

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



Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences de l'environnement

Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

Doctorat 3ème Cycle

En Sciences de l'Environnement

Option : Gestion, Valorisation des Ressources Naturelles et Développement Durable

THÈME

VALORISATION DES PLANTES CONDIMENTAIRES CULTIVEES ET SPONTANÉES DANS L'OUEST ALGERIEN : CAS DU GENRE ALLIUM

Présenté Par :

Melle MOUMENE FAIZA

Soutenu le : 23/11/2016

Devant le jury composé de :

Président :	Mr BENYAHIA Mohamed	Pr, UDL de Sidi Bel Abbès
Directeur de thèse :	Mme TOUMI BENALI Fawzia	MC-A, UDL de Sidi Bel Abbès
Examineurs :	Mr CHADLI Rabah	Pr, Université de Mostaganem
	Mr BEN ABDERRAHMNE Mokhtar	MC-A, UDL de Sidi Bel Abbès
	Mme MAGHARBI Aicha	MC-A, UDL de Sidi Bel Abbès

Année universitaire : 2016 -2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

« À Dieu qui nous a nantis de la formidable faculté de raisonnement et qui nous a donné le courage et la volonté, pour mener à terme ce modeste travail »

Alhamed li Allah le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux, L'Omniscient Et Le Généreux.

*Nous tenons à remercier sincèrement Mme **Toumi- Benali Fawzia**, maître de conférence à l'université Djillali Liabes, en tant que directrice de la thèse, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de cette thèse, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.*

*Nous remercions vivement Professeur **M. Benyahia**, d'avoir accepté de présider le jury de l'évaluation de ce modeste travail.*

*Notre gratitude va également à Pr **R. Chadli** pour avoir accepté de participer à ce jury.*

*Nous remercions également Dr **A. Magharbi** et Dr **M. Ben Abderrahmane**, pour avoir accepté de participer à ce jury.*

*Nous tenons à remercier le chef département des sciences de l'environnement de notre faculté Dr **M. A. Bouzidi** pour toutes les facilités dans notre parcours d'apprentissage et de recherche.*

*Nos sincères remerciements vont également à toutes les personnes qui travaillent au laboratoire de centre de mesure ; Mme **N. Nouredine** et Mme **B. Boutouizgaa** qui nous ont aidé dans l'expérimentation et dans l'utilisation du matériel de laboratoire.*

Nos sincères remerciements vont également à tous les ingénieurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie ; Mr N. Makhfi , Mme F. Hadade, Mr Y. Bennaïssa Keddar, Melle F. Dífallah et Mr Dj. Boulerbague qui nous ont aidé dans l'expérimentation et dans l'utilisation du matériel de laboratoire.

A Mme Z. Tífourí ingénieur au niveau de l'Institut technique des cultures maraîchère et industrielle pour sa contribution.

« Mes remerciements les plus sincères à toutes et à tous les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail ».

Cordialement

Dédicace

À mon père et à ma mère, que Dieu les garde pour moi, pour leur contribution, leur soutien leur amour et leur patience. Pour tous les bons moments dont ils m'ont agrémenté tout au long de ma vie.

À tous mes professeurs que je respecte énormément,

*À mes frères **Kheir eddine, Mimoune, Abdel Ghani et Mohamed** et ma sœur **Amína**, vous être la plus belle fratrie du monde que je n'avais jamais espéré avoir.*

*À mes neveux **Mohamed Adam** et **Anes** et ma nièce **Lina** qui me comblent de bonheur.*

*À tout la famille ; « **Moumene** »*

*Aux merveilleuses filles du monde, que Dieu m'a permis de connaître et qui m'ont beaucoup aidé pendant la réalisation de ce travail, **Hanane S, Hanane R, Amína S Majda BA, Mokhtaría D, Safía B, Kheira K** et **Wafae T**.*

*Aux meilleurs amis du monde, **Abd elKrim B, Abd elfetah B, Mustapha D, Mohammed R, Abbes D, Mounir C**.*

*À la mémoire de ceux qui nous ont quittés mais dont les noms sont gravés dans nos cœurs: **Moumene Karima** « une dédicace spéciale pour toi, ta cousine aurait beaucoup aimé que tu sois là pour me soutenir. Je ne t'oublierai jamais »*



Résumé

Dans le cadre de la valorisation des plantes condimentaires cultivées et spontanées de l'Ouest Algérien, des huiles essentielles et des extraits brutes phénoliques de deux espèces du genre *Allium*, l'une cultivée *Allium sativum* et l'autre spontanée *Allium vineale*, ont été testés pour leurs activités antioxydante et antibactérienne après une quantification et une identification de leurs principes actifs.

Dans ce contexte, une recherche est débutée d'abord, par une enquête ethnobotanique réalisée à l'aide d'un questionnaire, pour la détermination des différentes utilisations médicinales des ces deux espèces du genre *Allium*. L'enquête a prouvé d'une part, que l'ail cultivé est utilisé comme condiment et aussi pour traiter des différentes maladies telles que : les maladies infectieuses, l'hypertension, les maladies dermiques, l'hypercholestérolémie, les maladies digestives, l'hyperglycémie et comme traitement préventif du cancer ; d'autre part, 17% de la population enquêtée connaissent l'espèce sauvage et l'utilise comme condiment.

La caractérisation des huiles essentielles des bulbes des deux espèces étudiées, *Allium sativum* : avec deux variétés rouge (ASbr) et blanche (ASbb) et *Allium vineale* (AVb), par la technique de la CG/MS, a permis d'identifier des composés chimiques, en particulier des composés soufrés qui est majoritaires. Ainsi, *Allium vineale* est formée en majorité d'allyl trisulfide (24 %) et diallyl tetrasulfide (16 %) et *Allium sativum* (45 %) d'allyl trisulfide et (22 %) diallyl disulfide.

La quantification des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des tanins, extraits à partir des trois solvants (méthanol, éthanol et l'eau distillée) des trois échantillons étudiés, a révélé la plus importante teneur des composés phénoliques, enregistrée dans l'extrait éthanolique de l'AVb (69,92 mg AGE/g), suivie par celles des deux variétés cultivées ASbr (17,94 mg AGE/g) et ASbb (11,54 mg AGE/g).

Les résultats du dosage des composés flavonoïdes, montrent que l'extrait éthanolique de l'ASbr donne la valeur la plus remarquable (62,11 mg EC/g) puis l'extrait méthanolique de l'AVb (33,05 mg EC/g), comparés aux autres extraits qui enregistrent des valeurs entre 1,05 à 23,97 mg EC/g.

Les résultats du dosage des tanins condensés, indiquent que l'extrait éthanolique d'AVb renferme la valeur la plus importante (5,69 mg EC/g) suivi par l'extrait méthanolique du même échantillon (4,14 mg EC/g).

La valorisation de nos espèces du genre *Allium* : *Allium sativum* et *Allium vineale*, est parachevée par la détermination du pouvoir antioxydant *in vitro*, en utilisant deux méthodes,

la méthode du DPPH et celle de la β - carotène, et d'autre part par l'activité antibactérienne vis-à-vis de trois souches bactériennes : *Escherichia coli* (*E.coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) selon la méthode de Vincent (aromatogramme), sur les huiles essentielles et les trois extraits phénoliques des trois échantillons étudiés.

Les résultats de l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois échantillons ont montré que l'huile essentielle d'AVb renferme l'activité la plus importante avec les deux méthodes, celle du DPPH (IC₅₀ = 5,08 mg/ml) et celle de la β - carotène (26,54%) par rapport à l'acide ascorbique (23,37%).

Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits des trois échantillons a montré que les extraits éthanoliques testés avec la méthode de la β - carotène ont présenté l'activité la plus forte par rapport aux autres extraits ; par contre les résultats du pouvoir antioxydant déterminé par la méthode du DPPH, montre une activité très faible dans les différents extraits des trois échantillons.

Les résultats du pouvoir antibactérien des huiles essentielles des trois échantillons étudiés vis-à-vis des trois souches bactériennes montrent que l'huile essentielle d'AVb apparait plus active sur les trois souches bactériennes suivie par l'ASbb, par contre ; *P. aeruginosa* a montré une résistance vis-à-vis de l'huile essentielle de l'ASbr. Parmi tous les extraits, l'extrait aqueux des trois échantillons a montré une activité inhibitrice remarquable sur les trois souches bactériennes étudiées, par rapport aux autres extraits méthanolique et éthanolique qui ont révélé un pouvoir inhibiteur très faible contre *S. aureus*.

Mots clé : Ouest Algérien, huile essentielle, extraits bruts phénoliques, *Allium sativum*, *Allium vineale*, activité antioxydante, activité antibactérienne, CG/MS.

Abstract

As part of a valorization of cultivated and spontaneous condiments plants of Western Algeria, essential oils and crude extracts of two species of the genus *Allium*; one is cultivated *Allium sativum* and the other is spontaneous *Allium vineale*, were tested for their antioxidant and antibacterial activity after identification and quantification of their active ingredients.

In this context, our research is started first, by an ethnobotanical investigation using a questionnaire to determine the various medicinal uses of these two species. The investigation showed that cultivated garlic is used as a condiment and for treating various diseases such as: the infectious diseases, antihypertensive, dermal diseases, anti-cholesterol, anti-hyperglycemia, digestive diseases and as a preventive treatment of cancer. On the other hand, 17% of the investigated population experienced the wild species and use it as condiment.

The characterization of essential oils extracted from bulbs of the two studied species *Allium sativum* (with both red and white varieties) and *Allium vineale*, by the technique of the CG/MS allowed to identify the chemical compounds, in particular sulfur compounds as main chemical constituents, thus *Allium vineale* is formed mainly by allyl trisulfide (24 %) and diallyl tetrasulfide (16 %) and *Allium sativum* (45 %) of allyl trisulfide, (22 %) diallyl disulfide.

The quantitative assay of the total phenolic compounds, flavonoids and condensed tannins, extracted from three different solvents (methanol, ethanol and distilled water) of the three studied samples revealed that the highest amount of phenolic compounds was recorded in the ethanolic extract of AVb (69,92 mg AGE/g), followed by the two cultivated varieties ASbr (17,94 mg AGE/g) and ASbb (11,54 mg AGE/g).

The results of the flavonoid contents showed that the ethanol extract of ASbr gives the most remarkable value (62,11 mg EC/g), followed by the methanol extract of AVb (33,05 mg EC/g), compared to other extracts that represented values between 1,05 to 23,97 mg EC/g. While the ethanol extract of AVb contains the highest value (5,69 mg EC/g) for the condensed tannins assay, followed by the methanol extract of the same sample (4,14 mg EC/g).

The valorization of these species of the genus *Allium*: *Allium sativum* and *Allium vineale*, is completed firstly by the determination of the antioxidant capacity *in vitro* using two methods, DPPH and β - carotène test, secondly by the antibacterial activity vis-a-vis of three bacterial strains by the method of Vincent (aromatogramme), on the essential oils and the three extracts of three samples.

The antioxydante activity of the essential oils for the three samples revealed that the AVb extract contains the most important activity with both DPPH (IC₅₀ = 5,08 mg/ml) and β-carotène test (26,54% compared to Ac as = 23,37%) compared with the ascorbic acid.

As well as, the ethanolic extract of the three samples exhibited the most powerful activity using β-carotène test compared with the different extracts. Contrariwise the DPPH test shows a low activity with the other extract of the three samples.

For the antibacterial activity of the essential oils for the three samples studied vis-a-vis of three bacterial strains revealed that; the essential oil of AVb appears active on the three bacterial strains followed by ASbb, contrary wise *P. aeruginosa* expressed a resistance (showed) to ASbr essential oil. The most remarkable inhibitory activity against the three bacterial strains was recorded in the aqueous extract of the three samples compared with methanol and ethanol extracts which revealed a low inhibitory potency against *S. aureus*.

Keywords: Western Algeria, essential oils, crude extracts, *Allium sativum*, *Allium vineale*, antioxidant activity, antibacterial activity, CG/MS.

مُلَخَّص

في إطار تثمين نباتات التوابل المزروعة و البرية في الغرب الجزائري ، قمنا باختبار الخاصية المضادة للأكسدة و المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية و المركبات الفينولية لنوعين من الثوم نوع مزروع و النوع الآخر ثوم الكروم -و الذي نعتبره بري - وذلك بعد دراسة مكوناتها الفعالة و في هذا السياق بدأ بحثنا بدراسة شاملة اثنوبوتانية بالاستعانة بوثيقة استبيان لتحديد الاستخدامات المختلفة لهذين النوعين من الثوم حيث اثبت التحقيق بأن الثوم يستخدم كبهار بالإضافة إلى انه علاج لمختلف الأمراض و بأن 17% من السكان الذين شملتهم هذه الدراسة يستخدمون النوع البري و التي شملت غالبية كبار السن فقط.

الدراسة الكيميائية المعمقة للزيوت الأساسية المستخلصة من الثوم المزروع بصنفيه الأبيض و الأحمر *Allium sativum* و الثوم البري *Allium vineale* باستخدام تقنية GC/MS ، أثبتت وجود مركبات كبريتية حيث يحتوي ثوم *Allium vineale* على 24% من أليل ثالث كبريتيد ، 16% من ثنائي أليل رباعي الكبريتيد و *Allium sativum* على 45% من ثالث كبريتيد الأليل و 22% من ثنائي الأليل ثاني الكبريتيد.

أما بالنسبة لنتائج دراسة المركبات الفلافونويدية تبين لنا أن مستخلص الايثانول ASbr يحتوي على الكمية الأهم و ذلك بـ 62,11 ملغ /م/غ لـ AVb مقارنة مع المستخلصات الأخرى.

نتائج دراسة المركبات التانات المكثفة أثبتت احتواء مستخلص الايثانول لـ AVb على أكبر قيمة 5,69 ملغ /م/غ يليه مستخلص الميثانول لنفس العينة 4,14 ملغ /م/غ.

اختبار فعالية الزيوت الأساسية و المركبات الفينولية للنوعين المدروسين *Allium sativum* و *Allium vineale* تم بتقييم الخاصية المضادة للأكسدة بطريقتين DPPH و β -carotène و بتقييم الخاصية المضادة للبكتيريا باستخدام ثلاث أنواع من البكتيريا (*E.coli*, *P.aeruginosa* و *S. aureus*) و ذلك بطريقة Vincent (aromatogramme) .

و قد أظهرت نتائج الخاصية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية لثلاث عينات المدروسة بأن الزيوت الأساسية لـ

AVb سجل أهم نشاط بكلتا الطريقتين و ذلك بتسجيل نسبة $IC_{50} = 5,08$ ملغ/ مل و 26,54%

أما نتائج الخاصية المضادة للأكسدة للمستخلصات الكحولية للثلاث عينات المدروسة أثبتت بأن مستخلص الايثانول

يحتوي على أهم نشاط باستخدام طريقة β -carotène بالمقارنة مع المستخلصات الأخرى.

أظهرت دراسة الخاصية المضادة للبكتيريا باستخدام الزيوت الأساسية بأن لـ AVb سجل أهم نشاط على الأنواع

الثلاثة من البكتيريا يتبع بالزيت الأساسي لـ ASbb أما بالنسبة لـ *P.aeruginosa* أظهرت مقاومة ضد الزيت الأساسي لـ

ASbr و من جهة أخرى أظهر المستخلص المائي أهم نشاط على الأنواع الثلاثة للبكتيريا مقارنة بالمستخلصات الميثانولية

و الايثانولية للعينات الثلاثة المدروسة

الكلمات المفتاحية: الغرب الجزائري، الزيوت الأساسية، و المركبات الفينولية *Allium sativum*, *Allium vineale*

مضادة للأكسدة.

Table des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Introduction	1
<i>Chapitre I : Les plantes condimentaires et leurs usages thérapeutiques</i>	5
I.1. Histoire des plantes condimentaires	5
I.2. Utilisation des plantes condimentaires en phytothérapie et aromathérapie	6
I.2.1. Dans la phytothérapie.....	6
I.2.2. Dans l'aromathérapie	9
<i>Chapitre II : Les principes actifs des plantes condimentaires</i>	14
II.1. Les composés phénoliques.....	17
II.1.1. Répartition cellulaire et tissulaire dans les différents organes de la plante	17
II.1.2. Structure, Biosynthèse et classification des composés phénoliques	18
II.1.3. Les phénols simples et les acides phénoliques.....	20
II.1.4. Les flavonoïdes.....	20
II.1.5. Les tanins	22
II.1.6. Les coumarines.....	23
II.1.7. Les lignanes et les lignines.....	24
II.2. Les huiles essentielles.....	25
II.2.1. L'historique des huiles essentielles	26
II.2.2. Répartition, localisation et rôle des huiles essentielles dans la plante.....	27
II.2.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	27
II.2.4. Procédés d'extraction des huiles essentielles	30
II.2.5. Utilisation des huiles essentielles	31
II.2.6. Identification des constituants dans un mélange complexe	34
<i>Chapitre III : Les activités biologiques des principes actifs des plantes</i>	39
III.1. Activité antioxydante	40
III.1.1. Le stress oxydant et les radicaux libres	41
III.1.2. Les Antioxydants.....	42

III.1.3. Méthodes de dosage de l'activité antioxydante	44
III.2. Activité antimicrobienne	46
III.2.1. Mode d'action des principes actifs contre les microorganismes.....	47
III.2.2. Aperçu sur les techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des HE et des composés phénoliques	48
Chapitre IV : Etat de connaissance sur le genre Allium	50
IV.1. Aperçu sur la famille des Alliaceae	53
IV.2. Aperçu sur le genre Allium	54
IV.2.1. L'espèce <i>Allium sativum</i>	54
IV.2.2. L'espèce <i>Allium vineale</i>	63
Chapitre V : Matériel et Méthodes.....	70
V.1. Objectif du travail.....	69
V.2. Matériel végétal utilisée.....	69
V.3. Présentation des stations d'échantillonnage	70
V.3.1. Station 1 d'échantillonnage (la commune d'Ain Nehala)	70
V.3.2. Station 2 d'échantillonnage (ITCMI de la wilaya de Sidi Bel Abbès).....	71
V.4. Méthodologie retenue.....	74
V.4.1. Etude ethnobotanique	74
V.4.2. Etude phytochimique.....	77
V.4.3. Détermination des différentes activités biologiques	83
Chapitre VI : Résultats et discussion	88
VI.1. Résultats et discussion de l'enquête ethnobotanique	88
VI.1.1. Fréquence d'utilisation de l'espèce cultivée selon le sexe et la classe d'âge	88
VI.1.2. Utilisation de l'espèce cultivée comme condiment et/ou traitement	89
VI.1.3. Degrés d'utilisation de l'espèce d'ail sauvage:.....	91
VI.2. Résultats et discussion de l'étude phytochimique	92
VI.2.1. Extraction des huiles essentielles	92
VI.2.2. Caractérisation des composés chimiques des huiles essentielles.....	93
VI.2.3. Extraction des polyphénols.....	100
VI.2.4. Criblage phytochimique	101
VI.2.5. Dosage des composés phénoliques	103
VI.3. Résultats des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits phénoliques des trois échantillons étudiées	110
VI.3.1. Activité antioxydante	110
VI.3.2. Résultats de l'activité antibactérienne.....	117
Conclusion	124
Références bibliographiques.....	128

Liste des abréviations

°C : degré Celsius

% : pourcent

µl : microlitre

¹³C: Carbone 13

ABS : absorbance

ABTS : acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

ABTS: acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

Ac As : Acide ascorbique

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADP : adénosine diphosphate

AFNOR: association française de normalisation

AlCl₃ : trichlore d'aluminium

APG III: angiosperms phylogeny group

ASbb : *Allium sativum* bulbe blanc

ASbr : *Allium sativum* bulbe rouge

AscH⁻: acide ascorbique ionisée

AscH•: acide ascorbique tricarbonyle

ATCC : american type culture collection

AVb: *Allium vineale* bulbe

Av-J-C: avant Jésus-Christ

BHA: hydroxyanisol butylé

BHT: hydroxytoluène butylé

CC: chromatographie sur colonne

CCM: chromatographie sur couche mince

CG: chromatographie

CHCl₃: chloroforme

CLHP: chromatographie liquide haute performance

cm : centimètre

CMB: concentration minimales bactericide

CMI: concentration minimales inhibitrices

CO₂: dioxyde de Carbone

CPG: chromatographie phase gazeuse

CPGHT: chromatographie phase gazeuse a haute température

CPG-IRTF: chromatographie phase gazeuse couplée à l'infra-rouge transformée de fourier

CPG-SM : chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie

CPG-SM-IE: chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie avec impact électronique.

DIF: détecteurs répandus à ionisation de flamme

DMSO: diméthylsulfoxyde.

DPPH: *2,2-DiPhenyl-1-Picryl-Hydrazyl*

DSM: détecteurs répandus à spectrométrie de masse

EC50: concentration en antioxydant nécessaire pour réduire 50%

ERN: espèces réactives nitrogènes

ERO: les Espèces Réactives de l'Oxygène.

Fe²⁺ : fer ferreux

Fe³⁺ : fer ferrique

Fe Cl₃: Trichlorure de Fer

FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma

g : gramme

h : heure

H: hydrogène

H₂O : l'eau

H₂O₂: le peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄: Acide sulfurique

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide phosphotungstique

ha : hectare

HCl : acide chlorhydrique

HE: huile essentielle

Hm³: hectomètres cubes

HNO₃: acide nitrique

IK: indice de Kovats

ITCMI : institut technique des cultures maraichères et industriel

Kg : Kilogramme

Km² : kilomètre carré

LOO•: peroxyde lipidique

m : mètre

m/v : vanilline/ méthanol

mg EC/g EM : milligramme équivalent de la catéchine par un gramme d'extrait

mg : milligramme

min : minute

mm : millimètre

Na NO₂ : nitrite de sodium

Na₂SO₄: sulfate de sodium

NaCl : chlorure de sodium

NADPH: nicotinamide adenine dinucléotide phosphate.

NaOH: la soude

nm: nanomètres

NO: oxide d'azote

NO•: monoxide d'azote

NOS: oxide nitrique synthase

O₂• -: anion superoxyde

OH•: radical hydroxyle

OMS: organisation mondiale de la santé

pH : potentiel hydrogène.

RL: radicaux libres

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

ROS: reactive oxygen species

SM: spectre de masse

TEACC: capacité Antioxydante Equivalente Trolox

TPTZ : 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine

U.V: ultraviolet

UVB : les rayons ultra violé qui atteignent l'épiderme

v/v : volume par volume

XIXe: dix-neuvième siècle.

