

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Alimentaires  
Spécialité : Conservation des aliments et emballage



Réf:.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## MASTER

### *Thème*

**Activités antioxydante et antimicrobienne des huiles  
essentielles et des extraits éthanoliques des feuilles et des fruits  
de *Juniperus phoenicea* L. et de *Juniperus oxycedrus* L.**

Présenté par :

Mlle AIT BACHIR Hanane & Mlle TAZEKRITT Amel

Soutenu le : 03/07/2024

Devant le jury composé de :

Mme. BRAHMI N.	MCA	Présidente
Mr. BOUDRIES H.	Pr.	Encadreur
Mr. CHIKHOUNE A.	MCA	Examineur

**Année universitaire : 2023 / 2024**



# Remerciements

Au nom d'Allah, le plus grand des mercis lui revient de nous avoir accordé le courage, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail, sans sa guidance et ses bénédictions, la réalisation de ce projet n'aurait pas été possible

Au terme de réalisation de ce travail, on tient à exprimer notre profonde gratitude à notre promoteur

**M. BOUDRIES Hafid** pour son encadrement qui nous a permis de mener à terme ce projet.

Nous voudrions exprimer nos sincères remerciements à tous les membres du jury **Mme BRAHMI Nabila** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire. Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude à **M. CHIKHOUNE Amirouche** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce travail. Sa disponibilité, son expertise et ses conseils précieux ont été d'une aide inestimable, et nous le remercions sincèrement pour le temps et l'attention qu'il a consacrés à l'évaluation de notre projet.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à **M. KHALED KHOUDJA** pour sa généreuse contribution aux recherches en nous fournissant la plante nécessaire à notre étude.

Nous souhaitons exprimer nos sincères gratitudee à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail:

**Mme SAADI-AHMED Lila** responsable du laboratoire physicochimie de l'université de Béjaia.

**M. BOUDJOUANE Farès** et **M. NOURI Hamid** pour leurs conseils de qualité et leur aide, ainsi que leur soutien moral et scientifique.

Nous tenons à exprimer notre sincère reconnaissance envers **M. BACHIR BEY Mostapha** pour son soutien inestimable, ses conseils éclairés et sa patience indéfectible. Sa présence bienveillante et son attitude encourageante ont été une source de motivation.

**Mme BOUDRIES née SOUAGUI Samiha** pour son aide matérielle, sa disponibilité et ses conseils qui ont contribué à améliorer nos connaissances et à alimenter notre réflexion.

*Amel TAZEKRITT*

*Hanane AIT BACHIR*



# Dédicace

Louange à Dieu tout puissant pour l'arrivée de ce jour tant attendu.

Ce travail est dédié à ceux qui, quoi que je dise, ne pourront jamais saisir toute l'étendue de mon amour sincère envers eux

A la mémoire de mon cher beau-père **SAID**

Même si je n'étais pas ta fille de sang, tu m'as accueillie avec amour comme si j'étais ta propre enfant et tu m'as guidée à travers ma vie. Je suis reconnaissante pour chaque instant partagé, chaque leçon apprise, et l'amour inconditionnel que tu m'as donné. Tu resteras toujours dans mes prières, et ta mémoire restera gravée à jamais dans mon cœur. Repose en paix

A ma chère mère **NACIRA**

Tu as été bien plus qu'une mère pour moi, tu as également joué le rôle d'un père avec courage et détermination. Je t'ai toujours considéré comme mon idole dans la vie. Tes sacrifices m'ont offert une vie pleine de soutien et d'affection. Grâce à toi je suis devenue ce que je suis aujourd'hui. Je t'aime maman.

A mon père **OMAR**

Bien que nous n'ayons pas partagé mon enfance, je suis heureuse de vivre les moments présents et futurs avec toi. Que chaque instant soit rempli de joie et de complicité.

A mes sœurs **LYDIA** et **MELISSA**

Vous êtes les anges qui ont illuminé mon chemin, les épaules sur lesquelles je suis reposée et les partenaires de mes plus beaux souvenirs. Merci d'être les merveilleuses sœurs que vous êtes.

A mon frère **SALIM**

Tu es mon pilier, ma force dans les moments difficiles et mon compagnon dans les moments de joie. Ta présence dans ma vie est un précieux cadeau qu'ALLAH m'a offert avec amour.

A celui qui donne un sens si spécial à ma vie **KOUSSEILA**

Ta présence à mes côtés, ton soutien sans faille et ton amour inestimable font de chaque jour une bénédiction. Chaque moment passé ensemble me rappelle à quel point je suis chanceuse de t'avoir dans ma vie.

À mon binôme, ma complice, et ma sœur de cœur **HANANE**, ta présence, ton soutien et notre complicité ont été des éléments essentiels pour moi. Merci d'être toujours là, de partager les hauts et les bas, et de faire partie intégrante de ma vie.

A tous mes amis **YASMINE**, **HAYAT**, **MILISSA**, **ABDESLAM**, merci d'être toujours là, de partager vos joies et vos peines et de rendre chaque instant inoubliable, vous êtes une source constante d'inspiration et de bonheur dans ma vie

À toute ma famille maternelle, en particulier à ma grand-mère **FATMA**, et à mes tantes **MALIKA**, **LINDA**, **HAYAT** et

**OUIZA**

A mon cousin de cœur **BRAHIM**, merci d'être un cousin si spécial, même sans lien biologique.

A toute la promotion Master2 Conservation des aliments et emballage, en particulier **MARIA**, **HANIA**, **LINDA**, **HIBA**,

**FALALA**, **MIMOU**, **AMINA** et **HOUSSAME**

À toutes les belles âmes rencontrées dans la résidence universitaire 17 OCTOBRE 1961

**A TOUS CEUX QUE J'AIME**

*Amel TAZEKRIIT*



# Dédicace

Le voyage n'a pas été court, et il ne devait pas l'être. Le rêve n'était pas à portée de main, et le chemin n'a pas été pavé de facilités, mais j'ai réussi.

Louange à dieu qui a facilité les débuts et nous a permis d'atteindre les fins.

Je dédie le fruit de mes modestes efforts à la mémoire de celui dont je porte le nom avec fierté, celui qui m'a soutenu et m'a appris que la vie est une lutte dont l'arme est la connaissance, celui qui m'a enseigné la patience et la persévérance malgré les difficultés de la vie. Tu resteras toujours dans mes pensées et mes prières. Repose en paix **« Mon cher PAPA »**

Je suis infiniment reconnaissante envers cette femme précieuse qui a été mon espoir, ce cœur tendre dont la lumière a illuminé mes nuits sombres. Elle m'a soutenue tout au long de mon parcours et a adouci les défis de ma vie **« Ma chère MAMAN »**

A mon deuxième père, celui qui m'a appris à gravir les échelons de la vie avec sagesse et patience, celui qui répondait présent à chaque fois que j'en avais besoin, Ses conseils de valeur et ses orientations m'ont aidé à devenir une personne plus instruite et résiliente face aux aléas de la vie **« Tonton NACER »**

À ma complice, qui n'est plus parmi nous aujourd'hui, ta présence lumineuse a illuminé ma vie et tes encouragements ont été une source de force pour moi. Ton absence laisse un vide immense dans mon cœur, mais je sais que tu continues à veiller sur moi de là-haut. **« Ma chère sœur LYDIA »**

A mon pilier, celui dont la présence est une bénédiction dans ma vie. Tu as été là pour moi avec une force et une gentillesse incroyables, me soutenant à chaque étape et m'encourageant à poursuivre mes objectifs. Ta lumière éclaire mon chemin même dans les moments les plus sombres, je te suis profondément reconnaissante pour tout ce que tu as fait pour moi.

**« Mon cher Frère AMINE »**

À mon binôme et ma sœur de cœur, je souhaite exprimer toute ma gratitude. Nos émotions partagées, nos rires et nos larmes ont forgé une complicité incomparable. C'est grâce à notre harmonie et à notre compréhension mutuelle que nous avons pu mener à bien notre travail dans une atmosphère de tranquillité. Ta présence a été un soutien inestimable, et je suis profondément reconnaissante de t'avoir à mes côtés. **« Amel »**

À ma deuxième sœur de cœur, je tiens à exprimer toute mon affection. Nos moments partagés resteront parmi les plus précieux de ma vie. Je te souhaite un avenir radieux, plein de succès et de bonheur

**« Ma chère cousine IMANE »**

A tous mes oncles et leurs épouses et à toutes mes tantes et leurs maris, en particulier **NADJIB**

A tous mes cousins et cousines en particulier **HAYAT, MAMINE, MELINA, KATIA et ZACK**

A toutes mes copines : **KAOUTHAR, THAFATH, HOUDA, FAHIMA, KATIA, SIHAM**

A tous mes ami(e)s et à toute la promotion **MASTER 2 CAE** en particulier **HANIA, MARIA et HOUSSAM**

**A TOUS CEUX QUE J'AIME.**

***Hanane AIT BACHIR***

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Liste des annexes

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les cupressacées .....	3
I.1 Classification des cupressacées .....	3
I.2 Description botanique de <i>Juniperus phoenicea</i> L. et <i>Juniperus oxycedrus</i> L. ....	4
I.2.1 <i>Juniperus phoenicea</i> L. ....	4
I.2.2 <i>Juniperus oxycedrus</i> L. ....	4
I.2.3 Systématique du genévrier .....	5
I.3 Répartition des cupressacées en Algérie .....	6
I.4 Utilisation du genévrier en médecine traditionnelle.....	7
II. Généralités sur les huiles essentielles .....	7
II.1 Historique des HE.....	7
II.2 Définition des huiles essentielles.....	7
II.3 Composition chimique des huiles essentielles des espèces étudiées.....	7
II.4 Activités biologiques des huiles essentielles .....	8
II.4.1 Activité antioxydante .....	8
II.4.2 Activité antimicrobienne .....	9
II.4.3 Activité antifongique.....	9
II.5 Les techniques d'extraction des huiles essentielles.....	9
II.5.1 Entraînement à la vapeur d'eau « ex-situ » : Vapo-hydrodistillation.....	9
II.5.2 Entraînement à la vapeur d'eau « in-situ » : Hydrodistillation .....	9
II.5.3 Expression à froid.....	10
II.5.4 Extraction assistée par micro-ondes.....	10
II.5.5 Extraction par bain au solvant.....	10
III. Métabolites secondaires .....	11
III.1 Classes de métabolites secondaires .....	11
III.1.1 Les terpénoïdes.....	11
III.1.2 Les composés phénoliques .....	11

III.1.3	Les alcaloïdes .....	12
III.1.4	Les caroténoïdes .....	12

## ***PARTIE EXPERIMENTALE***

I.	Matériel .....	13
I.1	Matériel végétal .....	13
I.2	Réactifs utilisés .....	14
I.3	Germes cibles .....	14
I.4	Milieux de culture utilisés .....	14
II.	Méthodes .....	15
II.1	Protocole d'extraction des huiles essentielles .....	15
II.1.1	Rendement en huiles essentielles .....	15
II.1.2	Analyses physicochimiques .....	16
II.2	Macération des feuilles et des fruits des espèces sélectionnées .....	17
II.2.1	Dosages des composés bioactifs .....	18
II.2.2	Dosage des chlorophylles et des caroténoïdes .....	20
II.3	Evaluation de l'activité antioxydante .....	20
II.4	Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques et des huiles essentielles des espèces sélectionnées .....	21
III.	Résultats et discussion .....	23
III.1	Rendement des huiles essentielles .....	23
III.2	Cinétique d'extraction des huiles essentielles .....	23
III.3	Caractéristiques organoleptiques des huiles obtenues .....	24
III.4	Analyses physicochimiques des huiles essentielles .....	25
III.4.1	Densité relative .....	25
III.4.2	Indice de réfraction .....	25
III.5	Rendement des extraits éthanoliques .....	26
III.6	Dosages des composés bioactifs .....	27
III.6.1	Composés phénoliques .....	27
III.6.2	Flavonoïdes .....	28
III.6.3	Anthocyanines et flavonols .....	28
III.6.4	Proanthocyanidines .....	29
III.7	Dosage des Chlorophylles et des caroténoïdes .....	30

III.8	Activité antioxydante.....	31
III.8.1	Huiles essentielles .....	31
III.8.2	Extraits éthanoliques .....	32
III.9	Activité antimicrobienne .....	33
	Conclusion et perspectives .....	38

**Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

## *Liste des abréviations*

**AFNOR** : Association Française De Normalisation

**CG-SM** : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DPPH** : Diphénylpicrylhydrazyle (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle)

**DZI** : Diamètre de la zone d'inhibition

**EAG** : Equivalent Acide gallique

**EQ** : Equivalent Quercétine

**EQG** : Equivalent Quercétine 3-glucoside

**ES** : Extrait sec

**ExOH** : Extrait éthanolique

**Fig** : Figure

**GN**: Gélose nutritive

**HE** : Huile essentielle

**IC50** : Concentration inhibitrice à 50%

**LC-MS** : Spectrométrie de masse par chromatographie en phase liquide

**MH**: Mueller-Hinton

**MHE** : Masse de l'huile essentielle extraite

**MS** : Métabolites secondaires

**MV** : Matière végétale

**PAM** : Plantes médicinales aromatiques

**Rdt %** : Rendement en pourcentage

**RHE %** : Rendement en pourcentage de l'huile essentielle

## Liste des tableaux

Tableau I : Systématique du genre <i>Juniperus</i> .....	5
Tableau II : Le nombre d'espèce de cupressacées qui se trouve dans différents pays.....	6
Tableau III : Les réactifs utilisés pour les différents dosages .....	14
Tableau IV : Les souches microbiennes.....	14
Tableau V : Rendement des HE des espèces sélectionnées .....	23
Tableau VI : Caractéristiques organoleptiques des HE obtenues.....	24
Tableau VII : Densité relative des deux espèces étudiées.....	25
Tableau VIII : Indice de réfraction des HE des espèces étudiées .....	25
Tableau IX : Rendement des extraits éthanoliques .....	26
Tableau X : Tableau récapitulatif des IC50 .....	31
Tableau XI : Résultats du test de diffusion sur puits.....	34
Tableau XII : Détermination des CMI .....	36

## Liste des figures

Figure 1: Classification de plusieurs genres appartenant à l'ordre des Cupressales .....	3
Figure 2 : Genévrier de phénicie ( <i>Juniperus phoenicea</i> ) .....	4
Figure 3 : Genévrier oxycèdre ( <i>Juniperus oxycedrus</i> ).....	5
Figure 4: Carte des groupes de végétations.....	6
Figure 5 : Structure chimique du limonène (A) et du $\alpha$ -pinène (B) .....	8
Figure 5 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (in-situ) .....	10
Figure 6 : Classification des composés phénoliques .....	12
Figure 7 : Photographie des feuilles et des fruits de <i>J. oxycedrus</i> (a) et <i>J. phoenicea</i> (b) .....	13
Figure 8 : Dispositif d'extraction des HE par hydrodistillation .....	15
Figure 9 : Procédé d'extraction éthanolique des feuilles et des fruits des deux espèces .....	17
Figure 10: Mécanisme réactionnel du DPPH .....	20
Figure 11 : Courbe d'extraction des HE à partir des fruits et des feuilles de <i>J. phoenicea</i> .....	24
Figure 12 : Teneurs en composés phénoliques.....	27
Figure 13 : Teneurs en flavonoïdes .....	28
Figure 14 : Teneurs en anthocyanines (a) et en flavonols (b) .....	29
Figure 15 : Teneurs en proanthocyanidines .....	29
Figure 16: Dosage des Chlorophylles (a) et des caroténoïdes (b).....	30
Figure 20 : Souches de Microorganismes avec Présence de Zones d'Inhibition.....	33
Figure 21 : Souches de microorganismes sans présence de zones d'inhibition.....	33

## Liste des annexes

Annexe 1 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques .....	41
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes .....	41
Annexe 3 : Concentrations en composés bioactifs .....	41
Annexe 4 : Teneurs en chlorophylles et caroténoïdes .....	41
Annexe 5 : Activité antioxydante des HE des feuilles (a) et des fruits (b) de <i>J. phoenicea</i> et des feuilles (c) et des fruits (d) de <i>J. oxycedrus</i> .....	42
Annexe 6 : Activité antioxydante des ExOH des feuilles (a) et des fruits (b) de <i>J. phoenicea</i> et des feuilles (c) et des fruits (d) de <i>J. oxycedrus</i> .....	43
Annexe 7 : Concentrations des extraits pour la Détermination des CMI.....	43

***INTRODUCTION***

***GENERALE***

# Introduction générale

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales et aromatiques (PAM) ont joué un rôle crucial dans le domaine de la médecine, qu'elle soit traditionnelle ou moderne. Plus de 25% des médicaments utilisés aujourd'hui ont des origines qui remontent à ces plantes, souvent grâce à l'application des connaissances traditionnelles combinées aux avancées technologiques contemporaines (Ismaili et Lanouari, 2024). Parmi ces plantes, le genre *Juniperus*, appartenant à la famille des Cupressacées, est réputé pour être une riche source de métabolites secondaires (MS) bioactifs qui est traditionnellement utilisé pour traiter de nombreuses maladies. Ce genre est aussi l'un des plus étudiés en termes de composition chimique, et les principaux composés bioactifs identifiés dans ces espèces sont les terpènes et les composés phénoliques, qui possèdent d'importantes activités biologiques telles que des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antivirales (Monribot-Villanueva et al., 2020).

