travail et surtout pour leur gentillesse

Enfin je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



DÉDICACE

À mon père

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras et pour son enseignement continu.

À ma mère

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien.

Mes chers parents que Dieu vous garde.

À mes chers frères et sœurs: Amira, Hadda, Mahedi, djahida, Alaa, Naser Addine, Nihale pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

À mes fidèles amies: Kanza B, Dalale A, Rachida A, Sabrina M Et Samra A, Soumiya G, Lobna B, Walida A, Ahlame H, Ilhame A, Karima M, Samia C, Fatiha B, Nadia B Et G, Afafe D, Marieme M Et T, souaad k Nadjete H, Lamia T, Safia B, Rayan L, Salma B. Houda A, Imen A, Nabila B.

À mes collègues Biochimie appliquée de promotion (2016-2018)

À toute ma famille

En fin, à tous ceux qui m'aime.

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles collectées à différentes périodes au cours de l'hydro-distillation et de l'eau florale extraites à partir des galbules mûres de *Juniperus phoenicea* L.

Les fractions d'huile essentielle ont été recueillies à cinq intervalles successifs après le début de l'hydrodistillation (0-3, 3-6, 6-20, 20-60 et 60-120 min). L'activité antioxydante *in-vitro* des extraits obtenus a été évaluée en utilisant la méthode de DPPH.

Les résultats obtenus ont montré que la fraction d'huile essentielle de 6 à 20 avait le pouvoir antiradicalaire le plus important avec une CI50= 23.148 mg/ml± 2.338. Tandis que l'effet antioxydant le plus faible a été enregistré avec la fraction d'HE de 60 à 120 min.

Par ailleurs, la concentration inhibitrice de 50% du radical libre de l'eau florale extraite des galbules de *J. phoenicea* n'a pas pu être déterminée étant donné que l'inhibition maximale du DPPH n'a pas dépassé 10.42% à la plus grande concentration testée (53.3 mg/ml). La CI50 de nos extraits (HE et eau florale) reste donc supérieures à celle de l'acide ascorbique qui est de 0.14 mg/ml, ce qui se traduit par un pouvoir anti-radicalaire moins important.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence que le plant *Juniperus phoenicea* à une activité antioxydante remarquable et peut jouer un rôle majeur dans la conservation des aliments et la prévention de maladies causées par les radicaux libre.

Mots clés : antioxydants, DPPH, huile essentielle, *Juniperus phoenicea*, l'acide ascorbique, l'eau florale.

Abstract

The objective of this study is the evaluation of the antioxidant activity of essential oils collected at different times during hydro-distillation and floral water extracted from the mature *Juniperus phoenicea* L. galleons.

The essential oil fractions were collected at five successive intervals after the start of hydrodistillation (0-3, 3-6, 6-20, 20-60 and 60-120 min). The *in vitro* antioxidant activity of the extracts obtained was evaluated using the DPPH method.

The results obtained showed that the essential oil fraction of 6 to 20 had the strongest antiradical power with an $IC_{50} = 23.148 \text{ mg / ml} \pm 2.338$. While the weakest antioxidant effect was recorded with the HE fraction of 60 to 120 min.

Furthermore, the inhibitory concentration of 50% of the free radical of floral water extracted from *J. phoenicea* galbules could not be determined since the maximum inhibition of DPPH was not more than 10.42% at most. High concentration tested (53.3 mg / ml). The IC_{50} of our extracts (HE and floral water) thus remains higher than that of ascorbic acid which is 0.14 mg / ml, which results in a lower anti-free radical power.

The results obtained made it possible to highlight that the *Juniperus phoenicea* plant has remarkable antioxidant activity and can play a major role in preserving food and preventing free radical disease.

Key words: antioxidants, ascorbic acid, DPPH, essential oil, floral water, *Juniperus phoenicea*.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم قوة مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية التي تم جمعها في أوقات مختلفة أثناء التقطير المائي والمياه الزهرية المستخلصة من ثمار العرعار الفينيقي.

تم جمع الزيوت الأساسية في خمس فترات متتالية بعد بداية عملية التقطير الهيدروجيني (0-3، 3-6، 6-20، 20-60، و60-120 دقيقة). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر التي تم الحصول عليها باستخدام طريقة DPPH.

وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الجزء الأساسي من الزيت من 6 إلى 20 كان أقوى مضاد للجذور الحرة مع $IC_{50} = 23.148 \text{ mg/ml} \pm 2.338$. في حين تم تسجيل أضعف تأثير مضاد للأكسدة مع جزء HE من 60 إلى 120 دقيقة.

علاوة على ذلك، فإن التركيز المثبط بنسبة 50% من الجذور الحرة المحصل عليها من الماء الزهري المستخرج من ثمار العرعار الفينيقي لا يمكن تحديده حيث أن الحد الأقصى من تثبيط DPPH لم يكن أكثر من 10.42% على الأكثر عند اختبار التركيز العالي (53.3 ملغ / مل). وبالتالي فإن IC_{50} من مستخلصاتنا (HE والمياه الزهرية) تظل أعلى من حمض الأسكوربيك وهو 0.14 ملغ/مل مما يؤدي إلى انخفاض قوة الجذور الحرة المضادة.

النتائج التي تم الحصول عليها سمحت بتسليط الضوء نبات ثمار العرعار الفينيقي على أنه لديه نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ. ويمكن أن تلعب دورا رئيسيا في الحفاظ على الغذاء والوقاية من الامراض التي تسببها الجذور الحر.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، العرعار الفينيقي، المياه الزهرية، حمض الاسكوربيك، مضادات للأكسدة، ●DPPH.

Table Des Matières

Résumé

Abstract

الملخص

Table Des Matières

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Liste des abréviations

SOMMAIRE

Introduction 1

Première Partie: Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Présentation De La Plante Etudiée «Juniperus phoenicea»

I- Présentation de la plante étudiée.....	3
I-1- La famille des <i>Cupressaceae</i>	3
I-2- Les genévriers	3
I-3- L'espèce <i>Juniperus phoenicea</i>	3
I-3-1- Classification et taxonomie	3
I-3-2- Description morphologique	4
I-3-3- Habitat	5
I-3-4- Répartition géographique	5
I-3-4-1- Dans le monde	5
I-3-4-2- En Algérie	6
I-4- La composition chimique des huiles essentielles de <i>J. phoenicea</i>	6
I-5- Usage en médecine traditionnelle	7
I-6- Travaux antérieurs.....	7

Chapitre II : Généralités Sur Les huiles essentielles

II- Généralités sur les huiles essentielles	8
II-1- Définition des huiles essentielles	8
II-2- Rôle physiologique des huiles essentielles	8
II-3- Répartition et lieu de synthèse des huiles essentielles dans la plante	8
II-4- Propriétés physico-chimique des huiles essentielles	8
II-5- Méthodes d'extraction	9
II-5-1- Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	9
II-5-2- Hydrodistillation simple.....	10
II-6- Composition chimique des huiles essentielles.....	11
II-6-1- Les terpénoïdes.....	11
II-6-2- Composés aromatiques.....	11
II-7- L'activité antioxydante	11
II-8- Applications des huiles essentielles.....	12
II-8-1- En Pharmacie	12
II-8-2- Dans l'industrie et en cosmétologie	12
II-8-3- En agroalimentaire	12

Chapitre III : Le stress oxydatif

III- Le stress oxydatif	14
III-1- Les radicaux libres.....	14
III-2- Les espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	14
III-3- Les principales sources des radicaux libres (RLO)	15
III-4- Définition du stress oxydatif	15
III-5- Les antioxydants	15
III-6- Les systèmes de protection antioxydante	15
III-6-1- Systèmes enzymatiques	16
➤Superoxyde dismutase (SOD)	16

➤Catalase	16
➤Glutathion peroxydase (GPx).....	17
III-6-2- Systèmes non enzymatiques	17
III-6-2-1- Antioxydants non enzymatiques d'origine endogène	17
➤L'acide urique	17
➤La bilirubine.....	17
III-6-2-2- Antioxydants non enzymatiques d'origine exogène	17
➤La vitamine E.....	17
➤La vitamine C (acide ascorbique)	18
III-7- L'évaluation de l'effet antioxydant <i>in-vitro</i>	18
III-8- Mécanismes d'actions des antioxydants.....	18
III-8-1- Antioxydants primaires, radicalaire ou vrais	18
III-8-2- Antioxydants secondaires ou préventifs	19

Deuxième Partie: Étude Expérimentale

Chapitre I: Matériel Et Méthodes

I- L'objectif.....	20
II- Matériel.....	20
II-1- Matériel végétale.....	20
II-1-1- Récolte du matériel végétal	20
II-1-2- Séchage du matériel végétal.....	20
II-2- Réactifs chimiques et instrumentations	21
III- Méthodes	21
III-1- L'extraction des huiles essentielles et leurs dérivés (l'hydrolat).....	21
III-1-1- Les huiles essentielles	21
III-1-2- L'eau florale.....	23
III-1-3- Conservation des extraits	24
III-1-4- Calcul du rendement en HE	24
III-1-5- Mesure de la densité des huiles essentielles	24

III-2- L'activité antioxydante	24
III-2-1- Principe	25
III-2-2- Protocol.....	25
III-2-3- Expression des résultats	26
III-3- Analyse statistique.....	26

Résultats et discussion

Résultats et Discussion	27
I- Rendement en huile essentielle.....	27
II- Densité des huiles essentielles obtenues.....	28
III- L'activité antioxydante des huiles essentielles de <i>J. phoenicea</i>	29
III-1- l'activité antioxydante	29
III-2- Variabilité intra-spécifique de l'activité antioxydante des HEs de <i>J. phoenicea</i>	33
Conclusion.....	37
Références Bibliographiques.....	37

Liste des figures

Figure 1: L'arbre et les fruits et les fleurs de <i>Juniperus phoenicea</i> L	5
Figure 2: Aire de distribution de <i>Juniperus phoenicea</i>	6
Figure 3: Structures des composés abondants identifiés dans les huiles essentielles de <i>J. phoenicea</i> L.	7
Figure 4: Représentation schématique de la distillation à la vapeur	10
Figure 5: Représentation schématique de l'installation de distillation simple	10
Figure 6: Structure chimique de l'isoprène	11
Figure 7: Rôle des enzymes antioxydantes dans le processus d'inactivation de l'ion superoxyde	16
Figure 8: Situation géographique de station de collecte de plante <i>Juniperus phoenicea</i>	20
Figure 9: Réaction du DPPH avec un antioxydant	25
Figure 10: Rendements en HEs fractionnées en fonction de temps de l'hydrodistillation	28
Figure 11: Courbes représentant les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des fractions des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> . ..	30
Figure 12: Courbe représente les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de différente concentration d'eau florale de <i>Juniperus phoenicea</i>	31
Figure 13: Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de différente concentration de l'acide ascorbique.	32
Figure 14 : Histogramme représente les concentrations inhibitrices de 50% du radical de DPPH° des extraits testés.....	32

Liste des photos

Photo 1: Les baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	21
Photo 2: Montage utilisé pour l'extraction des huiles essentielles et leurs dérivés.....	22
Photo 3: Montage de la décantation.....	23
Photo 4: Procédé de séchage de la phase organique.....	24
Photo 5: Les fractions des huiles essentielles obtenues durant les différentes périodes d'hydrodistillation.	29

Liste des tableaux

Tableau 1: La position systématique de <i>Juniperus phoenicea</i> L	4
Tableau 2: Les principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	14
Tableau 3: Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.....	16
Tableau 4: réactifs chimiques et instrumentations utilisés en expérimentation.	21
Tableau 5: Rendements en huiles essentielles fractionnées en fonction du temps de l'hydrodistillation.	27
Tableau 6: L'analyse de la variance à un seul facteur, l'effet de différentes fractions d'huile essentielle sur la concentration inhibitrice de 50 % du radical de DPPH.....	34
Tableau 7: concentrations inhibitrices de 50 % du radical de DPPH.	34

Liste des abréviations

ABTS: Acide 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonique).

DPPH: Di Phenyl Picryl Hydrazyl.

EC50: Concentration Efficace à 50%.

F : Le résultat de l'analyse de variance, soit le test **F**.

FRAP: Ferric Reducing / Antioxydant power.

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse.

GSH : Glutathion.

GSSG : Glutathion Disulfure.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène (Eau oxygénée).

HE : huile essentielle.

IC50 : Concentration Inhibitrice à 50 %.

LSD : Least Square Différence.

PH : Potentiel d'Hydrogène.

PI : pourcentage d'Inhibition.

Introduction

Introduction

L'homme à tout le temps fait de nombreux efforts pour rechercher des méthodes de conservation des denrées alimentaires. Pour empêcher et limiter l'altération des aliments, on doit donc jouer sur les facteurs qui y contribuent directement ou indirectement, sur la qualité organoleptique, hygiénique et nutritionnelle de ceux-ci. Parmi ces facteurs : le développement microbien, le pH, la température, l'activité d'oxygène et de l'eau (**Nout et al., 2003**).

C'est pourquoi l'industrie alimentaire est toujours en recherche des nouvelles techniques de conservation, visant à protéger la qualité des aliments, tout en optimisant au maximum la durée de conservation (**Levy, 2012**). Pour allonger la stabilité au stockage des aliments, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour le traitement industriel, notamment le tert-butylhydroquinone (TBHQ), le propylgallate (PG), et le 2,3-ter-butyl-4-methoxyphenol (BHA), 2,6-di-terbutyl-4-methylphenol (BHT), qui ont été suspectés parce qu'ils contenaient une certaine toxicité et qu'ils étaient responsables de la carcinogenèse et des dommages causés dans le foie (**Tawaha et al., 2007**). En raison de leurs conséquences indésirables, leurs utilisations, sont réglementées par des limites de dose et réservées à certaines catégories d'aliments (**Menaceur et al., 2013**). C'est ce qui a poussé les chercheurs à rechercher des molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires (**Rauter et al., 1989**).

Au cours des dernières années, les extraits de nombreuses plantes et les huiles essentielles ont reçu beaucoup d'attention et ont tendance à remplacer les agents synthétiques (**Ennajar et al., 2011**). Ces derniers sont certes très efficaces, mais susceptibles de manifester des effets secondaires et voire toxiques. Pour pallier les effets secondaires des antioxydants synthétiques et leurs toxicités, l'exploration des ressources naturelles semble être un choix incontournable car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives.

Parmi les plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à étudier l'espèce *Juniperus phoenicea* connu par le nom Arar (**Bouزيد et al., 2015**) ou Al-arâar finioui (**Benkhniqie et al., 2014**). C'est un arbuste aromatique de la famille des cupressacées originaire du bassin méditerranéen, possédant diverses propriétés biologiques et apprécié pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, et antifongiques. Cette espèce est largement utilisée en médecine traditionnelle (**Abu-darwisha et al., 2013 ; Raho et al., 2017**). Pour pallier certaines maladies telles que le diabète et le rhumatisme, ainsi que d'autres effets stomachiques, digestifs, antiseptiques (**Achak et al., 2008; Laouar et al., 2017 ; Soltani et al, 2017**).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles et l'eau florale extraites des galbules de *Juniperus phoenicea*.

Le présent manuscrit comprend deux parties: une partie théorique qui est une synthèse bibliographique, dans laquelle sont mises en revue les notions indispensables à la compréhension de notre travail, les principaux chapitres de cette partie sont traités selon le plan suivant :

- Dans le premier chapitre, nous présenterons une étude botanique sur l'espèce *Juniperus phoenicea* (classification, description, et utilisation, habita, répartition).
- Le deuxième chapitre, sera consacré aux généralités sur les huiles essentielles.
- Le troisième chapitre porte sur le stress oxydatif et les antioxydants.