XVIe: sixième siècle

XVIIe : dix-septième siècle

XVIIIe : dix-huitième siècle

Liste des figures

Figure 1: Exemple de quelques monoterpènes	29
Figure 2: Exemple de quelque sesquiterpènes	29
Figure 3: Exemple de composés aromatiques	30
Figure 4: Les méthodes d'analyses d'un mélange complexe	36
Figure 5: Acide Ascorbique	44
Figure 6: La présentation de la plante d' <i>Allium sativum</i>	57
Figure 7: Le cycle de la culture d'ail	58
Figure 8: La présentation de la plante d' <i>Allium vineale</i>	64
Figure 9: Les différentes parties de la plante d' <i>Allium vineale</i>	66
Figure 10: L'ail rouge (Cliché Moumene, 2014)	69
Figure 11: L'ail blanc (Cliché Moumene, 2014)	69
Figure 12: L'ail sauvage (Cliché Moumene, 2014)	69
Figure 13: Localisation géographique de la commune d'Ain Nehala	70
Figure 14: Position de la première station de prélèvement (Ain Nehala)	71
Figure 15: Présentation de la wilaya de Sidi Bel Abbes	72
Figure 16: La localisation de l'ITCIM de Sidi Bel Abbes	73
Figure 17: Modèle de la fiche d'enquête utilisé dans cette étude.....	76
Figure 18: Montage hydrodistillation (Cliché Moumene, 2014)	77
Figure 19: Appareil de CPG-SM (Cliché Moumene, 2014)	78
Figure 20: Les principales procédures de l'activité antibactérienne	87
Figure 21: L'utilisation de l'ail cultivée selon le sexe	88
Figure 22: Fréquence d'utilisation de l'ail selon la classe d'âge	89
Figure 23: Les maladies traitées par l'ail cultivé	90
Figure 24: Etat de connaissance de l'ail sauvage	91
Figure 25: Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'ASbr	93
Figure 26: Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'ASbb	94
Figure 27: Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'AVb	94
Figure 28: Les spectres GC/MS et les structures chimiques des sept composés majoritaires des HE d'ASbr, ASbb et AVb	96, 97, 98
Figure 29: Rendements de composés phénoliques des différents extraits	101
Figure 30: Comparaison des teneurs des phénols totaux entre différents échantillon étudié	105

Figure 31: Comparaison des teneurs des flavonoïdes entre les différents échantillons...	108
Figure 32: Comparaison des teneurs en tanins entre les différents échantillons	110
Figure 33: Comparaison des IC50 des huiles essentielles des trois échantillons	112
Figure 34 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur les huiles essentielles	114
Figure 35 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur l'extrait éthanolique	114
Figure 36 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur l'extrait aqueux.....	114
Figure 37 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur l'extrait méthanolique	115
Figure 38 : Pourcentage d'inhibition du blanchissement du β -carotène par les huiles essentielles des trois échantillons	116
Figure 39 : Pourcentage d'inhibition du blanchissement du la β -carotène par les extraits bruts des trois échantillons	117

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principales classes des composés phénoliques	19
Tableau 2 : Les antibiotiques utilisés dans cette étude	86
Tableau 3 : Rendements des huiles essentielles en % extraits des deux espèces du genre <i>Allium</i> et leurs caractérisations organoleptiques	92
Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles des trois échantillons du genre <i>Allium</i> : ASbr, ASbb et AVb	95
Tableau 5 : Les rendements des composés phénoliques des différents extraits	100
Tableau 6 : Résultats du test screening en fonction des solvants des échantillons	102
Tableau 7 : Teneurs des phénols totaux des les différents extraits des trois échantillons	104
Tableau 8 : Teneurs des flavonoïdes dans les différents extraits des trois échantillons	107
Tableau 9 : Teneurs des tanins condensés des extraits des trois échantillons	109
Tableau 10 : Valeurs des IC50 des huiles essentielles des ASbr, ASbb et AVb	111
Tableau 11 : Valeurs des IC50 des différents extraits des ASbr, ASbb et AVb	113
Tableau 12 : Sensibilité et résistance des bactéries testées aux différents antibiotiques	118
Tableau 13 : Diamètres des zones inhibitrices (mm) des huiles essentielles des deux espèces du genre <i>Allium</i> : ASbr, ASbb et AVb relatives aux souches testées	120
Tableau 14 : Diamètres des zones inhibitrices (mm) des différents extraits des deux espèces du genre <i>Allium</i> : ASbr, ASbb et AVb relatives aux souches testées	121

Introduction

La diversité végétale sert à l'humanité en tant que ressource naturelle renouvelable pour une variété de produits chimiques biologiquement actifs. Ces produits phytochimiques ont une variété de propriétés à savoir, antioxydante, antibactérienne, antifongique, antivirale, anticancéreuse, cardiotonique et autres (Parajuli et *al.*, 1998), ces constituants actifs des plantes médicinales et aromatiques sont moins toxiques et facilement biodégradables (Fawcett et *al.*, 1970).

Une partie de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle pour se soigner. Cette utilisation largement répandue s'explique par son accessibilité et sa disponibilité dans les pays en voie de développement d'une part, et la nocivité des effets secondaires des médicaments de synthèse d'autre part.

Elles représentent une importante source thérapeutique partout dans le monde. Leur consommation repose pour une bonne part sur la croyance populaire assurant que les produits qui sont dérivés puissent être consommés en toute sécurité ; il y a 7000 ans en Chine l'utilisation médicinale de plantes est une des pratiques thérapeutiques les plus anciennes tout au long de l'histoire. La découverte du nouveau monde, en particulier avec sa grande richesse naturelle, a eu une forte influence tant sur l'alimentation que sur la pharmacopée humaine (Delaveau, 1982). Aujourd'hui, les plantes sont largement utilisées et surtout recommandées par les thérapeutes et les organisations publiques de santé comme l'Organisation Mondiale de la Santé, en France (Kanoun, 2014), les médicaments à base de plantes bénéficient d'une autorisation de commercialisation qui donne au consommateur des garanties de qualité et d'innocuité.

Les plantes condimentaires et aromatiques sont parmi les plantes médicinales les plus utilisées dans le monde, pour des fins thérapeutiques et pour aromatiser les plats. Ces espèces contiennent diverses substances actives, à partir des quelles on extrait plusieurs essences utilisées non seulement en médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique ou en technologie alimentaire (Hmamouchi, 1997).

Les plantes condimentaires sont très utilisées par la médecine traditionnelle, non seulement en termes de nombre d'espèces, mais aussi de point de vue utilisation de chaque espèce. Chacune est employée pour le traitement d'une large gamme de maladies. Cela est dû sans doute à leur richesse et à l'intensité de leurs arômes (Gallouin et *al.*, 2003).

Une des originalités majeures des plantes réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques

qui apportent à la plante par la photosynthèse, l'énergie et la nutrition ; ils accumulent fréquemment des métabolites dites « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix, *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009).

Ces substances naturelles extraites des plantes sont soit volatiles l'exemple des huiles essentielles soit non volatiles les polyphénols et qui sont biologiquement actifs (Kanoun, 2014).

Toute activité biologique des substances naturelles des plantes est étroitement liée à sa composition chimique puisque chacune de ces substances, les huiles essentielles ou les composés phénoliques, est caractérisée par un principe actif qui lui confère une activité spécifique. Les avancées technologiques de ces dernières décennies permettent de disposer aujourd'hui d'un vaste panel de techniques analytiques, chacune d'elle ayant sa spécificité et son domaine d'application. Cependant, l'identification et la quantification des constituants d'un mélange naturel demeurant toujours des opérations délicates qui nécessitent souvent l'utilisation de plusieurs techniques complémentaires.

D'une manière générale, on distingue deux approches pour l'analyse des mélanges naturels. La première consiste à identifier et à quantifier les composés dont les caractéristiques physico chimiques et spectroscopiques sont décrites en utilisant le couplage en ligne d'une technique chromatographique qui permet d'individualiser les constituants et d'une technique spectroscopique qui permet de les identifier. La seconde se rapproche de celle utilisée pour élucider la structure d'un composé inconnu préalablement isolé et purifié.

Le pouvoir antimicrobien et antioxydant des substances naturelles telles que les huiles essentielles et les composés phénoliques, sont parmi les activités biologiques les plus étudiées actuellement, vu l'apparition des effets secondaires et même toxiques des produits synthétiques et qui constitue un problème majeur de santé publique même dans les pays développés (Soussy, 2000). De ce fait, il semble nécessaire de procéder à la recherche de nouveaux principes actifs dans les produits naturels, utilisés traditionnellement de manière empirique (Marroki, 2007).

L'Algérie est un pays dont la flore condimentaire cultivée ou sauvage est très diversifiée et largement utilisée en alimentation et médecine traditionnelle. Depuis quelques années plusieurs groupes de recherche dans notre pays s'intéressent à la caractérisation chimique et les activités biologiques des produits naturels.

Dans la continuité de ces travaux, nous avons contribué à la valorisation des plantes condimentaires cultivées et spontanées de l'Ouest Algérien en procédant à la caractérisation chimique et l'étude du pouvoir antioxydant et antibactérien de leur substances naturelles telle que les huiles essentielles et les composés phénoliques.

Notre choix est porté sur deux espèces du genre *Allium* ; une espèce cultivée *Allium sativum* avec deux variétés local rouge et blanche, et une autre spontanée *Allium vineale*, qui font partie intégrante du régime alimentaire et de l'arsenal thérapeutique traditionnel de la population locale. Nous avons ainsi divisé notre travail en deux grandes parties :

Une partie qui représente la synthèse bibliographique et qui englobe les chapitres ci-dessous :

- ✓ Le premier chapitre est consacré à l'étude de l'utilisation des plantes condimentaires.
- ✓ Dans le deuxième chapitre de ce travail, nous présenterons des généralités sur les principes actifs des plantes condimentaires telles que les composés phénoliques et les huiles essentielles.
- ✓ Le troisième chapitre se distinguera par un aperçu sur les activités biologiques de ces substances naturelles ; l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne.
- ✓ Dans le quatrième chapitre de ce travail, nous évoquons l'état de connaissance du genre *Allium*, ensuite, nous présenterons les deux espèces étudiées sous investigation où nous donnerons sa description botanique, ses utilisations thérapeutiques, les caractéristiques chimiques et les activités biologiques ainsi que quelques travaux antérieurs réalisés sur ces deux espèces.

Une deuxième partie consacrée au travail expérimental qui débutera par :

- ✓ Le chapitre du matériel et méthodes, nous allons détailler, en premier lieu la zone d'étude de l'échantillonnage, ensuite on expliquera la méthodologie adoptée pour l'étude ethnobotanique, la méthodologie arrêtée pour l'extraction et la caractérisation chimique des huiles essentielles des bulbes des deux espèces du genre *Allium*, on indiquera aussi les méthodes d'extractions et du dosage des différents composés phénoliques à partir des trois solvants différents et en fin la méthodologie arrêtée pour leurs valorisation à travers la détermination de leur pouvoir antibactérien vis-à-vis de trois souches bactériens et aussi leur activité antioxydante.
- ✓ Nous reporterons également dans cette partie, le chapitre résultats et discussion qui sera sanctionné par une conclusion générale qui résumera l'ensemble du travail réalisé et présentera quelques perspectives que nous envisagerons réaliser.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :Les plantes condimentaires et leurs usages thérapeutiques

I- Les plantes condimentaires et leur usage thérapeutiques

On estime environ, 20000 le nombre d'espèces de plantes utilisées dans le monde pour des fins alimentaires, cosmétiques, chimiques, thérapeutiques et agro- alimentaires.

Il est important de différencier l'usage des plantes spontanées et cultivées actuellement, car on observe une certaine confusion, on peut distinguer en particulier :

- Les plantes condimentaires (persil, cerfeuil, ciboulette, ail)
- Les plantes à boisson (fenouil, anis vert, camomille)
- Les plantes à parfum (lavande, jasmin, basilic, thym, romarin)
- Les épices
- Les plantes médicinales à grandes cultures (fenugrec)
- Les plantes à tisanes (menthe, mélisse)

Les plantes condimentaires et aromatiques sont les plus utilisées dans le monde pour aromatiser les plats et pour des fins thérapeutiques. Ces espèces contiennent diverses substances actives, à partir des quelles on extrait plusieurs essences utilisées non seulement en médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique ou en technologie alimentaire (Hmamouchi, 1997).

I.1. Histoire des plantes condimentaires

Les plantes condimentaires et les plantes à épices, étaient déjà utilisées, en Chine, plusieurs millénaires avant Jésus-Christ, pour leurs vertus médicinales et culinaires.

Des témoignages, gravés sur des tablettes d'argile sumériennes, nous indiquent que les habitants de la Mésopotamie connaissaient déjà quelque condiments et épices comme le cumin, le fenouil, le safran et le thym.

En Egypte, à l'époque des pharaons, le manuscrit Ebers nous renseigne sur l'utilisation des épices dans le traitement des maladies. Les plantes condimentaires et aromatiques, par leurs molécules à propriétés antiseptiques, étaient utilisées avec le sel pour l'embaumement des mort, mais elles servaient aussi à des préparations culinaires.

Les Grecs et les Romains en faisaient un usage quotidien. Apicius (né vers 25 av.J-C) nous a laissé un ouvrage de gastronomie, les dix livres de la cuisine, dans lequel des préparations culinaires, assez insolites pour nos palais actuels, font appel au poivre, au thym, à la moutarde, à l'aneth et à la coriandre (Gallouin et *al.*, 2003).

La fin du Moyen Âge, les plantes condimentaires et les épices en premier temps étaient importés comme médicament, avant de l'être pour l'assaisonnement des aliments (Laurieux, 1985).

Avec les Croisades, le commerce des épices et des condiments connut un nouvel essor en Europe occidentale. Venise, Gènes, Marseille et Sète ont été les principaux ports spécialisés dans ce commerce. Mais la prise de Constantinople, en 1453, perturba grandement ce commerce maritime méditerranéen. Christophe Colomb, puis Vasco de Gama (1498) ouvrirent de nouvelles routes au commerce des épices.

Le monopole de ce commerce, ainsi partagé entre Espagnols et Portugais, s'acheva à la fin du XVI^e siècle avec l'expansion coloniale des Pays-Bas et de l'Angleterre.

Les épices, les condiments et les aromates ont accompagné l'homme dans ses voyages maritimes. Duhamel du Monceau (1758) nous indique les moyens de conserver la santé des équipages des vaisseaux, à l'aide de citron et de cresson, plantes riches en acide ascorbique (vitamine C) (Gallouin et *al.*, 2003).

Aujourd'hui, les formes fraîches et crues sont souvent préférables. Cela nécessite soit un jardin, soit une culture en pot sur le balcon, soit un achat extérieur, marché ou autre, toutes, cependant, tributaires de la saison.

Beaucoup d'herbes aromatiques ne sont pas disponibles toute l'année. Il faut donc considérer leur utilisation en tant que plantes séchées, soit à l'achat, soit le faire soi-même (Gayet, 2012).

I.2. Utilisation des plantes condimentaires en phytothérapie et aromathérapie

Les plantes condimentaires sont très prisées par la médecine traditionnelle, non seulement en termes de nombre d'espèces, mais aussi de point de vue utilisation de chaque espèce. Chacune est employée pour le traitement d'une large gamme de maladies. Cela est dû sans doute à leur richesse et à l'intensité de leurs arômes.

L'activité médicale des constituants de ces plantes ne s'arrête pas à l'usage traditionnel, celles-ci ont tellement de vertus thérapeutiques scientifiquement prouvées, qu'on en a fait une branche à part dans la phytothérapie moderne. C'est la discipline de l'aromathérapie, c'est une thérapie qui se base sur l'utilisation des essences de plantes, leurs huiles essentielles et leurs substances aromatiques (Gallouin et *al.*, 2003).

I.2.1. Dans la phytothérapie

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels. On peut la distinguer en trois types de pratiques :

- Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Selon l'organisation mondiale de la santé, cette

phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays dont les pays en voie de développement. C'est le plus souvent une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique.

- Une pratique basée sur les avancées et preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs dans les plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés. Cette pratique débouche suivant les cas sur la fabrication de médicaments pharmaceutiques ou de phyto-médicaments, et selon la réglementation en vigueur dans le pays, leur circulation est soumise à l'autorisation de mise sur le marché pour les produits finis, et à la réglementation sur les matières premières à usage pharmaceutique pour les préparations magistrales de plantes médicinales, celles-ci étant délivrées exclusivement en officine. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique.

- Une pratique de prophylaxie déjà utilisée dans l'antiquité. Nous sommes tous phytothérapeutes sans le savoir : c'est notamment le cas dans la cuisine, avec l'usage de l'ail, du thym, du gingembre ou simplement du thé vert. Une alimentation équilibrée et contenant certains éléments actifs étant une phytothérapie prophylactique (Sebai et *al.*, 2012).

I.2.1.1. Préparations et formes galéniques en phytothérapie

En fonction de l'effet thérapeutique recherché, l'usage traditionnel puis la recherche, ont mis au point des procédés de traitement des plantes qui permettent de ne garder que les molécules intéressantes, pour une utilisation locale, buvable ou injectable.

Dans les préparations, la composition d'un remède peut réunir différentes plantes. La tisane, le cataplasme appliqué directement sur la peau, le sirop, les solutions alcoolisées ou aqueuses, les essences et les huiles sont les formes les plus courantes de remèdes. Nous évoquerons ici les principales formes galéniques disponibles et leurs origines de fabrications (Hmamouchi, 1997).

I.2.1.1.a) Préparations aqueuses

➤ **Les tisanes** regroupent les infusions et les décoctions.

L'infusion est utilisée pour les parties les plus fragiles de la plante : les pétales et les feuilles très fines. Elle consiste à verser de l'eau chaude ou bouillante sur les plantes sèches. Le temps d'infusion est variable selon les plantes (de quelques minutes à 1 heure) (Morigane, 2002 ; Cazau-Beyret, 2013).

La décoction convient aux parties ligneuses de la plante comme les tiges, les racines et l'écorce. Il s'agit ici de plonger les parties de plante sèche à froid dans de l'eau et de porter le tout à ébullition pendant 10 minutes à 1h en fonction des plantes. Grâce à cette technique,

les principes actifs hydrosolubles sont extraits et la filtration sera nécessaire avant la consommation (Cazau-Beyret, 2013).

➤ **La macération**

On obtient une macération, en laissant une plante dans un solvant (eau, alcool ou huile) à froid pendant un temps assez long (de quelques heures à plusieurs jours, voire plusieurs semaines). La macération doit se faire dans un récipient à l'abri de l'air et de la lumière. Une fois le temps écoulé, il suffit de filtrer le mélange à travers un filtre papier, ou du coton hydrophile, et de stocker la macérât obtenue dans un récipient bien bouché (Morigane, 2002 ; Abayomi, 2010).

I.2.1.1.b) Préparations alcooliques

➤ **Préparations liquides à partir de plantes fraîches**

Les plantes fraîches sont nettoyées et broyées à froid puis mises en suspension dans l'alcool. Le mélange doit être remué de temps en temps, puis filtré.

L'alcoolature doit ensuite être stockée dans un flacon hermétique tout en sachant que l'alcoolature se conserve peu de temps, et que 50 gouttes d'alcoolature correspondent à peu près à 1g (Morigane, 2002 ; Cazau-Beyret, 2013).

➤ **Macérât glyciné (Gemmothérapie)**

Cette technique de préparation est une macération des tissus végétaux embryonnaires frais comme les bourgeons, les jeunes pousses ou radicules dans un mélange de glycérine et d'alcool. Le mélange est ensuite filtré et dilué au 1/10^e dans un mélange eau alcool- glycérine qui sert à la fois de véhicule d'extraction et de conservateur. La gemmothérapie est une niche de la phytothérapie tout comme l'aromathérapie : on ne peut en aucun cas extrapoler les propriétés médicinales de l'organe adulte à celles des tissus embryonnaires. Ces derniers sont riches en hormones comme les gibbérellines (facteurs de croissance) ou les auxines (facteur de croissance des racines) ce qui n'est pas le cas des organes adultes (Cazau-Beyret, 2013).

I.2.1.1.c) Préparations glycinées

➤ **Les extraits fluides de plantes fraîches standardisés**

La plante fraîche est cryo-broyée puis les principes actifs hydrosolubles isolés par extraction successives dans l'eau et l'alcool de degré croissant. L'alcool est évaporé sous vide puis le résidu sec est mis en suspension dans le glycérol (Cazau-Beyret, 2013).

I.2.1.1.d) Autres formes galéniques

➤ Le Cataplasme

Le cataplasme s'obtient en broyant la plante fraîche, et en l'appliquant ensuite sur la zone à traiter. Afin d'éviter que le cataplasme n'adhère (entre autres sur une plaie), il vaut mieux appliquer celui-ci à travers un morceau de gaze. Les plantes doivent être parfaitement propres avant d'être broyées, et doivent même être trempées dans une solution antiseptique neutre si elles doivent être appliquées sur une plaie, si elles ne sont pas elles-mêmes antiseptiques. (Morigane, 2002).

I.2.2. Dans l'aromathérapie

L'aromathérapie est une thérapeutique utilisant les essences, les huiles essentielles et les hydrolats aromatiques extraits de plantes aromatiques. Elle fait partie des médecines naturelles, c'est une niche de la phytothérapie. Comme en phytothérapie, on distingue deux types d'aromathérapie. Il y a l'aromathérapie de terrain grâce à laquelle l'homme est considéré dans sa globalité (traitement de fond) et l'aromathérapie symptomatique pour traiter les manifestations ou les causes d'une maladie.

Selon le Professeur Valnet, père de l'aromathérapie, « l'huile essentielle est la partie atomique de la plante et le concentré de ses propriétés » (Valnet, 1983 ; Chabert, 2013). Les huiles essentielles sont des assemblages de molécules complexes. Chacune ayant une propriété pharmacologique. Une goutte d'huile essentielle contient en moyenne 150 molécules différentes. On comprend alors aisément qu'une seule huile essentielle puisse avoir plusieurs vertus thérapeutiques donc plusieurs indications, et inversement, que plusieurs huiles essentielles peuvent traiter les mêmes maux (Cazau-Beyret, 2013).

I.2.2.1. Quelques plantes condimentaires et leurs vertus thérapeutiques

L'utilisation des herbes condimentaires dans la cuisine a un objectif majeur, qui est d'améliorer le goût des plats mais on ignore souvent les avantages que ces herbes pourraient apporter en termes de santé (Lan Burrows, 2010).

Plusieurs plantes sont utilisées comme condiment et plantes médicinales, on peut citer quelques espèces connus dans le monde :

➤ La menthe : (*Mentha spicata*)

La menthe est une plante bien connue sous nos latitudes où elle parfume les salades et les plats. C'est une plante rampante à tiges quadrangulaires ascendantes pouvant atteindre 1,20 m de haut, qui portent des feuilles rondes à allongées, généralement d'une belle couleur verte,

souvent ridées, parfois duveteuses, desquelles se dégage une forte odeur de "menthe" facilement reconnaissable. Les fleurs, qui poussent en grappes à l'aisselle des feuilles sont de couleur rose (Franchomme et *al.*, 2001 ; Iserin, 2001).