Les huiles essentielles (HE), quant à elles, sont des composés liquides volatils et aromatiques, obtenus à partir de plantes entières ou de différentes parties de plantes telles que les graines, les feuilles, les fleurs, les tiges et les écorces. Elles comprennent des composés chimiques tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénylpropanoïdes, qui jouent des rôles importants dans l'interaction des plantes avec leur environnement (Yangilar, 2021).

Dans ce contexte, nous envisageons l'étude des HE et des ExOH des deux espèces de la famille des Cupressacées, genévrier de phénicie (*Juniperus phoenicea* L.) et genévrier oxycèdre (*Juniperus oxycedrus* L.). Ces espèces ont été choisies en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques rapportées dans la littérature scientifique. En effet, ces caractéristiques font de ces plantes des candidates prometteuses pour le développement de nouvelles solutions naturelles contre les problèmes induits par l'oxydation et les attaques microbiennes.

Ce mémoire vise à extraire les huiles essentielles (HE) et les extraits éthanoliques (ExOH) des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus oxycedrus* L. Par la suite, il a pour but de doser les composés phénoliques présents dans les ExOH, tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanines et les flavonols, puis d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des HE et des ExOH des espèces sélectionnées.

Le présent document est structuré en deux parties, la première est dédiée à l'étude bibliographique qui aborde les aspects suivants :

- Etudes générales sur les cupressacées ;
- Généralités sur les HE et notions générales sur les métabolites secondaires (MS) ainsi que leurs propriétés biologiques et antioxydantes.

Quant à la deuxième partie de ce manuscrit, elle est dédiée à la partie expérimentale organisée en deux sections :

- Description des matériels utilisés et des méthodologies suivies.
- Présentation des résultats obtenus et leur interprétation en se référant aux études précédentes, suivie de conclusion et de perspectives pour les recherches futures.

***SYNTHESE***  
***BIBLIOGRAPHIQUE***

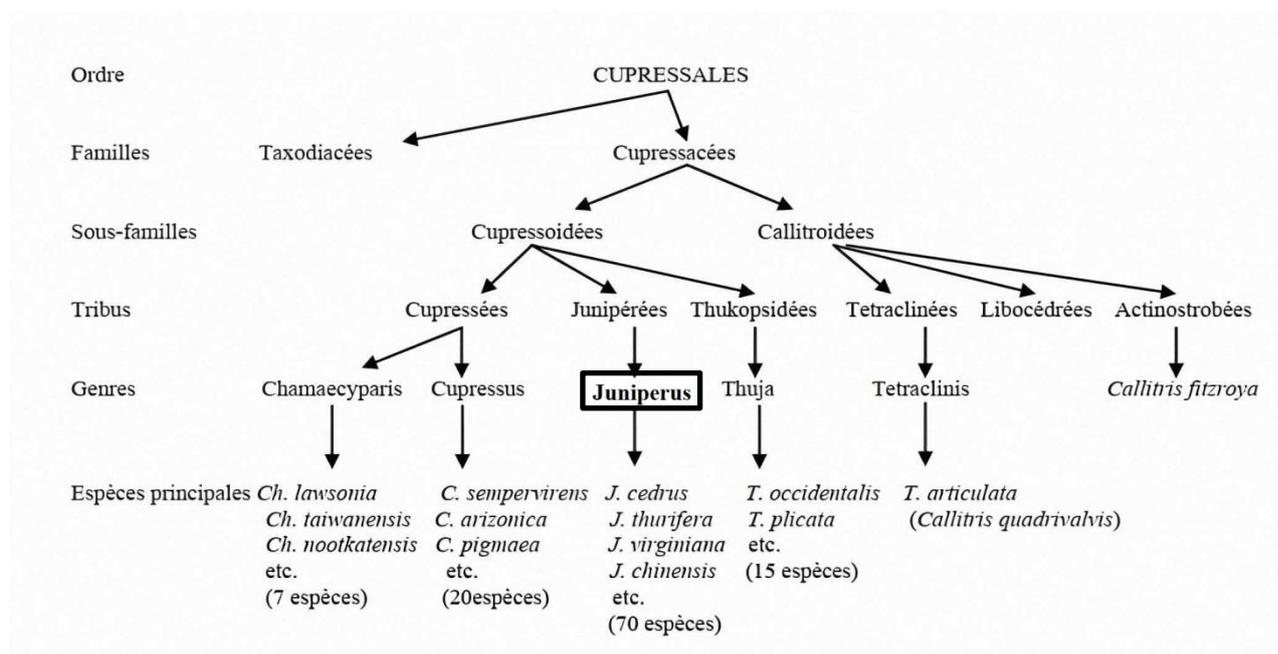
***GENERALITES SUR LES  
CUPRESSACEES***

## I. Généralités sur les cupressacées

Les Cupressacées, membres des conifères et faisant partie de l'ordre des cupressales, représentent la famille la plus répandue parmi les Gymnospermes, ces arbres dont les graines sont à nu. Avec 160 espèces réparties dans 7 sous-familles et 29 genres, elles se trouvent dans les deux hémisphères. Ces arbres, principalement anémophiles, sont majoritairement monoïques, bien que certains, comme le *Juniperus*, soient dioïques. Leur reproduction se fait par de petites fleurs unisexuées sur des chatons strobiliformes appelés cônes mâles et femelles. Ces cônes mâles contiennent généralement de 3 à 10 sacs polliniques ou microsporangies qui, à maturité, libèrent une grande quantité de pollen dans l'air, environ 400000 grains par cône (Poncet et al., 2022).

### I.1 Classification des cupressacées

La figure 1 montre la classification de plusieurs genres appartenant à l'ordre des Cupressales



**Figure 1: Classification de plusieurs genres appartenant à l'ordre des Cupressales (Bouyahyaoui, 2017)**

## I.2 Description botanique de *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus oxycedrus* L.

Le genre *Juniperus* comprend 70 espèces, parmi lesquelles se trouvent *Juniperus phoenicea* L. que nous avons sélectionné comme première espèce et *Juniperus oxycedrus* L., comme deuxième espèce pour notre étude et que nous allons décrire en détail ci-dessous.

### I.2.1 *Juniperus phoenicea* L.

Le *Juniperus phoenicea* L., (genévrier rouge) (figure2), fait partie de la famille des Cupressacées. Originaire de la région méditerranéenne, cet arbuste présente une distribution géographique étendue, s'étendant du Portugal à l'Arabie saoudite, favorisant ainsi une grande diversité génétique au sein de l'espèce (Meriem et al., 2022). Cette plante, également appelée Araar, peut atteindre une hauteur de 8 mètres, avec des branches dressées et des feuilles en forme d'écailles. Chaque 100 grammes de feuilles fraîches contient environ 2 grammes de composés bénéfiques (Elmhalli et al., 2021).



Figure 2 : Genévrier de phénicie (*Juniperus phoenicea*) (Nedjimi et al., 2015)

### I.2.2 *Juniperus oxycedrus* L.

*Juniperus oxycedrus* L., ou genévrier épineux (figure 3 (a) et (b)), est un petit arbre de la famille des Cupressacées, courant en Algérie. Utilisé en médecine traditionnelle, il contient des composés phénoliques aux propriétés biologiques (Kachmar et al., 2024). C'est un arbre ou arbuste parfumé avec des feuilles en aiguilles, et des cônes mâles aux extrémités des branches. Les fruits mûrs sont rougeâtres, de 6 à 15 mm de diamètre, et les fleurs mâles font environ 1 mm de diamètre (Miara et al., 2013)



Fig. a

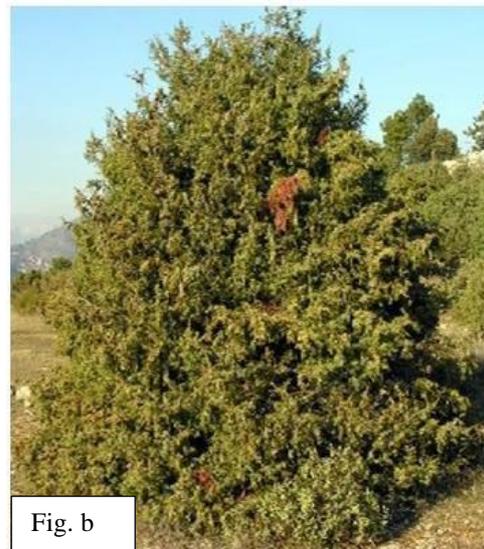


Fig. b

Figure 3 : Genévrier oxycède (*Juniperus oxycedrus*) (Guerroudj et al., 2021)

### I.2.3 Systématique du genévrier

La classification du genévrier est citée selon Dris et al. (2022) et est mentionnée dans le tableau II :

Tableau I : Systématique du genre *Juniperus*

Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	Gymnospermes
Classe	Conifères
Ordre	Coniférales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>

### I.3 Répartition des cupressacées en Algérie :

La figure 4 montre les groupes de végétation en Algérie, indiquant que le genre *Juniperus* appartenant à la famille des Cupressacées, se trouve principalement dans les régions montagneuses et semi-arides du pays.

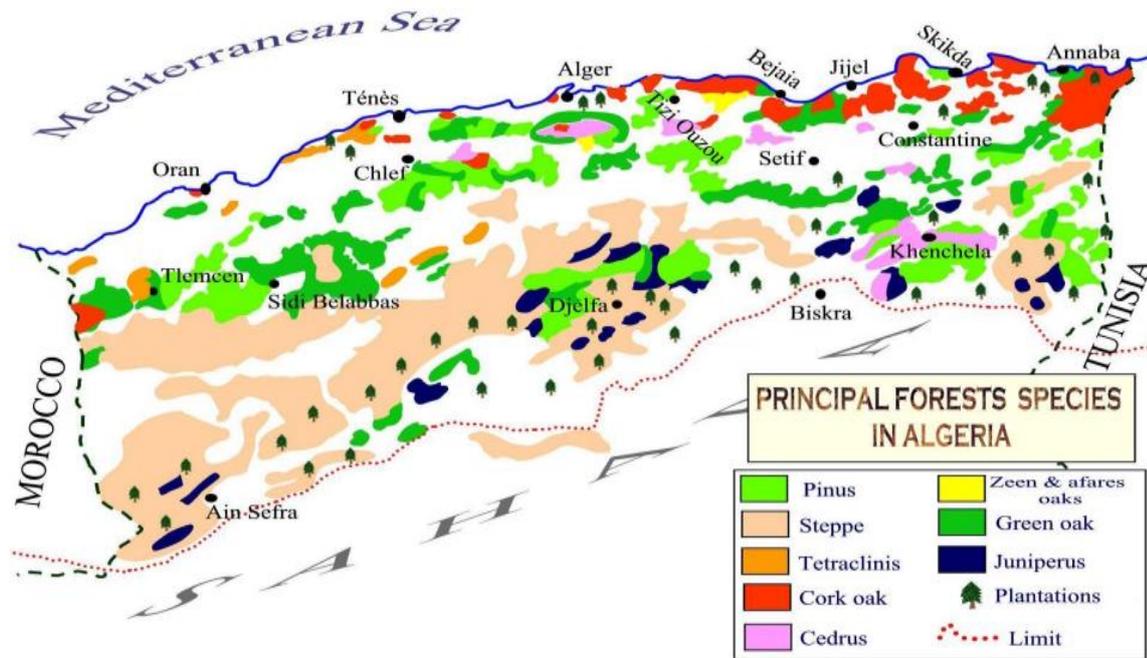


Figure 4: Carte des groupes de végétations (Talbi et al., 2018)

Les études de Quezel (1979) présentées dans le tableau 2 révèlent la présence de quatre espèces de Cupressacées en Algérie, à savoir :

- *Cupressus sempervirens* ;
- *Juniperus phoenicea* ;
- *Juniperus oxycedrus* ;
- *Tetraclinis articulata*.

Tableau II : Le nombre d'espèce de cupressacées qui se trouve dans différents pays

Pays	Espèce des cupressacées
France	3
Espagne	4
Maroc	5
Algérie	4
Grèce	6
Turquie	6
Syrie	3

#### I.4 Utilisation du genévrier en médecine traditionnelle

Le genévrier est utilisé en médecine populaire depuis des temps anciens. Ses propriétés médicinales sont exploitées par diverses méthodes, notamment les gargarismes, les poudres et les boissons médicinales ; toutes les parties de la plante sont utilisées, mais les baies sont souvent préférées pour leur forte concentration en principes actifs (Stark et al., 2013).

*J. phoenicea* traite divers maux comme la diarrhée, la goutte, les troubles gastriques, les rhumatismes, l'eczéma... et agit comme désinfectant dépuratif. Les baies apaisent la toux et servent d'agent hypoglycémiant oral, tandis que les feuilles sont utilisées pour les affections broncho-pulmonaires et comme diurétique. Une tisane de baies facilite la digestion et stimule l'appétit. Les HE, extraites du bois, des feuilles et des baies, favorisent la sécrétion des fluides digestifs, améliorent la digestion, et soulagent les gaz (Meriem et al., 2022).

L'HE de *J. oxycedrus* est couramment utilisée en application locale comme parasiticide et antiseptique, notamment pour traiter des affections cutanées comme l'eczéma et le psoriasis. Elle est également utilisée pour soigner les maladies pulmonaires, les douleurs dentaires, et certaines affections oculaires (Hoummani et al., 2019).

***GENERALITES SUR  
LES HUILES ESSENTIELLES ET LES  
METABOLITES SECONDAIRES***

## II. Généralités sur les huiles essentielles

### II.1 Historique des HE

Suite à un accident d'explosion dans le laboratoire du père de l'aromathérapie René-Maurice Gattefossé au début des années 1900s, qui se brûla les mains et sans réfléchir il les plongea dans un seau d'HE de Lavande. Le soulagement a été instantané et la guérison de la plaie très rapide. Il décida donc d'étudier les HE et leurs propriétés et publiera son premier ouvrage, intitulé Aromathérapie, en 1931. C'est le premier ouvrage qui met en évidence la relation entre les activités des HE et leurs composants biochimiques (Fourmentin et Kfoury, 2024).

Ces composés étaient déjà appréciés par de nombreuses civilisations depuis l'Égypte ancienne (4500 av. J.-C.) en passant par la civilisation chinoise (2800 av. J.-C.), les civilisations américaines (Incas, Mayas et Aztèques) (1000 av. J.-C.), les Grecs (300 av. J.-C.) et les Romains (150 av. J.-C.) ainsi que le moyen-âge et la renaissance moyen-orientale et européenne. Ces civilisations ont non seulement développé la médecine par les HE, mais également utilisé ces dernières dans la parfumerie. Les HE connaissent actuellement une renaissance inédite poussée par l'évolution des mentalités et l'envie de revenir au naturel (Fourmentin et Kfoury, 2024).

### II.2 Définition des huiles essentielles

L'Association française de Normalisation (AFNOR) donne une définition précise et officielle de l'huile essentielle : « produit obtenu à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de fruits de citrus (agrumes), soit par distillation sèche, après séparation de l'éventuelle phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Fourmentin et Kfoury, 2024).

### II.3 Composition chimique des huiles essentielles des espèces étudiées

Selon Fourmentin et Kfoury (2024), les HE comprennent plusieurs composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très différentes. Les deux principales familles chimiques rencontrées sont :

Le groupe des terpénoïdes: il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal, ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbones (C<sub>5</sub>) nommée : isoprène. Ce groupe est subdivisé en deux sous-groupes : les monoterpènes et les sesquiterpènes (Nazik Mansouri et al., 2011).

Le groupe des phénylpropanoïdes (les composés aromatiques) : sont beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes. Ils comprennent plusieurs fonctions : alcool, phénols, dérivés méthoxy, composés méthylène dioxy (Nazik Mansouri et al., 2011).

Plusieurs études ont identifié les composés principaux de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et de *Juniperus oxycedrus* dans différentes régions. Pour *Juniperus phoenicea*, les principaux composés sont l' $\alpha$ -pinène, le myrcène, le  $\beta$ -pinène, le  $\delta$ -carène, et le terpinolène. Pour *Juniperus oxycedrus*, les composés dominants sont l' $\alpha$ -pinène, le  $\beta$ -copaène, le  $\beta$ -pinène, le limonène, et l' $\alpha$ -fenchène (Boukhaloua et al., 2022).