Une partie expérimentale : comprend deux chapitres

- Dans le premier chapitre, sont passées en revue le matériel utilisé ainsi que les différentes méthodes adoptées.
- Dans le deuxième chapitre, on a rapporté les résultats obtenus lors de cette étude et leur discussion.

Enfin nous clôturons ce manuscrit par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et perspectifs.

Première Partie:

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I :

Présentation De la Plante

Etudiée

«Juniperus phoenicea»

I- Présentation de la plante étudiée

I-1- La famille des *Cupressaceae*

Les *Cupressaceae* représentent la famille la plus cosmopolite avec 10 genres dans chaque hémisphère, mais la plupart des espèces se trouvent dans l'hémisphère nord. Elle comprend 29 genres et plus de 130 espèces (Adams *et al.*, 2009; Debreczy *et al.*, 2009; Christenhusz *et al.*, 2011).

Les *Cupressaceae s.l.* ont longtemps été divisées en deux familles, les *Cupressaceae s.s.* et les *Taxodiaceae* sur la base des différences morpho-anatomiques de leurs feuilles (Amirouche *et al.*, 2010) mais par la suite plusieurs analyses ont été effectuées sur ces familles qui soutiennent d'une façon cohérente la fusion des deux familles (Pittermann *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012).

I-2- Les genévriers

Le genre *Juniperus* qui appartient à la famille des Cupressacées regroupe environ 70 espèces dans le monde entier (Medini *et al.*, 2009). Il pousse principalement dans l'hémisphère nord, et est divisé en trois sections:

- *Sabina* : la plus importante, comprenant 60 espèces.
- *Caryocedrus* : représentée par une seule espèce *J. drupacea* Labill.
- *Juniperus* : appelé également *Oxycedrus* (14 espèces) (Adams et Schwarzbach, 2013).

La plupart des espèces du genre *Juniperus* sont dioïques et caractérisées par des cônes très spécifiques, appelés « galbule » composés par des écailles plus ou moins complètement soudées entre elles (Rameau *et al.*, 2008).

I-3- L'espèce *Juniperus phoenicea*

I-3-1- Classification et taxonomie

Il y a deux variétés connues pour l'espèce *Juniperus phoenicea* qui sont : *J. phoenicea* var. *turbinata* caractérisée par des cônes turbines et *J. phoenicea* var. *phoenicea* caractérisée par des cônes globuleuses (Abu-darwisha *et al.*, 2013; Adam *et al.*, 2009; Achak *et al.*, 2008).

D'après Quézel et Santa en (1962), la classification de l'espèce *Juniperus phoenicea* L. peut être résumée comme suit

Tableau 1: La position systématique de *Juniperus phoenicea* L, d'après Quézel et Santa (1962).

Règne	Plantae
Embranchement :	Spermaphytes
Sous- Embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Conifères
Ordre :	Coniférales
Famille :	Cupressacées
Genre:	<i>Juniperus</i>
Espèce :	<i>Juniperus phoenicea</i> L.
Autres noms	

L'étiquette phoenicea vient du latin phoenicus qui signifie rouge pourpre ou rouge éclatant qui décrit la couleur des baies (Rameau *et al.*, 2008).

- **En Arabe:** Arar (Bouزيد *et al.*, 2015), Al-ar'ar finiqui (Benkhniqne *et al.*, 2014).
- **En Chaoi:** zimba.
- **Français :** genévrier rouge; genévrier de lycie (Rameau *et al.*, 2008); Genévrier de Phénicie, Fausse sabine.
- **Anglais:** Phoenician-cedar, Berry-bearing-cedar.
- **Italien :** Cedrolicio (Jarry, 1993).

I-3-2- Description morphologique

Le Genévrier de Phénicie ou genévrier rouge (*J. phoenicea* L.) sont des petits arbres ou grands arbustes dont les plus grands sujets peuvent atteindre 2 jusqu'à 12 mètres de hauteur (Menaceur *et al.*, 2013), monoïques ou rarement dioïques (Abu-darwisha *et al.*, 2013; Mansouri *et al.*, 2011; Barrero *et al.*, 2006), avec un tronc massif arrivant à 2 m de circonférence (White, 1986) et une Couronne arrondie ou irrégulière. Les cônes ressemblent à des baies de 6 à 14 mm de diamètre, brun-orange, parfois avec des fleurs cireuse rose, et contiennent 3-8 graines. Les feuilles sont de deux formes, feuilles juvéniles en forme d'aiguilles de 8-10 mm de long sur les semis et les écailles adultes 0,5-2 mm de long sur les plantes plus âgées (Figure 1) (Menaceur *et al.*, 2013). La floraison s'étend de février à avril (Chazel, 2012), mais la fructification dans l'année suivante à la fin de l'été (Ennajjar *et al.*, 2009).



Figure 1: A: L'arbre B: les fruits et C: les fleurs de *Juniperus phoenicea* L (Bouzid *et al.*, 2015; Abdelli, 2017; Bouyahyaoui, 2017)

I-3-3- Habitat

Il y a deux habitats essentiels de *Juniperus phoenicea* : les hauts plateaux et montagnes de l'intérieur et les sables littoraux. (Barrero *et al.*, 2006). Cette espèce est pionnière des climats méso- et thermo méditerranéens (Mazzoleni *et al.*, 2004), abondante dans les garrigues calcaires, sèches et non salines (Berger et Heurteaux, 1985). Le *Juniperus phoenicea* L est présent dans les sols rocheux et les sols sablonneux et localités pierreuses à une altitude de 1400 m (Medini *et al.*, 2008). La plasticité et la résistance de cet arbuste lui permettent de coloniser les différents types de substrats sur les adrets du Moyen Atlas et surtout ceux du Grand et Anti-Atlas. Il occupe les bioclimats semi-aride et aride supérieur frais, froids et très froids (Mansouri *et al.*, 2011).

L'espèce est généralement associée à *Pinus halepensis*, *Pinus brutia*, *Quercus ilex*, *Cistus spp.* *Olea europaea*, *Lavandula spp.*, *Artemisia herba-alba* et de nombreuses autres espèces (Yaniv et Dudai, 2014).

I-3-4- Répartition géographique

I-3-4-1- Dans le monde

Juniperus phoenicea L. est un arbuste naturel des terres septentrionales qui entourent la mer méditerranée. (Marongiu *et al.*, 2004). Il se trouve dans le nord d'Algérie et au Maroc, à l'est de la Turquie et de l'Égypte et sur les montagnes de l'ouest de l'Arabie saoudite, près de la mer Rouge, aux îles Canaries et au Portugal (Figure 2) (El-Sawi *et al.*, 2014; Mansouri *et al.*, 2011).

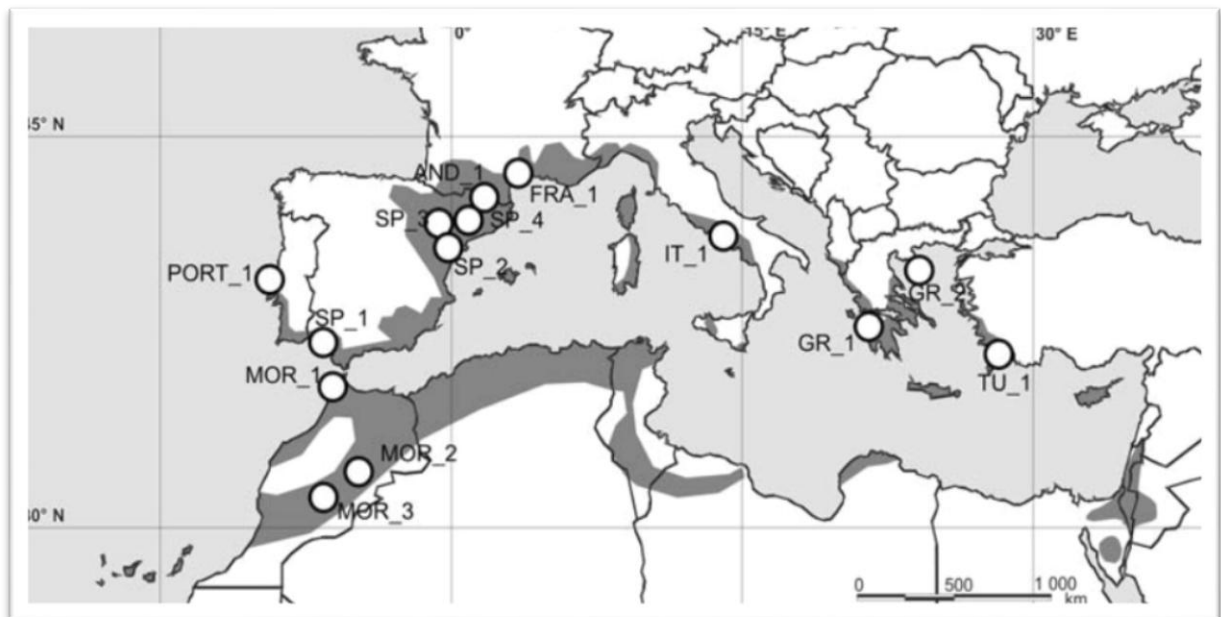


Figure 2: Aire de distribution de *Juniperus phoenicea* (Adam *et al.*, 2009)

I-3-4-2- En Algérie

La flore de l'Algérie compte deux sections et cinq espèces; section. *Oxycedrus* (*J. communis* L., *J. oxycedrus* L.), et la section *Sabina* (*J. thurifera* L., *J. phoenicea* L., *J. sabina* L.) (Raho *et al.*, 2017). Le genévrier de phénicie occupe les dunes maritimes en Oranie, les montagnes les plus sèches où il constitue des matorrals dans les Aurès et l'Atlas saharien. (Monts des Ksour, Djebel Amour, monts des Ouleds Nail, monts des Zab) (Quézel et Santa, 1962), mais c'est dans l'Atlas saharien bordant le désert qu'il trouve sa plus grande extension (White, 1986).

I-4- La composition chimique des huiles essentielles de *J. phoenicea*

Les huiles essentielles des feuilles et des galbules de *J. phoenicea* connaissent une grande variation chimique, cependant, un grand nombre de travaux rapporte la prédominance des monoterpènes hydrocarbonés, avec le α -pinène comme constituant majeur, suivis des monoterpènes oxygénés tels que, α -terpinol, δ -3-carène, myrcène, et β -caryophyllène (Figure 3) (Ennajar *et al.*, 2011).

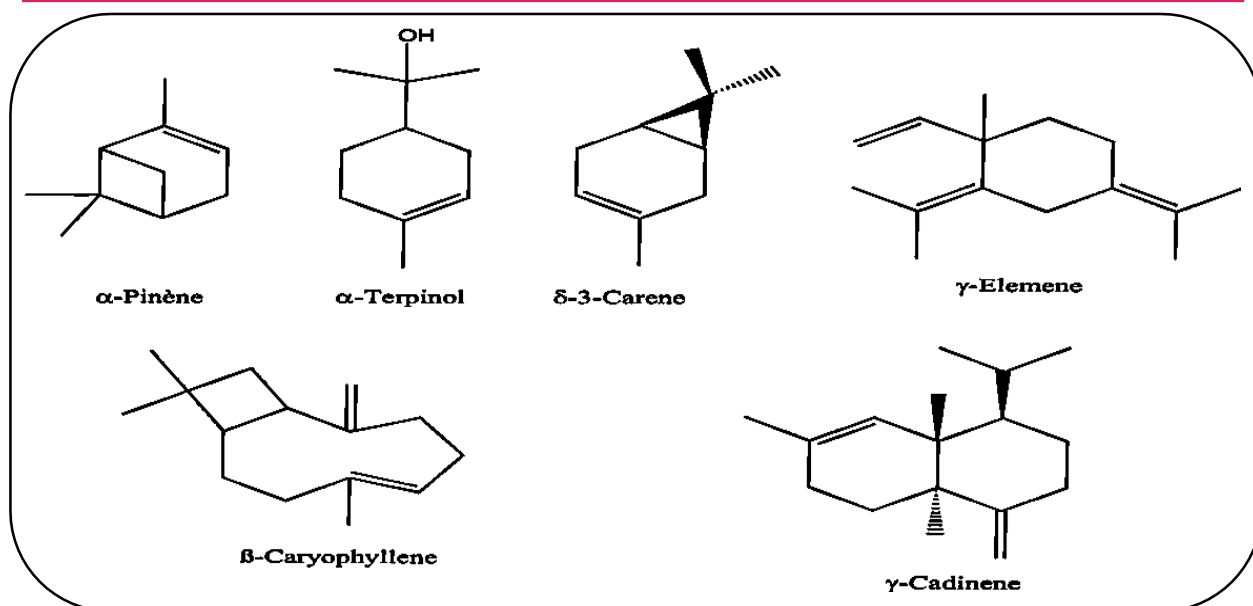


Figure 3: Structures des composés abondants identifiés dans les huiles essentielles de *J. phoenicea* L. (Ennajar et al., 2011)

I-5- Usage en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle algérienne, la plante *Juniperus phoenicea* est largement utilisée comme stimulant, tonique de l'estomac, dépuratif et désinfectant pulmonaire. Aussi une décoction de feuilles et de baies a été utilisée pour traiter la diarrhée, les rhumatismes (Laouar et al., 2017). *J. phoenicea* est utilisé comme hypoglycémique oral (Barrero et al., 2006), alors que les feuilles sont utilisées contre les maladies broncho-pulmonaires et en tant que diurétique (Alejandro et al., 2004). Les branches feuillées sont exploitées pour traiter certains cas d'eczéma et en inhalation contre maux de tête, l'asthme, contrôler l'arthrite et pour étourdissements (Derwich et al., 2010). L'huile de cade connue aussi comme "goudron de genévrier" utilisé pour le traitement de plusieurs maladies de la lèpre, typhoïde au ver ruban. (Menaceur et al., 2013). Les fruits séchés et en poudre peuvent guérir les abcès et les ulcères de la peau (Mansouri et al., 2011).

I-6- Travaux antérieurs

De nombreux articles ont fait l'objet des études sur la composition chimique et l'activité biologique des feuilles et baies des huiles essentielles de *J. phoenicea* qui pousse dans le nord du bassin méditerranéen (Achak et al., 2008 ; Bouzouita et al., 2008 ; Medini et al., 2009; Mansouri et al., 2011; Ait-Ouazzou et al., 2012 ; Ramdani et al., 2013 ; El-Sawi et al., 2014; Laouar et al., 2017).

Cependant, la composition chimique et les activités biologiques des huiles essentielles fractionnées en fonction du temps au cours de distillation n'a fait l'objet d'aucune étude.

Chapitre II:

Généralités sur Les huiles essentielles

II- Généralités sur les huiles essentielles

II-1- Définition des huiles essentielles

L'huile essentielle est le produit noble d'une plante aromatique (**Grosjean, 2015**) et son parfum (**Lardry et Haberkorn, 2007**). Les huiles essentielles peuvent être élaborées par tout organe végétal de la plante (graines, feuilles, brindilles, fleurs, écorces, herbes, bourgeons, bois, racines et fruits) (**Bakkali et al., 2008**). Elles sont définies selon **la pharmacopée Européenne en (2010)** comme étant «des substances odorantes, généralement de composition complexe renfermant des principes volatils, obtenues à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques: soit par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche, ou bien par un procédé mécanique approprié sans chauffage» sont plus ou moins changés au cours de la préparation.