Propriétés médicinales

On utilise principalement les feuilles de la menthe et l'essence obtenue par distillation à la vapeur des feuilles et sommités fleuries.

En usage interne, la menthe s'utilise contre l'atonie digestive, l'indigestion, la fatigue générale, les gastralgies, les spasmes gastriques et coliques, les diarrhées, le choléra, les parasites intestinaux, les intoxications gastro-intestinales, les affections hépatiques et les vomissements nerveux. On l'utilise aussi contre les palpitations et vertiges, les migraines, les tremblements, les règles insuffisantes ou douloureuses, la bronchite chronique, et la tuberculose.

En usage externe, la menthe s'utilise contre la gale, l'asthme, la bronchite, la sinusite, les migraines, les névralgies dentaires, et les moustiques (Morigane, 2002; Iserin, 2001).

➤ **Gingembre (*Zingiber officinale*)**

Le gingembre est originaire d'Inde, de Chine et de l'Ile de Java, mais il est aussi cultivé dans d'autres pays tels les Philippines et Tahiti. Ses tiges érigées portent deux rangées de feuilles lancéolées et des épis de fleurs blanches, et peuvent atteindre 50 cm à 1m de haut. Le Gingembre est estimé depuis l'Antiquité jusqu'au Moyen Âge aussi bien en tant qu'épice qu'en tant que drogue. La racine seule est aromatique (Morigane, 2002 ; Franchomme et *al.*, 2001).

Propriétés médicinales

On utilise surtout la racine, brute ou sous forme d'essence. En usage interne, le gingembre est utilisé pour soigner l'inappétence, les digestions difficiles, ou les diarrhées. On l'utilise aussi pour prévenir les maladies contagieuses, combattre l'impuissance et stimuler la sécrétion thyroïdienne ainsi que celle des hormones masculines.

En usage externe, le gingembre est utilisé pour traiter les douleurs rhumatismales et l'angine (Morigane, 2002).

➤ **Ail (*Allium sativum*)**

L'ail est une plante vivace constitué d'un bulbe formé de gousses enveloppées dans une membrane, que surmonte une tige unique, pouvant atteindre 1 m de haut, et portant des feuilles longues et minces. La tige porte à son extrémité une ombelle de fleurs blanches comestibles (Iserin, 2001).

Propriétés médicinales

On utilise uniquement le bulbe et son essence. En usage interne l'ail est utilisé en prophylaxie et en traitement des maladies infectieuses (grippe, typhoïde, diphtérie), en traitement des diarrhées et dysenteries et des affections pulmonaires (tuberculose, bronchites chroniques). Il est aussi utile en cas d'asthénie, de fatigue cardiaque, dans le traitement de certaines tachycardies, de l'hypertension artérielle, et autres troubles circulatoires. L'ail est aussi réputé dans le traitement des rhumatismes, de la goutte, de la lithiase urinaire et pour lutter contre les parasites intestinaux (ténia). L'ail étant en effet depuis longtemps connu comme étant un remède quasi universel et peu coûteux.

En usage externe, l'ail est utilisé contre les cors, les verrues, les durillons, les plaies, les plaies infectées et les ulcères, ainsi que contre les abcès froids, les tumeurs blanches et les kystes. On l'utilise également contre la gale, la teigne et contre les piqûres de guêpe et d'insectes (Franchomme et *al.*, 2001 ; Morigane, 2002).

➤ **Thym : (*Thymus vulgaris*)**

Le Thym, condiment bien connu de la cuisine méditerranéenne, est un sous-arbrisseau ramifié à tiges ligneuses, qui ne dépasse pas les 40 cm de haut, et qui pousse un peu partout sur le pourtour Ouest du bassin méditerranéen. Ses tiges portent de nombreuses petites feuilles pointues, très aromatiques, et se couvrent en été de petites fleurs bilabiées couleur lilas. Ses racines de couleur brun-grisâtre forment une touffe dense (c'est ce qui permet à la plante de pousser presque n'importe où) (Lan Burrows, 2010 ; Gardet, 2006).

Propriétés médicinales

On utilise principalement les feuilles, les fleurs, et l'huile essentielle rectifiée (on en enlève les substances irritantes). En usage interne, le thym est utilisé pour soigner l'asthénie physique et psychique, les angoisses, la neurasthénie, les déficiences nerveuses, l'anémie des enfants, l'hypotension, la chlorose, les toux convulsives, les affections pulmonaires (emphysèmes, mycose, bronchites), la tuberculose et l'asthme. On s'en sert aussi pour traiter l'atonie digestive, les parasites intestinaux (ascaris, oxyures, ténia), les infections intestinales (typhoïde) et urinaires, les affections dues au froid (rhume, grippe, courbatures, frissons,

angines), les maladies infectieuses, la furonculose, la suppression accidentelle des règles, les leucorrhées, les rhumatismes, les insomnies et les troubles circulatoires.

En usage externe, le thym est utilisé pour soigner les dermatoses, les furoncles, les plaies, les leucorrhées, la fatigue générale, le rhume, la grippe, l'angine, les rhumatismes articulaires et musculaires, la goutte, l'arthritisme, la chute des cheveux, les plaies, la pédiculose et la gale. Le thym sert aussi dans les soins buccaux et dentaires (Morigane, 2002 ; Lan Burrows, 2010).

➤ **Basilic (*Ocimum Basilicum*)**

Le Basilic est une plante annuelle ou vivace éphémère pouvant atteindre 60 cm de haut, dont les tiges quadrangulaires portent des feuilles dentées, au parfum fort et frais, évoquant le Clou de Girofle, puis des petites fleurs blanches à la fin de l'été (Gardet, 2006 ; Iserin, 2001).

Propriétés médicinales

On utilise principalement les sommités fleuries et surtout l'essence obtenue par distillation à la vapeur des feuilles. En usage interne, le Basilic est utilisé dans le traitement de l'asthénie nerveuse (surmenage intellectuel), des angoisses, de l'insomnie nerveuse, des spasmes gastriques, des infections intestinales, des vertiges, et de la coqueluche. Il sert aussi pour lutter contre les migraines, l'épilepsie, la paralysie, la goutte et les règles insuffisantes.

En usage externe, le Basilic sert à traiter la perte d'odorat (principalement celui provoqué par le coryza chronique). Pour cela vous pouvez utiliser les feuilles sèches pulvérisées, ou l'essence de Basilic, que vous inhalerez. L'essence ou les feuilles froissées peuvent aussi être utilisées pour traiter les piqûres de guêpe, et comme traitement d'appoint des piqûres de serpents (Morigane, 2002 ; Iserin, P., 2001).

➤ **Romarin (*Rosmarinus officinalis*)**

Le romarin est un condiment aromatique bien connu dans nos cuisines. C'est un arbuste dense, sempervirent, pouvant atteindre 2 m de haut, à feuilles résineuses en forme d'aiguille. Ses branches se couvrent au printemps de délicates fleurs bleues, riches en pollens, et appréciées des abeilles (Iserin, 2001).

Propriétés médicinales

On utilise principalement les feuilles, les fleurs, et l'huile essentielle. En usage interne, le romarin est utilisé pour soigner l'asthénie, le surmenage physique et intellectuel, l'hypotension, l'asthme, les bronchites chroniques et la grippe. On l'utilise aussi pour traiter les infections intestinales, les colites, les diarrhées, l'hépatisme, les ictères par hépatite et par obstruction, les douleurs gastriques. Enfin on l'utilise aussi contre les rhumatismes, la goutte,

les migraines, les affections du système nerveux (hystérie, épilepsie, séquelles de paralysies, faiblesse des membres), les troubles cardiaques nerveux et les vertiges.

En usage externe, le romarin est utilisé pour soigner les plaies, les brûlures, les rhumatismes, les douleurs musculaires, les pertes blanches, la pédiculose, la gale, la fatigue générale, la débilité des enfants, et la faiblesse de la vue (Morigane, 2002).

➤ **Clou de girofle (*Eugenia caryophyllata*)**

Girofle est un arbre tropical de 10 à 15 m de hauteur, très aromatique. Tous ses organes sont pourvus de poches glandulaires qui élaborent des essences. Les fruits aromatiques, sont appelés « anthofles ». Ce sont des baies brun-violacés. Les fleurs en bouton, la partie la plus odorante du girofle, constituent l'épice, ce sont les clous de girofle (Gallouin et *al.*, 2003).

Propriétés médicinales

On utilise les clous de girofle ainsi que l'essence obtenue par distillation à la vapeur. En usage interne, les clous de girofle sont utilisés pour traiter l'asthénie physique et intellectuelle, les dyspepsies, les fermentations gastriques, les diarrhées, les parasites intestinaux, les affections pulmonaires (tuberculose) et les névralgies dentaires. Il sert aussi à préparer l'accouchement et à prévenir les maladies infectieuses.

En usage externe, les clous de girofle peuvent être utilisés pour soigner la gale, les plaies infectées ou non et les ulcères de jambe. Ils servent aussi à éloigner les moustiques et les mites (Morigane, 2002 ; Gallouin et *al.*, 2003).

Chapitre II :Les principes actifs des plantes condimentaires

II- Les principes actifs des plantes condimentaires

Les plantes sont d'une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques qui apporte à la plante par la photosynthèse la nutrition, ils accumulent fréquemment des métabolites dites « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix, et *al.*, 2005 ; Bruneton, 2009).

- **Les métabolites primaires** sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ces composés sont classés en quatre principaux groupes, les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Goetz, et *al.*, 2009).

- **Les métabolites secondaires** sont des substances chimiques appelés principes actifs élaborée par la plante, qui vont lui permettre de lutter contre toutes les agressions environnementales (Bruneton, 2009).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelque fois atteindre des valeurs élevées ; la notion de métabolites secondaires résultait initialement de trois groupes d'observations ; d'abord une difficulté à attribuer à ces métabolites une fonction précise dans la physiologie même de la plante, ensuite une répartition très inégale selon les végétaux, quelque fois entre des espèces très voisines ou même entre différentes sous-espèces ou variétés à l'intérieur d'une même espèce, enfin une certaine inertie biochimique car ces substances sont rarement remobilisées dans la plante après qu'elles y ont été accumulées (Macheix, et *al.*, 2005) .

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais ils sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Hartmann, 2007).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple, ils sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont largement utilisés en thérapie comme vasculo-protecteurs, anti-

inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (Goetz, et *al.*, 2009).

Dans cette partie, on va discuter sur les principaux actifs des plantes, qui sont utilisées dans la pharmacognosie telle que les composés phénoliques et les huiles essentielles et qui ont prouvé leurs pouvoirs médicamenteux.

II.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005). Ils constituent un des groupes de substances le plus nombreux et largement distribué dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante (Lugasi et *al.*, 2003).

Une des caractéristiques des composés phénoliques, qu'ils partagent généralement avec l'ensemble des métabolites secondaires, est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales et, pour une même espèce selon, la variété et le stade d'évolution physiologique. Les variations sont également considérables selon la nature des tissus et des cellules composant le végétale (Macheix, et *al.*, 2005).

Selon le nombre d'unités phénoliques présentes, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols. Par abus, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignines et les xanthones (Stalikas, 2007).

II.1.1. Répartition cellulaire et tissulaire dans les différents organes de la plante

Le niveau d'accumulation des composés phénoliques dans les différents tissus et organes de la plante apparaît toujours comme la résultante entre leur biosynthèse et leur utilisation et/ou leur dégradation. On ne peut exclure non plus que certains de ces composés puissent se déplacer dans la plante comme cela a été suggéré pour l'acide salicylique. Cet éventuel transport ne semble cependant pas concerner la plupart des molécules phénoliques comme cela été montré récemment dans le cas des flavonoïdes dont la synthèse et l'accumulation ont lieu dans les mêmes cellules (Perret, 2001).

➤ A l'échelle cellulaire

On observe une compartimentation des composés phénoliques avec deux localisations principales bien distinctes ;

- D'une part, la vacuole où sont présents tous les composés ayant un caractère hydrophile plus ou moins marqué. Ils correspondent à la plupart des formes simples et à certaines formes polymérisées comme les tanins. Il faut rappeler que la glycosylation très fréquente des molécules phénoliques augmente considérablement leur hydro-solubilité.
- D'autre part, la paroi où sont retrouvées la lignine et les différentes formes liées aux structures lipidiques. Dans les tissus où la plupart des cellules sont mortes (le bois), les composés phénoliques, et en particulier les flavonoïdes, se trouvent alors adsorbés sur les structures pariétales. Par ailleurs, certains flavonoïdes simples à caractère apolaire peuvent également être présents dans des exsudats à la surface de bourgeons ou de feuilles (Macheix, et *al.*, 2005).

➤ **A l'échelle tissulaire**

La répartition des composés phénoliques montre également des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement. Ainsi, les composés phénoliques des feuilles et des fruits présentent généralement une répartition très caractéristique, avec de fortes teneurs des anthocyanes et des flavonols dans des épidermes (Macheix, et *al.*, 2005 ; Sarni-Manchado, et *al.*, 2006).

II.1.2. Structure, Biosynthèse et classification des composés phénoliques

Plusieurs milliers de composés phénoliques ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux. Ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La désignation "polyphénols" est consacrée par l'usage et alors, qu'elle ne devrait concerner que les molécules portant plusieurs hydroxyles phénoliques. Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques : celle, de l'acide shikimique et celle, issue des acétates (Sarni-Manchado, et *al.*, 2006).

De plus, la diversité structurale des composés phénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Martin et *al.*, 2002).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient, d'abord, par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications du squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...). Enfin par les liaisons possibles de ses molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites

secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) Les différentes classes de ces composés phénoliques isolées des plantes sont illustrées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Les principales classes des composés phénoliques (Dif, 2014).

Nombre d'atomes de carbones	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C6	Phénols simples	Catéchol
7	C6-C1	Acides phénoliques	Acide salicylique
8	C6-C2	Acétophénones	3-Acétyl-6-méthoxybenzaldéhyde
		Acide hydroxycinnamique	Acide caféique
9	C3-C6	Phénylpropènes	Eugénol
		Coumarines	Ombelliférone
		Chromones	Eugenine
10	C6- C4	Naphtoquinones	Juglone
13	C6-C1-C6	Xanthones	1, 2, 3,7 tétraméthoxy
			Xanthone
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Acide hunularique
		Anthraquinones	Emodine
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Quercetine
		Isoflavonoïdes	Genisteine
18	(C6-C3)2	Lignanes	Podofyllotoxine
30	(C6-C3-C6)2	Biflavonoïdes	Kayaflavone
N	(C6-C3) n	Lignines	//
	(C6) n	Catéchol mélanines	
	(C6-C3-C6) n	Flavolanes (tanins condensés)	

II.1.3. Les phénols simples et les acides phénoliques

Les phénols simples sont les composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le(s) noyau(x) benzénique(s) comme le 3-hydroxytyrosol, le tyrosol, le 4-vinylphénol. Les acides phénoliques sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Donatien, 2008).

II.1.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont, en partie, responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastides particuliers, les chromoplastes (Guignard, 1996).

Près de 6500 flavonoïdes repartis en 12 classes sont connus (De Rijke et *al.*, 2006) et leur nombre ne cesse d'accroître. Par définition, ce sont les composés qui ont en commun la structure du diphenyl propane C₆-C₃-C₆ ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C. L'existence des différentes classes structurales des flavonoïdes serait fonction des modifications de l'hétérocycle C (Donatien, 2008).

II.1.4.1. Localisation et distribution des flavonoïdes dans la plante

Les flavonoïdes sont amplement répandus dans le règne végétal (graines, fleurs, fruits, feuilles). On les trouve aussi chez les Fougères, les Angiospermes, ...etc (Dif, 2014).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes hydrosolubles s'accumulent dans les vacuoles, et selon les espèces se concentrent dans l'épiderme des feuilles, ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, ils sont concentrés dans les cellules épidermiques (Bruneton, 2009).

Lugasi *et al.* (2003) ont étudié la composition en flavonoïdes de quelques légumes et fruits et ils ont montré que la teneur en flavone et en flavonol des aliments végétaux est fortement influencée par des facteurs tels que la saison, le climat et le degré de maturité.

II.1.4.2. Rôle des flavonoïdes dans les plantes

Certains flavonoïdes sont spécifiques de certains tissus, les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles ; les chalcones se trouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Ce sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (nuances jaunes et orangées), leur fonction principale est la

pigmentation des plantes. Les flavonoïdes, en particulier les anthocyanes, sont les seules molécules du règne végétal capables de produire une vaste gamme de couleur, susceptibles de donner des teintes allant du jaune orangé au bleu ; les flavones et les chalcones donnent plutôt des couleurs jaune, beige et blanche. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent aussi jouer un rôle dans la protection des plantes (Scalbert et *al.*, 2000).

II.1.4.3. Propriétés thérapeutiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent plusieurs propriétés thérapeutiques, certaines établies depuis longtemps (2000 ans), par leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques multiples (Bouزيد, 2014), dans cette partie on va citer certaines activités biologiques de flavonoïdes.

➤ Activité antioxydante

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Gyorgyi, lauréat prix Nobel, en tant que des composés avec une activité antioxydante prononcée (Hodek et *al.*, 2002). Les flavonoïdes expriment les propriétés antioxydantes par : le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), la suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Dif, 2014).

➤ Propriétés pro-oxydantes

Nous avons décrit précédemment les propriétés antioxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes. Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le peroxyde d'hydrogène. En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides *in vitro*. Alors, le potentiel pro-oxydant de ces composés ne doit pas être négligé dans le mécanisme d'action des flavonoïdes (Milane, 2004).

➤ Activité anti-tumorale

La plupart des flavonoïdes sont *in vitro*, antimutagènes ; à l'exception de quelques flavonols qui sont sur les mêmes modèles mutagènes et un petit nombre d'entre eux sont anti-cancérogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales *in vitro* (Bruneton, 2009). Les effets anti-carcinogènes de la quercétine et d'autres flavonoïdes deviennent de plus en plus évidents.

Tieppo et *al.* (2007) ont démontré que la quercétine n'était pas génotoxique et en revanche, elle a augmenté la stabilité génomique chez les rats ayant une cirrhose biliaire induite par la ligature cholagogue.

En plus de l'activité antioxydante, Li et *al.* (2007) ont observé une activité anticancéreuse, pour l'épicatéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 de la fraction d'acétate d'éthyle des extraits du *litchi*.

➤ Effets cardiovasculaires

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes.

Parmi les 17 flavonoïdes examinés par Xu et *al.* (2007), les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, kaempferol et lagénisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire (Dif, 2014).

II.1.5. Les tanins

Ils sont définis comme étant des composés poly-phénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (polymères) ayant la propriété de tanner la peau. (FPM 1, 2014).

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Il existe deux grands groupes de tannins : Les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Ils se différencient par leur structure et leur origine biogénétique (Donatien, 2008).

II.1.5.1. Les tanins hydrolysables

Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique; ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et d'eau chaude (Donatien, 2008). Une forme simple de ce type de tanin est le pentagalloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, par exemple la castalagine chez le châtaignier ou le chêne (Dif, 2014).

II.1.5.2. Les tanins condensés

Ce sont des polymères flavaniques constitués d'unité flavan-3-ols, également appelée catéchine ou épicatechine. Ces unités sont liées entre elles par des liaisons carbone-carbone ou des liaisons carbone-oxygène. C'est ce groupe de tannins qui justifie la classification de ces composés comme flavonoïdes au sens large. Les tannins sont formés de deux ou de plusieurs unités flavan-3-ols et donc une seule unité de flavan-3-ol ne constitue pas à elle-seule la définition de tannin. Les dimères les plus simples sont les procyanidols dimères (procyanidol B3) et c'est à partir de ce type de structure constituée au minimum de deux sous-unités flavan-3-ol qu'on a affaire à des tannins (FPM 1, 2014).

II.1.5.3. Propriétés biologiques des tanins

Ils découlent essentiellement de leurs propriétés à former des complexes avec les macromolécules. Les propriétés biologiques des tannins sont :

- ✓ Action astringente qui correspond à la précipitation des glycoprotéines. C'est la propriété la plus importante des tannins.
- ✓ Action antidiarrhéique : Les tannins vont imperméabiliser les couches externes de la peau et les muqueuses et surtout la muqueuse intestinale d'où cette action.
- ✓ Action antiseptique qui se traduit par des effets antibactériens et antifongiques.
- ✓ Piégeurs de radicaux libres comme tous les polyphénols (propriétés antioxydantes).
- ✓ Pouvoir cicatrisant : ils favorisent la régénération des tissus en cas de blessure superficielle.
- ✓ Les Catéchols (catéchine et épicatechine) exercent une activité cardioprotectrice, anti-inflammatoire et anti-thrombotique et jouent un rôle dans la prophylaxie de certains cancers (peau et poumons) (FPM 1, 2014).

II.1.6. Les coumarines

Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone. Isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820, aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes. Dans les plantes, on les rencontre dans les *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Abaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae* et *Solanaceae*. Du point de vue structural, on les classe en coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène, les furanocoumarines, les pyranocoumarines, ceux substitués en position 3 et ou 4 et le dernier groupe serait celui des dimères (Donatien, 2008).

Les coumarines sont des solides cristallisés blancs ou jaunâtres, de saveur généralement amère, certaines sont sublimables et entraînaient à la vapeur d'eau. Les hétérosides et les génines sont assez solubles dans l'eau et l'alcool. Les coumarines hydroxylées possèdent une intense fluorescence bleue en lumière ultraviolette. Leur spectre U.V est également caractéristique et sert à leur identification. Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone par son ouverture et sa solubilisation en milieu alcalin puis, par fermeture en milieu acide pour la régénérer (FPM 2, 2014).

II.1.6.1. Propriétés biologiques des coumarines

Les coumarines augmentent la résistance et diminuent la perméabilité des veines et des capillaires (propriété vitamine P). Les coumarines complexes sont surtout responsables d'accidents photo-sensibilisants. Cela se présente parfois par une hyper-pigmentation de la peau (FPM 2, 2014).

II.1.7. Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique et servent de précurseurs pour les composés de type phénylpropanoïde tels que les lignanes et les lignines.

II.1.7.1. Les lignanes

Ils répondent à une représentation structurale de type $(C_6C_3)_2$; l'unité C_6C_3 est considérée comme un propylbenzène. Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique. Quand cette dimérisation implique une liaison oxydante par les C-8 des chaînes latérales propényles de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison C8 –C8', les métabolites résultants portent le nom de lignane. Le terme neolignane est employé pour définir tous les autres types de liaison. Lorsqu'il n'y a pas de liaison directe C–C entre les unités C_6C_3 mais liés par un atome d'oxygène d'éther, le composé est appelé oxynéolignane. Il existe d'autres types de lignanes tels que les esquinéolignanes (ayant trois unités de C_6C_3) et les dinéolignanes (contenant quatre unités de C_6C_3) (Donatien, 2008).