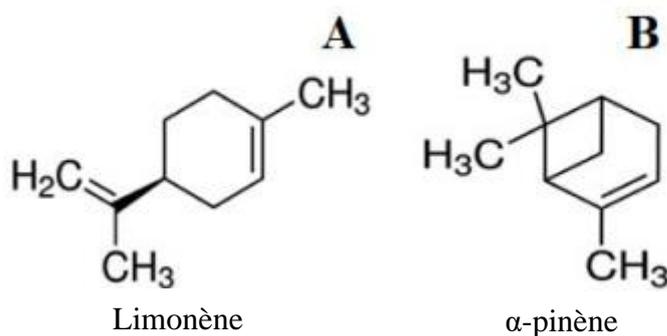


Figure 5 : Structure chimique du limonène (A) et du  $\alpha$ -pinène (B) (Melkina et al., 2021)

## II.4 Activités biologiques des huiles essentielles

La diversité des composés dans les HE les rend capables d'influencer plusieurs systèmes biologiques, notamment en santé, agriculture, cosmétique et alimentaire, grâce à leurs nombreuses propriétés biologiques (Thormar, 2011). Certaines de ces activités ont été signalées pour les HE notamment les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique (Ouerghemmi et al., 2017).

### II.4.1 Activité antioxydante

Un antioxydant est une substance qui a la capacité de retarder ou d'empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ces composés jouent un rôle crucial en réduisant efficacement les mauvaises odeurs et en retardant la peroxydation des lipides. Ils accomplissent cette tâche sans compromettre les propriétés sensorielles, telles que le goût et l'arôme, ainsi que les propriétés nutritionnelles des aliments (Boyd et al., 2003).

### **II.4.2 Activité antimicrobienne**

Les HE possèdent une activité antimicrobienne naturelle qui entrave la croissance des micro-organismes, comme les bactéries et les champignons, en interférant avec leurs processus de reproduction et de métabolisme (Hassane et al., 2011).

### **II.4.3 Activité antifongique**

Les HE ont une activité antifongique qui entrave la croissance des champignons en perturbant leurs processus de reproduction et de métabolisme. Cette fonction est employée dans la protection des plantes contre les champignons pathogènes et dans la préservation alimentaire (El Ajjouri et al., 2008).

## **II.5 Les techniques d'extraction des huiles essentielles**

Il existe plusieurs procédés d'extraction des HE tels que l'extraction par hydrodistillation, par bain au solvant et entraînement à la vapeur qui est moins complexe et donne des HE pures et sans résidus (Djousse et al., 2022).

### **II.5.1 Entraînement à la vapeur d'eau « ex-situ » : Vapo-hydrodistillation**

La vapo-hydrodistillation est la méthode qui permet d'extraire les essences thérapeutiques avec un rendement élevé et qualité supérieure des HE (Djousse et al., 2022). Cette technique repose sur l'introduction de vapeur dans un mélange d'eau et de matière végétale, permettant ainsi la libération des composés volatils présents. Ces vapeurs, chargées en composés volatils, sont ensuite refroidies et condensées, puis séparées par décantation, permettant ainsi l'obtention des précieuses essences (Duval, 2012).

### **II.5.2 Entraînement à la vapeur d'eau « in-situ » : Hydrodistillation**

La matière végétale est chauffée dans l'eau, produisant de la vapeur chargée d'HE. Cette vapeur est ensuite refroidie dans un condenseur à eau froide, transformant la vapeur en un mélange d'eau et d'HE.

Ce mélange est dirigé vers un essencier où les deux liquides se séparent naturellement : l'eau aromatisée d'un côté et l'HE de l'autre. La séparation finale se fait par décantation (Besombes, 2008).

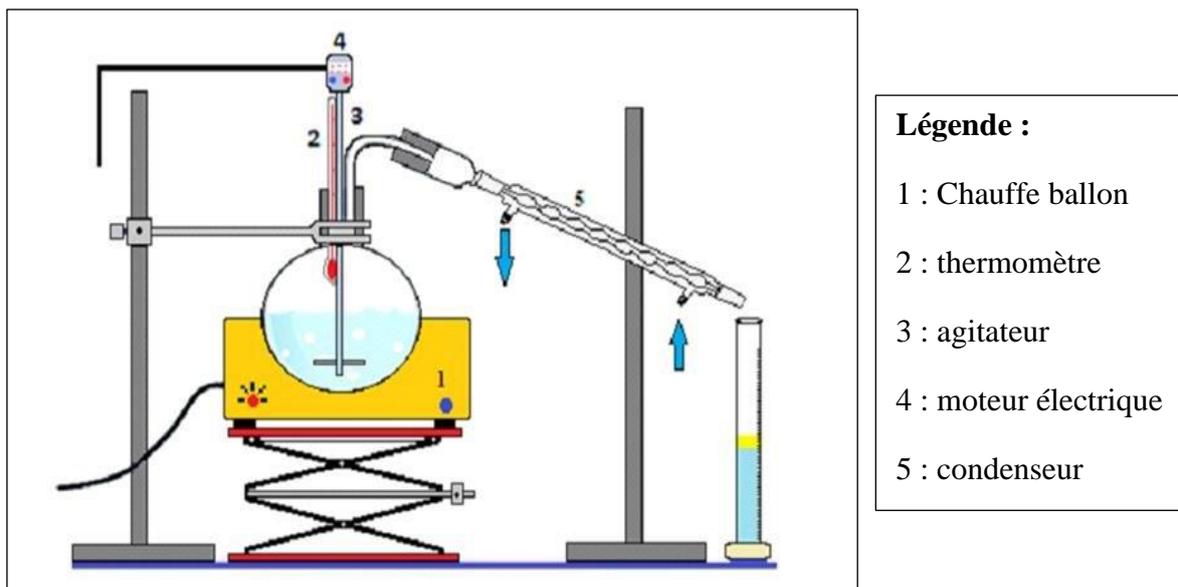


Figure 6 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (in-situ) (Kurji et al., 2019)

### II.5.3 Expression à froid

Cette méthode est employée pour extraire les essences volatiles des agrumes en déchirant leurs péricarpes via un traitement mécanique, permettant ainsi la collecte non altérée des essences présentes dans les sacs oléifères du mésocarpe (Boukhatem et al., 2019).

### II.5.4 Extraction assistée par micro-ondes

Ce procédé permet de réduire la durée de distillation et améliore le rendement, l'utilisation croissante des micro-ondes émerge comme une méthode d'extraction en plein essor. Par exemple, la SFME (Solvent Free Microwave Extraction) utilise un four à micro-ondes pour chauffer le matériel végétal sans ajout d'eau ou de solvant, favorisant la libération des HE par la dilatation des cellules végétales (Boukhatem et al., 2019).

### II.5.5 Extraction par bain au solvant

La méthode d'extraction par solvant consiste à combiner de la matière végétale avec un solvant volatil dans un extracteur, suivi de lavages pour extraire les molécules aromatiques, puis de la distillation dans un concentrateur (Boukhatem et al., 2019).

### III. Métabolites secondaires

Les plantes produisent une grande diversité de composés, dont les métabolites primaires nécessaires à leur fonctionnement de base, et les métabolites spécialisés, qui les aident dans des fonctions spécifiques. Ces derniers sont produits et stockés dans des parties précises de la plante, leur conférant un avantage évolutif (Tousignant, 2022).

#### III.1 Classes de métabolites secondaires

##### III.1.1 Les terpénoïdes

Les terpénoïdes, métabolites spécialisés des plantes, sont abondants et diversifiés. Ils contribuent aux caractéristiques sensorielles, à la défense contre les herbivores et les pathogènes et aux processus de reproduction des plantes (Tousignant, 2022).

##### III.1.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols se répartissent en au moins dix classes différentes en fonction de leur structure chimique, allant des molécules simples comme les acides phénols aux composés fortement polymérisés comme les tannins. Ils sont souvent classés en quatre grandes catégories selon leur structure chimique (Menaceur, 2015).

➤ Les phénols simples :

Les phénols simples, tels que les phénylpropanoïdes et les dérivés de l'acide benzoïque, défendent les plantes contre les prédateurs et inhibent la germination des graines dans le sol. L'acide salicylique, quant à lui, régule la croissance et renforce la résistance des plantes aux maladies (Menaceur, 2015).

➤ Flavonoïdes :

Cette catégorie de composés phénoliques sont classés en groupes selon le degré d'oxydation de leur pont à trois carbones, comprenant les anthocyanines, flavones, flavonols, isoflavones, flavanones et flavan-3-ols (Menaceur, 2015).

➤ Tannins :

Ce sont des polyphénols présents dans diverses parties des plantes telles que l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines, ont des poids moléculaires variant de 500 à 3000 Daltons. Ils sont classés en deux principales catégories : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Menaceur, 2015).

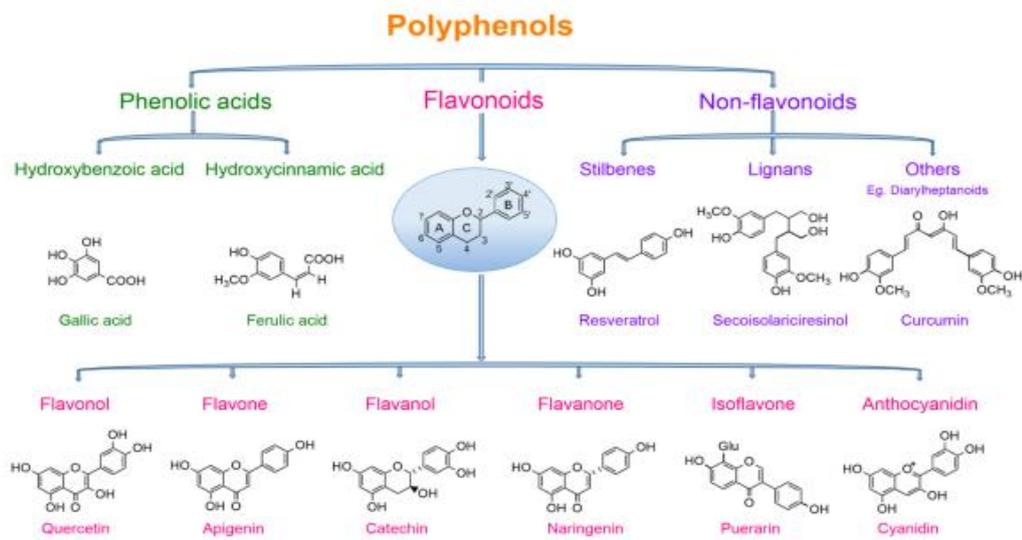


Figure 7 : Classification des composés phénoliques (Rambaran, 2020)

### III.1.3 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles principalement dérivées de plantes. Ces composés organiques, de petite taille, présentent une structure hétérocyclique et contiennent souvent une ou plusieurs bases azotées. Ils sont principalement dérivés des acides aminés et se caractérisent par leurs propriétés basiques. Leurs structures sont diverses et complexes (Dey et al., 2020). Parmi les deux espèces sélectionnées, seul le *J. oxycedrus* renferme des alcaloïdes qui ne sont pas présents dans le genévrier rouge (Bachir et al., 2017).

### III.1.4 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments présents dans divers organismes, responsables de nombreuses couleurs naturelles. Leurs propriétés antioxydantes les rendent précieux dans les domaines de la santé, de l'alimentation et des cosmétiques. Ces pigments liposolubles, appartenant à la famille des isoprénoïdes, sont visibles dans des exemples tels que les fruits, les légumes, et certains tissus animaux (Martínez-Cámara et al., 2021).

***PARTIE***  
***EXPERIMENTALE***

***MATERIEL***

***ET***

***METHODES***

## Objectif

Notre étude vise à extraire les huiles essentielles et les extraits éthanoliques des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* L. et de *J. oxycedrus* L. Par la suite, nous doserons plusieurs composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les flavonols, les anthocyanines, les tannins, les chlorophylles et les caroténoïdes, et nous évaluerons les activités antimicrobienne et antioxydante des ExOH et des HE des deux espèces.

## I. Matériel

### I.1 Matériel végétal

Les plantes étudiées ont été collectées entre février et mars 2024 dans deux régions distinctes :

- *J. oxycedrus* dans la wilaya de Béjaïa (Figure 7 (a)) ;
- *J. phoenicea* dans la région de Djelfa (Figure 7 (b)).

Le traitement préliminaire de ces plantes constitue en l'élimination des tiges et la récupération des feuilles et des fruits. Les produits récupérés sont d'abord séchés dans une étuve à une température qui varie entre 35°C et 40°C pendant 48 heures. Ensuite, elles sont divisées en deux lots.

- Le premier lot est pesé, broyé, tamisé (500 µm de diamètre) et stocké dans des bocaux en verre à 4°C, à l'abri de la lumière ;
- Le second lot est pesé et séparé afin d'extraire ses HE.



**Figure 8 : Photographie des feuilles et des fruits de *J. oxycedrus* (a) et *J. phoenicea* (b)**

## I.2 Réactifs utilisés

Le dosage des différents composés bioactifs, des chlorophylles et des caroténoïdes se trouvant dans les ExOH des deux espèces a impliqué l'utilisation de plusieurs réactifs (tableau III).

**Tableau III : Les réactifs utilisés pour les différents dosages**

Réactifs	Utilisation
Folin Ciocalteu	Dosage des composés phénoliques
Carbonate de sodium Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (7.5%)	
Chlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub> (2% dans le méthanol)	Dosage des flavonoïdes
Méthanol – HCl (0.1N)	Dosage des anthocyanines et flavonols
Butanol – HCl	Dosage des proanthocyanidines (tannins)
Ether diéthylique	Dosage des chlorophylles et caroténoïdes
2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH)	Evaluation de l'activité antioxydante

## I.3 Germes cibles

Les souches utilisées ont été fournies par Mme. BOUDRIES et elles sont de référence de type ATCC (American Type Culture Collection)

**Tableau IV : Les souches microbiennes**

Souche	Référence	Gram	Famille
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	+	Bacillaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6314	+	Micrococcaceae
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM)	ATCC 43300	+	Micrococcaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	-	Pseudomonadaceae
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 29522	-	Enterobacteriaceae
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 14028	-	Enterobacteriaceae
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Souche de diagnostique	-	Enterobacteriaceae
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	/	Saccharomycetaceae

## I.4 Milieux de culture utilisés

- Gélose nutritive (GN)
- Bouillon nutritif
- Gélose Mueller Hinton (MH)

## II. Méthodes

L'extraction a été réalisée au laboratoire de physicochimie des aliments de l'université Béjaïa en utilisant la méthode de l'hydrodistillation pour les HE et la macération pour les ExOH.

### II.1 Protocole d'extraction des huiles essentielles

L'extraction commence par l'immersion de la matière végétale dans un alambic rempli d'eau portée à ébullition. Les vapeurs produites sont condensées dans un réfrigérant, puis récupérées dans une ampoule à décanter, où l'HE est séparée par décantation. Après la récupération de l'HE, du sulfate de sodium anhydre est ajoutée comme agent déshydratant pour éliminer l'eau résiduelle. Elle est ensuite conservée dans un flacon en verre ambré, hermétiquement fermé, à une température basse de 4°C pour assurer sa stabilité et prolonger sa durée de vie (Moutchou et al., 2024). Le dispositif d'extraction en verre utilisé est représenté dans la Figure 8.



Figure 9 : Dispositif d'extraction des HE par hydrodistillation

#### II.1.1 Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle (RHE%) correspond au pourcentage obtenu en divisant la masse de l'HE extraite (MHE) par la masse de la matière végétale traitée (MV), puis en multipliant le résultat par 100 (Boudjit et al., 2022).

La formule est :

$$\text{RHE}\% = (\text{MHE} / \text{MV}) \times 100$$

## II.1.2 Analyses physicochimiques

### Densité relative

#### Principe

C'est le rapport entre la masse d'un certain volume d'HE à 20°C et la masse du même volume d'eau distillée à 20°C. Elle représente un repère crucial, offrant une indication sur la composition chimique de l'HE (Boudjit et al., 2022).

#### Mode opératoire

Selon Alili et al. (2022) elle est une grandeur sans dimension. Pour la mesurer un pycnomètre est soigneusement nettoyé, rincé à l'éthanol et à l'acétone, puis séché. Il est ensuite pesé vide avec son bouchon à 0,001 g près. Rempli d'eau distillée à 20°C et pesé plein. Après avoir vidé et séché le pycnomètre, la même opération est répétée avec l'huile essentielle. Elle est calculée avec la formule :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Avec :

- $m_0$  est la masse du pycnomètre vide ;
- $m_1$  est la masse du pycnomètre rempli d'eau ;
- $m_2$  est la masse du pycnomètre rempli d'HE.