II-2- Rôle physiologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles a une fonction dans la plante mais elle reste toujours obscure (**Asbahani et al., 2015**). Généralement la synthèse des HEs par les végétaux supérieurs est en réponse à des conditions de stress et surtout pour combattre les parasites ou les agents infectieux (**Goetz et Ghedira, 2012**). Les auteures pensent qu'elles ont un rôle écologique qui est la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, ainsi que leur rôle dans la protection contre les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs et la réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines (**Thompson et al., 2003; Bardeau, 2009**).

II-3- Répartition et lieu de synthèse des huiles essentielles dans la plante

L'accumulation et la biosynthèse des composés volatils sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (**Bruneton, 2009**). Les essences sont retrouvées dans différents organes de la plante, comme les feuilles, fleurs, fruits, racines, écorce ou encore le bois. Elles sont synthétisées dans le cytoplasme de certaines cellules (**Boukhobza et Gotez, 2014; Riotte, 2017**), qui sont présentes dans différentes structures, comme les poches et les réservoirs, les poils glandulaires, cellules spécialisées, ou même dans les espaces intercellulaires (**Babar et al., 2015**).

II-4- Propriétés physico-chimique des huiles essentielles

Les HEs sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. La volatilité dépend de la composition chimique. Pour cela l'huile essentielle qui est riche en monoterpènes sera plus volatile qu'une HEs riche en sesquiterpènes (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

La couleur des HEs est très variable en fonction de la partie de la plante qui a servi à la distillation, ce sont des liquides d'odeur et de saveur généralement forte (Huete, 2013).

Le terme «huile» s'explique par la propriété de solubilisation dans les graisses et par son caractère hydrophobe. Les huiles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière, elles sont très altérables et la pluparts sont inflammables (Baptiste Deschamps, 1868; Teisseire, 1991; Duraffourd et Lapraz, 2002). Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 (de 0.85 à 0.95) et leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C (Duraffourd et Lapraz, 2002). Dans les cas extrêmes, les HEs oxydées peuvent présenter des risques de toxicité (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012). Enfin, les huiles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les alcools (Bardeau, 2009).

Les propriétés physico-chimiques des HEs des feuilles et baies sèches de «*Juniperus phoenicea*» sont :

- **Densité relative:** mesurées à 20 °C sont égales à 0.97 et 0,88 respectivement, ces densités sont inférieures à celle de l'eau.
- **Indice de réfraction :** est égal à 1,46 pour les baies et 1,47 pour les feuilles sèches.
- **Pouvoir rotatoire:** les pouvoirs rotatoires dans l'éthanol sont égales à + 9,50° et + 7,65° et dans l'hexane ils valent + 9,40° et + 8,25° pour les feuilles et les baies sèches respectivement (Bouyahyaoui, 2017).

II-5- Méthodes d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles des végétaux, cette diversité est en fonction de la partie de la plante où se trouve l'huile essentielle, ainsi que de la qualité et de la valeur thérapeutique. De chaque procédé résulte un produit différent (Huete, 2013). Parmi ces différentes techniques, on a choisi les plus utilisées :

II-5-1- Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Constitue la technique la plus utilisée (Lucchesi, 2005). La plante n'est pas en contact direct avec l'eau. Le principe consiste à placer la plante sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau (Boukhobza et Gotez, 2014) qui détruit la structure des cellules, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles (Goetz et Busser, 2008). Ensuite les huiles volatiles sont condensées dans un réfrigérant avant d'être récupérées dans un essencier par décantation (Figure 4) (Aiache et al., 2012). Les avantages de cette technique consistent à apporter une amélioration de la qualité des produits obtenus et permettre de extraire les HEs

les plus pures (Riotte, 2017) en minimisant les altérations thermique des composés volatils (Werner *et al.*, 2010).

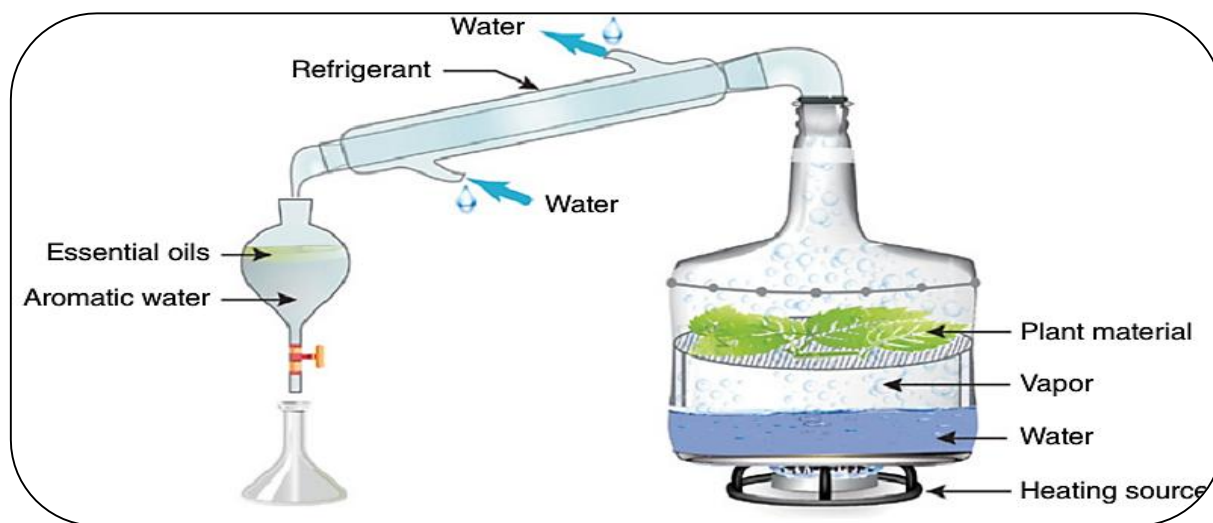


Figure 4: Représentation schématique de la distillation à la vapeur (Seyed *et al.*, 2017)

II-5-2- Hydrodistillation par contact direct

C'est la technique la plus ancienne et la plus simple, utilisée pour l'extraction des HES (Asbahani *et al.*, 2015). Son principe consiste à introduire directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. La chaleur permet de former de la vapeur d'eau qui provoque l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HES se séparent de l'eau par différence de densité (Figure 5) (Can Baser et Buchbauer, 2010; El Haib, 2011; Boukhobza et Gotez, 2014; Seyed *et al.*, 2017).

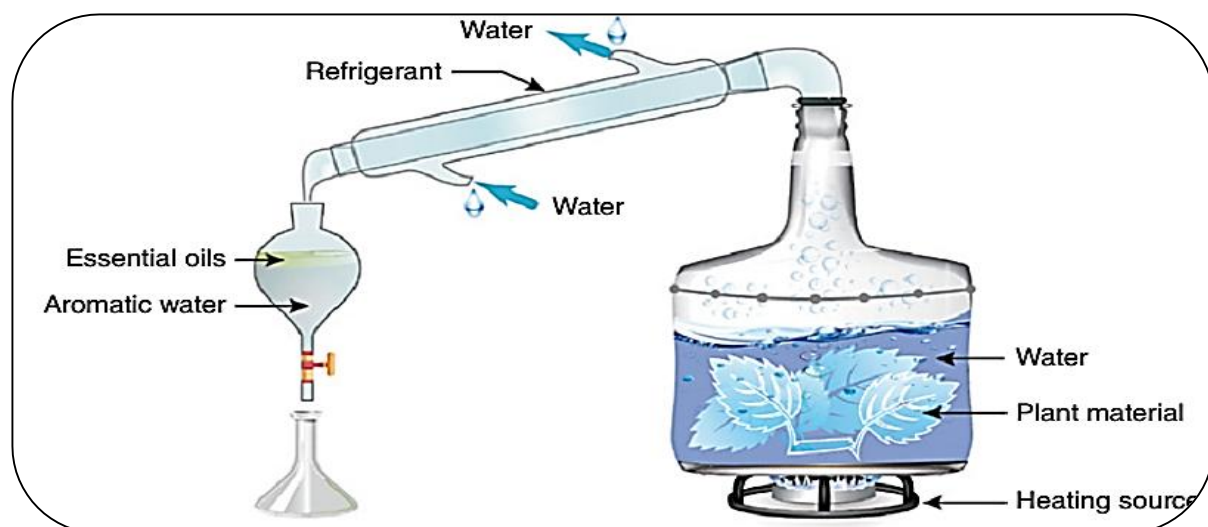


Figure 5: Représentation schématique de l'installation de distillation simple (Seyed *et al.*, 2017).

Ce procédé est fréquemment utilisé pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des fleurs fraîches ou séchées et des feuilles (Bouhaddouda, 2016).

II-6- Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées de deux grandes classes chimiques en fonction de leur origine biogénétique, à savoir les terpénoïdes et les composés aromatiques ou dérivés du phénylpropane (généralement sont des constituants de l'eau florale) (Boukhobza et Gotez, 2014).

II-6-1- Les terpénoïdes

Les terpènes sont des polymères d'unités isoprènes (Figure 6) répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, considérés comme le plus grand groupe de substances naturelles (Damjanović-Vratnica *et al.*, 2011), dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène, alors que le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés (Baser et Buchbauer, 2010).

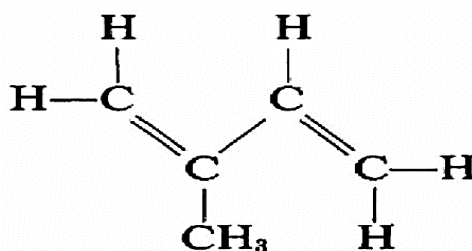


Figure 6: Structure chimique de l'isoprène (Linus, 2014)

II-6-2- Composés aromatiques

Dérivés du phénylpropane (C_6-C_3), ils sont beaucoup moins fréquents que les terpènes (Boukhobza et Gotez, 2014). Ils contiennent tous un cycle aromatique, et sont importants comme composant de base des polymères (Willuam *et al.*, 2017) et présentent généralement des odeurs très marquées (Aiache *et al.*, 2012).

II-7- L'activité antioxydante

Plusieurs travaux ont rapportés que certaines HEs sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques (Hussain *et al.*, 2010) et aussi sont classées en tant qu'antioxydants non enzymatiques (Madhavi *et al.*, 1996).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est due à certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes monoterpéniques (le 1,8-cinéole, le linalool, le citronellal, le géraniol/néral, l'isomenthone, la menthone et certains monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et l' α -terpinolène) (Braga *et al.*, 2006; Edris, 2007), particulièrement l' α -tocophérol qui est plus abondant dans les huiles végétales. Leur caractère hydrophobe leur permet de réagir avec les radicaux peroxydes (ROO•) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng *et al.*, 2007).

II-8- Applications des huiles essentielles

II-8-1- En Pharmacie

Certaines huiles essentielles sont utilisées en thérapeutique grâce à leurs propriétés antifongiques et antiseptiques. Elles sont utilisées notamment, pour purifier l'air atmosphérique dans les centres de soins (hôpitaux, clinique) par diffusion d'HEs dans l'air. De nouveaux travaux soulignent l'apport bénéfique des HEs face aux infections nosocomiales bactériennes dont les souches sont résistantes aux antibiotiques utilisés traditionnellement (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012). Souvent, les HEs sont rajoutées dans la formulation des spécialités pharmaceutiques, pour masquer le mauvais goût des médicaments et pour donner un caractère plus agréable à leur consommation (Boehm *et al.*, 2012).

II-8-2- Dans l'industrie et en cosmétologie

L'application industrielle d'huiles essentielles se retrouve dans de nombreux produits comme les antiseptiques, les liniments, les savons, de parfums, les déodorants, les arômes et les produits cosmétiques. des produits alimentaires, détergents, fibres et textiles (Rehman *et al.*, 2014).

Les industries chimiques utilisent les HEs comme matières premières par isolement des molécules d'intérêt des isolats (substances pures isolées des HEs) soit pour la réalisation d'hémisynthèses avec l'obtention finale de nouvelles molécules, économiquement plus rentables que la synthèse chimique classique. Soit pour un usage ultérieur en tant que produit naturel présent sous une seule forme énantiomorphe (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

II-8-3- En agroalimentaire

Les huiles essentielles sont largement utilisées grâce à leurs rapports antifongiques, antibactériens, antioxydants, antiviraux, insecticides, et nématocides (Lopez-Reyes *et al.*, 2013). Dans ce contexte les industriels procèdent à l'utilisation HEs comme conservateurs et antioxydants dans les aliments (Tiwari *et al.*, 2009), soit incorporées dans le matériau

d'emballage des denrées alimentaires (**Kuorwel et al., 2011**) ou comme protecteurs des végétaux et des plantes (**Adorjan et Buchbauer, 2010**). Les HEs sont aussi utilisées comme rehausseurs de goût et pour aromatiser les aliments élaborés (**Syed et al., 2017; Bandoniene et al., 2000**).

Chapitre III:

Stress oxydatif

III- Le stress oxydatif

Les termes de « stress oxydant », de « radicaux libres » ou « d'antioxydants » sont de plus en plus souvent employés pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leur approche thérapeutique.

Qu'est-ce que c'est exactement ? Quelles sont les causes, les conséquences et les risques de ce phénomène, peut-on trouver de nouvelles armes pour combattre ce phénomène?

III-1- Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques chargées ou neutres, portant sur son orbitale externe un électron libre « célibataire », ce qui les rend très réactifs (Migdal et Serres, 2011; Lacolley *et al.*, 2007). Cette réactivité conduit à faire don ou l'arrachant des électrons des molécules environnantes pour atteindre un état plus stable et déstabilisant ainsi d'autres molécules selon un phénomène d'oxydation (Dacosta, 2003). Il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe. Sa durée de vie est très courte (10^{-6} s à 10^{-9} s pour le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$) (Lacolley *et al.*, 2007).

III-2- Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les Espèces Réactives de l'Oxygène sont des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène (Migdal et Serres, 2011), sont composées d'espèces oxygénées radicalaires et non radicalaires formé par la réduction partielle de l'oxygène (Ray *et al.*, 2012).

Les radicaux libres peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou dérivé de l'azote (espèces réactives de l'azote ERN). Les principaux dérivés des molécules d'oxygène et de l'azote sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 2: Les principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. D'après (Halliwell et Gutteridge, 2008)

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	Espèces réactives de l'azote (ERN)
Anion superoxyde $\text{O}_2^{\circ-}$	Monoxyde d'azote NO°
Radical hydroxyl HO°	Dioxyde d'azote NO_2°
Radical hydroperoxyl HO_2°	Radical nitrate NO_3°
Anion carbonate $\text{CO}_3^{\circ-}$ Radical peroxy, RO_2°	
Radical alkoxy RO°	
Dioxyde de carbone $\text{CO}_2^{\circ-}$	

III-3- Les principales sources des radicaux libres (RLO)

Les RLO sont principalement synthétisés à la fois par :

- **Des sources endogènes** qui se forment au cours du métabolisme normal dans les organites tels que les mitochondries, les réticulums endoplasmique, les peroxysomes et dans cellules inflammatoires (**Sarangarajan et al., 2017**).
- **Des sources exogènes** telles que des éléments chimiques ou physiques. Ainsi, les radiations ionisantes (rayons X), la lumière (surtout certains rayonnements ultraviolets), la fumée de tabac et de nombreux composés chimiques peuvent générer des radicaux libres (**Murphy, 2009, Leverage, 2009**).

III-4- Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif survient lors du déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (**Gil del Valle et al., 2013**), ce qui conduit l'endommagement de toutes les classes des macromolécules endogènes comprenant des protéines, des acides nucléiques, des lipides et des hydrates de carbone (**Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2015**). Mais lors du l'équilibre, les oxydants peuvent fonctionner comme des molécules de signalisation régulant la prolifération, la croissance, la différenciation et l'apoptose (**Barbieri & Sestili, 2012**).