II.1.7.2. Les lignines

Les lignines constituent 15 à 35% des bois des angiospermes et des gymnospermes, ce qui représente une biomasse considérable produite annuellement par les végétaux. En raison de leur caractère hydrophobe marqué, les lignines s'accumulent au niveau des parois des cellules. Elles sont présentes au niveau des vaisseaux conduisant la sève brute et sont responsables de la rigidité des fibres végétales. On les trouve également dans les tissus

végétaux présentant une forte résistance mécanique, comme les sclérenchymes des chaumes ou le noyau des fruits.

L'accumulation des lignines est importante pour la longévité des espèces, ils fonctionnent comme des phytoalexines, devant assurer la protection pour les plantes contre les maladies et les parasites. Les lignines sont aussi des antioxydants spéciaux qui ont fait preuve de remarquables effets bénéfiques sur la santé, ils ont entre autres une activité antifongique, anti-inflammatoire et bactéricide. En plus, ils agissent contre le diabète et les taux élevés de cholestérol (Bouterfas, 2011).

II.2. Les huiles essentielles

Nous trouvons différentes définitions d'une huile essentielle, la pharmacopée Française (édition 1965) donne une définition officielle des huiles essentielles : « Produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus au moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisés pour la préparation des essences officinales : Celui par distillation dans la vapeur d'eau de plants à essences ou de certains de leurs organes et celui par expression »

Depuis la neuvième édition (1972) la pharmacopée n'utilise plus que le terme l'"huile essentielle". En Octobre 1987 l'AFNOR propose une autre définition : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Cette définition paraît encore restrictive car elle exclut de nombreux procédés d'extraction très utilisés sur les marchés de la pharmacie, de l'industrie cosmétique et agroalimentaire.

Une définition encore plus large a donc été donnée : « Nom générique pour tous les produits lipophiles, volatiles, préexistant dans une plante ou une drogue végétale. Une huile essentielle est constituée de nombreuses substances chimiques peu solubles dans l'eau. Dans la plante, celles-ci résultent pour la plupart du métabolisme des terpènes et des composés en C6 C3 et sont localisées dans des organes ou elles sont obtenues par distillation à la vapeur, par hydrodistillation (entraînement à la vapeur d'eau) ou encore dans des cas particuliers, par pression mécanique (ex : agrumes) (Couderc, 2011).

Les huiles essentielles sont des substances naturelles formées de divers constituants chimiques appartenant au métabolisme secondaire. Elles sont appelées substances volatiles du fait qu'elles s'évaporent à l'air libre sous l'action de la température, sans qu'elles soient

dégradées. Elles sont dénommées huiles aromatiques ou parfum, du fait qu'elles dégagent une odeur le plus souvent agréable, elles sont appelées aussi huiles éthyliques vu qu'elles sont solubles dans l'éther.

Les huiles essentielles se trouvent dans plus de 2000 espèces végétales, représentées par 60 familles, dont les plus importantes sont : *Lauracées*, *Labiées*, *Rosacées*, *ombellifères*, *Rutacées*, *Cupressacées*, *Opiacées*, *Abiétacées*.

Actuellement, l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles connaît un grand succès. Longtemps oubliée, l'aromathérapie semble à nouveau attirer de nombreux patients demandeurs de médecines parallèles plus reliées au naturel ; en effet, depuis quelques années, nous observons un engouement de plus en plus important pour les médecines alternatives (homéopathie, phytothérapie et aromathérapie) (Sebai et *al.*, 2012 ; Toumi, 2009).

II.2.1. L'historique des huiles essentielles

Il y a 40.000 ans, les aborigènes d'Australie utilisaient déjà les feuilles de *Melaleuca alternifolia* Maiden et Betche à des fins médicales.

7.000 ans avant notre ère, les eaux aromatiques étaient utilisées en Inde pour traiter le corps et l'esprit mais également au cours des sacrifices religieux.

3.000 ans avant notre ère, les Égyptiens utilisaient les plantes aromatiques à des fins thérapeutiques, pour des pratiques magiques et religieuses. Ces plantes étaient locales mais aussi importées d'Extrême Orient et d'Éthiopie.

Vers 1.500 avant Jésus-Christ, des écrits d'Imhotep mettent en évidence une utilisation proche de l'aromathérapie moderne. Les premières distillations sont apparues en Perse autour de l'an 1.000 avant Jésus-Christ (Chabert, 2013 ; Baudoux, 2008).

Au premier siècle de notre ère, le traité de *Materia Medica*, de Pedanius Dioscoride, sert de référence en phytothérapie pour la médecine occidentale ; cet ouvrage fut utilisé durant un millénaire.

Les Romains et les Grecs étaient de grands utilisateurs d'onguents et de parfums. Puis, vers 1.200 après J.-C., les Arabes utilisèrent l'alambic de façon généralisée afin de préparer des huiles essentielles et des eaux aromatiques.

À la fin du XVI^{ème} siècle, la fabrication des eaux florales se développe. À cette époque, on emploie les huiles essentielles pour traiter des malades mais également pour se parfumer afin de masquer les odeurs corporelles. Avec la civilisation industrielle, l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles est véritablement tombée dans l'oubli (Baudoux, 2008 ; Bouvet, 1937).

II.2.2. Répartition, localisation et rôle des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Il y aurait, selon Lawrence 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles ; *Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées*.....ect

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux ; des fleurs, des feuilles, des écorces, des bois, des racines et des rhizomes.

Dans le cas le plus simple, les huiles essentielles se forment dans le cytosol des cellules où, elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit elles s'accumulent dans les cellules du mésophile de nombreuses pétales (Gerhard, et *al.*, 1993).

D'autres structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante sont impliquées dans l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures regroupent les poils et canaux secteurs et les poches sécrétrices (Chouitah, 2011).

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement, elles jouent un rôle dans l'interaction plante – plante (inhibition de la germination et de la croissance) (Chouitah, 2011).

Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

Les huiles essentielles jouent un rôle écologique dans les interactions végétales, végétale-animales et pourraient même constituer des supports de communication par des transferts de messages biologiques sélectifs. En effet, elles contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirent les abeilles et les insectes responsables de la pollinisation, protègent les végétaux contre les herbivores et les rongeurs et possèdent des propriétés antifongiques et antibactériennes (El Haib, 2012).

II.2.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

II.2.3.1. Propriétés physiques

La dénomination d'huile prête parfois à confusion, les huiles essentielles étant des substances volatiles et non des corps gras. Leur volatilité augmente avec la chaleur.

Elles sont très solubles dans les huiles grasses (meilleurs solvants), et solubles dans l'alcool de titre élevé, les graisses, l'éther et la plupart des solvants organiques, leur consistance est huileuse mais non grasse. Elles sont liquides à température ambiante, leur

densité est inférieure à celle de l'eau, sauf exception comme l'HE de giroflier par exemple (Pierron, 2014).

Leurs couleurs sont variées, beaucoup sont jaunâtres ou incolores mais les couleurs peuvent aller du jaune vert au brun rouge. Elles sont très odorantes (Chabert, 2013 ; Couderc, 2011).

II.2.3.2. Les compositions chimiques des huiles essentielles

Dans les plantes, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines.

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (El Haib, 2012).

II.2.3.2.a) Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (El Haib, 2012).

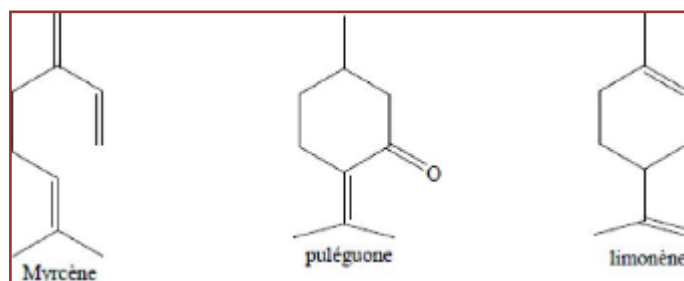


Figure 1: Exemple de quelques monoterpènes (El Haib, 2012).

II.2.3.2.b) Les sesquiterpènes

Composés de trois unités d'isoprènes, ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{24}$, ils sont présents dans de nombreuses huiles essentielles. Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous

forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (El Haib, 2012).

Les huiles essentielles qui renferment ces molécules rares trouvent de très larges applications dans le traitement de toutes pathologies allergiques et inflammatoires. Toutes les éruptions et irritations cutanées, les crises d'asthme, les artérites.

Les sesquiterpènes n'ont pratiquement aucune toxicité aux doses physiologiques. Ils peuvent s'appliquer sur la peau sans la moindre irritation qu'ils sont même censés combattre (Pierron, 2014).

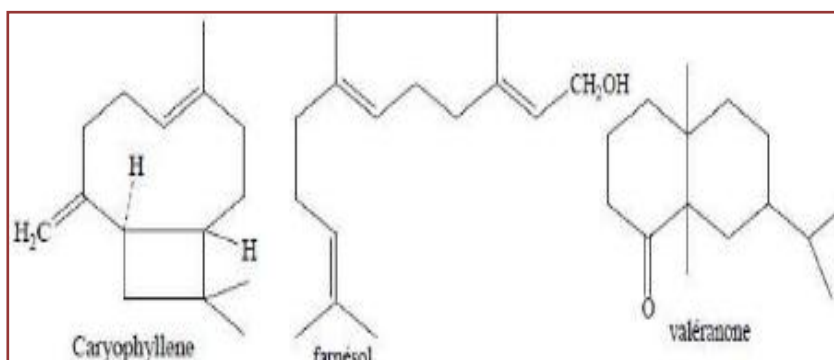


Figure 2: Exemple de quelques sesquiterpènes (El Haib, 2012)

II.2.3.2.c) Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic et de l'estragon (El Haib, 2012).

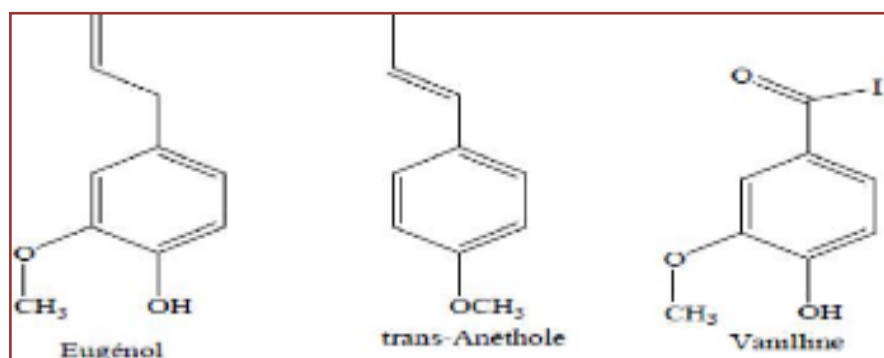


Figure 3 : Exemple de composés aromatiques (El Haib, 2012).

II.2.4. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Une forte demande toujours plus exigeante basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique (El Haib, 2012).

II.2.4.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (El Haib, 2012).

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait (El Haib, 2012).

II.2.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière

végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Kaloustian, et *al.*, 2012).

II.2.4.3. Extraction par un solvant organique

La technique générale a été développée précédemment où la plante est utilisée sous la forme divisée : hachée, concassée ou réduite en copeaux, ou en poudre dans le cas de plantes séchées. Le choix du solvant dépend des paramètres techniques et économiques ainsi que de sa toxicité. Un solvant polaire extraira plus facilement des molécules présentant un caractère polaire important (fonctions chimiques : alcools, aldéhydes, cétones). En revanche, un solvant apolaire favorise l'extraction de molécules peu polaires (carbures cycliques et acycliques). Il faudra tenir compte de la constante diélectrique du solvant (Kaloustian, et *al.*, 2012).

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone, l'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet (El Haib, 2012).

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (El Haib, 2012).

II.2.5. Utilisation des huiles essentielles

Outre l'emploi strictement médical des huiles essentielles, celles-ci sont utilisées dans de nombreux domaines tels que la parfumerie, la cosmétologie, l'agroalimentaire et l'industrie chimique.

II.2.5.1. Industrie agroalimentaire

L'utilisation des huiles essentielles dans le domaine agroalimentaire est actuellement très encouragée ; cette source naturelle est destinée à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments, notamment le goût et l'odeur de ces derniers. En effet, l'essence de citron est utilisée dans des usages multiples : pâtisserie, desserts et arômes. Elles sont aussi utilisées pour inhiber la prolifération de certaines bactéries responsables de la pollution de certains produits alimentaires, comme la viande, les poissons, les fruits, les légumes et les produits laitiers (Toumi, 2010). Les huiles essentielles les plus couramment utilisées sont celle de ; la menthe, la vanille, le poivre, le basilic, le gingembre, l'eucalyptus et surtout les

diverses odeurs de fruits utilisées largement dans la confiserie, la confiture, la liquoristerie, la biscuiterie, la glace et les sirops...ect (Bachir Raho, 2011).

II.2.5.2. Parfumerie et cosmétologie

Les industries de parfumerie utilisent des huiles essentielles totales ou certains de leurs constituants purs pour la fabrication des produits divers tels que, les savons, les dentifrices, les lotions, les parfums...etc. c'est le cas des essences de rose, de lavande, de jasmin, etc (Djibo, 2000).

En cosmétologie, de nombreux produits sont composés de plus en plus en partie d'huiles essentielles. D'une manière générale, les soins à base de produits naturels extraits de plantes ont de plus en plus de succès auprès des consommateurs (Bachir Raho, 2011).

II.2.5.3. Aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. De nombreux produits tels que les pommades, crèmes, gels à base d'huiles essentielles sont destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires et sont administrées par voie externe (Bachir Raho, 2011).

En médecine dentaire, l'exemple le plus couramment utilisé est la listerine, solution constituée d'huile essentielle de thymol et d'eucalyptol utilisée pour le lavage de la cavité orale et des dents et qui possède une activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (kato et *al.*, 1990).

Les huiles essentielles sont utilisées également pour d'autre propriétés et effets thérapeutiques divers telle que ; (Chouitah, 2011).

- Anti-infectieux ; antibactériens (des huiles essentielles contenant du thymol, cavanol..), antivirale (des huiles essentielles contenant des cétones, des monoterpènes...)
- Antispasmodiques ; par exemple les huiles essentielles de cyprès
- Antiparasitaires
- Anti-inflammatoire
- Antioxydant
- Cicatrisant et pour les soins de la peau et l'eczéma telle que les huiles essentielles du romarin

II.2.5.4. Autre usage des huiles essentielles

En dehors de leurs effets antimicrobiens, largement utilisés à l'heure actuelle, les huiles essentielles ont toujours fait l'objet d'autres études biologiques. Ces études ont montré leurs activités insecticides, fongicides, vermicide... etc. Certaines huiles essentielles sont utilisées comme solvant dans l'industrie de peinture et dans la fabrication de germicides désinfectants.

Les composés majoritaires de certaines huiles essentielles (thymol) sont utilisés dans certains pays comme additifs aux déchets animaux afin d'empêcher leur dégradation, qui pourrait générer de mauvaises odeurs, réduire les agents pathogènes et conserver les nutriments des déchets jusqu'à leur recyclage comme agents fertilisants (Bachir Raho, 2011).

II.2.5.5. L'activité antibactérienne des huiles essentielles

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes.

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire. Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram négatives *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni*, ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. La bactérie reconnue comme la moins sensible à leurs effets reste néanmoins la bactérie Gram négative *P. aeruginosa*.

La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. Les huiles d'agrumes, de lavande, de menthe, de genévrier, de l'arbre à thé, de thym et d'eucalyptus se révèlent particulièrement efficaces contre les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline et les entérocoques résistants à la vancomycine. Les huiles essentielles, isolées de deux espèces de thym de Corée, *Thymus magnus* et *Thymus quinquecostatus*, sont également capables d'inhiber la croissance de bactéries résistantes comme *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* et *S. aureus* (Guinoiseau, 2010).

II.2.6. Identification des constituants dans un mélange complexe

Les produits naturels d'origine végétale ; extraits, huiles essentielles, résines sont de nos jours très recherchés. Ils se présentent pratiquement toujours sous forme d'un mélange complexe constitué de plusieurs dizaines de composés en proportions variables. Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire. De plus, dans le domaine industriel, les molécules qui peuvent en être isolées, dans la plupart des cas optiquement actives, constituent des substrats intéressants pour l'hémi-synthèse de produits pharmaceutiques, de vitamines, de substances odorantes, etc (Bruneton, 1993).

La valorisation ou la commercialisation de ces mélanges naturels, quelle que soit leur application, est en général précédée d'une étape de caractérisation. Celle-ci peut être considérée comme une application de la métabolomique. La métabolomique est devenue une technique très répandue permettant l'étude de tous les types d'organismes vivants et doit compléter les données obtenues par la génomique, la protéomique ou la transcriptomique.

Ainsi le métabolome est une manifestation biochimique du génome ; et plus précisément une caractérisation de la partie fonctionnelle du génome. Ce concept introduit, voici une dizaine d'années dans l'analyse phytochimique, a été défini par Schripsema (2010) comme l'identification et la quantification de tous les métabolites dans un système biologique. Ainsi il s'agit de mesurer les réponses du métabolisme d'un système vivant en réponse à un stimulus ou à une modification génétique. Le double objectif identification/quantification est difficile à atteindre à cause de la complexité des matrices végétales mais surtout à cause de l'absence de méthodes standardisées car les techniques sont souvent spécifiques en fonction du domaine d'application. A titre d'exemple et ce malgré près d'un demi-siècle d'études des huiles essentielles par CPG, il n'existe aucune banque de données publique où chacun puisse déposer ses résultats. Ainsi, même l'identification d'un composé, déjà connu, peut s'avérer délicate en l'absence de comparaison aisée avec des données antérieures (Sutour, 2010).

II.2.6.1. Les méthodes analytiques

Le double objectif identification/quantification consiste à déterminer la composition chimique de chaque huile essentielle et extraits par différentes méthodes analytiques spectroscopique et/ou chromatographiques. De manière conventionnelle, l'étude de la composition chimique d'un mélange naturel complexe peut être réalisée selon différentes voies (Figure 4)

➤ **La voie A** est particulièrement bien adaptée aux analyses de routine (par exemple, contrôle de la qualité) d'échantillons d'huiles essentielles ou d'extraits végétaux dont les constituants ont déjà été décrits dans la littérature. Elle fait intervenir le couplage d'une technique chromatographique (CPG, CLHP), qui permet l'individualisation et la quantification des constituants, avec une technique spectroscopique (SM, IRTF, ...), qui permet leur identification par combinaison de leurs données spectrales avec celles de produits connus.

➤ **La voie B**, en deux étapes, s'impose lorsque les constituants d'un mélange présentent des difficultés d'identification (structures complexes et/ou très proches). Ainsi, le travail d'analyse comporte une étape préalable de purification de tous les composés par différentes techniques chromatographiques suivie d'une étude spectroscopique, incluant la RMN du ^1H et du ^{13}C , en vue de leur identification.

➤ Enfin, l'analyse peut également être menée selon **la voie C** (Figure 4), plus récente, qui met en œuvre la Résonance Magnétique Nucléaire du ^{13}C (RMN) pour l'identification des composés en mélange sans séparation préalable ou précédée d'une étape de fractionnement réduite au minimum. Cette technique peut également être employée pour la quantification des constituants lorsque celle-ci ne peut être réalisée par les méthodes usuelles (Sutour, 2010).

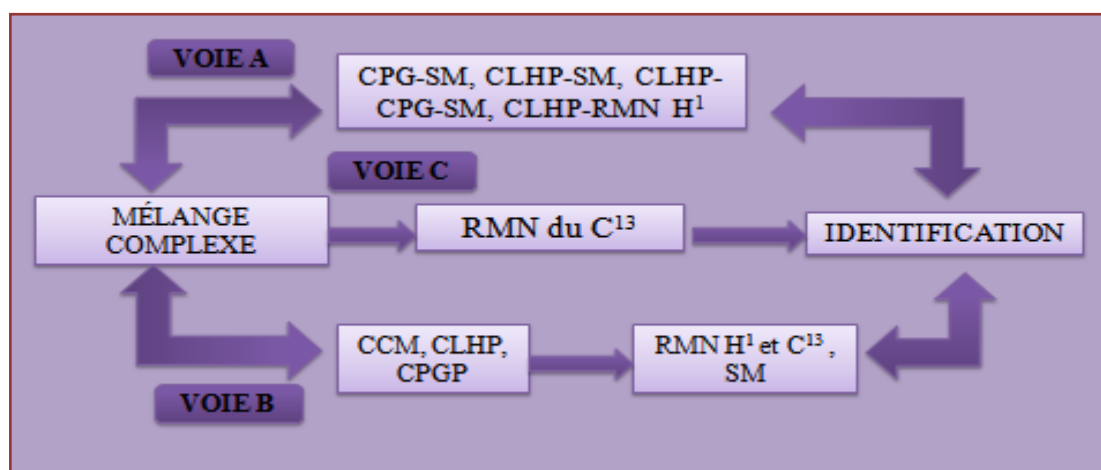


Figure 4 : Les méthodes d'analyses d'un mélange complexe (Sutour, 2010).

II.2.6.1.a) Analyse par des couplages (Voie A)

Nous allons décrire dans un premier temps les différents couplages utilisés dans des domaines très divers entre une technique chromatographique et une technique spectroscopique. Cette partie traitera dans un premier temps des différents couplages avec une technique de chromatographie en phase gazeuse et dans un deuxième temps avec une technique de chromatographie en phase liquide.

a- La chromatographie en phase gazeuse CPG

La CPG est une méthode de séparation mais aussi d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative. Depuis peu de temps, la quantification relative par CPG est remise en cause. En effet, l'utilisation des détecteurs les plus répandus à ionisation de flamme (DIF) et/ou de spectrométrie de masse (DSM), ne donnent pas un facteur de réponse unique. En effet, le squelette et surtout la composition élémentaire des constituants organiques influent sur le facteur de réponse. Ainsi des méthodes de quantification réelle avec étalons interne et externe qui sont quasiment les seules utilisées aujourd'hui et développées pour répondre aux exigences de la pharmacie, la cosmétique, l'agro-alimentaire et surtout le domaine de la recherche scientifique (Bicchi, *et al.*, 2008 ; Arpino *et al.*, 1995).

Une meilleure information peut être obtenue grâce à l'utilisation des indices de rétention, mesurés sur les colonnes apolaires et polaires, qui sont plus fiables que les temps de rétention.