#### Indice de réfraction:

Selon Alili et al. (2022) l'indice de réfraction est un indicateur de la qualité de l'huile définie comme étant le rapport entre les sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde définie, lorsqu'il traverse l'air pour entrer dans l'HE, cette dernière étant maintenue à une température constante de 20°C.

Avant de prendre des mesures, il est essentiel de vérifier l'étalonnage du réfractomètre avec l'eau distillée (indice de réfraction 1,33). La température du prisme doit être maintenue constante à l'aide d'un bain d'eau contrôlé.

Avant chaque mesure, abaissez la partie mobile du prisme en position horizontale. Les mesures doivent être effectuées conformément aux instructions, avec une précision de 0,0001 et en enregistrant la température du prisme.

## II.2 Macération des feuilles et des fruits des espèces sélectionnées

La méthode suivie repose sur le protocole décrit par Belhaddad et al. (2023) en y apportant quelques modifications (figure 9). Une quantité de quatre grammes de chaque partie de la plante (feuilles et fruits), séchée, broyée et tamisée à 500  $\mu\text{m}$ , sont placés séparément avec 40 ml d'éthanol pur (99%) dans un Erlenmeyer. Après agitation pendant 30 minutes, le mélange est filtré. Le filtrat est ensuite évaporé avec un rota-vapeur pour obtenir un extrait sec, qui est séché dans une étuve ventilée à 40°C pendant 24 heures. L'extrait est enfin reconstitué dans du méthanol pur selon des volumes spécifiques pour obtenir des concentrations de 50 mg/ml.

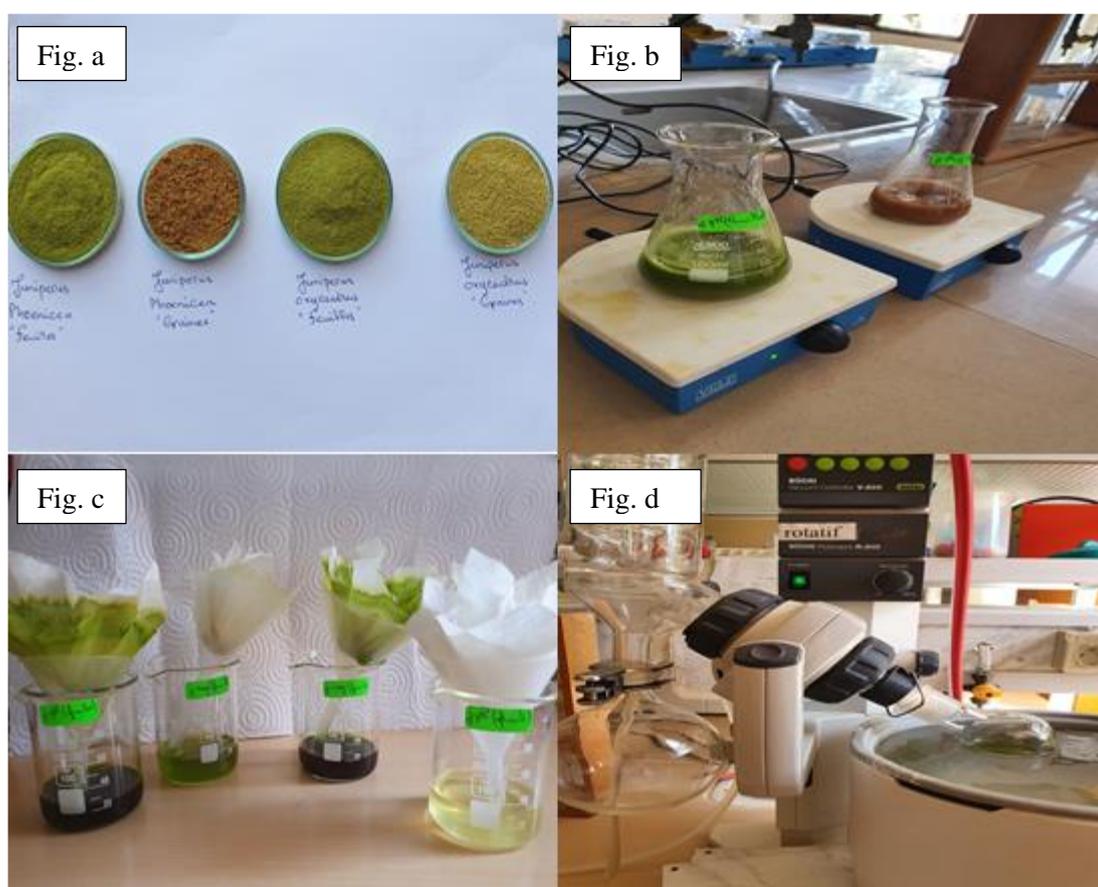


Figure 10 : Procédé d'extraction éthanolique des feuilles et des fruits des deux espèces

## **II.2.1 Dosages des composés bioactifs**

### **Composés phénoliques**

#### Principe

Le réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lors de l'oxydation des phénols, il se réduit en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La couleur produite, avec une absorption maximale située entre 720 et 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

#### Mode opératoire

Le protocole utilisé repose sur la méthode décrite par Singleton et Rossi (1965) avec quelques modifications. Un volume de 200 µl d'extrait a été mélangé avec 750 µl du réactif de Folin-Ciocalteu et 400 µl de carbonate de sodium à 7,5%. Après une incubation de 1 heure, l'absorbance a été mesurée à 720 nm. Les concentrations en composés phénoliques ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (annexe 1).

Les résultats sont exprimés en mg équivalents acide gallique (mg EAG) pour 1 g d'extrait sec.

### **Flavonoïdes**

#### Principe

La méthode est basée sur la formation d'un complexe Flavonoïde-aluminium qui permet d'avoir une couleur jaune dont le maximum d'absorbance se situe à 430 nm (Djeridane et al., 2006).

#### Mode opératoire

La concentration en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée par spectrophotométrie en suivant la méthode de Djeridane et al. (2006), avec quelques modifications. Un volume de 1 ml d'extrait a été mélangé avec 1 ml du réactif AlCl<sub>3</sub> (2% MOH). Après une incubation de 15 minutes, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. Les concentrations en flavonoïdes ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec de la Quercétine (annexe 2).

Les résultats sont exprimés en mg équivalents de Quercétine (mg EQ) pour 1 g d'extrait sec.

## **Anthocyanines et flavonols**

### Principe

Le dosage repose sur la modification de la couleur des anthocyanes et des flavonols selon le pH. En ajoutant de l'HCl, le milieu devient acide, rendant les anthocyanes rouges en raison de leur forte réaction. Les flavonols, moins réactifs, produisent des teintes moins intenses, tirant vers le jaune (Cisse et al., 2017).

### Mode opératoire

La teneur en anthocyanines et flavonols dans les extraits a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de (Hrazdina et al., 1982) en y apportant quelques modifications. Un mélange de 1 ml d'extrait et 1 ml de HCl/MOH (0.1N) a été préparé, puis l'absorbance a été mesurée à 530 nm pour les anthocyanines et à 360 nm pour les flavonols. Les concentrations ont été calculées en utilisant la loi de Beer-Lambert, avec des coefficients d'extinction molaire de  $26900 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  et  $\text{PM}=449,2 \text{ g/mol}$  pour les anthocyanines, les résultats sont exprimés en mg équivalent cyanidine 3-glucoside pour 1 g d'extrait sec. et de  $20000 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$   $\text{PM}=464,38 \text{ g/mol}$  pour les flavonols, les résultats sont exprimés en mg équivalent Quercétine 3-glucoside pour 1 g d'extrait sec.

## **Proanthocyanidines (tannins)**

### Principe

Sous l'effet de la chaleur en milieu acide, les proanthocyanidines se dissocient, produisant une coloration mesurable à une absorbance de 530 nm (Škerget et al., 2005).

### Mode opératoire

La teneur en proanthocyanidines a été mesurée en utilisant la méthode décrite par Škerget et al. (2005). Pour cela, 2 ml de réactif butanol-HCl (contenant 77 mg de  $\text{FeSO}_4$  dans 500 ml de HCl-butanol [2:3]) ont été ajoutés à 0,5 ml d'extrait. Le mélange a été incubé à  $95^\circ\text{C}$  pendant 15 minutes. Les concentrations ont été déterminées selon la loi de Beer-Lambert, en utilisant la cyanidine comme standard ( $\epsilon = 34700 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  et  $\text{PM} = 287,24 \text{ g/mol}$ ).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent cyanidine (mg EC) par g d'extrait sec.

## II.2.2 Dosage des chlorophylles et des caroténoïdes

### Principe

Les phytoconstituants pigmentés ont été quantifiés en suivant les conditions décrites par (Wellburn, 1994), qui recommandent de minimiser l'exposition de l'huile à la lumière, à l'oxygène et aux acides après l'extraction. Le dosage des pigments a été effectué par spectroscopie UV-visible. L'absorbance des extraits a été mesurée à 470, 644 et 662 nm pour calculer les concentrations en caroténoïdes ainsi qu'en chlorophylles a et b, en utilisant les formules suivantes

- Chlorophylle a ( $C_a$ ,  $\mu\text{g/ml}$ ) =  $10,05 A_{662} - 0,766 A_{644}$
- Chlorophylle b ( $C_b$ ,  $\mu\text{g/ml}$ ) =  $16,37 A_{644} - 3,144 A_{662}$
- Caroténoïdes ( $\text{g/ml}$ ) =  $(1000 A_{470} - 1,28 C_a - 56,70 C_b) / 230$

### Mode opératoire

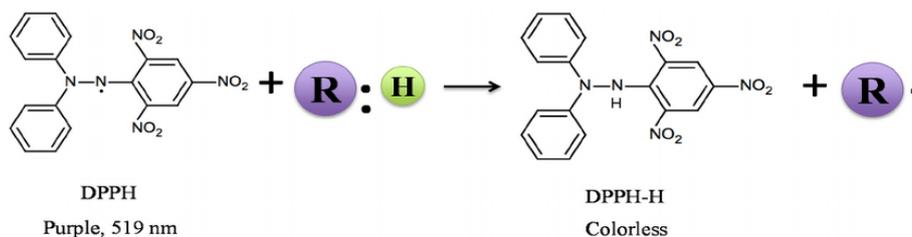
La teneur en caroténoïdes et en chlorophylles des poudres a été déterminée selon la méthode de Wellburn (1994). Pour cela, 400 mg de poudre ont été ajoutés à 10 ml d'éther diéthylique et le mélange a été maintenu sous agitation magnétique à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Ensuite, le mélange a été centrifugé à 5000 tours par minute pendant 10 minutes. Les résultats sont exprimés en mg/g de matière sèche.

## II.3 Evaluation de l'activité antioxydante

### Test de piégeage du radical DPPH :

#### Principe

La capacité des huiles essentielles ou de certains composés purs à donner des électrons ou d'hydrogène est évaluée par une méthode spectrophotométrique, qui observe la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH (Chikhoun, 2007).



**R** : **H** represents antioxidant

**Figure 11: Mécanisme réactionnel du DPPH (Liang et Kitts, 2014)**

### Mode opératoire

Des dilutions d'HE et d'ExOH ont été préparées dans du méthanol pour évaluer leur potentiel antioxydant. À chaque dilution, 1 ml de solution méthanolique de DPPH a été ajouté à 100 µl. Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité, les absorbances ont été mesurées à 517 nm. Le pouvoir antiradicalaire des HE et des ExOH a été déterminé en calculant l'IC50 à partir de la courbe de pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH· en fonction des concentrations des HE et des ExOH.

Chaque absorbance correspond à un pourcentage d'inhibition calculé à partir de la différence entre l'absorbance de la solution de DPPH sans HE ou ExOH et celle en présence d'un de ces derniers (Maidi et Dahia, 2022).

## **II.4 Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques et des huiles essentielles des espèces sélectionnées**

La méthode employée pour évaluer l'activité antimicrobienne des HE et des ExOH de *J. phoenicea* et de *J. oxycedrus* est la méthode de diffusion (par puits) sur milieu gélosé. Cette approche permet la diffusion des composés à partir d'un puits, générant une zone d'inhibition claire et mesurable. Après ensemencement, par écouvillonnage, d'une culture fraîche (âgée de 18 à 24 heures) à une concentration de  $10^6$  UFC/ml du germe cible sur la surface du milieu MH, des puits de 6 mm de diamètre ont été formés à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Ensuite, 20 µl de chaque extrait brut à une concentration de 50 mg/ml ou d'HE brute ont été introduits dans chaque puits. Le même volume de méthanol a été utilisé comme témoin négatif. Aucun antibiotique n'a été utilisé comme témoin positif en raison de la non-disponibilité. Les boîtes ont été incubées pendant 2 heures à 4°C puis à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition entourant les puits contenant les échantillons à testés ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (Ennajjar et al., 2009) (en y apportant quelques modifications).

### **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Afin d'évaluer de manière quantitative l'activité antimicrobienne des ExOH provenant des fruits et des feuilles des espèces étudiées, ainsi que de leurs huiles essentielles, la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des HE et des ExOH actifs a été menée contre les germes cibles présentant la meilleure sensibilité selon le test des puits. Les microorganismes choisis étaient la bactérie à Gram positif *S. aureus* et la levure *C. albicans*. La CMI est définie comme la concentration la plus faible capable d'inhiber toute croissance microbienne, perceptible à l'œil nu.

Dans cette étude, la méthode de microdilution en milieu liquide a été mise en œuvre, utilisant des microplaques à 96 puits, conformément à la procédure décrite par (Gulluce et al., 2007).

Les précultures des microorganismes cibles ont été préparées de manière similaire à celles décrites précédemment pour le test des puits. L'inoculum a été ajusté pour obtenir une charge d'inoculum d'environ  $10^6$  UFC/ml. Des dilutions en série des HE et des ExOH à testés, ont été réalisées dans les plaques à 96 puits.

Des témoins positifs et négatifs appropriés ont été inclus en parallèle. Les plaques ainsi préparées ont été incubées à la température optimale de croissance des microorganismes (37°C) pendant 24 heures. Les tests ont été effectués en deux fois, avec trois puits par échantillon lors de chaque essai. Après incubation, la CMI a été déterminée en observant, à l'œil nu, la croissance du microorganisme dans chaque puits. Elle correspond à la première concentration en échantillon ne présentant ni trouble ni culot microbien.

### **Analyse statistique**

Les résultats de l'étude ont été présentés en termes de moyenne et d'écart-type, basés sur trois séries de tests distincts. Les comparaisons multiples ont été effectuées à l'aide de l'analyse de la variance (ANOVA) et du test post hoc de Fisher LSD. Un seuil de signification de 0,05 a été utilisé pour déterminer la significativité des résultats.

# **RESULTATS**

# **ET DISCUSSION**

### III. Résultats et discussion

#### III.1 Rendement des huiles essentielles

Les rendements d'extraction des HE à partir des feuilles et des fruits des deux espèces sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau V : Rendement des HE des espèces sélectionnées**

	<i>J. phoenicea</i>		<i>J. oxycedrus</i>	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Rdt (%)	0,79	1,998	0,096	1,096

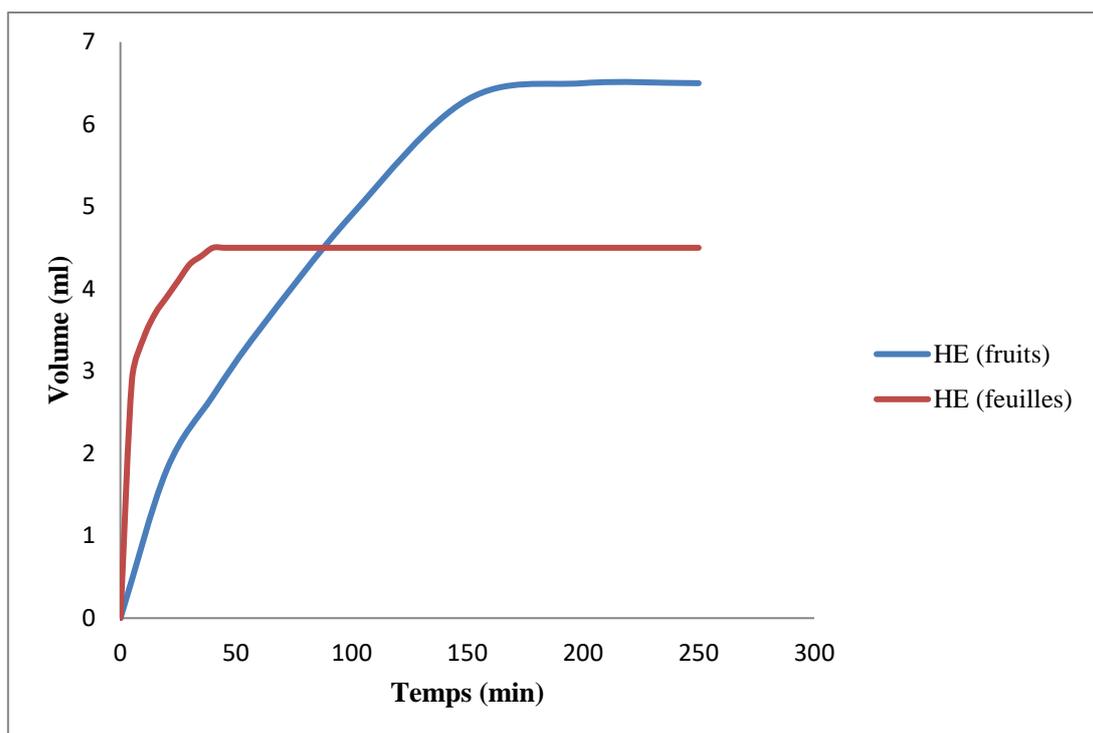
Les résultats obtenus indiquent que les fruits de *J. phoenicea* contiennent une quantité d'HE supérieure à celle des feuilles. De même, pour *J. oxycedrus*. En comparant les deux espèces, *J. phoenicea* offre un rendement en HE supérieur à celui de *J. oxycedrus*.