Le stress oxydatif a un effet dévastateur causant la mort de la cellule et les lésions tissulaires et est couramment observé dans plusieurs maladies telles que le diabète, les troubles neuroaux et le vieillissement (**Kandikattu et al., 2015; Treml et Smejkal, 2016**). La recherche a permis l'utilisation d'antioxydants comme agents thérapeutiques dans le traitement de ces maladies (**Sarangarajan et al., 2017**).

III-5- Les antioxydants

Un antioxydant a été défini comme étant toute substance capable, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles, par rapport à celles du substrat oxydable (**Berger, 2006**).

III-6- Les systèmes de protection antioxydante

Les défenses antioxydantes reposent sur des systèmes enzymatiques et non enzymatiques (**Tableau 3**) (**Leverve, 2009**).

Tableau 3: Les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Flora, 2009).

Les antioxydants	
Les antioxydants enzymatiques	Les antioxydants non enzymatiques
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Superoxyde dismutase (SOD) ▪ Catalase ▪ Glutathion peroxydase (GPx) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ La vitamine E (α-tocophérol) ▪ La vitamine C (acide ascorbique) ▪ carotenoïde ▪ Thiol antioxydants (glutathione, thiorédoxine et acide lipoïque) ▪ Flavonoïdes

III-6-1- Systèmes enzymatiques

➤ Superoxyde dismutase (SOD)

Les superoxydes dismutases sont des enzymes clé de la défense naturelle contre les radicaux libres. Ils servent à transformer catalytiquement l'ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Celui-ci est ensuite, rapidement, catabolisé par le catalase et les peroxydases en dioxygène (O_2) et en molécules d'eau (H_2O) (Figure 7). (Menvielle-Bourg, 2005; Abreu, 2010; Frances, 2012).

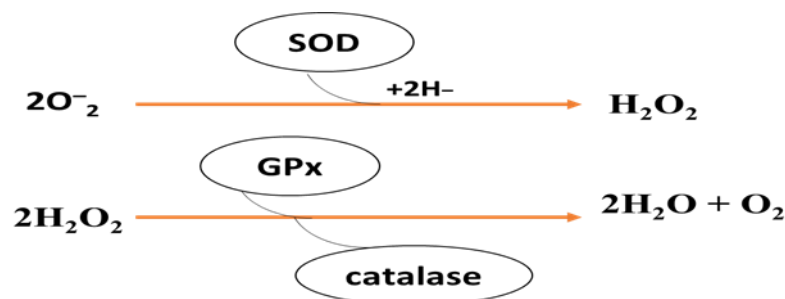


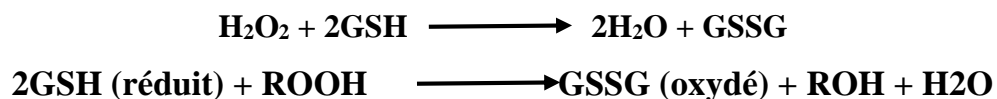
Figure 7: Rôle des enzymes antioxydantes dans le processus d'inactivation de l'ion superoxyde (Menvielle-Bourg, 2005)

➤ Catalase

La catalase est une enzyme importante présente dans presque tous les organismes aérobies et joue un rôle essentiel dans la défense dans les cellules contre les dommages oxydatifs en catalysant la dégradation du peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau (H_2O) et en dioxygène (O_2) (Figure 7) (Powers et Jackson, 2008 ; Qi *et al.*, 2018).

➤ **Glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase est une sélénoprotéine ayant une activité enzymatique, La (GPx) est réduite d'une part par le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part par les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Ristow *et al.*, 2009; Raman et Berry, 2011).



III-6-2- Systèmes non enzymatiques

III-6-2-1- Antioxydants non enzymatiques d'origine endogène

➤ **L'acide urique**

C'est un catabolite final du métabolisme des bases puriques comme l'hypoxanthine et la xanthine (Villasante *et al.*, 2010). Il est présent sous forme d'urate à pH physiologique et possède des propriétés antioxydantes très puissantes des radicaux (ROO•, HO•, ONOO•, NO₂•) et l'oxygène singulet. Cette réactivité donne naissance au radical urate stable grâce à la délocalisation de l'électron célibataire sur son noyau purine, l'urate est très bien réduit par l'acide ascorbique (vitamine C) (Halliwell et Gutteridge, 2008).

➤ **La bilirubine**

La bilirubine est un produit terminal de dégradation de l'hémoglobine. Ce composé liposoluble est capable de piéger les radicaux peroxyde ROO• et l'oxygène singulet. Il est le principal protecteur de l'albumine (Haleng *et al.*, 2007). Elle intervient dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique (Paredi *et al.*, 2002).

III-6-2-2- Antioxydants non enzymatiques d'origine exogène

➤ **La vitamine E**

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (α , β , γ , et δ). D'un point de vue biologique, l' α - et le γ -tocophérol sont particulièrement intéressants, grâce à leur caractère hydrophobe qui leur permet de s'insérer dans les acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxydes (ROO•) pour former un radical tocophéryle, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique (Haleng *et al.*, 2007).

➤ **La vitamine C (acide ascorbique)**

La vitamine C (acide ascorbique) est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés des EOA (HO• ou O2•-) (**Rekha et al., 2012**). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidique (**Haleng, 2007**).

III-7- L'évaluation de l'effet antioxydant *in-vitro*

Plusieurs méthodes pouvant être appliquées pour l'évaluation de l'activité antioxydante. En fonction des caractéristiques de l'essai particulier. Parmi ces méthodes il existe des méthodes qualitatives ou quantitatives.

Parmi les méthodes quantitatives les plus utilisées pour évaluer l'activité antioxydante on distingue:

- le 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (**Re et al., 1999; Velázquez et al., 2003; Molyneux, 2004**).
- la méthode d'ABTS (**Re et al., 1999**).
- la méthode de réduction du Fer.
- la méthode de FRAP (**Benzie & Strain, 1998**).

Les méthodes qualitatives utilisées pour marquer l'activité antioxydante des composés, sont très peu nombreuses et font intervenir principalement, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Parmi les principales méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés (**Li et al., 1999**).

III-8- Mécanismes d'actions des antioxydants

Suivant le mécanisme d'action les antioxydants peuvent être classés en antioxydants primaires et secondaires.

III-8-1- Antioxydants primaires, radicalaire ou vrais

Ils regroupent les composés qui empêchent l'oxydation lipidique grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs en convertissant les produits d'oxydation lipidiques (L•, LOO•, LO•) en produits plus stables (LH, LOOH, LOH) (**Kim et Lee, 2004**). Le radical (A•) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable non radicalaire : $A^* + A' \rightarrow A-A$ ou $A\cdot + R^* \rightarrow A-R$ (**Rolland, 2004**).

III-8-2- Antioxydants secondaires ou préventifs

Sont des composés qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres (**Rolland, 2004**) ou retardent l'oxydation lipidique selon différents modes d'action :

- Inactivation de l'oxygène singulet
- Décomposition des hydroperoxydes.
- Absorption des radiations ultraviolettes.
- Chélation des métaux (**Gordon, 1990**).

Deuxième Partie:

Étude

Expérimentale

Chapitre I:

Matériel Et

Méthodes

I- L'objectif

Noter travail expérimental ayant pour objet de la contribution à l'étude de l'activité antioxydante de l'eau florale (dérivé d'huile essentielles) et des fractions d'huile essentielle collectées à différentes périodes au cours de l'hydrodistillation à partir des galbules de *Juniperus phoenicea* L. L'étude expérimentale a été effectuée au sein des laboratoires pédagogiques de l'Université Abbés Laghrou - Khenchela.

II- Matériel

II-1- Matériel végétale

II-1-1- Récolte du matériel végétal

Le matériel végétale utilisé dans notre étude est constitué de galbules de l'espèce *J. phoenicea* qui sont récoltées dans la région de T'kout, wilaya de Batna au Nord-est de l'Algérie, au mois de Décembre 2017, aux coordonnées de 35°7'13.55" N de latitude, 6°21'5.55" E de longitude et à une altitude de 1450 m (**Figure 8**).

L'identification de l'espèce a été faite par Dr. Zeraib Azzeddine. Maître de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbes Laghrou, Khenchela.

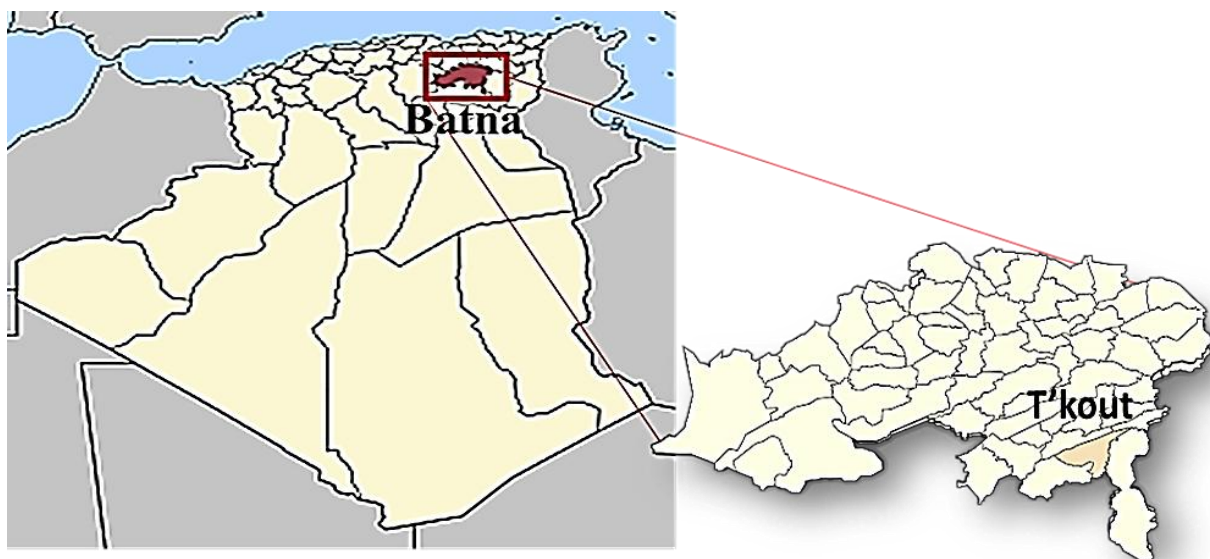


Figure 8: Situation géographique de station de collecte de plante *Juniperus phoenicea*

(Site web 1 et 2)

II-1-2- Séchage du matériel végétal

Après la récolte et l'identification, le matériel végétal est nettoyé des impuretés, séché à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 15 jours, puis conservé dans des sachets en papier (**Photo 1**) pour servir à l'extraction de l'huile essentielle.



Photo 1: Les baies de *Juniperus phoenicea* L.

II-2- Réactifs chimiques et instrumentations

L'ensemble du matériel et d'appareillage et les réactifs chimiques utilisés au cours de ce travail est résumé dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4: réactifs chimiques et instrumentations utilisés en expérimentation.

Les réactifs chimiques	Matériel et Appareillage
<ul style="list-style-type: none"> • le réactif chimique DPPH • méthanol • Acide ascorbique • L'eau distillée • Ether de pétrole 	<ul style="list-style-type: none"> • spectrophotométrie UV-visible à double faisceau (SP-UV 2005 Spectrum instruments) • Micropipette • Balance analytique (Adventurer OHAUS) • Agitateur (SCIOLOGEX MS7-H550-Pro). • Vortex (VELP) • Erlenmeyer et ampoule à déconté • Rota-vapeur (HS-2005V-N)

III- Méthodes

III-1- L'extraction des huiles essentielles et leurs dérivés (l'hydrolat)

III-1-1- Les huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir des galbules de *Juniperus phoenicea* a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation en contact direct, sur un montage de type «Clevenger1928» (**Photo2**).



Photo 2: Montage utilisé pour l'extraction des huiles essentielles et leurs dérivés.

A chaque extraction, une quantité de 100 g de galbules broyées de *Juniperus phoenicea* est introduite dans un ballon contenant 1 L d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition avec une température de 100°C puis on diminue la température jusque 50°C à l'aide d'un chauffe-ballon (**Photo 2**). Les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation.

Le début de la distillation a été marqué quand la première gouttelette d'huile essentielle est tombée du réfrigérant dans l'unité collectrice d'huile de l'appareil. Les fractions d'huile essentielle ont été récoltées à cinq périodes depuis le début de la distillation: (0-3, 3-6, 6-20, 20-60, et 60-120 min).

Les fractions d'huile essentielle ont été collectées sans interrompre le processus d'hydrodistillation, en collectant l'huile et l'eau florale recueillis dans l'unité collectrice de l'appareil dans des tubes en verre de 20 ml. En raison de la différence de densité; l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau, et est ensuite recueillie à l'aide d'une seringue. L'eau florale (hydrolat) collectée durant les deux heures de l'hydrodistillation est accumulée dans un flacon en verre.

Le procédé d'extraction est répété plusieurs fois (10 fois) pour permettre de récupérer le maximum d'huile essentielle et de l'eau florale.

III-1-2- L'eau florale

L'extraction liquide-liquide a été utilisée pour séparer les dérivés d'huiles essentielles de l'eau en utilisant l'éther de pétrole comme le solvant d'extraction. Le procédé expérimental suivi est comme suit :

On met la quantité de l'eau florale recueillie durant l'hydro distillation (environ 500 ml) dans une ampoule à décanter bien fixée préalablement sur un support, et on ajoute 250 ml de l'éther de pétrole, puis on fait agir le mélange en dégazant régulièrement. Vue la densité du solvant d'extraction qui est inférieur à la densité de l'eau, la phase organique à récupérer se situera au-dessus de la phase aqueuse (**Photo 3**).



Photo 3: Montage de la décantation.

La séparation des deux phases est faite en ouvrant le robinet de l'ampoule à décanter. Après l'élimination du peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait le séchage de la matière organique en utilisant un rotavapeur à une température inférieure à 40 °C (**Photo 4**). Ce procédé est répété plusieurs fois, jusqu'à ce que la phase aqueuse devienne non parfumée.

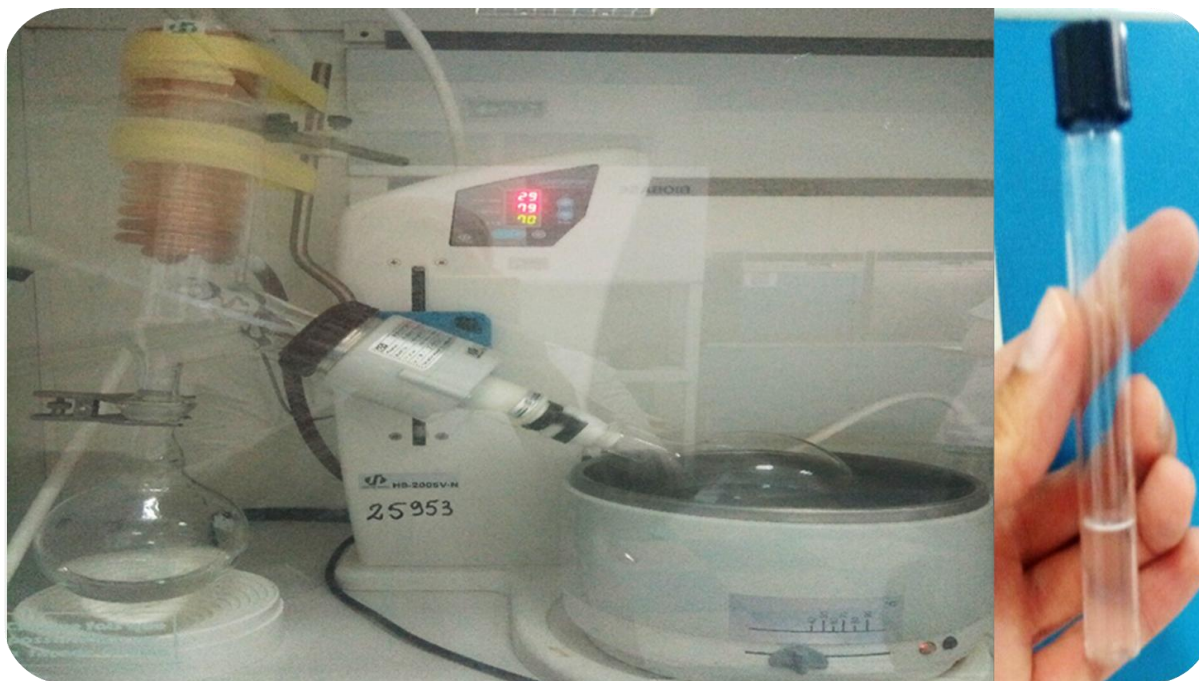


Photo 4: Procédé de séchage de la phase organique

III-1-3- Conservation des extraits

Après leurs séparations, les huiles essentielles et l'hydrolat sont conservées à 4°C dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium jusqu'au moment de l'utilisation.