Ils sont calculés à partir d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires. Le calcul peut se faire pour une expérimentation à température constante par interpolation logarithmique: indices de Kováts (IK) (1965) (Grundschober, 1991).

La CPG est préférentiellement utilisée dans le cas des molécules volatiles comme celles qui sont présentes dans les huiles essentielles (mono et sesquiterpènes, certains diterpènes). Elle peut être utilisée avec des molécules plus lourdes (stéroïdes, triterpènes,...) en utilisant une température isotherme élevée (CPG haute température CPGHT).

L'identification des constituants d'une huile essentielle est difficilement réalisable uniquement par CPG, donc des divers couplages de la CPG avec des techniques spectroscopiques ont été développés (Sutour, 2010).

b- Couplage d'une technique chromatographique avec une technique spectroscopique**➤ Les couplages CPG-SM**

D'un point de vue analytique, d'important progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec un spectromètre de masse (SM). En effet, le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de la molécule. Cette technique permet d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier (Sutour, 2010).

En fait, dans la pratique, l'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet, en général l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles (Sutour, 2010).

➤ Le couplage CLHP-SM

La Chromatographie Liquide Haute Performance s'adresse à des substances peu ou pas volatiles et parfois polaires. Le couplage CLHP-SM a été utilisé pour l'identification d'esters sesquiterpéniques, d'alcaloïdes, xanthones, dans des extraits méthanoliques mais aussi des psoralènes et des flavones à partir d'huiles essentielles. D'autres travaux ont mis en œuvre ce couplage pour l'analyse de terpènes dans des extraits au dichlorométhane et des composés phénoliques. Il est cependant à noter que l'utilisation de conditions opératoires très variées surtout concernant les colonnes ne permet pas des comparaisons faciles (La Torre, et *al.*, 2006 ; Verpoorte, et *al.*, 2010).

➤ Le couplage CLHP-RMN 1H

La RMN du 1H apporte des informations extrêmement précieuses sur la structure des molécules, mais présente l'inconvénient d'être beaucoup moins sensible que les techniques spectroscopiques décrites précédemment (IR et surtout SM). Néanmoins, la mise en œuvre de couplage CLHP-RMN 1H a été rendu possible grâce au développement d'aimants supraconducteurs de plus en plus puissants (jusqu'à 23,5 Tesla), permettant ainsi d'abaisser le seuil de détection pour les composés à des valeurs de l'ordre du nanogramme. Ce couplage a aussi été rendu possible grâce au développement de colonnes capillaires dont la faible

consommation en éluant permet d'employer des solvants deutérés, évitant ainsi d'avoir recours à des techniques d'irradiations sélectives (Sutour, 2010 ; Victoria et *al.*, 2003).

L'utilisation de la CLHP couplée à la RMN s'est révélée efficace pour l'identification de flavonoïdes dans un extrait méthanolique (Andrade Fabio, 2002). Plus récemment, la CLHP-RMN ¹H a permis l'identification des produits de dégradation issus de l'acide 5-amino-salicylique dans un médicament générique (Novak, 2006).

II.2.6.1.b) Identification des constituants après purification (Voie B)

La séquence opérationnelle développée ici s'apparente à ce qui est fait lors de l'isolement et la caractérisation spectroscopique d'une nouvelle molécule. Le mélange est d'abord fractionné par différentes techniques chromatographiques, telles la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur couche mince (CCM), la CLHP et la CPG préparative (CPGP) précédées ou non d'une distillation fractionnée ou d'une cristallisation.

Les différents constituants isolés ou présents dans des fractions enrichies sont ensuite identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles de composés de références : spectre de masse, spectre IR, spectres de RMN du ¹H ou du ¹³C (lorsque la quantité de produit isolé est suffisante). Cette voie est extrêmement fiable et permet d'identifier les composés présents dans les mélanges naturels et décrits dans la littérature.

Cette séquence en deux étapes « purification-identification » est la première qui a été utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Par la suite, elle a été supplantée par la voie A, plus rapide. Actuellement cette voie, n'est plus que rarement utilisée. Elle est cependant incontournable pour la caractérisation de nouveaux constituants, mais aussi pour déterminer les composés responsables d'activités biologiques (Sutour, 2010).

II.2.6.1.c) Analyse par RMN du ¹³C sans séparation préalable (Voie C)

La RMN du ¹³C a été utilisée depuis le début des années quatre vingt pour confirmer la présence d'un constituant dans un mélange complexe naturel, préalablement identifié par une autre technique, la SM par exemple. Le principe de cette méthode est simple : il s'agit d'observer dans le spectre du mélange, les raies de résonance appartenant à un composé donné et ce faisant identifier ce composé. Comme nous l'avons mentionné, l'objectif de cette méthode est donc d'éviter, ou tout au moins de réduire, les étapes fastidieuses de purification des constituants. La RMN du ¹³C, en tant qu'outil d'analyse des mélanges, a fait l'objet de travaux dans différents domaines d'investigation : coupes pétrolières, produits agroalimentaires, huiles essentielles (Sutour, 2010).

Chapitre III :Les activités biologiques des principes actifs des plantes

III-Les activités biologiques des principes actifs des plantes

Les dernières décennies sont marquées par l'intérêt particulier porté à la mise en valeur des plantes à intérêt médicinal comme sources de substances bioactives naturelles. De ce fait, de nombreuses études s'intéressent de plus en plus aux effets thérapeutiques des antioxydants d'origine naturelle. Cependant, cette source semble inépuisable, puisque seule une petite partie des 250 000 espèces végétales connues a été investiguée sur les plans phytochimiques et pharmacologiques et que chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie, en dermatopharmacie et dans l'industrie agroalimentaire (El-Haci et *al.*, 2012).

En 2002, L'OMS estime que, pour se soigner 80% de la population africaine recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales. Ces espèces végétales d'aussi grande importance pour la santé des populations méritent d'être étudiées scientifiquement pour leur meilleure utilisation (Basli, et *al.*, 2012).

Parmi ces composés, les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés dans le domaine thérapeutique. Les nombreuses propriétés de ces composés relatives à la santé, sont principalement fondées sur leurs activités antioxydantes et antibactériennes (El-Haci et *al.*, 2012).

III.1. Activité antioxydante

La production de radicaux libres chez les organismes vivants est un processus physiologique, régulé par le biais de divers processus chimiques ou enzymatiques de détoxification. En effet l'organisme possède ses propres moyens de défenses lui permettant de lutter contre ces radicaux libres. Quand ce système de protection perd son efficacité ou quand le nombre de radicaux libres augmente de manière importante, il survient un stress oxydant (Adida, et *al.*, 2015).

Le stress oxydant a été décrit réellement comme un facteur étiologique crucial impliqué dans diverses maladies chroniques humaines telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, inflammation, diabète et vieillissement (Uttara, et *al.*, 2009). Ces dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur diverses biomolécules, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules (Moon, et *al.*, 2009). Plusieurs antioxydants synthétiques comme l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT)

peuvent être inadéquats pour la consommation humaine chronique car les publications récentes ont mentionné leurs propriétés toxiques possibles pour la santé humaine et l'environnement (Edziri, et *al.*, 2012).

III.1.1. Le stress oxydant et les radicaux libres

Le stress oxydant apparaît dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces pro-oxydantes et anti-oxydantes est rompu en faveur de l'état pro-oxydant.

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. L'appellation ROS (Reactive Oxygen Species) inclut les radicaux libres de l'oxygène: anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). A côté des ROS, il existe des ERN (espèces réactives nitrogénées) dont le représentant majeur le $NO^{\bullet}$. C'est un agent vasodilatateur. Il est synthétisé par les NO synthases (NOS). Le $NO^{\bullet}$ est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés pour former des molécules plus toxiques comme les peroxynitrites (Mohammedi, 2013).

III.1.1.1. Production de radicaux libres

Dans l'organisme, la production physiologique d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) se fait de manière continue. Ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire. Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes (Mohammedi, 2013).

La principale source de ROS est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire, elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires. Il existe de nombreuses autres sources parmi lesquelles l'auto-oxydation des petites molécules, Les cyclooxygénases et lipooxygénases, la xanthine oxydase et la NADPH oxydase, le réticulum endoplasmique et les peroxysomes. L'auto-oxydation de la dopamine est en partie impliquée dans le processus apoptotique lors de pathologies neurodégénératives, notamment lors de la maladie de Parkinson (Mohammedi, 2013).

Dans certaines situations, cette production augmente fortement, entraînant un stress oxydatif que l'on définit comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces espèces (ROS). Ce déséquilibre est à l'origine de nombreux facteurs, notamment les polluants présents dans l'air que nous respirons, l'eau et les aliments que nous consommons. Les rayons ultraviolets du soleil, d'autres radiations, la fumée de tabac sont également des facteurs qui augmentent considérablement la présence des radicaux libres dans notre système (Gutteridge, 1993).

III.1.1.2. Les maladies du stress

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies, incluant l'obésité, le diabète, l'athérosclérose, le vieillissement, cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. Les ROS endommagent les protéines, lipides et ADN entraînant des changements de structure et de fonction des structures biologiques et sont impliquées dans de nombreuses maladies (Mohammedi, 2013).

III.1.2. Les Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde de manière significative ou empêche l'oxydation de ce substrat.

Il peut agir en supprimant les ROS ou en empêchant leur formation ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci (Halliwell, 1991). Des activités antioxydantes liées aux saponines, aux triterpènes aux esters gras dérivant tous des plantes ont été reportées (Djeridane et *al.*, 2006). Mais l'activité antioxydante des extraits de plante est essentiellement attribuée aux composés phénoliques en particulier aux flavonoïdes.

Ainsi dans la détermination de l'activité antioxydante d'extraits de plante, la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux est aussi déterminée dans le but d'établir une corrélation essentielle entre teneur en composés phénoliques et activité antioxydante et ou entre teneur en flavonoïdes et activité antioxydante.

Les antioxydants de synthèse tels que le butyl hydroxy anisole (BHA) et le butyl hydroxy toluène (BHT) sont certes très efficaces mais susceptibles de manifester des effets secondaires et voire même toxiques (Manian et *al.*, 2008). Plusieurs molécules à propriétés antioxydantes sont isolées des plantes. Il est donc louable de chercher des antioxydants naturels efficaces

sans ou présentant moins d'effets secondaires pour remplacer les synthétiques ou pour plus de choix à partir des plantes alimentaires et médicinales (Donatien, 2008).

III.1.2.1. Les antioxydants naturels

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (Adida, et *al.*, 2015).

Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes (Adida, et *al.*, 2015).

Les antioxydants d'origines naturelles sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ils agissent par la désactivation des radicaux par création d'addition covalente, la réduction des métaux ou de peroxydes, la complexation d'ions et de métaux de transition et le captage de l'oxygène singulet (Adida, et *al.*, 2015).

➤ La **vitamine C** ou acide ascorbique est une molécule hydrosoluble présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'Homme). Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky, et *al.*, 1999). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AsCH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle ($\text{AsCH}^\bullet$), stabilisé par résonance (Valko, et *al.*, 2006).

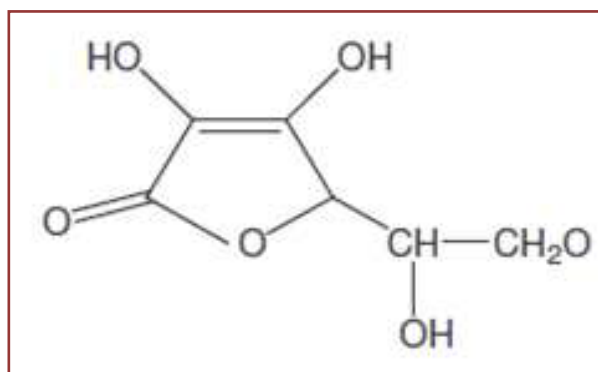


Figure 5: Acide Ascorbique (Valko, et *al.*, 2006).

➤ La **vitamine E** est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (ensemble de 8 molécules dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols). Ce sont de bons antioxydants alimentaires, mais surtout leur rôle physiologique chez l'Homme, comme protecteurs des structures membranaires et des lipoprotéines ou pour lutter contre le stress oxydant, est très important. Elle prévient l'apparition d'hydroperoxydes en piégeant les radicaux LOO• (Rezaire, 2012).

➤ **Les caroténoïdes** sont des pigments liposolubles de couleur jaune, orangée à rouge. Malgré l'identification de plus de 600 caroténoïdes spécifiques, seul un nombre limité d'entre eux sont présents en quantité sensible dans le sang et les tissus humains (Adida, et *al.*, 2015). Malgré la similarité de leur structure, ils exercent différentes fonctions biologiques, dont certains préviennent ou contrôlent efficacement la génération de radicaux libres.

➤ **Les polyphénols**, ce sont des métabolites secondaires des plantes caractérisés par une structure commune de type 2-phénylbenzopyrane. Leur capacité antioxydante réside dans leur faculté à « terminer » les chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Mohammedi, 2013 ; Rezaire, 2012).

III.1.3. Méthodes de dosage de l'activité antioxydante

Diverses méthodes de dosage de l'activité antioxydante *in vitro* induisent la mesure de l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines. Celles-ci ne seront pas abordées, ni celles mesurant le pouvoir antioxydant *in vivo* sur le modèle animal ou chez l'Homme. Cette étude se focalisera sur les méthodes témoignant de l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à piéger des radicaux libres (par transfert d'électron et/ou de proton) issus de phénomènes d'oxydations. On parlera alors d'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante. Seules les méthodes les plus utilisées, en particulier pour les tests *in vitro* chimiques, seront représentées par la suite, en mettant en avant les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de la méthode (Prior *et al.*, 2005).

Les résultats d'activité AO sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant de forte propriété antioxydante connue comme Acide ascorbique ou la vitamine E (Trolox) (Rezaire, 2012).

Il existe plusieurs méthodes spectrophotométriques de détermination de l'activité antioxydante telle que :

III.1.3.1. Test de réduction du radical stable, DPPH

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH°) est stable, coloré et centré sur l'azote. Le principe de cette méthode c'est la réduction du DPPH° par un donneur d'atome H (R:H) conduit à la 2,2-diphényl- 1-picrylhydrazine incolore (DPPH-H) et au radical R. (Portes, 2008).

Le composé à doser est ajouté à une solution de DPPH° (méthanol ou éthanol). La solution est placée à l'obscurité. La réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH° est suivie par spectroscopie visible en enregistrant la décroissance de la bande d'absorption du DPPH° à 515 nm.

Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des antioxydants (composés phénoliques) à piéger ces radicaux libres (Bouزيد , 2014).

Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH°, pour une concentration en antioxydant donnée et un temps donné. L'EC50 (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale en DPPH°) calculée pour chaque antioxydant permet de les classer entre eux. Plus l'EC50 est petite, plus la molécule est antioxydante (Portes, 2008).

L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition (Donatien, 2008).

III.1.3.2. Test de réduction du radical-cation ABTS ou TEAC

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical-cation ABTS, acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), qui présente une bande d'absorption dans le visible avec trois maxima à 645, 734 et 815 nm. Le radical est formé par oxydation de l'ABTS incolore avec différents composés, comme le dioxyde de manganèse (MnO₂), la metmyoglobine, le peroxyde d'oxygène (H₂O₂) ou le persulfate de potassium. Le composé à tester est ajouté au radical pré-formé et, 1 minute après, l'absorbance résiduelle du radical ABTS est mesurée à 734 nm. L'activité des composés est alors exprimée par la Capacité Antioxydante Equivalente Trolox (TEAC) qui correspond à la concentration de Trolox (analogue hydrophile de la vitamine E) donnant la même capacité antioxydante qu'une concentration de 1 mmole/l du composé testé. Ainsi, plus la valeur TEAC est élevée, plus l'antioxydant est efficace (Portes, 2008 ; Schlesier et *al.*, 2002).

III.1.3.3. Reduction de fer; FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

Comme son nom l'indique, cette technique a été développée pour mesurer la capacité du plasma à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyl par réaction de Fenton. Le Fe^{2+} à un pH faible forme un complexe avec la 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine (TPTZ) de couleur bleue qui a une absorption maximale à 594nm. Ainsi, la formation de complexe indiquera un pouvoir réducteur et déterminera la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant (Bouzid, 2014).

L'absorbance du mélange (extrait de plante et réactif) est lue à 593 nm après incubation à la température ordinaire. L'activité antioxydante de l'extrait de plante est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition (Ozgen et al., 2006).

III.1.3.4. La décoloration du bêta-carotène (β - carotene bleaching method)

Cette technique consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50°C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de cinétique de décoloration du β -carotène. Les résultats obtenus sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition de la décoloration du β -carotène (El-Haci, et al., 2006).

III.2. Activité antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les plantes condimentaires comme source d'antibiotique naturelles (Athamena et al., 2010).

De plus, la résistance aux antibiotiques par les microorganismes pathogènes (bactéries, virus, mycètes) est devenue un problème grave car ces contaminations microbiennes touchent toujours la santé publique (Edziri, et al., 2012). Par conséquent, l'intérêt pour les antioxydants (non toxiques) normaux et les antimicrobiens, particulièrement de l'origine végétale, a considérablement augmenté ces dernières années.

Les plantes qui ont déjà fourni à la médecine des molécules thérapeutiques majeures, comme l'aspirine, la morphine, la quinine ou le taxol, offrent un véritable potentiel pour la

recherche de molécules à activité antibactérienne. Peu d'espèces végétales sont connues et seule une minorité d'entre elles est explorée chimiquement. Il resterait entre 300 000 et 500 000 espèces de plantes à découvrir, ce qui laisse présager un nombre conséquent de nouvelles molécules à identifier. Hormis cette vaste biodiversité, les plantes combinent un ensemble de critères, qui justifient le regain d'intérêt pour l'exploitation de cette ressource naturelle (Jones *et al.*, 2006 ; Gibbons, 2008).

La rareté des maladies chez les plantes sauvages s'explique par l'élaboration d'un système de défense naturelle, qui leur permet de lutter efficacement contre les pathogènes. Pour se protéger contre les bactéries, les champignons et les virus, les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, une multitude de molécules antimicrobiennes.

Le spectre d'action des antimicrobiens produits par les plantes est plus restreint que celui généré par les antibiotiques conventionnels. En effet, ces derniers possèdent une haute activité contre les bactéries Gram positives, mais demeurent peu actifs contre les bactéries Gram négatives et les levures (Lewis, 2001).

Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes (EL Kalamouni, 2010).

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines (Sipailiene *et al.*, 2006).

III.2.1. Mode d'action des principes actifs contre les microorganismes

Les vertus antimicrobiennes des HE et des composés phénoliques sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. On note l'étude faite par Chamberland en 1887 de l'activité antimicrobienne des essences de cannelle, d'origan et de girofle, et qu'en 1919 Gatte Fosse a montré que le bacille de Koch était détruit en 5 minutes par une émulsion à 1% d'HE de pin (EL Kalamouni, 2010).

L'activité antimicrobienne des HE et des composés phénoliques a fait l'objet d'un grand nombre de publications à l'échelle internationale. Cependant, la majorité des travaux cités dans ces publications s'arrêtent au niveau de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de ces principes actifs. Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée

claire et précise sur le mode d'action des HE et des composés phénoliques. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants de ces composés et son propre mécanisme d'action.

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- * attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

- * acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

- * destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (EL Kalamouni, 2010).

III.2.2. Aperçu sur les techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des HE et des composés phénoliques

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide. Nous allons essayer d'énumérer ces différentes méthodes et de discuter chacune d'elles (EL Kalamouni, 2010).

III.2.2.1. Les techniques en milieu liquide

➤ Méthode des disques de Sarbach

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube est réparti un certain volume de bouillon nutritifensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation.

L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide (Rhayour, 2002).

➤ Méthode de Marzuella

Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon après solubilisation de l'HE dans l'éthanol. Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol 95%, la solution alcoolique est

ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablement ensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (Rhayour, 2002).

III.2.2.2. Les techniques en milieu solide

➤ Méthode de Vincent

Elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme. Dans cette méthode, on utilise des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, imprégnés d'HE et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne (Hambaba et *al.*, 2012).

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm. La dilution des HE se fait toujours dans un solvant tel que l'éthanol, DMSO, et le Tween. Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles (Rhayour, 2002).

Une variante de cette technique consiste en l'aménagement de cavité à l'emporte pièce, dans la gélose coulée et solidifiée en boîte. On remplit cette cavité d'un volume donné d'HE qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente (Rhayour, 2002).

➤ Méthode de micro-atmosphère

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'HE sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance (Rhayour, 2002).

Chapitre IV :Etat de connaissance sur le genre Allium

IV-Etat de connaissance sur le genre *Allium*

Les plantes condimentaires et aromatiques occupent une place importante dans les domaines culinaires, pharmaceutiques et agro-industriels. Elles sont utilisées sous forme de plantes entières ou coupées, fraîches ou séchées, ou sous forme de poudre ou d'extrait (Gallouin, 2003).

Parmi les plantes les plus connues et les plus consommées, la famille des Alliées comptant l'ail et l'oignon ainsi que l'échalote, le poireau, la ciboulette et la ciboule, originaires du continent asiatique. Ces végétaux appartiennent au genre *Allium* dont l'une de ses caractéristiques est l'odeur et le goût singuliers de ses membres, particulièrement marqués pour l'ail. La consommation des Alliées, plantes dont la culture est relativement aisée, est fort ancienne. Elle était déjà pratiquée il y a plus de 4 000 ans par les habitants de l'ancienne Mésopotamie et de l'Égypte pharaonique. Dans les anciennes civilisations ; l'ail, l'oignon et le poireau occupaient également une place importante dans l'alimentation notamment chez les Grecs et les Romains, ainsi que de nombreux bienfaits pour la santé qui leur étaient attribués. En revanche, ces légumes-condiments « populaires » étaient méprisés des élites sociales, d'autant plus qu'ils provenaient de la terre, l'élément de la création le plus dévalorisé.

À l'instar des autres légumes, leur réhabilitation commençait timidement à partir de la Renaissance (XVI^e siècle).

De plus, les Alliées conservent de nos jours de très nombreux usages culinaires et ont même acquis un intérêt gastronomique réel. On les rencontre par ailleurs au détour de nombreuses expressions populaires (Birlouez, 2016).

Le genre *Allium* comprend environ 700 espèces, dont les plus largement connues sont les oignons (*Allium cepa*), l'ail (*Allium sativum*), poireaux (*Allium porrum*), la ciboulette (*Allium schoenoprasum*), l'ail des vignes (*Allium vineale*), l'ail des ours (*Allium ursinum*) et l'ail d'échalotes (*Allium ascalonicum*) (Bianchini, et al., 2001).