A titre de comparaison, Les feuilles de *J. phoenicea* présentent un rendement moyen de  $1,10 \pm 0,03\%$  de matière sèche, comparable à celui observé dans le centre-ouest de la Tunisie (1%) et supérieur à celui du Maroc (0,9%). En revanche, les feuilles affichent des rendements variant entre 0,50% et 0,75% en Tunisie, 0,36% en Égypte, et entre 0,30% et 0,70% en Espagne (Beniaich et al., 2023). Les rendements obtenus à partir des fruits mûrs se situent dans une plage intermédiaire qui varie de 1,96% à 2,82% (Abu-Darwish et al., 2013).

Selon Guerroudj et al. (2021), les rendements en HE de *J. oxycedrus* varient de 0,23% à 0,32% dans les feuilles et peuvent atteindre jusqu'à 0,80% dans les fruits. Les fruits ont montré des rendements environ deux fois plus élevés que les feuilles, avec des moyennes allant de 0,26% à 0,82%. En revanche, Mortadi et al. (2024), indique que les feuilles de *J. oxycedrus* du Maroc ont donné un rendement d'HE de 0,1%. La variation de résultats est peut-être due à des facteurs comme le stade de maturité des plantes, les conditions climatiques régionales et d'autres paramètres environnementaux. Elles peuvent aussi résulter de pratiques agricoles spécifiques et de techniques de culture adaptées à divers environnements.

#### III.2 Cinétique d'extraction des huiles essentielles

Le graphique de la figure 12 montre deux courbes représentant l'extraction d'HE à partir des fruits et des feuilles de genévrier de Phénicie. Il fournit des informations utiles sur la quantité d'HE obtenue de ces sources pour chaque 500g de MV.



**Figure 12 : Courbe d'extraction des HE à partir des fruits et des feuilles de *J. phoenicea***

La courbe d'extraction à partir des fruits révèle une augmentation rapide du volume d'huile extraite durant les premières minutes, 10 min pour feuilles et 40 min pour les fruits, suivie d'une stabilisation progressive, avec un volume maximal atteint après environ 50 minutes pour feuilles et 150 min pour les fruits. En comparaison, la courbe d'extraction à partir des feuilles indique une augmentation plus rapide des huiles extraites, et un volume maximal inférieur (4,5 ml) à celui obtenu à partir des fruits (6,5 ml). Ainsi, les deux courbes illustrent que l'extraction des HE à partir des fruits a un rendement plus élevé, probablement en raison d'une plus grande concentration de composés aromatiques dans les fruits.

### III.3 Caractéristiques organoleptiques des huiles obtenues

Les caractéristiques organoleptiques des HE sont présentées dans le tableau VI :

**Tableau VI : Caractéristiques organoleptiques des HE obtenues**

	<i>J. phoenicea</i> et <i>J. oxycedrus</i>	
	Feuilles	Fruits
Couleur	Jaune pâle	Transparente
Odeur	Très forte	Très forte
Aspect	Limpide	Liquide

Les huiles essentielles extraites du *J. phoenicea* L. et du *J. oxycedrus* L. présentent des caractéristiques organoleptiques similaires, notamment une couleur jaune pâle ou transparente, une odeur très forte et un aspect liquide et limpide. Ces caractéristiques peuvent légèrement varier selon que l'huile est extraite des feuilles ou des fruits.

### III.4 Analyses physicochimiques des huiles essentielles

#### III.4.1 Densité relative

Le tableau VII présente la densité relative des feuilles et des fruits de deux espèces de genévrier.

**Tableau VII : Densité relative des deux espèces étudiées**

	<i>J. phoenicea</i>		<i>J. oxycedrus</i>	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Densité	0,8735	0,8697	0,8986	0,8797

La densité relative de l'eau = 1

Les résultats trouvés montrent que la densité relative des HE des feuilles et des fruits des deux espèces de genévrier ont des densités inférieures à celle de l'eau, et qui varient de 0,8697 pour les fruits de *J. phoenicea* L. jusqu'à 0,8986 observée pour les feuilles de *J. oxycedrus* L.

Dhifi et al. (2016) Indiquent que les densités des HE varient entre 0,85 et 1,05 g/ml, en fonction de leur composition chimique spécifique et de la méthode d'extraction utilisée.

En comparant avec nos résultats, des variations légères semblent être dues à la composition variable en monoterpénoïdes et sesquiterpénoïdes, ainsi qu'à la volatilisation sélective des composés à point d'ébullition plus bas lors des extractions à haute température.

#### III.4.2 Indice de réfraction

Le tableau VIII présente l'indice de réfraction des HE extraites des feuilles et des fruits des espèces étudiées.

**Tableau VIII : Indice de réfraction des HE des espèces étudiées**

	<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Indice de réfraction ( $n_d$ )	1,4695	1,4688	1,4697	1,4710

Les résultats trouvés indiquent que l'indice de réfraction des HE de *J.phoenicea* L., est légèrement inférieur à celui de *J. oxycedrus* L. Il varie entre 1,4688 pour les fruits de *J.phoenicea* L., jusqu'à 1,4710 obtenu pour les fruits de *J. oxycedrus* L.

Conformément aux normes AFNOR, l'indice de réfraction est fixé entre 1,461 et 1,470 pour les HE.

Certains auteurs soulignent que ce paramètre varie principalement en fonction de la quantité de monoterpènes et de dérivés oxygénés y sont présents. Il est important de noter que l'indice de réfraction peut varier légèrement en fonction de la température, la lumière et la longueur d'onde utilisée (Boukhatem et al., 2010).

Nos résultats montrent une certaine similarité comparant aux valeurs fixées par AFNOR.

### III.5 Rendement des extraits éthanoliques

Le tableau ci-dessous indique les rendements des ExOH obtenus par macération.

**Tableau IX : Rendement des extraits éthanoliques**

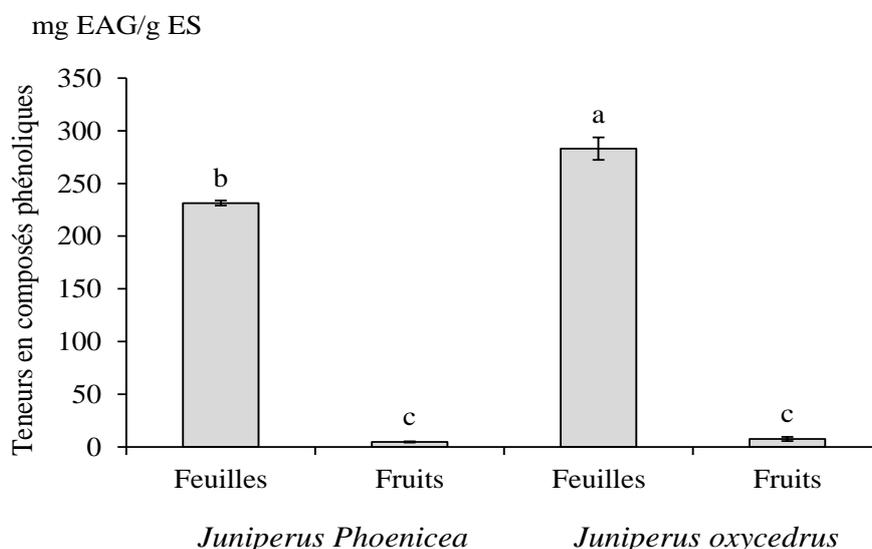
	<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Rdt (%)	15,99	17,89	11,84	5,645

Les rendements obtenus pour *J. phoenicea* L., sont supérieurs à ceux de *J. oxycedrus* L. Par ailleurs, une comparaison entre les rendements des feuilles et des fruits de chaque espèce révèle que les fruits de *J. phoenicea* L., ont un rendement supérieur à celui des feuilles, tandis que c'est le contraire pour *J. oxycedrus* L.

En comparant nos résultats à ceux de Fadel et al. (2016), les rendements d'extraction éthanolique des feuilles de *J. phoenicea* L., et de *J. oxycedrus* L., qui sont de 14,88 % et 9,81 %, respectivement, sont en accord avec nos valeurs.

### III.6 Dosages des composés bioactifs

#### III.6.1 Composés phénoliques



Les valeurs marquées par des lettres minuscules différentes (a-d) sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

**Figure 13 : Teneurs en composés phénoliques**

La figure 12 illustre les teneurs en polyphénols totaux des deux parties des deux espèces étudiées qui varient de 4,85 à 283,11 mg EAG/g ES.

Les feuilles de *J. oxycedrus* renferment la concentration la plus élevée (283,11 mg EAG/g ES) suivies par les feuilles de *J. phoenicea* (231,45 mg EAG/g ES). Alors que, les fruits des deux espèces présentent des teneurs faibles et similaires.

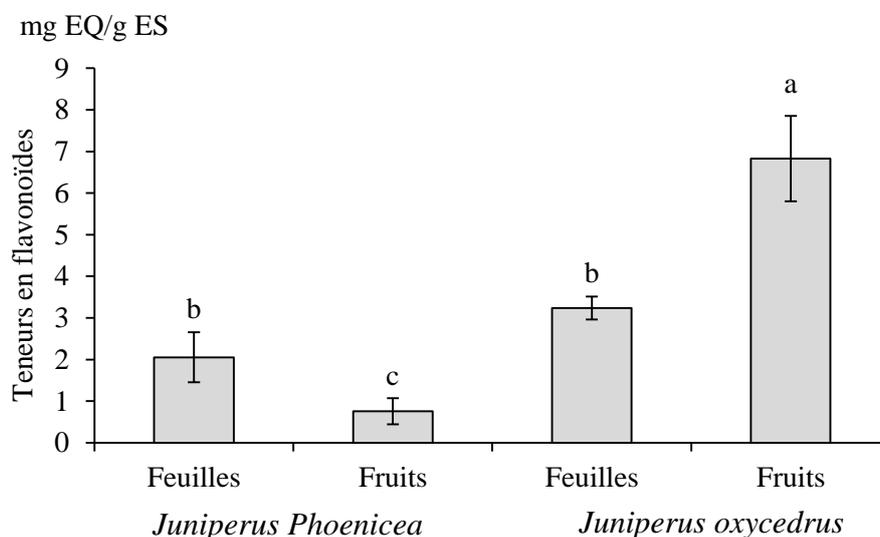
Les résultats obtenus pour les feuilles sont proches des autres études. En effet, Ben Mrid et al. (2019) et Soltani et al. (2018) ont révélé des concentrations élevées dans les feuilles de *J. oxycedrus* et de *J. phoenicea* avec 292,52 mg EAG/g ES et 180,78 mg EAG/g ES, respectivement.

Selon les deux auteurs, les fruits des deux espèces affichent des concentrations de 131,48 mg EAG/g ES pour *J. oxycedrus* et 16,75 mg EAG/g ES pour *J. phoenicea*.

La différence entre nos résultats et ceux trouvés dans la littérature est due à plusieurs paramètres qui sont généralement la méthode d'extraction utilisée, le solvant employé et le matériel végétal étudié. Cependant, les mesures des composés phénoliques ne reflètent pas directement la concentration exacte de polyphénols en raison des interférences potentielles avec la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode peut réagir avec les acides aminés (tyrosine, tryptophane) et les sucres réducteurs tels que le glucose (Hayouni et al., 2007).

### III.6.2 Flavonoïdes

La figure 13 montre les concentrations en flavonoïdes dans les fruits et les feuilles de *J. oxycedrus* et *J. phoenicea*



Les valeurs marquées par des lettres minuscules différentes (a-d) sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

**Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes**

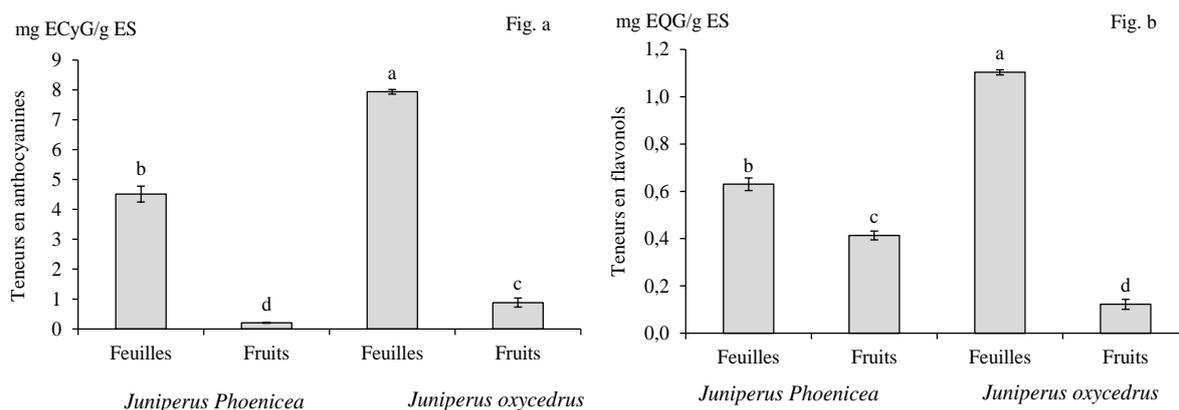
Les résultats obtenus dans notre étude montrent que la concentration la plus élevée a été observée dans les fruits de *J. oxycedrus* (6,83 mg EQ/g ES), suivie par les feuilles de la même espèce (3,23 mg EQ/g ES). Ensuite viennent les feuilles de *J. phoenicea* (2,05 mg EQ/g ES), puis les fruits de cette dernière espèce (0,76 mg EQ/g de ES).

Cependant, des études antérieures ont indiqué des teneurs différentes en flavonoïdes. L'étude de Fadel et al. (2016) a rapporté que les feuilles de *J. oxycedrus* contiennent 23,11 mg EQ/g ES, suivies des feuilles de *J. phoenicea* avec 13,949 mg EQ/g ES. D'autre part, Bouchmaa et al. (2019) ont trouvé des teneurs de 54,58 mg EQ/g ES pour les feuilles de *J. oxycedrus* et de 8,28 mg EQ/g ES pour les fruits de cette espèce.

Ces résultats divergent de ceux de notre étude, ce qui peut s'expliquer par le fait que nous avons broyé les fruits entiers (péricarpes avec les graines qui ne sont pas riches en composés phénoliques). Cela pourrait avoir entraîné une dilution de la concentration en flavonoïdes dans nos échantillons de fruits. Par ailleurs, d'autres facteurs tels que l'espèce et la variété ainsi que des conditions environnementales peuvent influencer les teneurs en flavonoïdes

### III.6.3 Anthocyanines et flavonols

La figure 14 représente les différentes teneurs en flavonols et anthocyanines des deux parties de *J. phoenicea* et de *J. oxycedrus*.



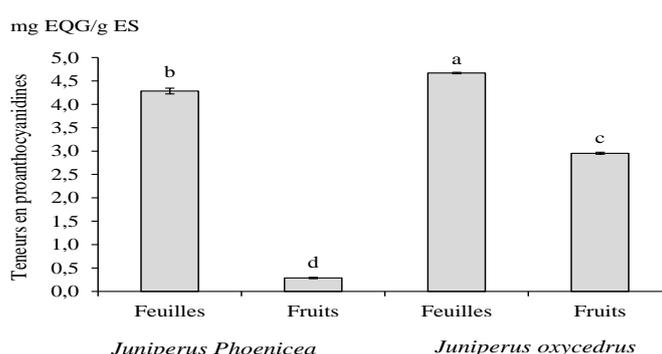
Les valeurs marquées par des lettres minuscules différentes (a-d) sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

**Figure 15 : Teneurs en anthocyanines (a) et en flavonols (b)**

On a obtenu des concentrations élevées en ces deux composés bioactifs dans les feuilles des deux espèces, mais celles de *J. oxycedrus* ont enregistré des teneurs plus élevées par rapport à celles de *J. phoenicea*. Cependant, les fruits de ces dernières montrent de faibles concentrations. Les teneurs en anthocyanines varient de 0,20 mg ECyG/g ES pour les fruits de *J. phoenicea* à 7,94 mg ECyG/g ES pour les feuilles de *J. oxycedrus*. De plus, les concentrations en flavonols varient de 0,12 mg EQG/g ES pour les fruits de *J. oxycedrus* à 1,10 mg EQG/g ES pour les feuilles de la même espèce.