III-1-4- Calcul du rendement en HE

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'HE extraite et le poids des parties de la plante à traiter (Carré, 1953). Le rendement, exprimé en pourcentage par la relation suivante :

$$\text{RHEs\%} = \text{P1} / \text{P2} \times 100$$

Où RHEs% : rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

P1 : poids de l'huile essentielle en g.

P2 : poids des parties utilisées de la plante en g.

III-1-5- Mesure de la densité des huiles essentielles

La densité d'une huile est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C sur celle de l'eau distillée du même volume à 20°C.

III-2- L'activité antioxydante

L'activité antioxydante est par définition le pouvoir de l'extrait ou du composé à bloquer le phénomène d'oxydation ou à inhiber un radical libre. Elle est évaluée par différentes méthodes

basées sur la coloration et la décoloration de la solution dans une longueur d'onde bien définie (Kalla, 2012).

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* a été estimée via la méthode de le piégeage des radicaux libres DPPH• (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl).

III-2-1- Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH° C₁₈H₁₂N₅O₆) est un radical organique stable cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule (Molyneux, 2004). Sa stabilité est due au fait qu'il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. À un couleur violette, qui absorbe à 517 nm.

Le piégeage du radical libre stable DPPH• en présence d'agents antioxydants qui sont des donneurs d'hydrogène (AH), peut être suivi par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm. Ce radical libre de couleur bleu-violette, lorsqu'il est piégé par les antioxydants, le composé est réduit en une forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine), qui apparaît sous sa forme réduite qui est de couleur jaune. (Figure 9) (Brand-Williams *et al.*, 1995).

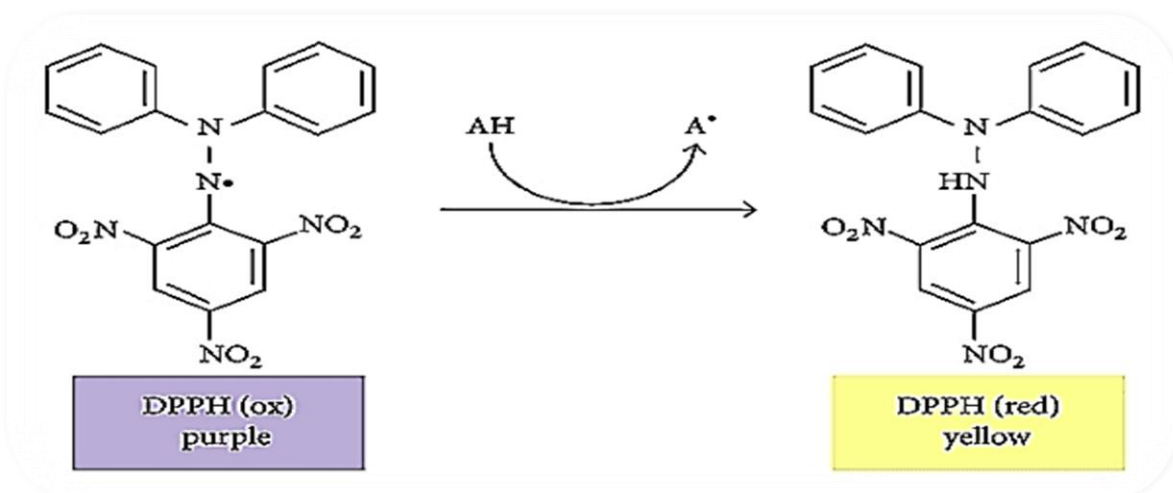


Figure 9: Réaction du DPPH avec un antioxydant (Teixeira *et al.*, 2013).

III-2-2- Protocol

Cent microlitres (100 µl) de chaque dilution de l'huile essentielle ont été mélangés avec 0.9 ml de la solution de méthanol de DPPH• à 0.004% (p/v) dans des tubes à essai secs. Après 30 min d'incubation à la température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le contrôle négatif est composé de 100 µl de méthanol et de 0.9 ml de la solution de DPPH•. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celles de l'huile essentielle.

Le même protocole pour la mesure de l'activité antioxydant de l'eau florale.

III-2-3- Expression des résultats

L'activité anti radicalaire où le pourcentage d'inhibition (I %) est estimée selon la formule suivante :

$$I \% = ((Abs_{Blanc} - Abs_{test}) / Abs_{Blanc}) \times 100$$

Abs_{Blanc}: absorbance du control négatif lue à 517 nm ;

Abs_{test}: absorbance de l'échantillon lue à 517 nm.

La courbe tracée à partir des concentrations en huile essentielle et de l'acide ascorbique, en fonction du % d'inhibition du radical DPPH permet de calculer le paramètre CI₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) (**Khoudali et al., 2014**). Ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'huile essentielle ou de l'eau florale (ou de l'acide ascorbique) nécessaire pour réduire 50% de l'activité de DPPH° (**Molyneux, 2004**).

III-3- Analyse statistique

Toutes les mesures ont été répétées trois fois dans des expériences indépendantes (tubes indépendants). Tous les résultats obtenus dans ce travail sont exprimés en moyenne ± écart-type, qui est calculés en utilisant Excel Microsoft Office 2013. Les valeurs des CI₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) ont été calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f(concentrations)].

Les résultats des CI₅₀ de tous les extraits y compris le test positif (l'acide ascorbique) ont été soumis à une analyse de la variance (ANOVA) avec un facteur. Les tests de comparaison des moyennes sont réalisés par le test de Fisher LSD. Toutes les analyses statistiques sont réalisées avec la version 8.0 du logiciel STATISTICA (**Hill, 2007**).

Chapitre II :
Résultats Et
Discussion

Chapitre II : Résultats et Discussion

I- Rendement en huile essentielle

Deux heures de l'hydrodistillation des galbules de *J. phoenicea* récoltées dans la région de T'kout, wilaya de Batna, a donné un rendement cumulatif en huile essentielle estimé de 1.94 %.

Le rendement obtenu est similaire à celui rapporté dans l'étude menée par **Cavaleiro et al. (2006)** sur les galbules mûres de la sous espèce *turbinata* récolté en Portugal qui est de 2%. Cependant, ce rendement est faible par rapport à ceux trouvés par **Ennajar et al. (2009)** à partir des galbules mûres de la même espèce en Tunisie qui va de 2 à 3,95%. De même, l'hydrodistillation pendant trois heures des galbules mûres de *J. phoenicea* ssp. *Turbinata* collectées en Italie a donné un rendement de 2,45% (**Angioni et al., 2003**). Les mêmes auteurs ont rapporté le rendement de 1.69% à partir des galbules non mûres (**Angioni et al., 2003**), qui est un peu faible par rapport à celui trouvé dans notre étude.

Le fractionnement des huiles essentielles de *J. phoenicea* a été effectué par le temps, en collectant l'huile essentielle à différentes périodes (0-3, 3-6, 6-20, 20-60 et 60-120 mn) sans interrompre l'hydrodistillation. Les résultats sont illustrés dans le **tableau 5** et **figure 10**.

Tableau 5: Rendements en huiles essentielles fractionnées en fonction du temps de l'hydrodistillation.

Fraction (min)	0-3	3-6 min	6-20 min	20-60 min	60-120 min
Rendement (%)	0,65 %	0,23 %	0,45 %	0,43 %	0,18 %

Les résultats de fractionnement des huiles essentielles dans le temps, ont montré des rendements différents. Le rendement le plus faible est celui enregistré dans la période 60-120 min, tandis que le plus élevé est enregistré dans la première fraction collectée durant la période 0-3 mn qui est de 0,65%.

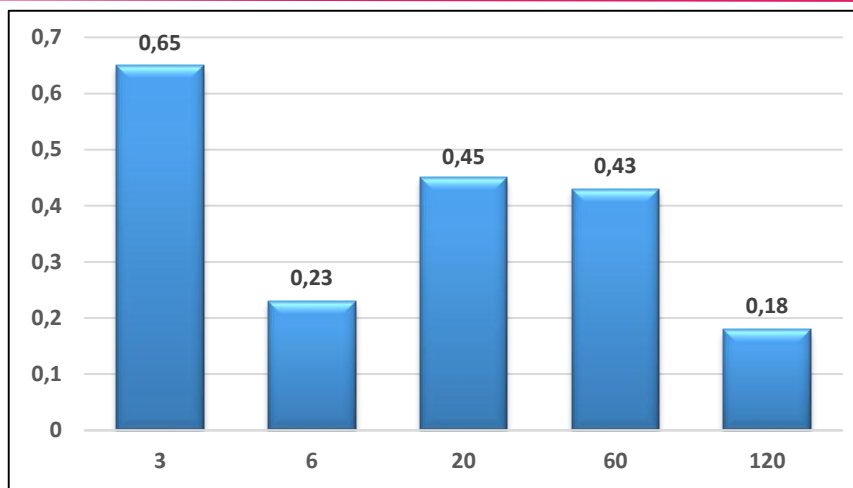


Figure 10: Rendements en HEs fractionnées en fonction de temps de l'hydrodistillation

Par rapport aux travaux précédents, il est très difficile de comparer les résultats de notre étude avec ceux des travaux antérieurs qui sont très rares. En effet, la composition chimique et les activités biologiques des huiles essentielles fractionnées en fonction du temps au cours de distillation n'est pas connue. Selon la recherche bibliographique qu'on a effectuée, il n'y a qu'une seule étude qui a été réalisée dans ce contexte par **Zheljzakov et al. (2017)**, qui porte sur l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles extraites des galbules de deux espèces du genre *Juniperus*. Une différence significative a été observée entre les fractions des huiles essentielles de *J. communis* et *J. excelsa* collectés durant les périodes : 0–3, 3–5, 5–10, 10–20, 20–40, 40–80, 80–160, et 160–240 min. Les rendements les plus élevés sont enregistrés dans la première fraction (0-3 min) qui sont de 0,72 % et 1,05 % chez les espèces *J. communis* et *J. excelsa* respectivement. Tandis que les rendements les plus faibles sont enregistrés dans la période 80-160 min qui sont de 0,02 % chez *J. excelsa* et 0,05 % chez *J. commuis* (**Zheljzakov et al., 2017**).

II- Densité des huiles essentielles obtenues

Le fractionnement des huiles essentielles en fonction de temps durant l'hydrodistillation, n'a pas donné seulement des rendements différents, mais aussi des huiles avec un aspect et des couleurs différentes.

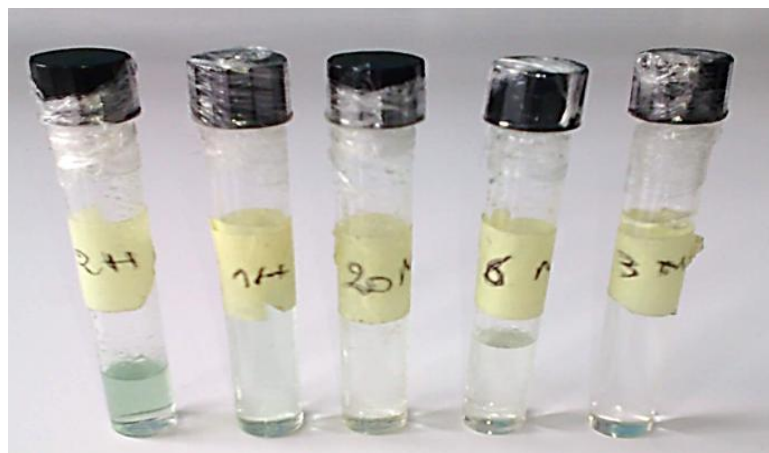


Photo 5: Les fractions des huiles essentielles obtenues durant les différentes périodes d'hydrodistillation.

En effet, une couleur dégradée allant d'une huile transparente blanchâtre observée dans les premières fractions (0-3 et 3- 6 min) à une huile verte bleuâtre observée dans les dernières fractions (20-60 et 16-120 min) (**Photo 5**).

La mesure de la densité relative de cette huile essentielle a révélé que la densité des différentes fractions (3 min, 6 min, 20 min, 1h, 2h) est égale respectivement à (0.845, 0.865, 0.869, 0.870, 0.986 g/ml) elle est inférieure à celle de l'eau ce qui a permis à l'huile de se surnager sur l'eau florale lors de l'extraction, ces valeurs sont similaires à celle trouvées par **Bouyahyaoui (2017)** qui est de 0.88 g/ml chez la même espèce.

III- L'activité antioxydante des huiles essentielles de *J. phoenicea*

III-1- l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire est très importante due au rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques (**Gulçin et al., 2010**). La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité antioxydante de l'échantillon étudié est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH. Ce chromogène violet est facile à utiliser, a une grande sensibilité, permet l'analyse rapide de l'activité antioxydante d'un grand nombre d'échantillons et donne des résultats reproductibles (**Gulçin et al., 2010**).

Les résultats de piégeage de ce radical par les différentes concentrations des fractions des huiles essentielles sont illustrés dans la **Figure 11**.