À l'heure actuelle, les espèces du genre *Allium* sont réparties dans toute l'Europe, l'Amérique du Nord, l'Afrique du Nord et l'Asie. Bien qu'elles soient différentes dans le goût, la forme et la couleur, elles sont proches du point de vue biochimique. Il y a plus de 120 différentes utilisations documentées des *Alliums*, en plus de leurs vertus médicinales remarquables. Ces plantes sont généralement consommées pour leurs saveurs, tandis que leurs valeurs nutritives n'ont commencé à être appréciées que récemment (Benkeblial, et al., 2006 ; Balamanikandan, et al., 2015).

Plus de 200 composés organiques et minéraux du genre *Allium* ont été identifiés, notamment les vitamines, les composés soufrés, les acides aminés, les protéines, les lipides, les oligo-éléments, les flavonoïdes et divers composés antioxydants (Stajner, et *al.*, 2006).

Plusieurs groupes de chercheurs ont étudié l'activité biologique des principes actifs de plantes du genre *Allium* de diverses régions du monde. Dans cette partie, nous allons présenter deux espèces du genre *Allium* ; une spontanée *Allium vineale* et une autre cultivée *Allium sativum* qui ont montré la possession de plusieurs effets thérapeutiques importants dans plusieurs études réalisées dans différents pays du monde.

IV.1. Aperçu sur la famille des *Alliaceae*

La famille d'*Alliaceae* rassemble une trentaine de genres et environ 850 espèces sub cosmopolites, dont pas loin de 700 pour le genre *Allium* (Botineau , 2010).

Ce sont des plantes herbacées à bulbes et à racines contractiles (ou à rhizomes); tiges réduites ; éléments de vaisseau à ponctuations simples ; laticifères présents (latex plus au moins clair).

Feuilles alternes, plus au moins basilaires, simples, cylindriques, angulaires, ou aplaties, entières, à nervation parallèle, en gaine à la base ; stipules absentes.

Inflorescences déterminées, composées d'une ou de plusieurs cymes hélicoïdales, paraissant en ombelle, sous-tendues par quelques bractées membraneuses spathi formes, terminales à l'extrémité d'un long scape.

Fleurs hermaphrodites, actinomorphes ou zygomorphes, souvent grandes ; fleurs individuelles non accompagnées de bractées. Tépalés 6, libres ou soudés, et dans ce cas périanthe campanulé à tubulé, imbriqués, pétaloïdes, non maculés : parfois présence d'une couronne (appendice du périanthe).Étamines6 (3); à filets libres ou soudés parfois adnés aux tépalés, parfois appendiculés; grains de pollen monosulqués. Carpelles 3, soudés ; ovaire supère, à placentation axile ; stigmate 1, capité à trilobé. Ovules 2 à nombreux dans chaque loge, anatropes à campylotropes. Nectaires sur les cloisons de l'ovaire.

Fruit une capsule loculicide ; graines globuleuses à angulaires, spermodermes à phytomélanine, les assises internes de la paroi comprimées ou avortées; embryon plus au moins courbé (Judd ,et *al.*, 2002).

La famille des *Alliaceae* est largement distribuée dans les régions tempérées à tropicales ; communes dans les habitats semi-arides (Judd ,et *al.*, 2002).

IV.2. Aperçu sur le genre *Allium*

Le genre *Allium* est le plus grand et le plus important représentant de la famille des *Alliaceae*. Les espèces du genre *Allium* sont largement répandues dans les régions qui ont une saison sèche, notamment en Asie centrale, Asie orientale, Asie du Sud-Ouest, l'Amérique du Nord, l'Europe de l'Est et l'Afrique du Nord (Hirschegger, et *al.*, 2010).

Outre l'ail et l'oignon qui sont les espèces les mieux connues, plusieurs autres espèces sont largement cultivées pour usage culinaire, comme le poireau (*Allium porrum* L.), la ciboule (*Allium fistulosum* L.), l'échalote (*Allium ascalonicum* Hort.), l'ail des ours (*Allium ursinum* L.), l'ail éléphant (*Allium ampeloprasum* L. var. *ampeloprasum*), la ciboulette (*Allium schoenoprasum*) et la ciboulette chinoise (*Allium tuberosum* L.) (Lanzotti, 2006).

Il s'agit de plantes herbacées, vivaces, bulbeuses (les espèces cultivées le sont surtout pour leur bulbe), à feuilles simples radicales. Les fleurs forment en général une ombelle à l'extrémité d'une hampe nue. Avant l'éclosion, l'ombelle est entièrement recouverte d'une bractée membraneuse appelée spathe. Chaque fleur est constituée de six tépales (trois pétales et trois sépales pétaloïdes identiques). Elle comporte six étamines qui entourent un style émergeant de trois carpelles soudés. Ovaire supère à trois loges avec deux ovules par loge. Le fruit est une capsule. Beaucoup d'espèces ont une odeur d'ail (ou d'oignon) parfois très forte, mais certaines sont totalement inodores.

Auparavant, le genre *Allium* faisait partie de la famille des *Liliaceae* et plusieurs botanistes le rangent encore dans cette famille, mais d'après l'APG III (2009) de nombreux botanistes rangent ce genre dans la famille des *Alliaceae* (Timité, 2012).

IV.2.1. L'espèce *Allium sativum*

IV.2.1.1. Historique de l'espèce

L'ail viendrait du celtique *all* qui veut dire chaud, piquant et du latin *sativum* qui signifie cultivé. Surnommé la rose puante, l'ail est l'une des plantes cultivées la plus ancienne et la plus connue. Il fait partie de la famille des *Alliaceae*, une importante famille botanique (Wilson, 2007).

L'ail d'origine des steppes de l'Asie centrale (désert de Kirghiz), il est cultivé et amélioré depuis la plus haute Antiquité de la Chine jusqu'à l'Inde, l'Égypte et les régions méditerranéennes, bien qu'il soit devenu à présent pratiquement cosmopolite (Sell et *al.*, 2002).

La trace de l'ail a pu être retrouvée au Moyen Orient et en Chine remontant à au moins 3000 ans avant notre ère. Dans l'Egypte ancienne, au temps des pharaons, l'ail était utilisé pour soigner les plaies. Il faisait aussi partie des aliments de base avec le pain. Les ouvriers, sur les chantiers des pyramides, s'en nourrissaient pour avoir de la force et de l'endurance.

On en retrouva dans les tombeaux, comme celui de Toutankhamon, car l'ail était reconnu pour aider les défunts à passer dans l'au-delà. Il servait aussi de médicament et d'offrande pour les dieux.

Horace (50 av-J-C) le trouvait indigeste et tout juste bon pour le prolétariat à l'estomac résistant. Par contre, son ami le poète Virgile, en vantait les vertus et les bienfaits.

Les Romains, qui en faisaient surtout un usage médicinal en apportèrent avec eux lors de leurs conquêtes et le répandirent dans toute l'Europe de l'Ouest. Comme l'ail pousse aussi bien dans les climats chauds que tempérés, il s'est vite adapté et fut rapidement cultivé partout.

Christophe Colomb a ramené l'ail aux Antilles, ses marins en gardaient toujours sur eux pour se protéger des épidémies et du mauvais œil. Il s'est ensuite répandu rapidement dans toute l'Amérique latine.

L'ail n'arrivera en Amérique du nord qu'au XIX^e siècle par la Californie et l'influence de la cuisine mexicaine (Wilson, 2007).

IV.2.1.2. Dénominations vernaculaires

Français : ail commun, ail cultivé, ail blanc, thériaque des pauvres, ail de printemps, ail rose sans bâton.

Anglais: garlic, common garlic.

Allemand: Knoblauch, Knobloch, Knobl, Echter Knoblauch, Knoblauch, Gemeiner Knoblauch, Gewöhnlicher Knoblauch.

Espagnol : ajo, ajo comun, ajo vulgar.

Italien : aglio, aglio comune.

Arabe : thoum, ثوم (Teuscher, et *al.*, 2005 ; Web Master 2 ; Goetz, et *al.*, 2012).

IV.2.1.3. Classification de l'espèce *Allium sativum* L.

Règne *Plantae*

Sous-règne *Tracheobionta*

Embranchement *Magnoliophyta*

Sous-embranchement *Magnoliophytina*

Classe *Liliopsida*

Sous-classe *Liliidae*

Ordre *Liliales* (*Asparagales*)

Famille *Aliaceae* (*ex Liliaceae*)

Genre *Allium*

Espèce *Allium sativum* L. (Goetz, et al., 2012).

IV.2.1.4. Description botanique

Plante herbacée, vivace, pouvant atteindre 25-90 cm, glabre ; le bulbe est formé de caïeux (les gousses) à tunique membraneuse, insérés sur un plateau aplati, entourés d'une tunique commune blanchâtre ; la tige est cylindrique, feuillée jusqu'au milieu, enroulée en cercle avant la floraison ; les feuilles sont linéaires, engainantes planes, lisses ; les fleurs blanches ou rougeâtres, en ombelle pauciflore et bulbillifères, sont entourées de spathe caduque, univalve, terminée en pointe très longue ; le périanthe est connivent en cloche ; les étamines sont incluses, les 3 intérieures sont à 3 pointes presque égales. L'odeur est faible et se développe (forte et soufrée) dès que les tissus sont lésés. (Figure 6)

L'espèce *Allium sativum* L. se subdivise en principales variétés qui diffèrent par la taille et la forme du bulbe ainsi que par la couleur de leur enveloppe :

- *Allium sativum* L. var. *Sativum*;
- *Allium sativum* L. var. *ophioscordum* (ou *ophioscorodon*) (Link) Doll;
- *Allium sativum* L. var. *pekinense*. (Goetz, et al., 2012).

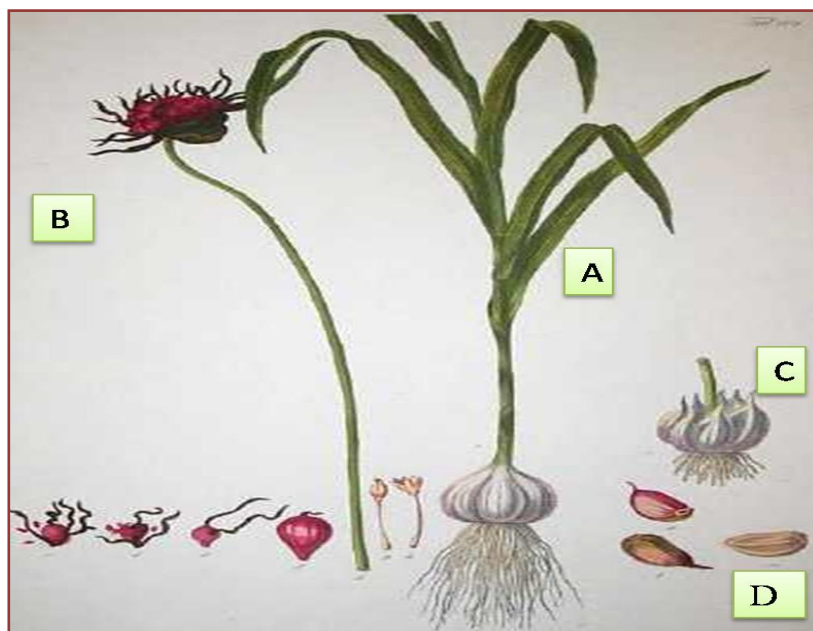


Figure 6: La présentation de la plante d'*Allium sativum* (Goetz, et al., 2012)

A ; les feuilles, B ; inflorescence, C ; bulbe d'ail, D ; les gousses d'ail

IV.2.1.5. La culture de l'espèce

L'ail préfère les sols riches et bien drainés renfermant beaucoup de matière organique, mais il peut s'accommoder de toutes sortes de sols et tolère un pH de 5,5 à 8,5. La plante préfère le plein soleil mais peut aussi pousser à mi-ombre. Eviter de trop arroser, car cela peut faire pourrir le bulbe. Comme l'ail cultivé ne produit pas de graines, il faut en planter les gousses ou les bulbilles vers le début du printemps ou la fin de l'automne.

Les gousses ou jeunes plantes restent à l'état dormant pendant l'hiver mais au printemps, l'allongement des jours provoque l'arrêt de la dormance et stimule la production de bulbes (Small, et al., 2001).

On récolte quand les feuilles commencent à jaunir et se dessécher, soit 120- 150 jours après plantation ; selon le cultivar et les conditions de cultures (Grubben, 2004). Arracher les plantes, avec leurs bulbes, et laisser sécher au soleil pendant une semaine, l'ail peut se conserver jusqu'à 6 mois dans un lieu sombre sec et aéré (Figure 7) (Small, et al., 2001).

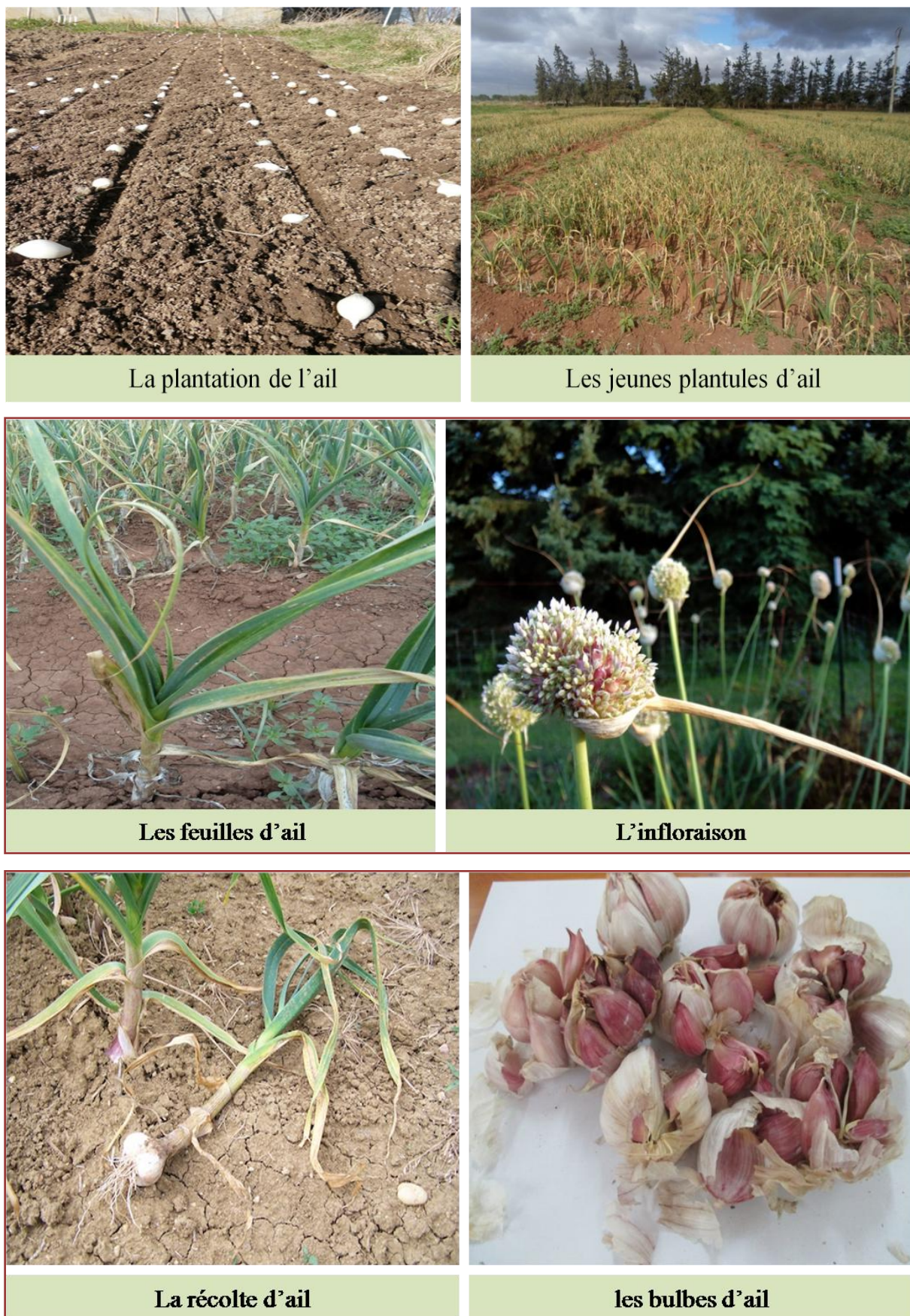


Figure 7 : Le cycle de la culture d'ail (Cliche Moumene, 2014)

IV.2.1.6. Constituants chimiques des gousses

La valeur nutritive de l'ail par 100 gr de caïeux pelés est la suivante ; eau 64,3 gr, énergie 98Kcal, protéines 7,9 gr, lipides 0,6 gr, glucides 16,3 gr, fibres alimentaires 4,1 gr, Ca 19 mg, P 170mg, Fe 1,9 mg, carotène ; traces et acide ascorbique 17mg (Grubben, 2004).

L'ail renferme notamment des composés soufrés (teneur variable selon le cultivar, l'origine géographique, l'époque de la récolte). Le composé majoritaire de l'ail frais non contuse est l'alliine ou sulfoxyde de S-allyl-L-(+)-cystéine. Après broyage, l'alliine se dégrade par l'alliinase en acide pyruvique et acide 2-propène sulfénique qui est transformé aussitôt en allicine (3 % de la masse fraîche). L'oxydation à l'air de ce dernier conduit au disulfure de diallyle (constituant majoritaire de l'essence d'ail).

Dans des extraits alcooliques, on a la présence de produits de condensation de l'allicine : 6Z- et 6E-ajoène et de produits de cyclo addition du propènethial : vinylthiines. Selon la forme utilisée (essence, extraits alcoolique ou huileux, ail frais, poudre), la composition chimique sera variable.

Outre les composés organosoufrés, l'ail contient des glucosides stéroïdiens, des lectines, des prostaglandines, des fructanes, des pectines, une huile essentielle, des vitamines (B1, B2, B6, E), de la biotine, de l'acide nicotinique, des acides gras, des glycolipides, des phospholipides, des anthocyanosides, des flavonoïdes, des acides aminés essentiels (Goetz, et *al.*, 2012).

IV.2.1.7. Utilisation culinaire

Les caïeux du bulbe d'ail s'utilisent en poudre, séchés ou de préférence frais, pour améliorer la saveur des fruits de mer de la volaille, des pâtes, des viandes, des ragouts, des casseroles, des légumes et des soupes, ou pour donner du piquant aux salades et aux vinaigrettes. L'aïloli est une belle mayonnaise d'ail typique du sud de la France ; elle est faite à base d'œufs, d'huile d'olive et d'ail haché (Small, et *al.*, 2001).

IV.2.1.8. Propriétés médicinales d'espèce

Le papyrus Ebers (1200 av J.C) mentionne largement l'ail comme remède universel à l'époque de Ramsès II. L'ail est consommé par la plupart des peuples, depuis des siècles pour ses vertus thérapeutiques (Small, et *al.*, 2001).

On peut utiliser l'ail comme traitement avec les quantités suivantes :

- Teinture officinale : 20 gouttes 2 à 3 fois par jour.
- Teinture mère : 40 à 50 gouttes dans un verre d'eau 3 fois par jour.

- Gélules dosées à 300 mg de poudre sèche ou fraîche : 1 à 3 par jour.
- Ail frais : 2-5 g par jour.
- Huile essentielle d'ail : 2-5 mg par jour (Helou, et *al.*, 2007 ; WHO, 1999).

Actuellement, l'ail est utilisé dans différentes thérapeutiques douces telles que ;

A. Activité antimicrobienne

Les activités antibactérienne et antifongique attribuées à l'ail ont été vérifiées expérimentalement par des études *in vitro*.

➤ **Activité antibactérienne**

L'ail possède un large spectre d'activité antibactérienne et ceci contre des germes Gram positif et négatif, notamment les espèces appartenant aux genres *Bacillus* et *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Erwinia carotovora*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* (Kumar, et *al.*, 1998).

L'étude de l'activité antibactérienne de gousses d'ail frais a été réalisée sur des germes pathogènes alimentaires : *Staphylococcus aureus*, *Salmonellatyphi*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. L'effet inhibiteur maximal fut observé contre *E. coli* (Elgayyar, et *al.*, 2001).

L'huile essentielle extraite de l'ail inhibe, à différents degrés, la prolifération *in vitro* de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus enteritidis* (Benkeblia, 2004). Les souches d'entérocoques et autres bactéries pathogènes intestinales, responsables de diarrhées aussi bien chez les humains que chez les animaux, sont plus facilement inhibées par l'ail que par la flore commensale intestinale.

Pour *Helicobacter pylori*, agent impliqué dans la majorité des ulcères et des cancers d'estomac, on note une inhibition de la croissance de 90 % avec un extrait aqueux d'ail à 5 mg/mL (*in vitro*) (Goetz, et *al.*, 2012).

➤ **Activité antifongique**

La purification de l'allivine, un peptide de 13 kDa, a permis de mettre en évidence une activité antifongique *in vitro* vis-à-vis de *Candida species*, *Cryptococcus species*, *Rhodotorula rubra*, *Toruloposis species*, *Trichosporon pullulans*, *Aspergillusniger*, *Mycosphaerella arachidicola*, *Botrytis cinerea* et *Physalospora piricola* (Goetz, et *al.*, 2012).

➤ **Activité antivirale**

Des extraits issus d'*Allium sativum* présentent une activité antivirale à l'encontre de *Verruca vulgaris*, Cytomégalovirus et *Herpes simplex virus*. L'activité exercée vis-à-vis de Cytomégalovirus a été attribuée à l'allitridine (diallyl trisulfure) qui inhibe *in vitro* l'expression des antigènes et la prolifération virale (Guo, et *al.*, 1993 ; Liu, et *al.*, 2004).

B. Effet antioxydant

Le pouvoir piègeur de radicaux libres de l'ail est attribué à l'acide 2-propènesulfénique qui serait nettement plus actif que l'allicine vis-à-vis de l'ion peroxyde.

Quant à l'extrait vieilli d'ail, il renferme des composés piègeurs de radicaux libres tels que la S-allylcystéine (SAC) et la S-allylmercaptocystéine (SAMC) (Goetz, et *al.*, 2012).

C. Activité anti-inflammatoire

L'administration par voie intra-gastrique d'un extrait alcoolique de bulbe d'*Allium sativum* réduit l'œdème de la patte du rat induit par la carragénine à une dose de 100 mg/kg de poids corporel. L'activité anti-inflammatoire serait due à son action anti-prostaglandine (Ali, 1995 ; Wilson, et *al.*, 2007).

D. Effets cardiovasculaires

L'ail frais, le suc d'ail, l'extrait d'ail vieilli, ainsi que l'huile essentielle diminuent la cholestérolémie et la lipidémie et réduisent le métabolisme lipidique, l'athérogénèse aussi bien *in vitro* que *in vivo* (Goetz, et *al.*, 2012).