### III.6.4 Proanthocyanidines

La figure 15 montre les teneurs en proanthocyanidines (tanins condensés) des feuilles et des fruits des espèces étudiées.



Les valeurs marquées par des lettres minuscules différentes (a-d) sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

**Figure 16 : Teneurs en proanthocyanidines**

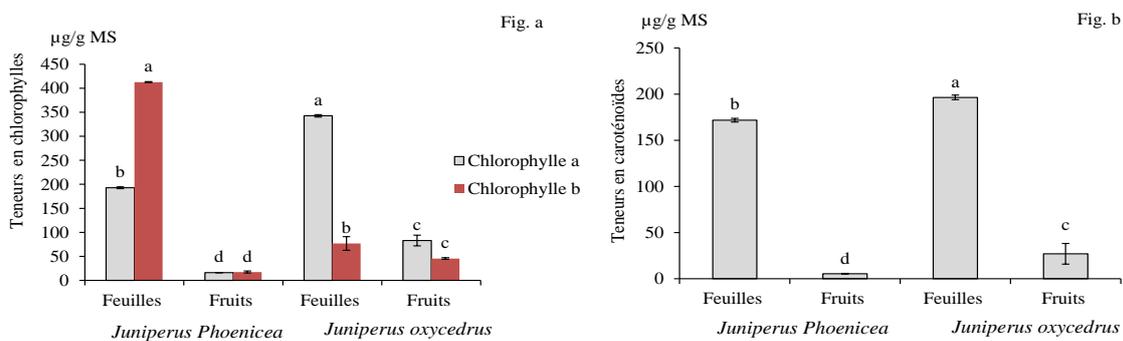
Les feuilles de *J. oxycedrus* possèdent la concentration la plus élevée (4,67 mg EQG/g ES), suivies par celles de *J. phoenicea* (4,29 mg EQG/g ES). Ensuite viennent les fruits de *J.*

*oxycedrus* (2,95 mg EQG/g ES). En revanche, les fruits de *J. phoenicea* affichent des teneurs faibles (0,29 mg EQG/g ES).

À des fins de comparaison, les études de Ennajjar et al. (2009) ont révélé des teneurs en proanthocyanidines de 6,02 mg EQG/g ES dans les feuilles et de 0,65 mg EQG/g ES dans les fruits de *Juniperus phoenicea*. En revanche, d'autres auteurs rapportent que les fruits de *Juniperus oxycedrus* contiennent 2,30 mg EQG/g ES de proanthocyanidines, tandis que les feuilles en contiennent 8,9 mg EQG/g ES (Yuca et al., 2023). Nos résultats semblent confirmer les tendances générales observées, même si les valeurs peuvent présenter des variations légères d'une étude à l'autre.

### III.7 Dosage des Chlorophylles et des caroténoïdes

Le graphique (figure 16) ci-dessous présente la répartition des chlorophylles et des caroténoïdes dans les feuilles et les fruits de deux espèces de genévrier :



Les valeurs marquées par des lettres minuscules différentes (a-d) sont significativement différentes ( $p < 0,05$ )

#### Figure 17: Dosage des Chlorophylles (a) et des caroténoïdes (b)

Les feuilles présentent des concentrations plus élevées en chlorophylle a, chlorophylle b et caroténoïdes avec des valeurs de 192,86 µg/g MS ; 412,78 µg/g MS ; 171,82 µg/g MS, respectivement pour *J. phoenicea* et des valeurs de 324,64 µg/g MS ; 76,84 µg/g MS ; 196,47 µg/g MS, respectivement pour *J. oxycedrus* indiquant une activité photosynthétique plus intense par rapport aux fruits.

La quantification des pigments n'a jamais été effectuée pour les espèces sélectionnées. Par conséquent, des comparaisons ont été effectuées avec d'autres espèces de la même famille. Les résultats confirment les observations préliminaires.

l'étude réalisée par Jabbour et Alzahrani (2024) sur les feuilles de *Juniperus procera* montre des teneurs en chlorophylle a, chlorophylle b et caroténoïdes de 342,64 µg/g MS, 98,9 µg/g MS et 159 µg/g MS, respectivement. De même, l'étude de Stankov, et al. (2020) indique

que les fruits de *Juniperus excelsa* ont des teneurs respectives de 94,2 µg/g MS, 51,5 µg/g MS et 46,5 µg/g MS.

### III.8 Activité antioxydante

Le test de DPPH est réalisé pour les HE ainsi que pour les ExOH des feuilles et des fruits des deux espèces.

**Tableau X : Tableau récapitulatif des IC50**

IC 50 (mg/ml)	Huiles essentielles				Extraits éthanoliques			
	<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.		<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
	23,25	21,11	18,78	24,07	0,21	0,22	0,10	0,45

#### III.8.1 Huiles essentielles

Le tableau IX montre les IC50 du DPPH pour les HE des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* et *J. oxycedrus*. Il est important de noter que des valeurs plus faibles d'IC50 indiquent une activité plus importante.

Les résultats sont les suivants :

- l'HE des feuilles de *J. oxycedrus* présente l'activité antioxydante la plus élevée par rapport à celle de *J. phoenicea*. Tandis que c'est le contraire pour les fruits.
- L'HE des feuilles de *J. phoenicea* a une IC50 de 23,25 mg/ml, tandis que celle des fruits est de 21,11 mg/ml, indiquant que l'HE des fruits est plus efficace pour inhiber les radicaux DPPH.

les travaux de Mansour et al. (2023) ont rapporté une IC50 de 35,440 mg/ml pour les HE extraites des feuilles de *J. phoenicea*, et Ennajjar et al. (2009) ont trouvé une IC50 de 14,417 mg/ml pour les fruits.

- L'HE des feuilles de *J. oxycedrus* a une IC50 de 18,78 mg/ml, et celle des fruits a une IC50 de 24,06 mg/ml, suggérant que l'HE des feuilles est plus efficace.

Cependant, les résultats de Loizzo et al. (2007) indiquent que les HE des fruits de *J. oxycedrus* ont une activité antioxydante plus importante que celles des feuilles, avec des IC50 de 17,42 mg/ml et 22,72 mg/ml, respectivement.

En comparant nos résultats avec ceux des études précédentes, nous constatons des différences concernant *J. phoenicea*.

Ces variations peuvent être expliquées par le type de MV étudié et les différences dans la composition chimique, influencées par des paramètres tels que le climat, la maturité et la localisation.

### III.8.2 Extraits éthanoliques

Le tableau IX présente les IC50 des radicaux de DPPH pour les ExOH des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* et *J. oxycedrus*. Les résultats sont les suivants :

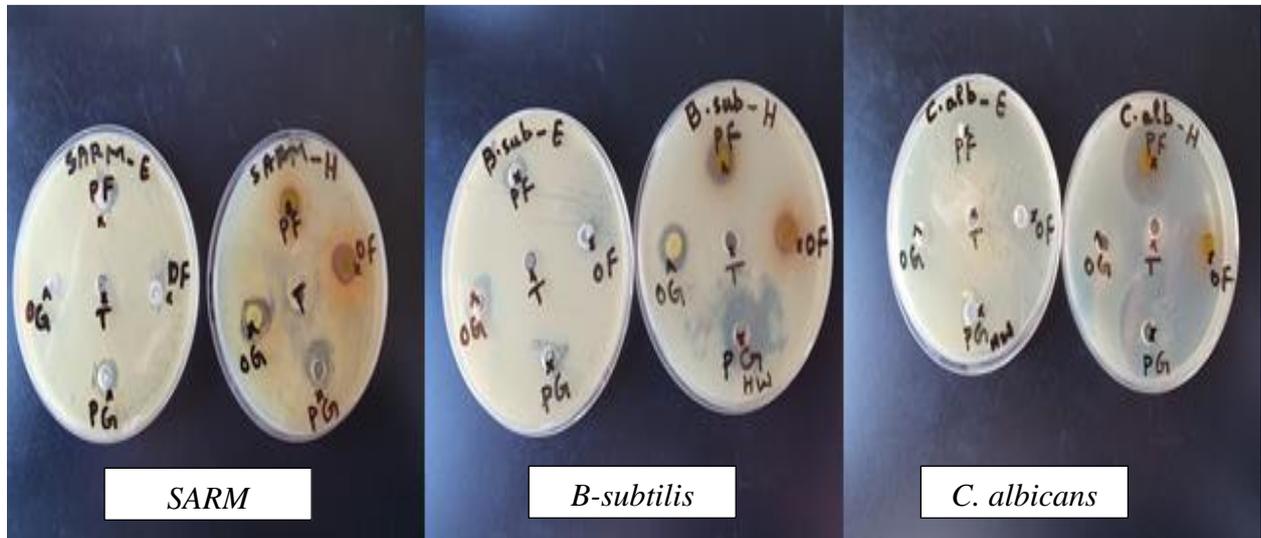
- Les ExOH des feuilles de *J. oxycedrus* présentent la capacité antioxydante la plus élevée avec une IC50 de 0,1 mg/ml, par rapport à celles de *J. phoenicea* (IC50 de 0,15 mg/ml). De même, les fruits de *J. phoenicea* (IC50 de 0,22 mg/ml) montrent une activité antioxydante supérieure à celle des fruits de *J. oxycedrus* (IC50 de 0,446 mg/ml).
- Les ExOH des feuilles de *J. phoenicea* ont une IC50 de 0,21 mg/ml, tandis que les extraits des fruits présentent une IC50 de 0,22 mg/ml. Cela indique que les feuilles et les fruits de *J. phoenicea* ont une activité antioxydante similaire.
- Les ExOH des feuilles de *J. oxycedrus* ont une IC50 de 0,1 mg/ml, tandis que ceux des fruits ont une IC50 de 0,45 mg/ml. Ces résultats montrent que les feuilles de *J. oxycedrus* ont une activité antioxydante plus élevée que les fruits.

Fadel et al. (2016) et Živić et al. (2019) ont rapporté les IC50 des ExOH des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* à 0,403 mg/ml et 0,540 mg/ml, respectivement, et ceux des feuilles et des fruits de *J. oxycedrus* à 0,481 mg/ml et 0,644 mg/ml, respectivement.

En conclusion, les recherches antérieures confirment nos résultats en montrant que les ExOH de *J. oxycedrus* présentent la plus haute capacité antioxydante.

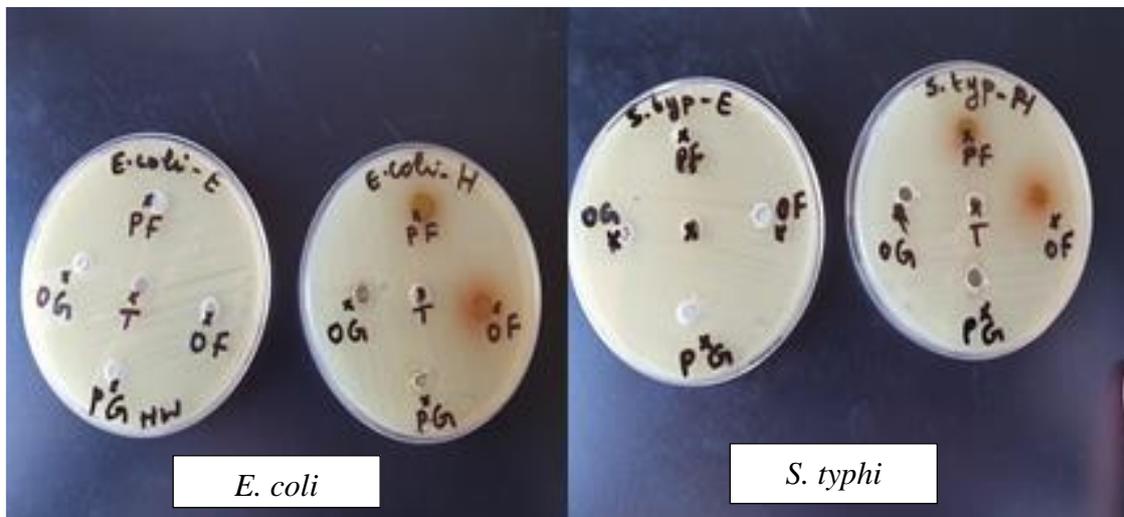
### III.9 Activité antimicrobienne

Les figures 20 et 21 présentent les résultats du test de diffusion des puits pour certains microorganismes testés :



E : Extrait éthanolique / H : Huile essentielle

**Figure 18 : Souches de Microorganismes avec Présence de Zones d'Inhibition**



E : Extrait éthanolique / H : Huile essentielle

**Figure 19 : Souches de microorganismes sans présence de zones d'inhibition**

Les résultats montrent que l'activité antimicrobienne varie selon le type de microorganisme et la nature de l'échantillon. Plusieurs points importants ressortent de cette analyse. Les HE ont démontré une activité antibactérienne plus puissante que les ExOH contre la plupart des microorganismes testés.

Pour les bactéries à gram positif, la bactérie la plus sensible est *S. aureus* suivie de *SARM*, les HE ont été plus efficaces que les ExOH. En revanche, les bactéries à gram négatif sont avérées résistantes à tous les échantillons.

Concernant l'activité antifongique, les HE et les ExOH ont montré une efficacité contre la levure *C. albicans*, les HE étant encore une fois plus efficaces.

En comparant les deux espèces, les HE de *J. phoenicea* ont démontré une efficacité supérieure à celles de *J. oxycedrus*, tandis que pour les ExOH, *J. oxycedrus* s'est révélé plus performant.

Les diamètres des zones d'inhibition sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XI : Résultats du test de diffusion sur puits**

Gram	Germe cible	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)							
		Extraits éthanoliques				Huiles essentielles			
		<i>J. phoenicea</i>		<i>J. oxycedrus</i>		<i>J. phoenicea</i>		<i>J. oxycedrus</i>	
		Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
+	<i>SARM</i>	12	10	9	14	18	15	14	14
	<i>S. aureus</i>	15	13	20	20	25	25	18	18
	<i>B. subtilis</i>	10	15	0	12	14	23	13	14
-	<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>S. typhi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>K.pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
/	<i>C. albicans</i>	18	23	17	22	25	30	18	0

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Ennajar et al. (2009). En effet, *E. coli* et *K. pneumoniae* n'ont pas été inhibées ni par les HE ni par les ExOH de *J. phoenicea*. Tandis que, des zones d'inhibition ont été observées pour *B. subtilis* et *S. aureus*, bien que certaines variations aient été notées. De même pour les HE et les ExOH de *J. oxycedrus*, et cela a été confirmé par Mërtiri et al. (2024).

A titre de comparaison, l'étude de N Mansouri et al. (2010) rapporte que l'activité antimicrobienne des HE de *J. oxycedrus* peut être attribuée à leurs composés majoritaires, notamment l' $\alpha$ -pinène, connu pour ses propriétés antibactériennes, anti-inflammatoires et herbicides.

Ce composé joue un rôle clé dans l'efficacité observée contre les micro-organismes testés. Selon cette étude, l'HE de *J. oxycedrus* présente une bonne activité inhibitrice contre *C. albicans* et *S. aureus*, ce qui confirme nos résultats.

Par ailleurs, l'HE de *J. phoenicea* démontre une forte activité antifongique grâce à la synergie entre ses divers composés volatils. Les monoterpènes, tels que l' $\alpha$ -pinène, le sabinène et le  $\beta$ -pinène, ainsi que les sesquiterpènes comme l' $\alpha$ -cédrene et le  $\beta$ -caryophyllène, perturbent les membranes cellulaires des champignons grâce à leur nature lipophile, provoquant des fuites et la mort des cellules fongiques.

Les composés phénoliques renforcent cette action en affaiblissant les défenses des champignons, rendant l'HE particulièrement efficace contre les infections fongiques.

Enfin, il est essentiel de considérer l'effet synergique entre les différents constituants des HE des deux espèces, qui pourrait également contribuer de manière significative à leur activité antimicrobienne (Hajji-Hedfi et al., 2024).