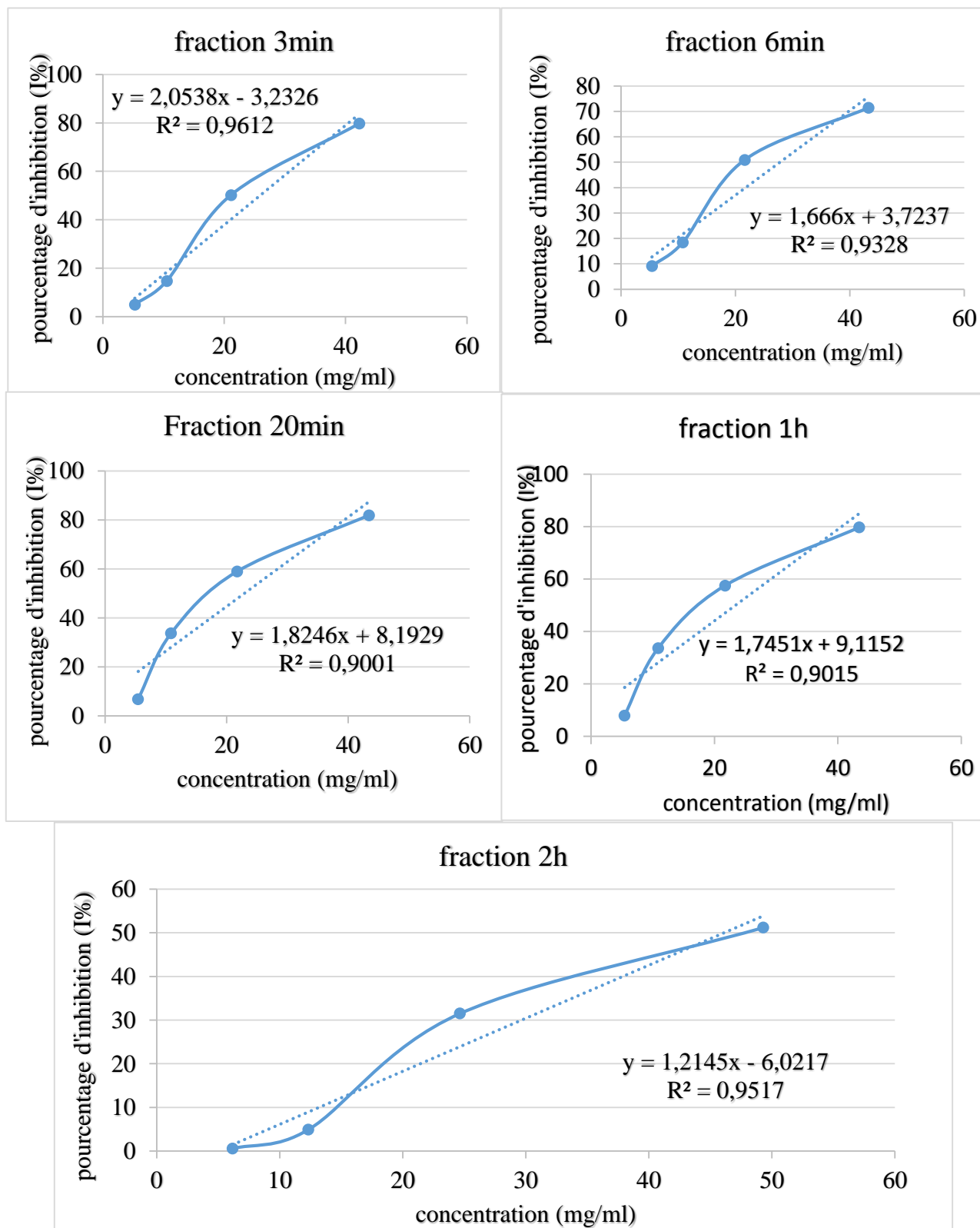


Figure 11: Courbes représentant les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des fractions des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*.

Les graphes 1 à 5 représentent la variation du pourcentage de réduction de DPPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle des baies de *J. phœnicea*. Ces graphes montrent bien que le pourcentage d'inhibition ou de piégeage des radicaux libres DPPH augmente proportionnellement avec la concentration de l'huile essentielle testée.

A la plus faible concentration de (5.28 mg/ml, 5.40 mg/ml, 5.431 mg/ml, 5.437 mg/ml, 6.16 mg/ml), des fractions (3 min, 6 min, 20 min, 1h, 2h) respectivement, l'huiles essentielles de *J. phœnicea* ont présenté des pourcentages d'inhibition (PI) respectifs de (5.02%, 9.17%, 6.85%, 7.89%, 0.45%), tandis qu'à la plus grande concentration de (42.25 mg/ml, 43.25 mg/ml, 43.45 mg/ml, 43.5 mg/ml, 49.3 mg/ml), les PI ont atteint (79.74%, 71.45%, 81.89%, 79.66%, 50.67%) respectivement. Ceci montre que la fraction 20min possède un grand potentiel antioxydants, tandis que la fraction 2h possède la plus faible par rapport à d'autres fractions.

Par ailleurs, l'activité antioxydant de l'eau florale extraite avec les HEs a été évaluée à son tour et donné une très faible activité. Le pourcentage d'inhibition de la plus grande concentration (50.3 mg/ml), est de 10.42% seulement (**Figure 12**), cela pourrait s'expliquer par le fait que leurs profils chimiques ne soient caractérisés que par une très faible teneur en composés phénoliques.

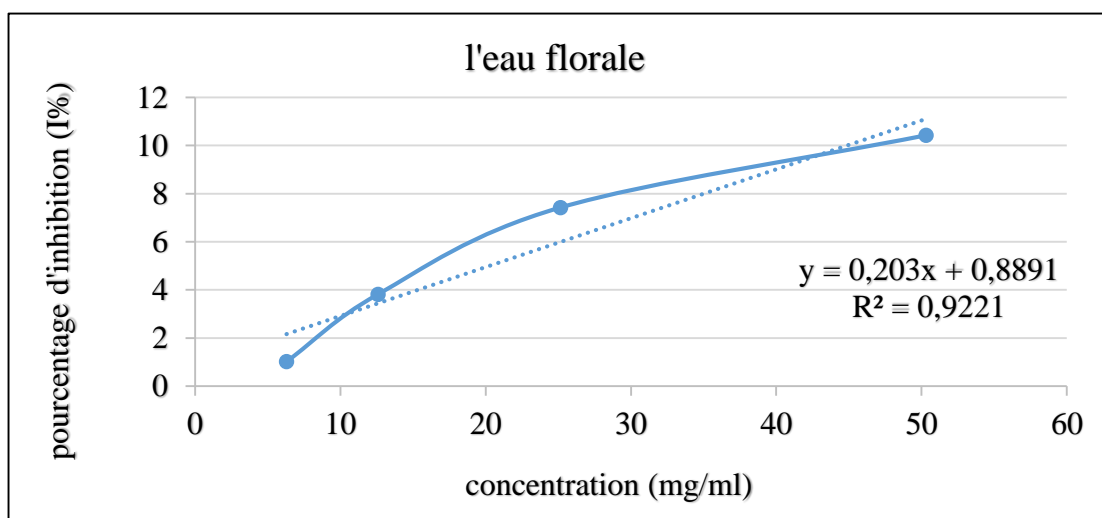


Figure 12: Courbe représente les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de différente concentration d'eau florale de *Juniperus phoenicea*.

L'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant standard a montré un effet maximal de 94.85% envers le radical DPPH à la concentration de 0,7 mg/ml (**Figure 13**).

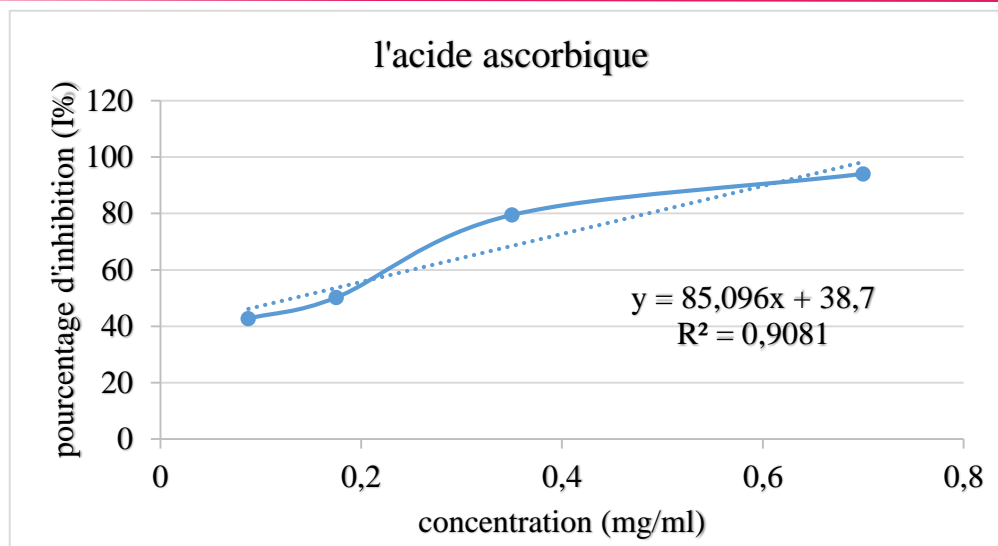


Figure 13: Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de différente concentration de l'acide ascorbique.

La détermination de la CI₅₀ permet d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos échantillons, elle a été calculée par la méthode de la régression linéaire. Les résultats obtenus sont illustrés dans la **figure 14**.

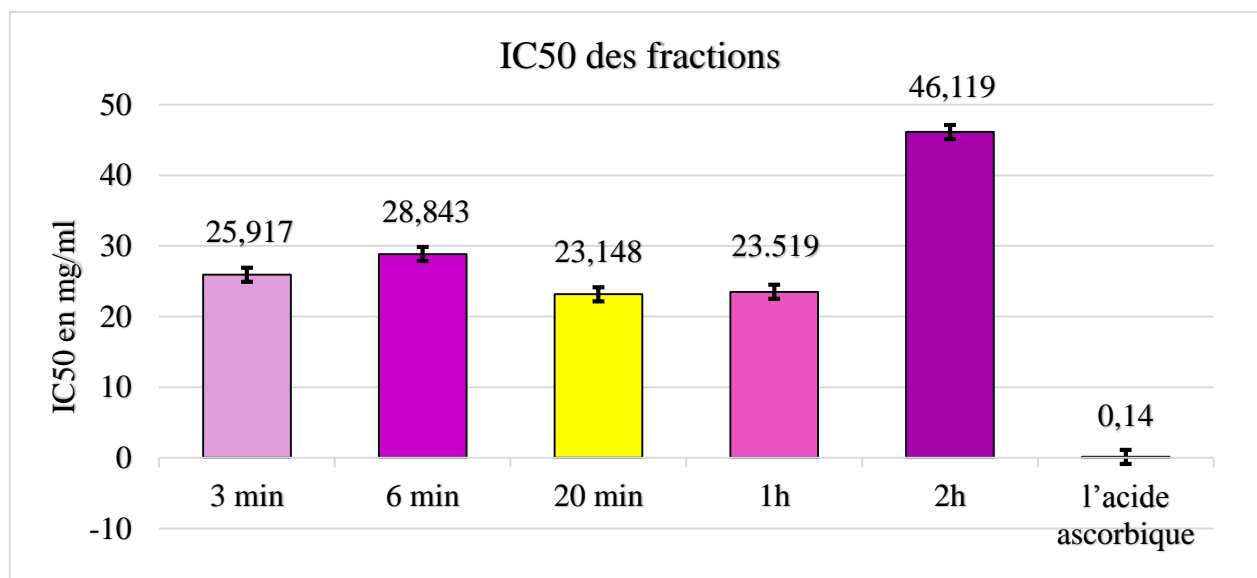


Figure 14 : Histogramme représente les concentrations inhibitrices de 50% du radical de DPPH° des extraits testés

Par rapport aux travaux précédents, on peut constater que l'activité antioxydante des extraits testés dans notre travail est un peu faible. En effet, plusieurs travaux faisant l'objet d'étude sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de *J. phenicea* citons les travaux menés par **Bouyahyaoui (2017)** et **Medini et ses collaborateurs en (2011)** qui ont révélé que les huiles essentielles extraites à partir de baies mûres ont montré une capacité antioxydante plus forte avec une CI₅₀ de 136.1 µg/mL, 72.6 µg/mL et 160.1 µg/ml.

Les résultats obtenus par **Ennajar et al. (2009)** montrent que l'huile essentielle des baies de juin, préparée par le séchage à l'ombre, était plus riche en composés phénoliques (1,0%) que les autres échantillons et montre que les huiles de *J. phoenicea* possèdent une forte activité antioxydante évaluée par la méthode de l'ABTS avec $IC_{50} = 41,7 \pm 1,5$ mg/L.

Par contre, les travaux de **Menaceur et al. (2013)** montrent que l' IC_{50} de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *J. phoenicea* n'a pas pu être déterminée étant donné que l'inhibition maximale du DPPH reste inférieure à 15% à la plus grande concentration testée (1000 mg/ml).

De même, **Abdelli (2017)** a montré par le test de DPPH, que les huiles essentielles des feuilles fraîches et des feuilles sèches et les baies respectivement de *J. phoenicea* à une activité antioxydante très faible comparée à l'antioxydant de référence et aux huiles du *thym*. Seule la valeur de CI_{50} de l'huile des baies a pu être calculée (9980 mg/ml). Mais concernant le test de FRAP les activités restent cependant très faibles et qui sont de l'ordre de 2057, 1633 et 57.75 mg/ml respectivement.

La faible activité antioxydante observée chez les fractions des huiles essentielles du genévrier de Phénicie révélées dans notre travail pourrait s'expliquer par la variabilité de la composition chimique dans chaque fraction. Les travaux de **Safaei-Ghomi et al., (2009)** et **Lu et Foo (2001)** révélant que l'activité antioxydante des composés majeurs testés séparément donnent des résultats inférieurs comparés à l'activité antioxydante de la totalité d'une huile essentielle. Les mêmes auteurs rapportent que les composés antioxydants fonctionnent synergiquement les uns avec les autres pour produire une large gamme d'activités antioxydantes qui crée un système de défense efficace contre les radicaux libres.

Par ailleurs, la variabilité dans la composition chimique des huiles essentielles aussi peut influencer sur le potentiel des activités biologiques. Cette variation pourrait être attribuée à la différence dans les régions, la période de la récolte (**Celiktas et al., 2007 ; Jamshidi et al., 2009**), la méthode d'extraction utilisée et la génétique (**Lopez et al., 2005; Okoh et al., 2010 ; Djouahri et al., 2013**).

III-2- Variabilité intra-spécifique de l'activité antioxydante des HEs de *J. phoenicea*

L'analyse de la variance indique que la concentration inhibitrice de 50 % du radical de DPPH est significativement affectée à $P < 0.001$ (**Tableau 6**) par la durée de l'hydrodistillation interprétée dans ce travail par les différentes fractions de l'huile essentielle de *J. phoenicea*.

Tableau 6: L'analyse de la variance à un seul facteur, l'effet de différentes fractions d'huile essentielle sur la concentration inhibitrice de 50 % du radical de DPPH.

	ddl	SCE	MCE	F	Probabilité
fraction	5	3253.34	650.67	103.728	0.000000
erreur	12	75.27	6.27		
Total	17	3328.61			

La comparaison des moyennes (**Tableau 7**) indique que toutes les fractions d'huiles ont un effet antioxydant inférieur à celui de l'acide ascorbique. Les fractions 20 et 60 min ont l'effet le plus important, tandis que l'effet le plus faible a été enregistré avec la fraction 120 min.

Tableau 7: concentrations inhibitrices de 50 % du radical de DPPH.

	IC50	groupe
F1 (3 min)	25.92±0.14	BC
F2 (6 min)	28.84±5.47	C
F3 (20 min)	23.15±2.34	B
F4 (60 min)	23.51±1.37	B
F5 (120 min)	46.12±0.60	D
Acide Ascorbique	0.14±0.014	A

Le test de signification ne rapporte pas l'effet antioxydant de l'eau florale, par ce que la plus forte concentration testée n'a inhibé que 10.42 % du radical de DPPH.

Cette variabilité peut être attribuée à la composition chimique de différentes fractions d'huile. En effet, le mécanisme de réaction entre le radical DPPH et l'antioxydant dépend sur la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH, réduisant un certain nombre de molécule de DPPH égales au nombre de les groupes hydroxyles (**Bondent, Brand-Williams et Bereset, 1997**). Il est prouvé que les monoterpènes possèdent une activité antioxydante (**Roberto et al., 2010**) cela peut expliquer l'activité antioxydant des fractions 3min 6min 20min par rapport à la fraction 1h et 2h.