➤ **Ail et cholestérolémie**

Les effets antihypercholestérolémiques et antihyperlipidémiques ont été mis en évidence sur plusieurs modèles animaux (rat, lapin, poulet) après administration par voie orale ou intragastrique d'ail haché. L'administration per os d'allicine à des rats pendant 2 mois est responsable d'une diminution des concentrations de lipides totaux, de phospholipides, de triglycérides et du cholestérol total.

Les taux de lipides et de cholestérol plasmatique chez les rats ont été réduits après injection intra-péritonéale d'un mélange de disulfure de diallyl et trisulfure de diallyl. Le mécanisme d'action anti-hypercholestérolémique et anti-hyperlipidémique de l'ail serait en rapport avec l'inhibition de l'hydroxyméthylglutaryl-CoA (HMG-CoA) réductase et à la réorganisation des lipoprotéines et des membranes cellulaires (Ali, et *al.*, 2000 ; Liu, et *al.*, 2002 ; Liu L, et *al.*, 2000).

➤ **Ail et hypertension**

L'activité antihypertensive de l'ail a été mise en évidence *in vivo*. L'administration intragastrique ou par voie orale de bulbes d'ail haché, d'extraits alcooliques ou aqueux d'ail abaisse la pression artérielle chez le chien, le cobaye, le lapin, et chez le rat. L'extrait d'ail serait responsable d'une diminution de la résistance vasculaire par un relâchement direct du muscle lisse (McMahon, et *al.*, 1993 ; Silagy, et *al.*, 1994).

E. Effet hypoglycémiant

Les effets hypoglycémiants du bulbe d'ail ont été démontrés *in vivo*. L'administration par voie orale d'extraits aqueux, éthanoliques, chloroformiques, à l'éther de pétrole ou d'huile essentielle d'ail abaisse les taux de glycémie chez le lapin et le rat. L'administration *per os* d'allicine chez le rat rendu diabétique par l'alloxane est à l'origine d'une diminution de la glycémie et de l'augmentation dose-dépendante de l'activité de l'insuline. L'action hypoglycémiante de l'extrait d'ail serait due à une augmentation de la production d'insuline. Quant à l'allicine, elle protégerait l'insuline contre l'inactivation (El-Demerdasha, et *al.*, 2005 ; Liu, et *al.*, 2007 ; Reuter, et *al.*, 1994).

F. Effet préventif des tumeurs cancéreuses

L'ail prévient la formation de tumeurs malignes : des études épidémiologiques réalisées au Japon et en Chine ont montré qu'une consommation régulière d'ail (ainsi que d'oignon et de ciboulette chinoise) provoque une diminution du risque d'apparition de cancers de l'estomac ou de l'œsophage. De même, l'ail améliore la photo-protection et diminue les risques de cancers de la peau en réduisant les effets pro-oxydants nocifs des rayons UVB (Gao, et *al.*, 1999).

IV.2.2. L'espèce *Allium vineale*

IV.2.2.1. Histoire sur l'*Allium vineale*

Allium vineale est décrit et dénommé par Carl Von Linné en 1753 dans son « *Species plantarum* » où il décrit 8 000 végétaux (Web Master 1). L'ail des vignes (*Allium vineale*) ; il est considéré comme une mauvaise herbe. Comme son nom l'indique, il pousse dans les vignes, mais aussi un peu partout ; dans les prairies, au bord des routes (Letief-Delcourt, 2012) et dans les cultures maraîchères, vignobles, vergers, les zones cultivées ou incultes (Web Master 1). *Allium vineale* est une espèce du genre *Allium*, vivace, odeur d'ail, non cultivée, et il est utilisé par l'homme (Auger, et *al.*, 1992). L'ail des vignes se trouve en Europe du Nord, centrale et méridionale, en Amérique du Nord, et en Syrie, on le trouve aussi en Algérie dans la région de Tlemcen et Constantine (Quezel, et *al.*, 1962) .

L'ail sauvage a été rapporté pour la première fois dans une ancienne référence littéraire de Homer (730 avant J- christ), dans la mythologie grecque, en tant qu'antidote ayant des racines noires et des fleurs blanches, qu'Ulysse a utilisé pour combattre Circé « la sorcière ».

Après avoir été considéré comme une mauvaise herbe ignorée en Europe et en Asie, l'ail sauvage est devenu plus connu quand il a été introduit en Amérique du Nord (partie orientale), où le climat et les sols, particulièrement dans les champs de blé, étaient favorables pour cette espèce. Darlington (1859) a rapporté que l'ail sauvage était intentionnellement présenté par les premiers immigrants Gallois à Pennsylvanie afin de fournir un pâturage. Néanmoins, d'autres sources suggèrent qu'il ait été importé de France au dix-septième ou dix-huitième siècle (Michael, 2003).

Quel que soit la manière sous laquelle il a été introduit, l'ail sauvage était par la suite devenu un sérieux problème dans les pâturages et les champs de blé dans différentes régions du monde telles que ; Ouest de l'Indiana, en Massachusetts vers la Géorgie, en Amérique à Missouri et aussi en Australie du sud (Michael, 2003). En 1964, l'ail sauvage a été inclus dans la liste des mauvaises herbes dangereuses rapporté dans « The Noxious Weeds Act » (Anonymous, 1975).

A l'heure actuelle, les chercheurs sont intéressés par la mise en valeur et l'exploitation des plantes sauvages et les substances bioactives naturelles, l'*Allium vineale* est l'une de ces espèces. De ce fait, des études s'intéressent de plus en plus aux effets antibactériens et antioxydants de l'ail des vignes (Hisamettin, et *al.*, 2006 ; Ítajner, et *al.*, 2006).

IV.2.2.2. Dénominations vernaculaires

Français : ail des vignes, ail sauvage et oignon batard.

Anglais: wild garlic.

Espagnol : ajo salvaje.

Italien : aglio pippolino.

Portugais : alho-das-vinhas.

Arabe : thoum karami ثوم الكروم (Michael, 2003; Léger, 2007)

IV.2.2.3. Classification de l'espèce *Allium vineale* L.

Règne *Plantae*

Sous-règne *Tracheobionta*

Embranchement *Magnoliophyta*

Sous-embranchement *Magnoliophytina*

Classe *Liliopsida*

Sous-classe *Liliidae*

Ordre *Liliales (Asparagales)*

Famille *Aliaceae (ex Liliaceae)*

Genre *Allium*

Espèce *Allium vineale* L. (Web Master 2)

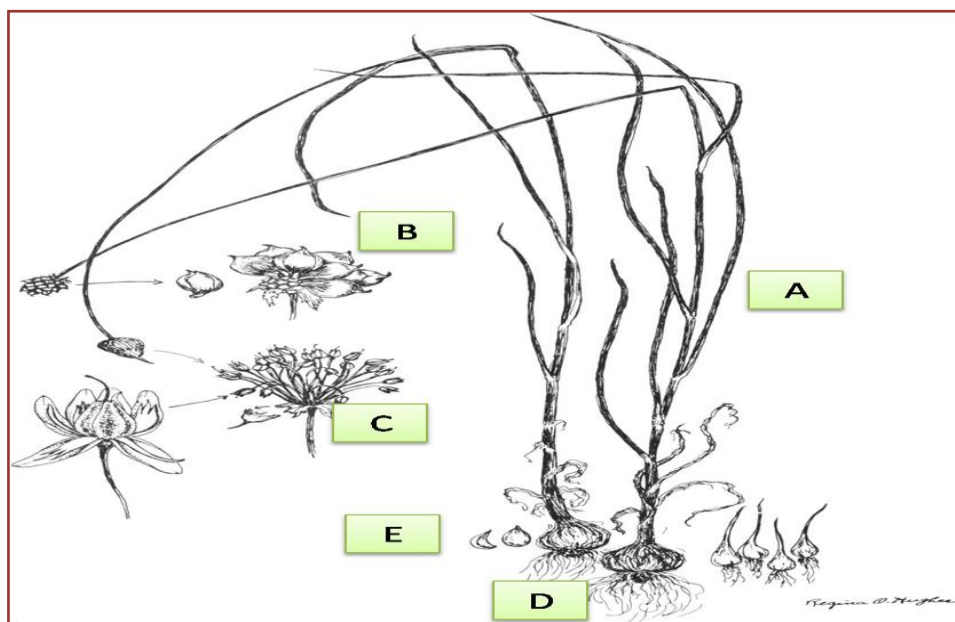


Figure 8 : La présentation de la plante d'*Allium vineale*(Web Master 2)

A ; la plante *Allium vineale*, B ; des nombreuses bulbilles, C ; inflorescence en ombelle, D ; les bulbes, E ; les bulbilles.

IV.2.2.4. Détermination botanique

Allium vineale est une plante herbacée vivace de 30 à 100 cm, glabre, à bulbe ovoïde entourée de nombreuses *bulbilles*, émettant une forte odeur d'ail. La hampe longue, ronde et pleine est feuillée jusqu'au milieu. Les feuilles basales presque cylindriques sont creuses, à sillon étroit au-dessus. Elles mesurent entre 25 et 45 cm de long. Les fleurs blanchâtres deviennent rose pâle à violacées en s'ouvrant ; elles sont peu nombreuses, en forme de tête globuleuse serrée, souvent toutes bulbillifères. Pédicelle renflés-globuleux sous la fleur, 4-5 fois plus long qu'elle, périanthe en cloche, les étamines saillantes, les 3 intérieurs à filets trifides, la pointe médiane plus courte et la capsule à sommet ombiliqué (Michael, 2003). (Figure 8) et (Figure 9)

La plante dégage une odeur d'ail distinctive lorsque les feuilles sont écrasées (Burrows, et *al.*, 2001)

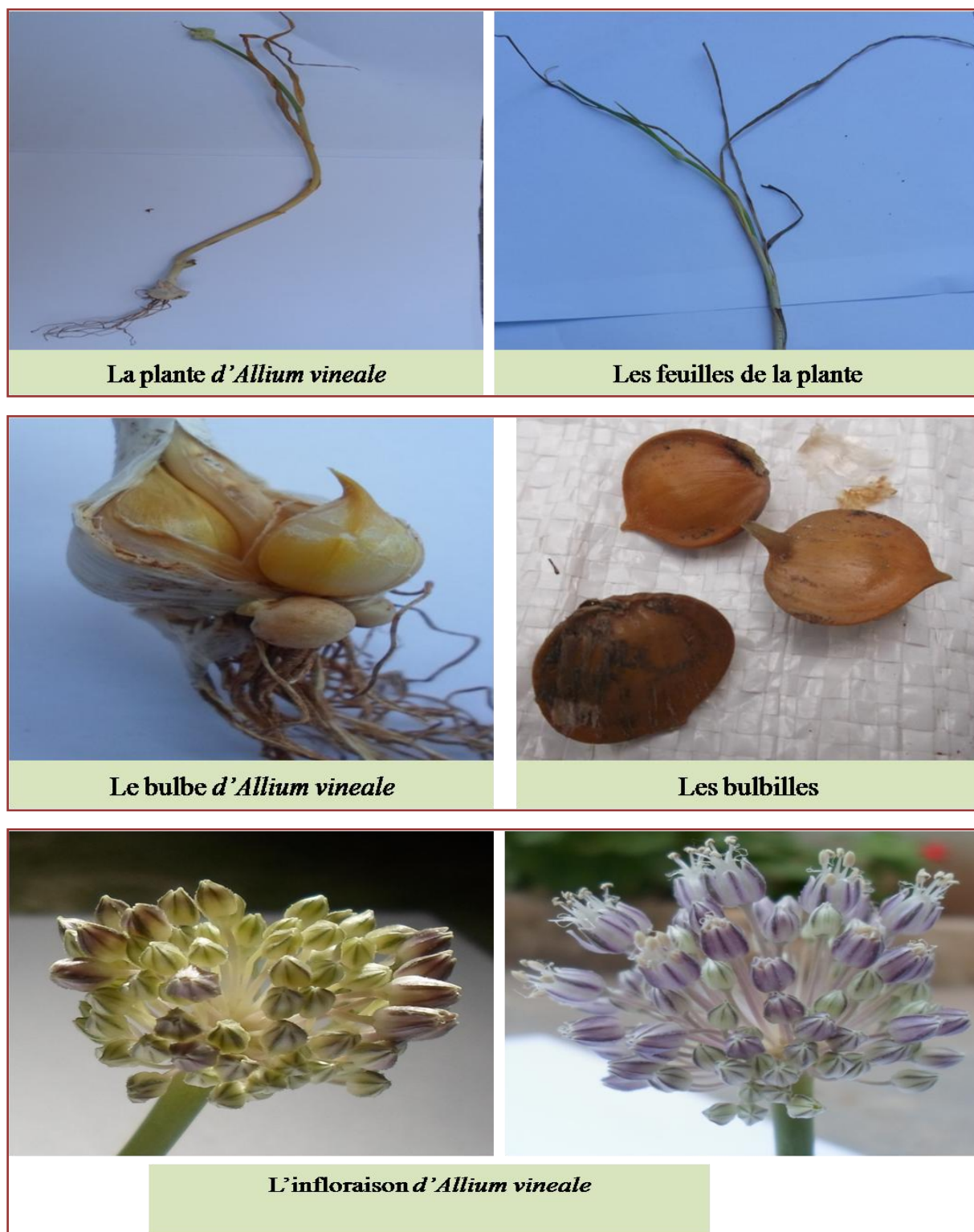


Figure 9 : Les différentes parties de la plante d'*Allium vineale* (Cliche Moumene, 2014)

IV.2.2.5. Répartition et écologie de la plante

L'origine du genre *Allium* est l'Asie centrale mais quelques documents citent l'origine de l'ail des vignes d'Europe et Asie du sud-ouest (Nayar, et *al.*, 1992).

L'ail des vignes se trouve dans toute l'Europe occidentale et centrale et se prolonge vers le sud d'Ukraine et les régions de la Mer noire et le Caucase jusqu'en Syrie et l'Iran. Il est également dispersé dans les zones d'Ouest d'Asie et le Nord d'Afrique (Michael, 2003).

L'ail des vignes a été introduit au cours de l'immigration Européenne en Australie, en Nouvelle Zélande et aux Etats Unis aux XVIIe et XVIIIe siècles.

La répartition de l'ail des vignes indique que l'espèce préfère les régions tempérées et humides, de plus, la plante supporte une large gamme de sols ; comme les sols argileux et sableux. L'ail des vignes pousse dans les champs de culture notamment de blé, les gazons, les prairies, les pâturages, et les vignes. La plante est résistante au gel, elle reste en dormance pendant l'hiver et reprend sa croissance en printemps (Michael, 2003).

IV.2.2.6. Usage culinaire et thérapeutique de l'espèce

Les feuilles et les bulbes d'ail des vignes sont utilisés comme condiments dans les salades et divers plats du fait de leur odeur et saveur d'ail (François, 2013).

Les Amérindiens ont utilisé l'ail des vignes et l'oignon sauvage comme condiment d'hiver séché, pour aromatiser les légumes, et en Amérique du Nord ils ont utilisé l'oignon sauvage plus que l'ail sauvage pour sa saveur plus douce. L'ail des vignes est rarement utilisé dans la cuisine mondiale pour sa forte saveur qui a un arrière-goût désagréable (Michael, 2003).

En Angleterre, les bulbes grillés d'ail des vignes étaient placés dans les chaussettes d'enfants comme remède pour la coqueluche (Vickery, 1995). En Amérique, ils ont utilisé l'ail des vignes pour traiter le scorbut et pour soulager la douleur des piqûres des abeilles et des guêpes (Michael, 2003).

Des recherches récentes ont été faites par Demirtas I. et *al.* (2012) pour juger le potentiel antioxydant des flavonoïdes d'*Allium vineale*, ainsi que le pouvoir antibactérien prouvé par Hisamettin D et *al.* (2006) des différents extraits d'*Allium vineale* vis-à-vis des souches bactériennes (*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*...).

Concernant les compositions chimiques, l'ail des vignes renferme comme tous les *Alliums* des composés soufrés (François, 2013).

Jacques et *al.* (1992) ont identifié quelques composés volatiles, soufre *Allium vineale* et *Allium ursinum* par CG-MS tels que ; diallyle, allyle-propyle, dipropényle, dipropyle (Auger, et *al.*, 1992).

De ce fait, et par le manque de littérature et de travaux sur les compositions chimiques, notamment les composés des huiles essentielles et les composés phénoliques *d'Allium vineale* ainsi que leurs effets thérapeutiques de ces composés (activité antioxydante et antibactérienne), on a jugé utile d'étudier cette espèce spontanée qui pousse dans l'Ouest Algérien.

Partie Expérimentale

Chapitre V :Matériel et Méthodes

III- Matériel et Méthodes

V.1. Objectif du travail

Dans le cadre des travaux visant comme objectif, la caractérisation et la valorisation des substances d'origines végétales responsables des activités biologiques, nous avons mené notre étude de mise en évidence de l'activité antioxydante et antibactérienne des composés phytochimiques et leur caractérisation dans deux espèces du genre *Allium* ; une espèce sauvage et l'autre cultivée, qui sont communément utilisées comme condiment et en médecine populaire.

V.2. Matériel végétal utilisée

Le matériel végétal utilisé pour notre étude correspond aux bulbes (Figure 10, 11 et 12) des deux espèces du genre *Allium*, qui ont été recueillies dans la région de l'Ouest Algérien ; *Allium vineale* a été recueilli auprès de la wilaya de Tlemcen commune Ain Nahala au stade de la floraison en Mai 2014, et les deux variétés d'*Allium sativum* rouge et blanche, cultivées au niveau de l'institut technique des cultures maraichères et industrielle (ITCMI) de la wilaya de Sidi Bel Abbès ont été récoltées en fin de Juin 2014.



Figure 10 : L'ail rouge (Cliché Moumene, 2014) **Figure 11 :** l'ail blanc (Cliché Moumene, 2014)



Figure 12: l'ail sauvage (Cliché Moumene, 2014)

L'identification botanique de l'espèce sauvage *Allium vineale* a été déterminée au laboratoire de taxonomie végétale, Faculté des sciences de la nature et de la vie de Sidi Bel Abbès en se basant sur la clé de détermination « la Nouvelle flore de l'Algérie » établie par P. Quezel et S. Santa 1962 et les fiches descriptives de Tela Botanica (Web Master 2).

V.3. Présentation des stations d'échantillonnage

V.3.1. Station 1 d'échantillonnage (la commune d'Ain Nehala)

Ain Nehala est l'une des communes de la Wilaya de Tlemcen. La commune compte 6704 habitants, avec une superficie de 156 km², elle est entourée par ; Agoubellil (Ain Temouchent) au Nord, Ain Tallout au Sud, Sidi Abdelli à l'Ouest et par Sidi Dahou Zair, Hassi Zahana et Ben Badis à l'Est (Web Master 3).

Ain Nehala est située à 659 mètres d'altitudes, leurs coordonnées géographiques, Latitude est de 35°1'38" Nord et longitude 0°55'56" Ouest. La commune est caractérisée par un climat semi-aride sec et froid. (Web Master 3). (Figure 13)

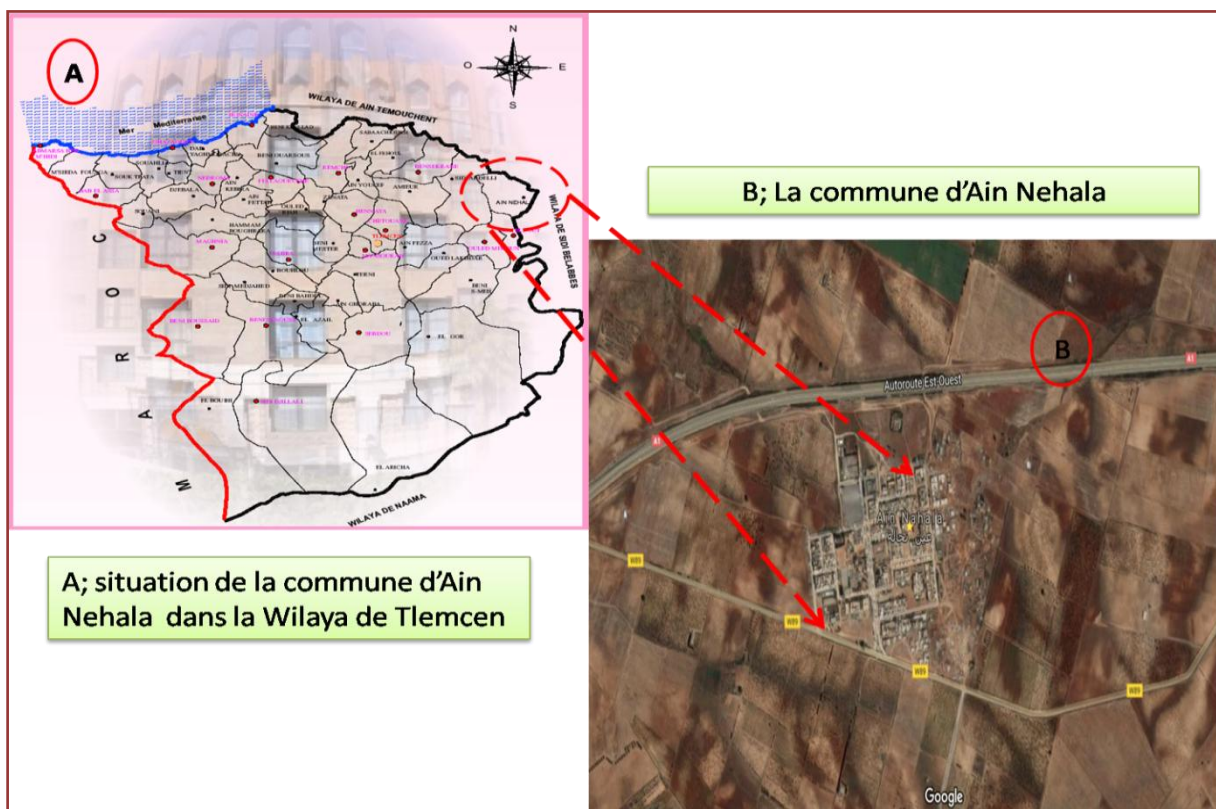


Figure 13 : Localisation géographique de la commune d'Ain Nehala (Web Master 3 ; Google Earth).