On peut expliquer que les HE sont généralement plus efficaces contre les bactéries à Gram positif que contre les bactéries à Gram négatif en raison des différences dans la structure de leur paroi cellulaire. Les bactéries à Gram positif ont une paroi cellulaire plus simple, principalement composée de peptidoglycane, ce qui permet aux molécules hydrophobes des HE de pénétrer plus facilement et d'agir à la fois sur la paroi et à l'intérieur du cytoplasme. En revanche, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe supplémentaire riche en lipopolysaccharides, formant une barrière protectrice qui limite la diffusion des composés des HE vers le cytoplasme (Martins, 2020).

### **Les concentrations minimales inhibitrices des extraits éthanoliques et des huiles essentielles testés**

Les concentrations des différentes dilutions sont calculées par la loi suivante:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Où :

**C<sub>1</sub>** : est la concentration initiale en extrait brut (50  $\mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ ) ou huile essentielle brute.

**V<sub>1</sub>** : volume de l'extrait ou de l'huile ajouté dans le puits.

**V<sub>2</sub>** : volume final du mélange réactionnel : milieu Muller-Hinton additionnée de la culture microbienne et de l'extrait ou de l'huile (100  $\mu\text{l}$ ).

**C<sub>2</sub>** : est la concentration finale de l'extrait brut ou l'huile essentielle (en  $\mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ ).

Les CMI trouvées sont mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau XII : Détermination des CMI**

Souche cible	Extrait éthanolique ( $\mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ )				Huile essentielle ( $\mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ )			
	<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.		<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
<i>S. aureus</i>	6,25	6,25	3,13	0,39	12,25	25	6,25	25
<i>C. albicans</i>	6,25	0,78	1,56	3,13	6,25	25	12,25	25

Le tableau XI représente les valeurs des CMI pour *S. aureus* et *C. albicans*. Les CMI des ExOH et des HE de *J. oxycedrus* et de *J. phoenicea* varient de 0,39 à 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  pour *S. aureus* et de 0,78 à 25  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  pour *C. albicans*.

L'ExOH des fruits de *J. oxycedrus* montre une plus grande efficacité contre *S. aureus*, avec une CMI de 0,39  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . En revanche, *C. albicans* est plus sensible à L'ExOH des fruits de *J. phoenicea*, avec une CMI de 0,78  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ .

***CONCLUSION***

***ET***

***PERSPECTIVES***

## Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales et aromatiques sont reconnues pour leur propriété antimicrobienne et antioxydante.

Cette étude démontre le potentiel des ExOH et des HE des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* et *J. oxycedrus*. Leur capacité à inhiber la croissance microbienne et à neutraliser les radicaux libres souligne leur importance pour le développement de solutions alternatives contre les infections et le stress oxydatif.

L'hydrodistillation des HE a permis d'obtenir des rendements de 0,790 % et 1,998% pour les feuilles et fruits de *J. phoenicea*, et de 0,09 % et 1,09 % pour *J. oxycedrus*. Les ExOH ont montré des rendements de 15,99 % et 17,89 % pour les feuilles et les fruits de *J. phoenicea*, et de 11,84 % et 5,64 % pour les feuilles et les fruits de *J. oxycedrus*.

En comparant entre les deux espèces, les dosages ont révélé que les feuilles de *J. oxycedrus* sont particulièrement riches en polyphénols, anthocyanines, flavonols et proanthocyanidines, tandis que les fruits de *J. oxycedrus* se distinguent par leur teneur élevée en flavonoïdes. D'autre part les feuilles des deux espèces sont riches en chlorophylles et en caroténoïdes.

L'activité antioxydante a été déterminée par la méthode de DPPH pour les différents organes des plantes étudiées. L'évaluation de l'activité antioxydante révèle que les ExOH et les HE des feuilles de *J. oxycedrus* ont l'activité antioxydante la plus élevée avec IC50 de 0,1 mg/ml et 18,78 mg/ml, respectivement.

Nous avons étudié l'efficacité antibactérienne des HE et des ExOH des fruits et feuilles de deux espèces sur huit souches microbiennes, incluant trois à gram positif, quatre à gram négatif et une levure. Globalement, les HE ont montré une activité antimicrobienne plus prononcée. Cependant, les HE de *J. phoenicea* se sont révélées les plus efficaces contre les souches à gram positif ainsi que la levure, en comparaison avec celles de *J. oxycedrus*. Les souches les plus sensibles étaient *S. aureus* et *C. albicans*, présentant des zones d'inhibition significatives et des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) intéressantes.

Les résultats confirment que les ExOH et les HE de *J. phoenicea* et *J. oxycedrus* sont de véritables réservoirs de molécules bioactives, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour leur utilisation future dans différents domaines.

Dans l'industrie agroalimentaire, leurs substances antimicrobiennes et antioxydantes peuvent être utilisées comme agents de conservation naturels, prolongeant la durée de conservation des aliments en inhibant la croissance microbienne et en prévenant l'oxydation des lipides et autres.

Comme perspectives et afin de compléter ce travail, il est recommandé de :

- Caractériser les différentes HE ainsi que les ExOH par CG-SM et LCMS ;
- Faire d'autres activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, et autres activités antioxydantes ( $\beta$ -carotène);
- Tester ces HE et extraits sur l'oxydation lipidique des huiles végétales (rancimat) ;
- Tester leurs effets sur la stabilité des aliments après leur incorporation dans l'emballage alimentaire et les films biodégradables;
- Tester leurs toxicités avant leur utilisation alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

***REFERENCES***

***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographiques

#### « A »

- Abu-Darwish, M., Gonçalves, M., Cabral, C., Cavaleiro, C., & Salgueiro, L. (2013). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Juniperus phoenicea* subsp. *phoenicea* berries from Jordan. *Acta Alimentaria*, 42(4), 504-511.
- Alili, D., Brahim, O., & Doumandji, A. (2022). Obtention et caractérisation physicochimique et chromatographique de l'huile essentielle des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. (Fenouil sauvage). *Agrobiologia*, 12(1), 2850-2861.

#### « B »

- Bachir, K., Tail, G., Zamoum, M., Aci, L., Cherif, H., & Saidi, F. (2017). Infestation by *Thaumetopoea pityocampa* Den. & Schiff. in two pine forest from the region of Djelfa (Algeria) and *in vitro* impact of *Juniperus oxycedrus* and *Juniperus phoenicea* on mortality and larvae consumption.
- Belhaddad, O. E., Zidane, S., Amamra, S., Bouchelouche, K., Mohamadi, S., Bouzidi, L., et al. (2023). Phytochemical characterization, biological screening and corrosion inhibition of mild steel from extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Notulae Scientia Biologicae*, 15(4), 11635-11635.
- Ben Mrid, R., Bouchmaa, N., Bouargalne, Y., Ramdan, B., Karrouchi, K., Kabach, I., et al. (2019). Phytochemical characterization, antioxidant and *in vitro* cytotoxic activity evaluation of *Juniperus oxycedrus* Subsp. *oxycedrus* needles and berries. *Molecules*, 24(3), 502.
- Beniaich, G., Beniken, M., Salim, R., Arrousse, N., Ech-chihbi, E., Rais, Z., et al. (2023). Anticorrosive effects of essential oils obtained from white wormwood and arâr plants. *Separations*, 10(7), 396.
- Besombes, C. (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
- Boizot, N., & Charpentier, J.-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, In: Numéro spécial, 79-82.

## Références bibliographiques

---

- Bouchmaa, N., Bouargalne, Y., Ramdan, B., Karrouchi, K., Kabach, I., El Karbane, M., et al. (2019). Phytochemical Characterization, Antioxidant and *In Vitro* Cytotoxic Activity Evaluation of *Juniperus oxycedrus* Subsp. *oxycedrus* Needles and Berries. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(3), E502-E502.
- Boudjit, D., El-hadi, D., & Announ, M. (2022). Étude De L'influence De La Taille Des Particules De La Poudre Des Ecorces Des Fruits De Mandarine: *Citrus Reticulata Blanco* L. Sur Le Rendement Et La Qualite De L'huile Essentielle. *Agrobiologia*, 12(1), 2862-2869.
- Boukhaloua, A., Berrayah, M., Bennabi, F., Ayache, A., & Abdeldjebar, F. (2022). Antibacterial activity and identification by GC/MS of the chemical composition of essential oils of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus* L. from Western Algeria: Tiaret province. *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(5), 31-39.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*(3), 37.
- Bouyahyaoui, A. (2017). *Contribution à la valorisation des substances naturelles: Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien* (Doctoral dissertation, Thèse Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences biologique. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 89p).
- Boyd, B., Ford, C., Koepke, M., Gary, K., Hom, E., Mc Analley, S., et al. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*, 4(6), 7.

« C »

- Chikhoun, A. (2007). *Huiles essentielles de thym et d'origan* (Doctoral dissertation, INA).
- Cisse, M., Faye, P. G., Ayessou, N., Mar, C., & Sakho, M. (2017). Etude de la stabilité des anthocyanes d'*Hibiscus sabdariffa* L. par incorporation de différents extraits végétaux. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 44.

## Références bibliographiques

---

### « D »

- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., et al. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent advances in natural products analysis* (pp. 505-567): Elsevier.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Djousse, B. M. K., Ngoune, N. F., Djoukeng, H. G., Nono, L. W., Sogang, H. S., & Tangka, J. K. (2022). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques cultivées à l'Ouest-Cameroun: *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Cymbopogon citratus*. *Cameroon J Biological and Biochemical Sciences*, 30(2), 121-133.
- Dris, A., Soudani, M., & Zemmal, S. (2022). *Effet larvicide de l'huile essentielle de Juniperus phoenicea chez Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- Duval, L. (2012). *Les huiles essentielles à l'officine*.

### « E »

- El Ajjour, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., et al. (2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre.
- Elmhalli, F., Garboui, S. S., Karlson, A. K. B., Mozūraitis, R., Baldauf, S. L., & Grandi, G. (2021). Acaricidal activity against *Ixodes ricinus* nymphs of essential oils from the Libyan plants *Artemisia herba alba*, *Origanum majorana* and *Juniperus phoenicea*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 24, 100575.
- Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., et al. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L.(Cupressaceae). *Journal of Food Science*, 74(7), (M364-M371).

## Références bibliographiques

---

### « F »

- Fadel, H., Benayache, F., & Benayache, S. (2016). Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl). *Der Pharmacia Lettre*, 8(3), 72.
- Fourmentin, S., & Kfoury, M. (2024). Les huiles essentielles: renaissance d'ingrédients naturels et durables Essential oils: the renaissance of natural and sustainable ingredients. *Technologie et innovation*, 24(9), 1-21.

### « G »

- Guerroudj, S., Maatoug, M., Naceur, K., Chaibi, R., Khene, M., & Boualem, A. (2021). Extraction, yield and chemical composition of essential oils of *Juniperus oxycedrus* L. from Tiaret region (Algeria). *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(10), 105-111.
- Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D., Sokmen, A., et al. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food chemistry*, 103(4), 1449-1456.

### « H »

- Hajji-Hedfi, L., Rhouma, A., Hlaoua, W., Dmitry, K. E., Jaouadi, R., Zaouali, Y., et al. (2024). Phytochemical characterization of forest leaves extracts and application to control apple postharvest diseases. *Scientific Reports*, 14(1), 2014.
- Hassane, S. O. S., Satrani, B., Ghanmi, M., Mansouri, N., Mohamed, H., & Chaouch, A. (2011). Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de *Plectranthus aromaticus* Roxb. de l'Ile de la Grande Comore. *BASE*.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134.
- Hoummani, H., Sahli, M. Y., Chebat, A., Hida, M., & Achour, S. (2019). Intoxication infantile au *Juniperus oxycedrus* (huile de cade): à propos de 4 décès. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 31(2), 129-133.
- Hrazdina, G., Marx, G. A., & Hoch, H. C. (1982). Distribution of secondary plant metabolites and their biosynthetic enzymes in pea (*Pisum sativum* L.) leaves: anthocyanins and flavonol glycosides. *Plant physiology*, 70(3), 745-748.

## Références bibliographiques

---

### « I »

Ismaili, R. & Lanouari, S. (2024). Huiles essentielles au Maroc Etude ethnopharmacologique de quatre plantes médicinales et aromatiques Essential oils in Morocco Ethnopharmacological study of four medicinal and aromatic plants. *International Journal of Sciences & Technology (IJST)*, 01(01), 19 - 27.

### « J »

Jabbour, A. A., & Alzahrani, A. (2024). The impact of chemical and hormonal treatments to improve seed germination and seedling growth of *Juniperus procera* Hochst. ex Endl. *PeerJ*, 12, e17236.

### « K »

Kachmar, M. R., El Majdoub, Y. O., Oliveira, A. P., Bouymajane, A., Mrabti, H. N., Bouddine, T., et al. (2024). *Juniperus oxycedrus* leaves and berries extracts: HPLC-PDA-ESI/MS2 phenolic characterization and *in vitro* anti-inflammatory effects. *Phytomedicine Plus*, 4(2), 100528.

Kurji, B. M., Abed, K. M., Rashid, S. A., & Abdulmajeed, B. A. (2019). Kinetics and thermodynamics of peppermint oil extraction from peppermint leaves. *Iraqi Journal of Chemical and Petroleum Engineering*, 20(4), 1-6.

### « L »

Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.

Loizzo, M. R., Tundis, R., Conforti, F., Saab, A. M., Statti, G. A., & Menichini, F. (2007). Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food chemistry*, 105(2), 572-578.

### « M »

Maidi, L., & Dahia, M. (2022). Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L.(Lamiaceae) de la région d'El Assafia (W. de Laghouat) Algérie.

Mansour, R. B., Wasli, H., Bourgou, S., Khamessi, S., Ksouri, R., Megdiche-Ksouri, W., et al. (2023). Insights on *Juniperus phoenicea* essential oil as potential anti-proliferative, anti-tyrosinase, and antioxidant candidate. *Molecules*, 28(22), 7547.

Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Aafi, A., & Farah, A. (2010). Valorization of the essential oils of Moroccan *Juniperus thurifera* and *Juniperus oxycedrus*. *Phytothérapie*, 8, 166-170.

## Références bibliographiques

---

- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Guedira, A., & Aafi, A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du Maroc. *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège*.
- Martínez-Cámara, S., Ibañez, A., Rubio, S., Barreiro, C., & Barredo, J.-L. (2021). Main carotenoids produced by microorganisms. *Encyclopedia*, 1(4), 1223-1245.
- Martins, A. (2020). *Les huiles essentielles antibactériennes: exemple du thym (thymus)*.
- Melkina, O. E., Plyuta, V. A., Khmel, I. A., & Zavilgelsky, G. B. (2021). The mode of action of cyclic monoterpenes (–)-limonene and (+)- $\alpha$ -pinene on bacterial cells. *Biomolecules*, 11(6), 806.
- Menaceur, F. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier (Doctoral dissertation, ENSA).
- Meriem, A., Msaada, K., Sebai, E., Aidi Wannes, W., Salah Abbassi, M., & Akkari, H. (2022). Antioxidant, anthelmintic and antibacterial activities of red juniper (*Juniperus phoenicea* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 34(2), 163-172.
- Mërtiri, I., Păcularu-Burada, B., & Stănciuc, N. (2024). Phytochemical Characterization and Antibacterial Activity of Albanian *Juniperus communis* and *Juniperus oxycedrus* Berries and Needle Leaves Extracts. *Antioxidants*, 13(3), 345.
- Miara, M., Hammou, M. A., & Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11(4), 206-218.
- Monribot-Villanueva, J. L., Rodríguez-Fuentes, J. S., Landa-Cansigno, C., Infante-Rodríguez, D. A., Díaz-Abad, J. P., & Guerrero-Analco, J. A. (2020). Comprehensive profiling and identification of bioactive components from methanolic leaves extract of *Juniperus deppeana* and its *in vitro* antidiabetic activity. *Canadian Journal of Chemistry*, 98(12), 764-770.
- Mortadi, K., El Amri, A., Ouakki, M., Hsissou, R., Jebli, A., Lebkiri, A., et al. (2024). Electrochemical and theoretical studies on a bioactive *Juniperus oxycedrus* essential oil as a potential and ecofriendly corrosion inhibitor for mild steel in 1.0 M HCl environment. *Inorganic Chemistry Communications*, 112196.
- Moutchou, S., Badjah-hadj-ahmed, A. Y., Khemici, M., Himrane, H., & Aïd, F. (2024). Etude comparative de la composition de l'huile essentielle du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) obtenue par trois procédés d'extraction (macération, soxhlet et distillation). *Annales de la Recherche Forestière en Algérie*, 14(1), 14-22.

## Références bibliographiques

---

### « N »

Nedjimi, B., 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*, 8(2), 243-246.

### « O »

Ouerghemmi, I., Rebey, I. B., Rahali, F. Z., Bourgou, S., Pistelli, L., Ksouri, R., et al. (2017). Antioxidant and antimicrobial phenolic compounds from extracts of cultivated and wild-grown Tunisian *Ruta chalepensis*. *Journal of food and drug analysis*, 25(2), 350-359.