Ennajar et al. (2009), rapporte que l'huile essentielle de *J. phoenicea*. Est dominée par l' α -pinène. **Wang et al., (2008); Ahmadi et al., (2010)**. Ont souligné que plusieurs composés comme l' α -pinène, β -pinène, sabinène, 1,8-Cineole, Germacrene D, Hedycaryol, Spathulenol,

terpinene-4-ol, α -terpineol, Camphor, présents dans l'HE évaluée jouent un rôle importants comme agents antioxydant (**Wang *et al.*, 2008; Ahmadi *et al.*, 2010**).

La recherche menée par **Zheljazkov *et al.* (2017)** a révélé qu'on peut obtenir des huiles essentielles avec différents profils chimique à partir de du même lot de galbules, suggérant la possibilité de générer des huiles naturelles avec des profils ciblés spécifiques.

Conclusión

Conclusion

Ce travail vise à l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle (HE) et de l'eau florale de *J. phoenicea* récoltée dans la wilaya de Batna. Ce travail a permis d'aboutir aux résultats suivants :

L'hydrodistillation des galbules de *J. phoenicea* a donné un rendement en huile essentielle, cumulatif de 1.94 %.

L'étude du pouvoir antioxydant par le test de DPPH a montré que les fractions des huiles essentielles de *J. phoenicea* possèdent une activité remarquable et ont été capables de piéger le radical libre DPPH. La valeur de CI_{50} obtenue pour la fraction 6 à 20 min est de $23.148 \text{ mg/ml} \pm 2.338$, elle est inférieure à celles des fractions: 0 à 3min, 3 à 6 min et 20 à 60 min et 60 à 120 min qui sont de. $25.917 \pm 0.14 \text{ mg/ml}$, $28.843 \pm 5.471 \text{ mg/ml}$, $23.519 \pm 1.365 \text{ mg/ml}$ et $46.119 \pm 0.597 \text{ mg/ml}$ respectivement. La fraction d'huile essentielle de 6 à 20 min s'avère donc posséder l'effet antiradicalaire le plus prononcé par rapport aux autres fractions. Néanmoins, l'acide ascorbique manifeste un pouvoir de réduction du radical libre plus important en enregistrant une CI_{50} de $0.14 \pm 0.0142 \text{ mg/ml}$.

Etant donné que les premières fractions d'HE sont riches en monoterpènes de faible poids moléculaire et qui sont donc les premiers à s'évaporer, alors que les dernières fractions d'HE sont riches en sesquiterpènes, il est difficile d'attribuer l'activité antioxydante à telle ou telle classe de composés chimique. Le recours à la Chromatographie en Phase Gazeuse s'avère donc indispensable.

D'autre part, l'activité antioxydante de l'eau florale extraite des galbules de *J. phoenicea* n'a pas pu être déterminée vu que l'inhibition maximale du DPPH reste inférieure à 10.42% à la plus grande concentration testée (53.3 mg/ml).

Cette recherche a révélé qu'il est possible d'obtenir différents profils d'HEs à partir du même lot de galbules, suggérant la possibilité de générer des huiles naturelles avec des profils ciblés spécifiques.

Il est indispensable d'approfondir l'analyse de la composition chimique des différentes fractions obtenues afin d'identifier les espèces chimique responsables de l'activité antioxydante.

Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques



- Abdelli W., 2017** ; Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*, Thèses Doc, Univ. Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, Algérie. 26 p.
- Abreu I.A., Cabelli D.E., 2010**; Superoxide dismutases a review of the metal-associated mechanistic variations, *Biochimica ET Biophysica Acta*, 1804, 263–274.
- Abu-darwisha M.S., Gonçalves M.J., Cabral C., Cavaleiro C., Salgueiro L., 2013**; chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Juniperus phoenicea subsp phoenicea* berries. From Jordan. Article. *Acta Alimentaria*, 42 (4):504–511.
- Achak N., Romane A., Abbad A., Ennajar M., Romdhane M., Abderrabba A., 2008**; Essential Oil Composition of *Juniperus Phoenicea* from Morocco and Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing*, 11(2): 137-142.
- Adams R. P., Schwarzbach A. E., 2013**; Phylogeny of *Juniperus* using nrDNA and four cpDNA regions. *Phytologia*, 95(2): 179-187.
- Adams R.P., Bartel J.A., Price R.A., 2009**; A new genus, *Hesperocyparis*, for the cypresses of the New World. *Phytologia*, 91(1): 160–185.
- Adorjan B., Buchbauer G., 2010**; Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour Fragr. J.* 25, 407–426.
- Ahmadi F., Sadeghi S., Modarresi M., Abiri R., Mikaeli A., 2010** Chemical composition, in vitro anti-microbial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanolic extract of *Hymenocrater longiflorus* Benth., of Iran. *Food and Chemical Toxicology*, Vol; 48, Issue 5, 1137-1144p.
- Aiache J., Carnat A., Coudert P., 2012**; Source actuelles et futures du médicament-chimie du médicament (Cours+QCM). Éditions Elsevier Masson, France.45p.
- Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Pagán R., Conchello P., 2012**; Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco, article, *Food Research International*. 313–319.

- Alejandro F., Barrero , Jose´ F., Qui´ l.d.M., Mar Herrador M., Akssira M., Bennamara A., Akkad S., Aitigri M., 2004;** Oxygenated diterpenes and other constituents from Moroccan *Juniperus phoenicea* and *Juniperus thurifera* var. *Africana* , *Phytochemistry*, 65, 2507–2515.
- Amirouche N., Bouguedoura N., Hadj-Arab H., 2010;** *Botanique: Les embryophytes*. Alger, OPU, 104 p.
- Angioni A., Barra A., Russo MT., Coroneo V., Dessi S. and 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.
- Asbahani A.E., Miladi K., Badri W., Sala M., Aït Addi EH., Casabianca H., El Mousadik A., Hartmann D., Jilale A., Renaud FNR., Elaissari A., 2015;** Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483, 220-243.



- Babar A., Naser Ali A., Saiba S., Aftab A., Shah Alam K., Firoz A., 2015;** Essential oils used in aromatherapy: A systemic review, *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 1–11.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008;** Biological effects of essential oils. Review: *Food and Chemical Toxicology*, 46,446–475.
- Bandoniene D., Pukalskas A., Venskutonis P.R., and Gruzdiene D., 2000;** Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, 33: 785-791.
- Baptiste Deschamps J., 1868;** *Compendium De Pharmacie Pratique : Guide Du Pharmacien Etabli Et De Lélève*, Editions Germer Ballière Libraire, Paris, 145p.
- Barbieri, E., Sestili, P., 2012;** Reactive oxygen species in skeletal muscle signaling. *Journal of Signal Transduction*, 982794.17p.
- Bardeau F., 2009;** *Les huiles essentielles*. Éditions lanore, France.33p.
- Barrero A. F., Herrador M., Arteaga P., Quílez del Moral J. F., Sánchez-Fernández E., Akssira M., Aitigri M., Mellouki F. & Akkad S., 2006;** Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Juniperus phoenicea* L. article, from North Africa, *Journal of Essential Oil Research*. 18(2): 168-169.

- Baser Ket Buchbauer G., 2010;** Handbook of Essential oils: Science, Technology
- Benkhniguel O., Ben Akka F., Salhi S., Fadli M., Douira A., Zidane L., 2014;** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(1): 3539-3568.
- Benzie I.F., Strain J.J., 1998;** Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*, 299, 15-27.
- Berger A., Heurteaux P., 1985;** Response of *Juniperus phoenicea* on sandy dunes in the Camargue (France) to water and saline constraint in summer, 62, 327-333.
- Berger C., Song Z., Li X., Wu X., Brown N., Naud C., and Conrad E. H., 2006;** Electronic confinement and coherence in patterned epitaxial graphene. *Science*. 312(5777):1191-1196.
- Boehm K., Büssing A., Ostermann T., 2012;** Aromatherapy as an adjuvant treatment in cancer care- a descriptive systematic review. *African Journal Traditional. Complementary and. Alternative. Medicines*. 9, 503-518.
- Bondet V., Brand-Williams W., Bereset C., 1997;** Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 30, 609-615.
- Bouhaddouda N., 2016;** Activités Antioxydante Et Antimicrobienne De Deux Plantes Du Sol Local : *Origanum vulgare* Et *Mentha pulegium*, Thèse Doc, Univ, Badji Mokhtar –Annaba, Algérie, 18p.
- Boukhobza F et Gotez P., 2014;** phytothérapie en odontologie, éditions CdP, France, section 1.
- Bouyahyaoui A., 2017;** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien, Thèse Doc, Univ, Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie, 9-11P.
- Bouzid N., Beladel B., Guit B., 2015;** Multi-element determination in medicinal *Juniper tree* (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 1-4.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni M.M., 2008; composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*, journal de la société chimique de Tunisie. 10, 119-125.

Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., Galastri L., Marceca M.T., Guffanti E.E., 2006; Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*, 76(2), 61-68.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995; Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.

Bruneton J., 2009; pharmacognosie, phytochimie, plantes, médicinales. 4^{ème} éditions TEC&DOC, France. 570p.



Can Baser K., Hüsnü G.B., 2010; Handbook of Essential Oils Science, Technology, Applications, Édition de CRC Press, France, 100p.

Carré P., 1953; Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. Ed Ballière JB. Et fils.

Cavaleiro C., Pinto E., Gonçalves M.J., Salgueiro L., 2006; Antifungal activity of *Juniperus* essential oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains, *Journal of Applied Microbiology*, 1364-5072.

Celiktas Y.O., Hames Kocabas EE., Bedir E., Vardar Sukan F., 2007; Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100, 553-559.

Chazel L et M., 2012; Découverte naturaliste des garrigues, Edition Quae, France. 74 p.

Christenhusz M. J. M., Reveal J. L., Farjon A., Gardner M. F., Mill R. R., Chase M. W., 2011; A new classification and linear sequence of extant gymnosperms. *Phytotaxa*, 19: 55–70.



Dacosta Y., 2003; Les phytonutriments bioactifs, Ed Yves Dacosta. Paris: 317p.

Damjanović-Vratnica B., Perović A., Šuković D., Perović S., 2011; effect of vegetation cycle on chemical content antibacterial activity of *Satureja montana L.* Archives of Biological Science, Belgrade, 63 (4): 1173-1179.

Debreczy Z., Musial K., Price R. A., Rácz I., 2009; Relationships and nomenclatural status of the Nootka cypress (*Callitropsis nootkatensis*, Cupressaceae). Phytologia, 91(1):140-159.

Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2010; Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. International Journal of Agriculture & Biology, 12(2):199-204.

Djouahri A., Boudarene L., Meklati B.Y., 2013; Effect of extraction method on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oil from the leaves of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*, 44, 32-36.

Duraffourd C., Lapraz J., 2002; Traité De Phytothérapie Clinique: Endobiogénie Et Médecine, Éditions Elsevier Masson, France, 8p.



Edris A.E., 2007; Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 21(4): 308-323.

El Haib A., 2011; Valorisation De Terpènes Naturels Issus De Plantes Marocaines Par Transformations Catalytiques, Thèse Doc, Univ, Toulouse, Franc, 9p.

El-Sawi S.A., Motawae H.M., Aboufotouh S.M., El-Shabrawy A.O., Sleem A., Maii Abdel-naby I., 2014; Phytochemical Screening, Investigation of Carbohydrate Contents, and Antiviral Activity of *Juniperus phoenicea L.* Growing in Egypt, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 20(1): 83-91.

Ennajar M., Afloulous S., Romdhane M., Ibrahim H., Cazaux S., Abderraba M., Raies A., et Bouajila J., 2011; Influence of the Process, Season, and Origin on Volatile Composition and Antioxidant Activity of *Juniperus phoenicea L.* Leaves Essential Oils, *Journal of Food Science*, Vol. 76, Nr. 2.

Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Savagnac A., Abderraba M., Raiesf A., Romdhane M., 2009; The influence of organ, season and drying method on chemical

composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Juniperus phoenicea* L. essential oils, Research Article, 90: 462–470.



Flora S J S., 2009; Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(4): 191–206.

Frances M., 2012; Superoxide dismutases: Ancient enzymes and new insights, *FEBS Letters*, 586, 585–595.



Gil del Valle L., Hernández R.G., Pérez Ávila J., 2013; Oxidative Stress Associated to Disease Progression and Toxicity during Antiretroviral Therapy in Human Immunodeficiency Virus Infection, *Journal of Virology & Microbiology*, Article ID 279685, 15.

Goetz P., Busser C., 2008; la phytocosmétologie thérapeutique, Edition springer shop, France, 58p.

Goetz P., Ghedira K., 2012; Phytothérapie anti-infectueuse. Edition Springer-Verlage, Paris, France, 382p.

Gordon M.H., 1990; the mechanism of antioxidant in *vitro*. “Food antioxidants”: Ed. HUDSON B.J.F.1-18p.

Grosjean N., 2015; les huiles essentielles se soigner par l'aromathérapie. 2^{ème} édition eyrolles, Paris, 218p.

Gülçin I., Huyut Z., Elmastaş M., Aboul-Enein H.Y., 2010; Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, Vol: 3, Issue 1, 43-53.



Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., 2007; Le stress oxydant. *Reviews. Medicine. Liège.* 62 (10): 628-638.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C., 2008; *Free Radicals in Biology and Medicine.* Fourth Edition. Oxford University Press.

Hill T., Lewicki P., 2007; *Statistics: Methods Applications,* Statsoft, Tulsa, OK. (Electronic version is available at: www.statsoft.com/textbook/k-nearest-neighbors/).

Huete A., 2013; huiles essentielles pour tous les jours, Éditions Artémis, France, 25p.

Hussain A.I., Farooq A., Shahzad A.S.C., Abdul J., Shahid M., Poonam S.N., 2010; Rosmarinus officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 414, 1070-1078.



Jamshidi R., Afzali Z., Afzali D., 2009; Chemical composition of hydrodistillation essential oil of *rosemary* in different origins in Iran and comparison with other countries. *American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 5(1), 78-81.

Jarry C., 1993; Deux genévriers toxiques *Juniperus Sabina* et *Juniperus Phéniciaea*. Thèse Doc, Univ de limoges:30p.



Kalla A., 2012; Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*, Thèse Doc., Univ. Mentouri–Constantine, Algérie.112-115p.

Kaloustian J., Hadji-Minaglou F., 2012; La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie, Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Édition Springer.86p.

Kandikattu H.K., Rachitha P., Krupashree K., Jayashree G.V., Abhishek V., & Khanum F., 2015; LC-ESI-MS/MS analysis of total oligomeric flavonoid fraction of *Cyperusrotundus* and its antioxidant, damage protective and antihemolytic effects. *Pathophysiology*, 22(4): 165-173.

Khoudali S., Benmessaoud D., Essaqui A., Zertoubi M., & Azzi M., 2014; Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Material and Environmental Science*, 5(3): 887-898.

Kim D.k., Lee C.Y., 2004; Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (44): 253–273.

Kuorwel K.K., Cran M.J., Sonneveld K., Miltz, J., Bigger S.W., 2011; Essential oils and their principal constituents as antimicrobial agents for synthetic packaging films. *Journal. Food Sciences*. 76, R164–R177.



Lacolley P., Babuty D., Boulanger C., Ghaleh G., Loirand G., Pinet F., Samuel J., 2007; *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*, édition John Libbey Eurotext, France, 311p.

Laouar A., Klibet F., Bourogaa E., Benamara A., Boumendjel A., Chefrour A., Messarah M., 2017; Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of *Juniperus phoenicea* berries against CCl₄ induced hepatic damage in rats, article, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 10(3) : 263–269.

Lardry J., Haberkorn V., 2007; L'aromathérapie et les huiles essentielles, *Kinesither Reviews*, (61):14-7.

Leverve X., 2009; Stress oxydant et antioxydants ?, *Cahiers de nutrition et de diététique*, 44, 219-224.

Levy C., 2012; Principaux facteurs influençant l'efficacité de la lumière pulsée pour la décontamination des microorganismes pathogènes et d'altération des denrées alimentaires. Thèse Doc, Univ. D'Avignon, France.1p.

Li P., Anu H., Jari S., Teijo Y., Heikki V., 1999; TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology, *Chemistry and Nutrition*, (10) : 123-187.

Linus P., 2014; general chemistry. Éditions Google Play. France, 748p.

Lopez P., Sanchez C., Batle R., Nerin C., 2005; Solid and vaporphase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17): 6939-6946.

Lopez-Reyes J.G., Spadaro D., Prella A., Garibaldi A., Gullino M.L., 2013; Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits *in vivo*. *Journal of Food Protection*. 76, 631–639.

Lu F., Foo L.Y., 2001: Antioxidant activity of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chemistry*, 75(2): 197-202.

Lucchesi M.E., 2005; Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse Doc, Univ, de la Réunion, France, 36p.



Madhavi D., Deshpande S., Salunkhe D.k., 2002; Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York, Nutrition. Vol, 18, Numbers 7/8.

Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El Ghadraoui L., Boukir A., Aafi A., 2011; Effet de la provenance sur le rendement, la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux de *Juniperus phoenicea* L. du Maroc, *Acta Botanica Gallica*, 158(2): 215-224.

Marongiu B., Porcedda S., Caredda A., Piras A., Vargiu L., Mascia V., Cadeddu A., Loddo R., 2004; Isolation of *Juniperus phoenicea* Volatiles by Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Bioactivity Assays, *Journal of Essential Oil Research*, 16(3): 256-261.

Mazzoleni S., di Pasquale G., Mulligan M., di Martino P., Rego F., 2004; Recent dynamics of the Mediterranean vegetation and landscape. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 320p.

Medini H., Elaissi A., Khouja M., Chemli R., 2013; phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *Phoenicea* L. Extracts from two Tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. 1 (2): 78- 82.

Medini H., Elaissi A., Khoujad F.M.L., Chemli R., Harzallah-Skhiri F., 2009; Seasonal and Geographical Influences on the Chemical Composition of *Juniperus phoenicea* L. Essential Oil Leaves from the Northern Tunisia. *Chemistry & Biodiversity*. 6:1378–1387.

Medini H., Elaissi A., Larbi Khouja M., Piras A., Porcedda S., Falconieri D., Marongiu B., Chemli R., 2011; Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Juniperus phoenicea* L. berries, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 25(18):1695-1706.

Medini H., Marzouki H., Chemli R., Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Tuveri E., 2008; Chemical Characterization and Evaluation of Biological Activity of Essential Oil of *Juniperus phoenicea* of Tunisia, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 11(3): 233-241.

Menaceur F., Benchabane A., Hazzit M., Baaliouamer A., 2013; Chemical Composition and Antioxidant Activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. Extracts, *Journal of Biologically Active Products from Nature*. 3(1): 87-96p.

Menvielle-Bourg F.J., 2005; Le superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale, *Phytothérapie*, Numéro 3:118-121.

Migdal C., Serres M., 2011; Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant, *médecine/sciences*, 27: 405-12.

Molyneux P., 2004; the use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Sciences Technologie*, 26(2): 211-219.

Murphy M.P., 2009; how mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemistry Journal*. 417: 1-13.



Nout R., Hounhouigan J.D., BOEKEL T.V., 2003; Les aliments Transformation, Conservation et Qualité, Backhuys publishers CTA, Germany, 257p.



Paredi P., Kharitonov S.A., Barnes P.J., 2002; Analysis of expired air for oxidation products. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 166, (supplement 1): 31 –37.

Pharmacopée Européenne., 2010; 7ème édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe.

Pittermann J., Stuart S. A., Dawson T.E., Moreau A., 2012; Cenozoic climate change shaped the evolutionary ecophysiology of the *Cupressaceae* conifers. *PNAS*, 109(24): 9647–9652.

Powers S.K., Jackson M.J., 2008; Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4): 1243-1276.



Qi S., He L., Zhang Q., Dong Q., Wang Y., Yang Q., Tian C., He Q., Wang Y., 2018; Cross-pathway control gene CPC1/GCN4 coordinates with histone acetyltransferase GCN5 to regulate catalase-3 expression under oxidative stress in *Neurospora crassa*, *Free Radical Biology and Medicine*, S0891-5849(18):30047-9.

Quézel P., Santa S., 1962; Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éd. CNRS, Paris, vol. 1,1-565.



Okoh OO, Sadimenko AP, Afolayan A.J., 2010; Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis L.* obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, 120 (1): 308-312.



Raho G.B., Otsmane M., Sebaa F., 2017; Antimicrobial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from North Western Algeria, *Journal of Medicinal Botany*,1: 01-07.

Raman, Arjun V., and Marla J. Berry., 2011; Selenoproteins in cellular redox regulation and signaling. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling*. 195-208.

- Ramdani M., Lograda T., Silini S., Zeraib A., Chalard P., Figueredo G., Bouchaala M., Zerrar S., 2013;** Antibacterial Activity of Essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 3 (11): 022-028.
- Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., 2008;** Flore forestière française: Région Méditerranéenne. (Ed.) Inst. Pour le développement forestière. 267, 304-305.
- Rauter, A.P., Branco, I., Tostao, Z., Pais, M.S., Gonzalez, A.G., et Bermejo, J.B., 1989;** Flavonoids from *Artemisia campestris* Sub sp Maritima. *Phytochemistry*.28 (8):2173-2175.
- Ray P.D., Huang B.W., Tsuji Y., 2012;** Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling, *Cell Signal*. 24, 981–990.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., 1999;** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical. Biology and Medicine*. 26, 1231–1237.
- Rehman J.U., Ali A., Khan I.A., 2014;** Plant based products: use and development as repellents against mosquitoes: A review. *Phytotherapy*, 95: 65–74.
- Rekha C., Poornima G., Manasa M., Abhipsa V., Pavithra Devi J., Vijay Kumar H T., Prashith Kekuda T R., 2012;** Ascorbic Acid, Total Phenol Content And Antioxydant Activity Of Fresh Juices Of Four Ripe And Unripe Citrus Fruits, *Chemical Science Transactions* , 1(2): 303-310.
- Riotte B., 2017;** Mon guide huiles essentielles secrets, recettes et astuces. Editions lulu.Com. France. 14p.
- Ristow M., Zarse K., Oberbach A., Klötting N., Birringer M., Kiehnopf M., Stumvoll M., Kahn R., Blüherc M., 2009;** Antioxidants prevent healthpromoting effects of physical exercise in humans. *Proceedings of the National. Academy of sciences*.106 (21), 8665-8670.
- Roberto D, Micucci P., Sebastian T., Graciela F., Anesini C., 2010;** Antioxidant activity of limonene on normal murine lymphocytes: relation to H₂O₂ modulation and cell proliferation. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 1061, 38-44.
- Rolland Y., 2004;** Antioxydants naturels végétaux, Burgundy Botanical Extracts, Actiparc de Pont de Vaux, Les Chapelles Sud, 01190 Reyssouze – France, ocl vol. 11 N° 6.



Sadowska-Bartosz S I., Bartosz G., 2015; Oxidative nitrative and chlorinative stress: biomarkers. In: Studies on Psychiatric Disorders. Series: Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice, XVIII, Humana Press, 1 -39.

Safaei-Ghomi J., Ebrahimabadi AH., Djafari-Bidgoli Z., Batooli H., 2009; GC/MS analysis and *in vitro* antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chemistry*, 115, 1524-1528.

Sarangarajan R., Meera S., Rukkumani R., Sankar P., Anuradha G., 2017; Antioxidants: Friend or Foe?, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*

Seyed M.B.H., Khaneghah A.M., Anderson de Souza Sant'Ana., 2017; Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications. Édition Wiley Blackwell, France, 22p.

Soltani Y., Ali-Bouzidi M., Toumi F., Benyamina A., 2017; Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea L.* de l'Ouest algérien. Article. *Phytothérapie*.



Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohammad M., El-Elimat T., 2007; Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* (in press).

Teisseire P.J., 1991; Chimie des substances odorantes. Technique ET documentation Lavoisier

Teixeira J., Gaspar A., Manuela Garrido E., Garrido J., Borges F., 2013; Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview, *BioMed Research International*.

Thompson J.D., Chalchat J.C., Michet A., Linhart Y.B., Ehlers B., 2003; Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chémotypes. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 29; N°4.

Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O'Donnell C.P., Muthukumarappan K., Bourke, P., Cullen P.J., 2009; Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal. Of Agricultural and Food Chemistry*. 57(14), 5987–6000.

Trembl J., Smejkal K., 2016 ; Flavonoids As Potent Scavengers Of Hydroxyl Radicals, Institute Of Food Technologists, Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety, Vol. 15.



Velazquez E., Tournier H.A., Mordujovchde B.P., Saavedra G., Schinella G.R., 2003; Antioxidant activity of paraguayan plant extracts. *Phytothérapie*, 74, 91 –97.

Villasante A., Araneda O.F., Behn C., Galleguillos M., Adarmes H., 2010; Antioxidant capacity and oxidative damage determination in synovial fluid of chronically damaged equine metacarpophalangeal joint. *Veterinary Research Communications*, 34 (2): 133-141.



Wang J., Zhang Q., Zhang Z., Li Z., 2008; Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica*. *Macromolecules*, Volume 42, Issue 2, 127-132p.

Werner J., Bauer B.R., Loliger J., 2010; science et technologie des aliments : principes de chimie des constituants et technologie des procédés, Edition PPUR Presses Polytechniques. France. 329P.

White F., 1986; la végétation de l'Afrique (the vegetation of africa), IRD Editions, France, 169p.

Willuam P.A., Loretta J., Leroy L., 2017; Principes De Chimie. 4^{ème} Édition De Boeck Supérieur. France.793p.



Yang Z., Ran J.H., Wang X.Q., 2012; three genome-based phylogeny of Cupressaceae *s.l.*: Further evidence for the evolution of gymnosperms and Southern Hemisphere biogeography. *Molecular phylogenetic and Evolution*, 64(3): 452–470.

Yaniv Z., Dudai N., 2014; Medicinal and aromatic plants of the Middle-East. Vol 2, Springer, 241p.



Zheljazkov V.D., Semerdjieva I.B., Dinchevac I., Kacaniova M., Astatkie T., Radoukova T., Schlege V., 2017; Antimicrobial and antioxidant activity of Juniper galbuli essential oil constituents eluted at different times, *Industrial Crops & Products*, 109,529–537.

Site internet

Site web 1:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/d/dc/Batna_in_Algeria.svg/250px-Batna_in_Algeria.svg.png

Site web 2:

<https://lh3.googleusercontent.com/proxy/sd7ieBrSuFKugJjngVGaAAb1nQRTfcCI8fMgBt0skgkJAGYRcq1H-5nu2ZT7mw9YeMGowBTto37dP5IYE8iEEQqls-zsPV0APsfO6vociT17CtUAr5O>

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles collectées à différents périodes au cours de l'hydro-distillation et de l'eau florale extraites à partir des galbules mûres de *Juniperus phoenicea* L.

Les fractions d'huile essentielle ont été recueillies à cinq intervalles successifs après le début de l'hydrodistillation (0-3, 3-6, 6-20, 20-60 et 60-120 min). L'activité antioxydante in-vitro des extraits obtenus a été évaluée en utilisant la méthode de DPPH.

Les résultats obtenus ont montré que la fraction d'huile essentielle de 6 à 20 avait le pouvoir antiradicalaire le plus important avec une $IC_{50} = 23.148 \text{ mg/ml} \pm 2.338$. Tandis que l'effet antioxydant le plus faible a été enregistré avec la fraction d'HE de 60 à 120 min.

Par ailleurs, la concentration inhibitrice de 50% du radical libre de l'eau florale extraite des galbules de *J. phoenicea* n'a pas pu être déterminée étant donné que l'inhibition maximale du DPPH n'a pas dépassé 10.42% à la plus grande concentration testée (53.3 mg/ml). La IC_{50} de nos extraits (HE et eau florale) reste donc supérieures à celle de l'acide ascorbique qui est de 0.14 mg/ml, ce qui se traduit par un pouvoir anti-radicalaire moins important.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence que le plant *Juniperus phoenicea* à une activité antioxydante remarquable et peut jouer un rôle majeur dans la conservation des aliments et la prévention de maladies causées par les radicaux libre.

Mots clés : antioxydants, DPPH, huile essentielle, *Juniperus phoenicea*, l'acide ascorbique, l'eau florale.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم قوة مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية التي تم جمعها في أوقات مختلفة أثناء التقطير المائي والمياه الزهرية المستخلصة من ثمار العرعار الفينيقي.

تم جمع الزيوت الأساسية في خمس فترات متتالية بعد بداية عملية التقطير الهيدروجيني (0-3، 3-6، 6-20، 20-60، و60-120 دقيقة). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر التي تم الحصول عليها باستخدام طريقة DPPH.

وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الجزء الأساسي من الزيت من 6 إلى 20 كان أقوى مضاد للجذور الحرة مع $IC_{50} = 23.148 \text{ mg/ml} \pm 2.338$. في حين تم تسجيل أضعف تأثير مضاد للأكسدة مع جزء HE من 60 إلى 120 دقيقة.

علاوة على ذلك، فإن التركيز المثبط بنسبة 50% من الجذور الحرة المحصل عليها من الماء الزهري المستخرج من ثمار العرعار الفينيقي لا يمكن تحديده حيث أن الحد الأقصى من تثبيط DPPH لم يكن أكثر من 10.42% على الأكثر عند اختبار التركيز العالي (53.3 ملغ / مل). وبالتالي فإن IC_{50} من مستخلصاتنا (HE والمياه الزهرية) تظل أعلى من حمض الأسكوربيك وهو 0.14 ملغ/مل مما يؤدي إلى انخفاض قوة الجذور الحرة المضادة.

النتائج التي تم الحصول عليها سمحت بتسليط الضوء نبات ثمار العرعار الفينيقي على أنه لديه نشاط مضاد للأكسدة ملحوظ. ويمكن أن تلعب دوراً رئيسياً في الحفاظ على الغذاء والوقاية من الأمراض التي تسببها الجذور الحر.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، العرعار الفينيقي، المياه الزهرية، حمض الاسكوربيك، مضادات للأكسدة، DPPH.

Abstract

The objective of this study is the evaluation of the antioxidant activity of essential oils collected at different times during hydro-distillation and floral water extracted from the mature *Juniperus phoenicea* L. galleons.

The essential oil fractions were collected at five successive intervals after the start of hydrodistillation (0-3, 3-6, 6-20, 20-60 and 60-120 min). The in vitro antioxidant activity of the extracts obtained was evaluated using the DPPH method.

The results obtained showed that the essential oil fraction of 6 to 20 had the strongest antiradical power with an $IC_{50} = 23.148 \text{ mg / ml} \pm 2.338$. While the weakest antioxidant effect was recorded with the HE fraction of 60 to 120 min.

Furthermore, the inhibitory concentration of 50% of the free radical of floral water extracted from *J. phoenicea* galbules could not be determined since the maximum inhibition of DPPH was not more than 10.42% at most. High concentration tested (53.3 mg / ml). The IC_{50} of our extracts (HE and floral water) thus remains higher than that of ascorbic acid which is 0.14 mg / ml, which results in a lower anti-free radical power.

The results obtained made it possible to highlight that the *Juniperus phoenicea* plant has remarkable antioxidant activity and can play a major role in preserving food and preventing free radical disease.

Key words: antioxidants, ascorbic acid, DPPH, essential oil, floral water, *Juniperus phoenicea*.