### « P »

Poncet, P., Charpin, D., & Sénéchal, H. (2022). Republication de: Les Cupressacées des cinq continents. *Revue Française d'Allergologie*, 62(3), 249-252.

### « Q »

Quezel, P. (1979). La région méditerranéenne française et ses essences forestières, signification écologique dans le contexte circum-méditerranéen. *Forêt méditerranéenne*, 1(1), 7-18.

### « R »

Rambaran, T. F. (2020). Nanopolyphenols: A review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*, 2(8), 1335.

### « S »

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*, 89(2), 191-198.

Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., & Benyamina, A. (2018). Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Phytothérapie*, 16(3), 142.

Stark, T. D., Mtui, D. J., & Balemba, O. B. (2013). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of gastrointestinal pain, inflammation and diarrhea in Africa: future perspectives for integration into modern medicine. *Animals*, 3(1), 158-227.

## Références bibliographiques

---

### « T »

Talbi, O., Benabdeli, K., Benhanifia, K., & Haddouche, D. (2018). Cartographie des zones de risque de feux de forêt dans la commune de Doui Thabet, Saïda, Algérie. *International Journal of Environmental Studies*, 75(4), 543-552.

Thormar, H. (2011). Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents.

Tousignant, L. (2022). *Identification et caractérisation fonctionnelle d'orthologues de la norbelladine synthase chez Leucojum aestivum et Narcissus papyraceus*. Université du Québec à Trois-Rivières.

### « W »

Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144(3), 307-313.

### « Y »

Yangilar, F. (2021). Biological activities, health benefits, extraction methods, food applications and beneficial effects of essential oils.

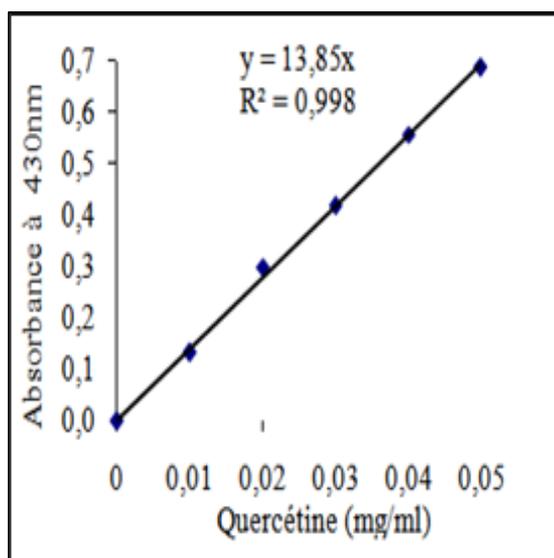
Yuca, H., Demircan, H. C., Aydın, B., Önal, M., Tekman, E., Civaş, A., et al. (2023). comparison of some biological activities and catechin tannin contents of two *Juniperus* and *prunus* species. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47(2), 650-666.

### « Z »

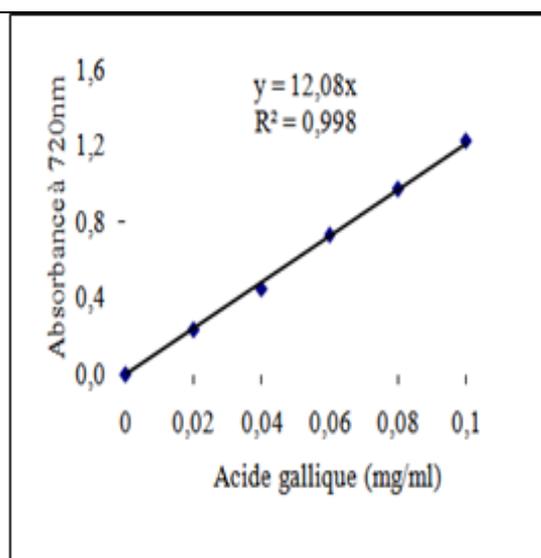
Živić, N., Milošević, S., Dekić, V., Dekić, B., Ristić, N., Ristić, M., et al. (2019). Phytochemical and antioxidant screening of some extracts of *Juniperus communis* L. and *Juniperus oxycedrus* L. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(5).

# ***ANNEXES***

Annexes



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes



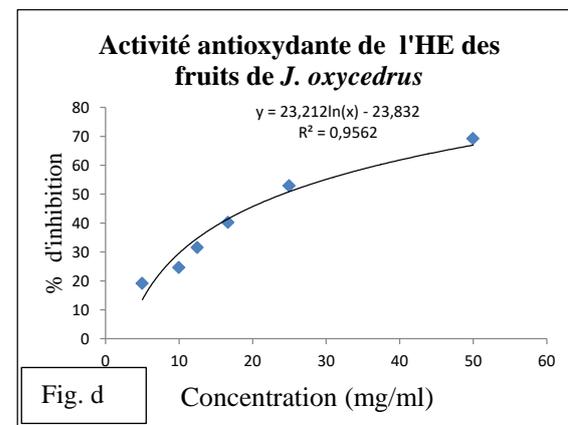
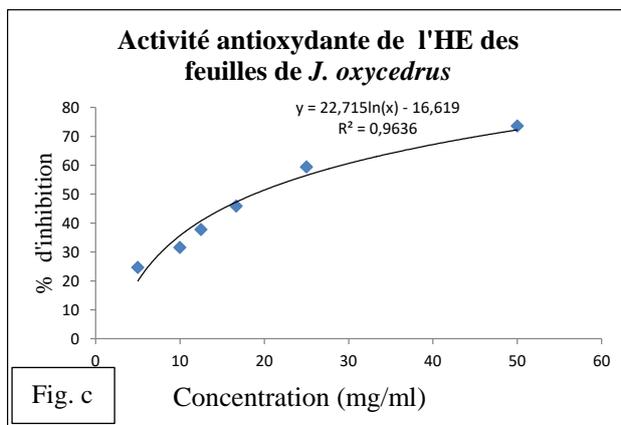
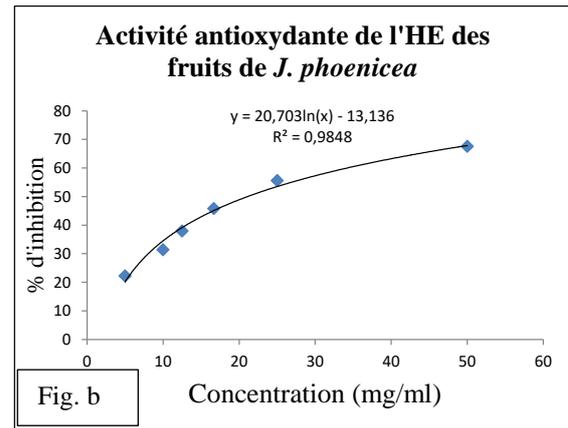
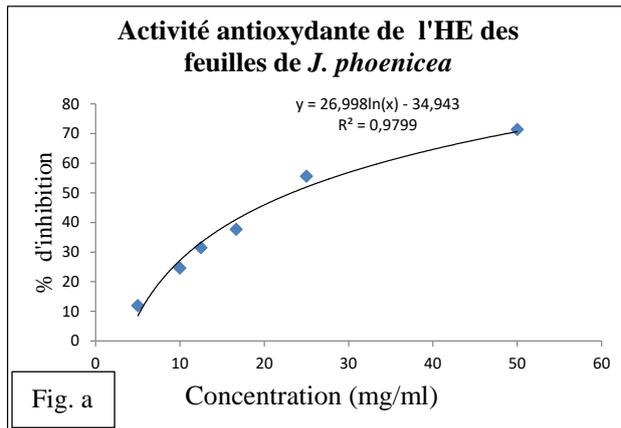
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques

Annexe 3 : Concentrations en composés bioactifs

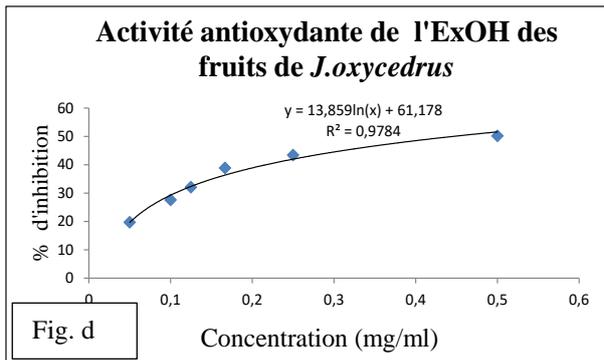
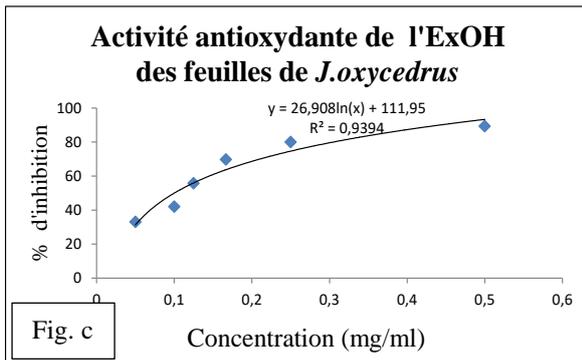
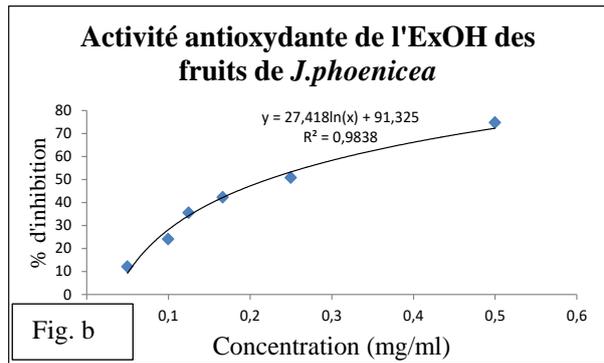
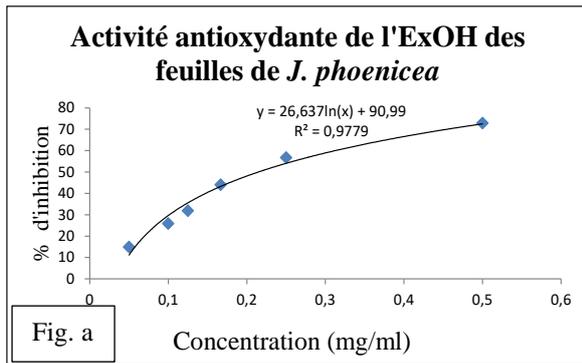
	<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Composés phénoliques (mg EAG/g ES)	231,45	4,85	283,11	7,52
Flavonoïdes (mg EQ/g ES)	2,05	0,76	3,23	6,83
Anthocyanines (mg ECyG/g ES)	4,51	0,20	7,94	0,88
Flavonols (mg EQG/g ES)	0,63	0,41	1,1	0,12
Proanthocyanidines (mg EQG/g ES)	4,29	0,29	4,67	2,95

Annexe 4 : Teneurs en chlorophylles et caroténoïdes

	<i>J. phoenicea</i> L.		<i>J. oxycedrus</i> L.	
	Feuilles	Fruits	Feuilles	Fruits
Chlorophylle a (µg/g MS)	192,86	16,27	342,64	82,91
Chlorophylle b (µg/g MS)	412,78	17,30	76,84	45,47
Caroténoïdes (µg/g MS)	171,82	5,46	196,47	27,02



**Annexe 5 : Activité antioxydante des HE des feuilles (a) et des fruits (b) de *J. phoenicea* L., et des feuilles (c) et des fruits (d) de *J. oxycedrus* L.**



**Annexe 6 : Activité antioxydante des ExOH des feuilles (a) et des fruits (b) de *J. phoenicea* L., et des feuilles (c) et des fruits (d) de *J. oxycedrus* L.**

**Annexe 7 : Concentrations des extraits pour la Détermination des CMI**

Puits	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C <sub>2</sub> (µg. µL <sup>-1</sup> )	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0,78125	0,39	0,1953	0,0976
Dilutions des HE	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des HE et des ExOH des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* L., et *J. oxycedrus* L. Les HE ont été extraites par hydrodistillation et les ExOH par macération. L'activité antioxydante a été mesurée par le test du DPPH et l'activité antimicrobienne par diffusion sur puits, avec un dosage des composés phénoliques, chlorophylles et caroténoïdes. Les résultats montrent que le rendement en HE des fruits de *J. phoenicea* L. (1,998%) est plus élevé que celui des feuilles, de même que pour les ExOH, où les fruits de *J. phoenicea* L., ont enregistré le rendement le plus important (17,89%). Les dosages révèlent que les feuilles de *J. oxycedrus* L., sont riches en polyphénols (283,11 mg EAG/g ES), anthocyanines (7,94 mg ECyG/g ES), flavonols (1,10 mg EQG/g ES) et proanthocyanidines (4,67 mg EQG/g ES), tandis que les fruits de cette espèce se distinguent par leur teneur élevée en flavonoïdes (6,83 mg EQ/g ES). De plus, les feuilles des deux espèces sont riches en chlorophylles (pour *J. phoenicea* L.  $C_a = 192,86 \mu\text{g/g MS}$  ;  $C_b = 412,78 \mu\text{g/g MS}$  et pour *J. oxycedrus* L.  $C_a = 324,64 \mu\text{g/g MS}$  ;  $C_b = 76,84 \mu\text{g/g MS}$ ), et en caroténoïdes (pour *J. phoenicea* L.  $171,82 \mu\text{g/g MS}$  ; pour *J. oxycedrus* L.  $196,47 \mu\text{g/g MS}$ ). L'évaluation de l'activité antioxydante révèle que les ExOH et les HE des feuilles de *J. oxycedrus* L., possèdent l'activité la plus élevée, avec des IC50 de 0,1 mg/ml et 18,78 mg/ml, respectivement. L'activité antibactérienne a été testée sur huit souches microbiennes, dont trois à Gram<sup>+</sup>, quatre à Gram<sup>-</sup>, et une levure. Les HE de *J. phoenicea* L., se sont révélées particulièrement efficaces contre les souches à Gram<sup>+</sup> et *C. albicans*, qui ont montré des zones d'inhibition significatives et des CMI intéressantes qui varient de 0,93 à 25  $\mu\text{g.}\mu\text{l}^{-1}$  pour *S. aureus* et de 0,78 à 25  $\mu\text{g.}\mu\text{l}^{-1}$  pour *C. albicans*.

**Mots clés :** Huile essentielle, hydrodistillation, activité antioxydante, activité antimicrobienne, *Juniperus phoenicea*, *Juniperus oxycedrus*.

## Abstract

The aim of this study was to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of EO and ExOH from the leaves and fruits of *J. phoenicea* and *J. oxycedrus*. EOs were extracted by hydrodistillation and ExOHs by maceration. Antioxidant activity was measured by DPPH assay and antimicrobial activity by well diffusion, with phenolics, chlorophylls and carotenoids assayed. The results show that the EO yield of *J. phoenicea* fruits (1.998%) is higher than that of leaves, as is the case for ExOH, where *J. phoenicea* fruits recorded the highest yield (17.89%). Assays reveal that *J. oxycedrus* leaves are rich in polyphenols (283.11 mg EAG/g ES), anthocyanins (7.94 mg ECyG/g ES), flavonols (1.10 mg EQG/g ES) and proanthocyanidins (4.67 mg EQG/g ES), while the fruits of this species stand out for their high flavonoid content (6.83 mg EQ/g ES). In addition, the leaves of both species are rich in chlorophylls (for *J. phoenicea*  $C_a = 192.86 \mu\text{g/g MS}$ ;  $C_b = 412.78 \mu\text{g/g MS}$  and for *J. oxycedrus*  $C_a = 324.64 \mu\text{g/g MS}$ ;  $C_b = 76.84 \mu\text{g/g MS}$ ), and carotenoids (for *J. phoenicea*  $171.82 \mu\text{g/g MS}$ ; for *J. oxycedrus*  $196.47 \mu\text{g/g MS}$ ). Evaluation of antioxidant activity revealed that ExOH and EO from *J. oxycedrus* leaves possessed the highest activity, with IC50s of 0.1 mg/ml and 18.78 mg/ml, respectively. Antibacterial activity was tested on eight microbial strains, including three Gram<sup>+</sup>, four Gram<sup>-</sup> and one yeast. *J. phoenicea* EO proved particularly effective against Gram<sup>+</sup> strains and *C. albicans*, which showed significant zones of inhibition and interesting MICs ranging from 0.93 to 25  $\mu\text{g.}\mu\text{l}^{-1}$ ; for *S. aureus* and 0.78 to 25  $\mu\text{g.}\mu\text{l}^{-1}$  for *C. albicans*.

**Key words:** Essential oil, hydrodistillation, antioxidant activity, antimicrobial activity, *Juniperus phoenicea*, *Juniperus oxycedrus*.