L'espèce spontanée utilisée dans notre étude a été récoltée d'une station auprès de la commune d'Ain Nahala, cette station est une terre agricole cultivée par des arbres d'amande anciens (l'époque coloniale). Elle est entourée par d'autres terres agricoles et un Oued (Ain El Halouf). La distance entre la commune et la zone de prélèvement est de 1,71 Km (Figure 14)

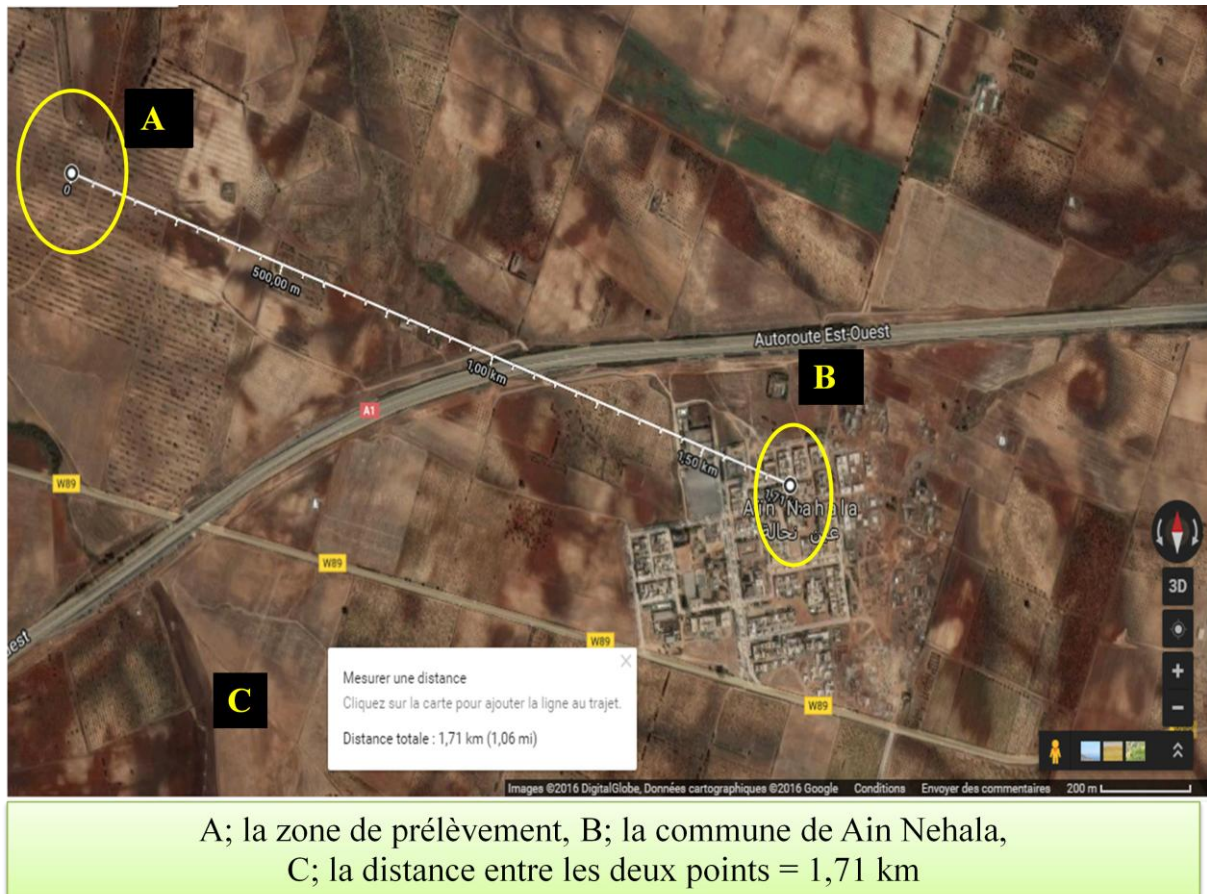


Figure 14 : Position de la première station de prélèvement (Ain Nehala) (Google Earth)

V.3.2. Station 2 d'échantillonnage (ITCMI de la wilaya de Sidi Bel Abbes)

✓ Présentation de Sidi Bel Abbes

Sidi Bel Abbes est le chef lieu de la Wilaya et est situé à 433,8 Km à l'Ouest de la capitale Alger. Elle est située sur la Mékerra, à 470 m d'altitude, au centre d'une plaine comprise entre les monts de Tessala au Nord et les monts de Daya au Sud (Web Master 4). Elle est caractérisée par un climat méditerranéen et elle appartient à l'étage bioclimatique semi-aride à tendance continentale : hiver humide et froid, été sec et chaud, saisons intermédiaires courtes (Bennabi, et *al.*, 2012) (Figure 15).

La région de Sidi Bel Abbès est caractérisée par une variété hétérogène du type des sols, on peut citer quelques un :

- Les sols à sesquioxydes de Fer ; ce sont des sols rouges ou bruns.
- Les sols bruns calcaires ; ce sont des sols caractérisé par la présence des pierres.
- Les vertisols ; ce sont des sols lourd à couleur noirâtre ou brun foncé
- Les lithosols et les régosols (Faraoun, 2002).

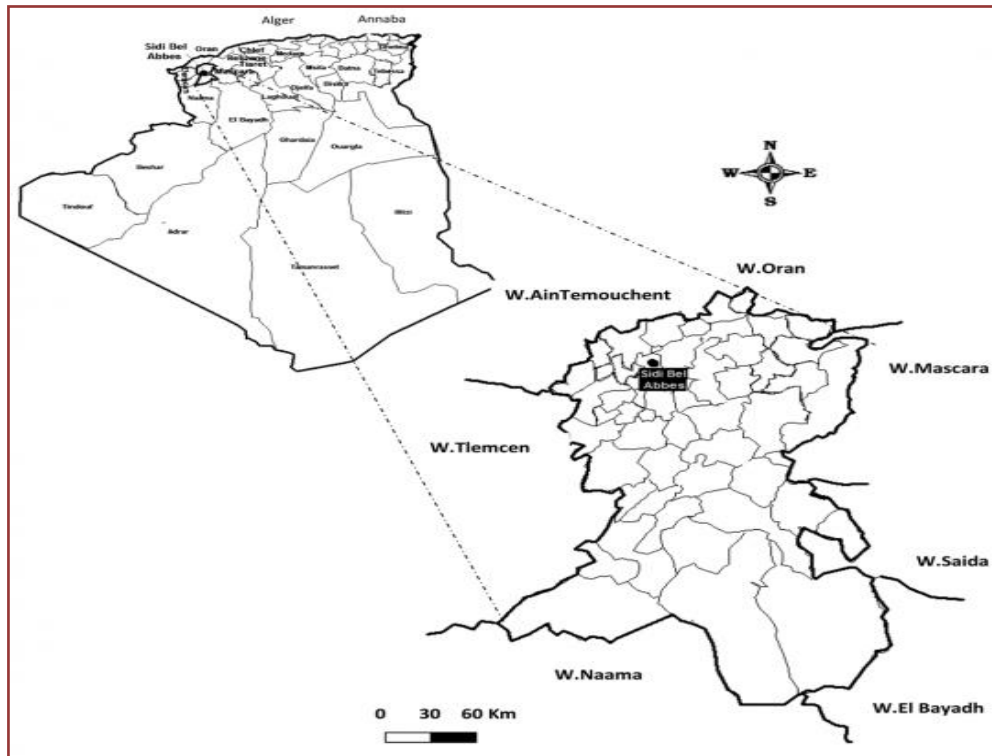


Figure 15: Présentation de la wilaya de Sidi Bel Abbès (Bennabi, et *al.*, 2012)

✓ L'institut technique des cultures maraîchères et industrielles (ITCMI)

En Algérie, il y a huit stations, trois stations dans la région de centre ; la station de Staouéli, la station de Zeralda et la station d'Issers, deux stations dans la région Est ; la station d'Oum El Bouaghi et la station d'Annaba, et trois stations aussi dans la région Ouest ; la station de Mohammadia, la station de Hassi Bounif et la station de Sidi Bel Abbès (Web Master 5). L'institut a pour tâches essentielles, la promotion des cultures maraîchères et industrielles à travers ;

- L'élaboration des normes techniques de production avec des expérimentations adaptatives.
- la production du matériel végétal de base (semences).

- L'appui technique ; les cadres de l'institut assurent des formations, de la vulgarisation et la sensibilisation des agriculteurs et les mains d'œuvres.
- La gestion des projets ; les coopérations et les investissements avec des instituts étrangères
- La contribution à la réalisation des programmes de développement tel que le développement des filières de base; la pomme de terre, la tomate industrielle, la plasticulture, les semences et les plantes (Web Master 5).

ITCMI de Sidi Bel Abbès est située dans la commune de Sidi Bel Abbès, elle est traversée par l'axe routier reliant la commune de Sidi Bel Abbès et la commune de Tabia. La station occupe une superficie de 14,39 ha. (Figure 16)

Les zones impacts de la station de Sidi Bel Abbès sont; Tiaret, Saida et Tlemcen (Web Master 5). Les principales productions de l'institut de Sidi Bel Abbès sont ; la pomme de terre, la tomate industrielle, l'ail, l'oignon, la menthe, le persille, le fenugrec et l'artichaut.

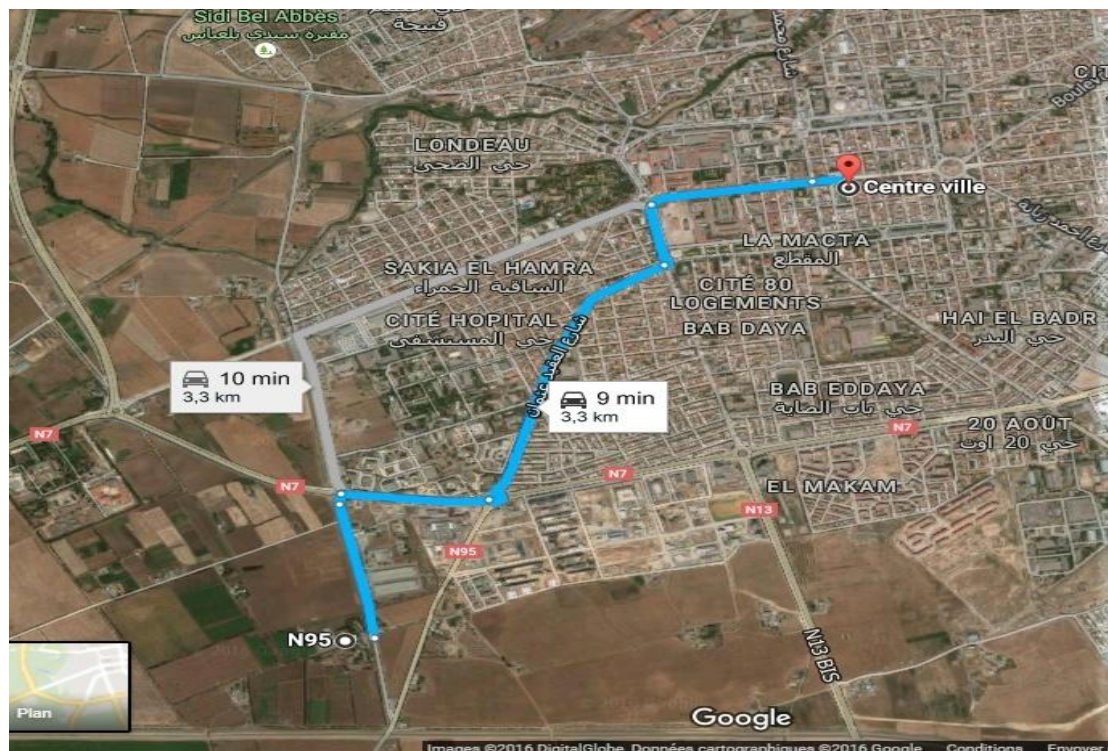


Figure 16: La localisation de l'ITCIM de Sidi Bel Abbès (Google Earth)

V.4. Méthodologie retenue

La méthodologie retenue pour ce travail est scindée en trois axes distincts mais complémentaires :

- ❖ Une étude ethnobotanique sur l'utilisation des deux espèces comme condiment et en médecine populaire.
- ❖ Une étude purement phytochimique, qui consiste à :
 - ✓ L'extraction des huiles essentielles des deux espèces étudiées ;
 - ✓ L'extraction par des différents solvants (méthanol, éthanol et l'eau distillée) et quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins, par la méthode de spectrophotométrie des deux espèces étudiées ;
 - ✓ La caractérisation et la quantification des molécules chimiques composant les huiles essentielles des trois échantillons par la technique d'analyse CPG couplée à la spectroscopie de masse
- ❖ Le troisième axe de cette étude correspond à la valorisation des huiles essentielles et les trois extraits phénoliques des échantillons étudiés et qui renferme :
 - ✓ L'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits des échantillons étudiés, selon deux méthodes : celle de DPPH et de la β -carotène ;
 - ✓ L'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits des échantillons étudiés vis-à-vis des souches bactériens référenciées.

V.4.1. Etude ethnobotanique

A l'heure actuelle, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et seraient quasiment dépourvues de toxicité.

Pour cette raison là, nous avons entamé une enquête ethnobotanique sur l'utilisation et le mode d'emploi de *l'Allium Sativum*, *l'Allium vineale* pour rassembler et constituer une source d'information prête à être exploitée sur le plan scientifique.

Il s'agit d'une enquête réalisée dans la région de Sidi Bel Abbes (la ville et les envièrent) et dans la commune d'Ain Nehala, d'une manière aléatoire, avec 200 entretiens, le temps consacré à chaque entrevue était environ de 15 à 20 minutes. La période de collecte des données s'est étalée du mois de Janvier 2014 au mois de juin de la même année.

Lors de chaque entretien, on collectait toutes les informations de l'enquête, comprenant son âge et son sexe.

Les données recueillies pour les deux espèces étudiées comprennent, l'usage, la partie utilisée, et (si les enquêtés connaissent ou non l'espèce sauvage) (Figure 17)

Dans ce travail, les données documentées lors de l'enquête ethnobotanique ont été analysées afin de déterminer les proportions des différentes variables tels que le sexe, l'âge, les parties de la plante utilisées, le mode d'emploi et les maladies traitées, et de lui demander si ils utilisaient l'espèce sauvage au même titre que la cultivée.

FICHE D'ENQUÊTE		
Date: N°:		
1- Les informations de l'Enquêté		
Age :		
Sexe:		
2- Matériel végétal :		
❖Partie utilisé :		
❖Utilisation de l'ail cultivée :		
✓ A intérêt nutritionnelle :	Oui	☐
	Non	☐
✓ Avec les ingrédients :		☐
✓ Seul :		☐
✓ A intérêt thérapeutique :	Oui	☐
	Non	☐
✓Maladies traités :		
✓Variétés utilisée:	Rouge	☐
	Blanche	☐
❖Utilisation de l'ail sauvage :		
✓Connaitre l'ail sauvage :	Oui	☐
	Non	☐
✓ A intérêt nutritionnelle :	Oui	☐
	Non	☐
✓ A intérêt thérapeutique :	Oui	☐
	Non	☐
✓Maladies traités:		

Figure 17 : Modèle de la fiche d'enquête utilisée dans cette étude

V.4.2. Etude phytochimique

V.4.2.1. Extraction et caractérisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances extrêmement puissantes, pouvant concentrer jusqu'à 100 fois certains principes actifs de la plante fraîche (Chouitah, 2011).

L'extraction des huiles essentielles est réalisée au laboratoire de recherche écodéveloppement des espaces, université de Sidi Bel Abbès.

Dans ce travail, nous avons utilisé la méthode d'hydrodistillation (Figure 18) pour l'extraction des huiles essentielles des bulbes d'*Allium Sativum* avec deux variétés, rouge (ASbr) et blanche (ASbb) et des bulbes de l'espèce sauvage d'*Allium vineale* (AVb).

Les bulbes ont été lavés et découpés en petits morceaux et une quantité de 100 g est utilisée pour chaque extraction. L'appareil utilisé pour la distillation est celui de type Clevenger pendant une durée de 3 heures.

Afin d'éliminer toute trace d'eau dans les huiles récupérées, nous les avons séchées avec du sulfate de sodium (Na_2SO_4). Pour éviter une éventuelle dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière, nous les avons mises dans des petits flacons ombrés et conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment de son utilisation, selon le protocole de Johnson, et *al.*, 2013 et celui de Adjou, et *al.*, 2013.

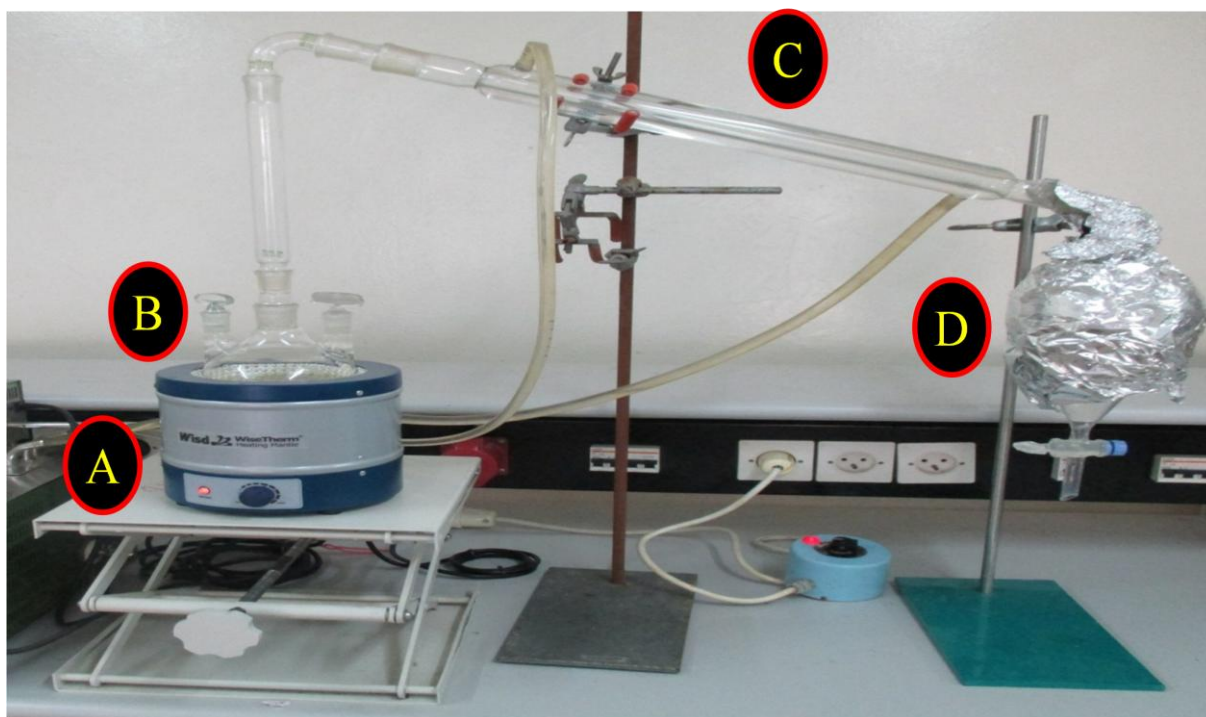


Figure 18: Montage hydrodistillation (Cliché Moumene, 2014)

A : chauffe ballon, **B :** ballon+ matériel végétal + l'eau distillée, **C :** réfrigérant, **D :** embole a décanté.

V.4.2.1.a) Détermination des rendements en huiles essentielles :

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération d'huile essentielle, le rendement est calculé selon la méthode suivante :

$$R\% = (m/m_0) \times$$

R% ; rendement en HE (en gr) pour 100 gr de matière végétal

m : masse HE (gr)

m₀ : prise d'essai du matériel végétal (gr) (AFNOR, 2008)

V.4.2.1.b) Caractérisation des composés chimiques des huiles essentielles par CPG/SM

Le principe de cette technique de couplage consiste en une séparation des solutés dans le premier appareil (CPG). Ces derniers pénètrent ensuite dans l'ordre de leur élution dans le spectromètre de masse (SM) où ils vont subir une ionisation, puis une dissociation en fragment chargés positivement pour être analysés qualitativement (Marroki, 2007). (Figure 19)



Figure 19 : Appareil de la CPG-SM (Cliché Moumene, 2014)

➤ **Méthode de caractérisation:**

Les composés de l'huile essentielle ont été identifiés en comparant les données de spectres de masse avec les spectres disponibles dans les bibliothèques de spectres de masse Wiley 7nI et NIST 02.L. D'autres confirmations d'identification sont fondées sur les indices de Kovats (IK) et font référence à des données de l'indice de rétention générées à partir d'une série de standards connus de mélange d'alcane (C8-C28) (Aldrich Bibliothèque de normes de produits chimiques) et à ceux précédemment rapportés dans la littérature (Zouaria, et *al.*, 2013 ; Adams, 2001).

➤ **Calculé l'indice de Kovats**

Les indices de Kovats sont calculés par rapport aux temps de rétentions des différents constituants (repérés aisément sur les chromatogrammes) et les temps de rétentions d'une série d'alcane linéaire (C10-C11- C12-...C28) (Toumi, 2011) selon la formule suivante :

$$KI = 100 \times z + 100 \cdot \frac{trx - trz}{trz + 1 - trz}$$

KI : indice de Kovat.

z : nombre de carbone d'alcane.

trx : temps de rétention du composé x de l'huile essentielle.

trz : temps de rétention de l'alcane qui précède le **trx**.

trz+1 : temps de rétention de l'alcane qui suit le **trx**.

➤ **Conditions opératoires :**

Les composés volatils isolés ont été analysés par la GC/MS, en utilisant le chromatographe type série HP 6800 couplé à un Spectromètre de masse série HP MSD 5973. La température du four a été programmée à partir de 60°C pendant 2 min, 2°C/min jusqu'à 280°C, isotherme pendant 5 min. La température d'orifice de l'injecteur a été maintenue à 250°C, la température du détecteur a été fixée à 280°C. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30 m -0,25 mm), l'épaisseur du film est de 0,25 µm. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium pure (99,995% de pureté), avec une vitesse d'écoulement de 0,5 ml / min et le volume d'échantillon analysé était de 1 µl avec un mode d'injection en split (rapport de fuite : 1/20 débit 112 ml/min). Le spectromètre de masse a été opéré de l'impact de l'électron mode positif (70 eV). La portée de spectres de masse était de 34 à 550 m/z.

V.4.2.2. Extraction et dosages des composés phénoliques**V.4.2.2.a) Extraction des composés phénoliques**

Les extraits ont été préparés à partir des bulbes des trois échantillons ASbr, ASbb et AVb, avec différents solvants ; eau distillée, éthanol (96%) et méthanol (96%). La méthode d'extraction est celle de la macération (liquide liquide).

Ainsi, 4 gr de bulbe ont été écrasé à l'aide d'un mortier et les mélangé avec 40 ml de chaque solvant, le mélange soumis a été placé à l'abri de la lumière et à la température du laboratoire pendant 24h. Après une filtration en papier whatman N°1, les solutions méthanoliques et éthanoliques ont été évaporées sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à une température de 60°C, et pour les extraits aqueux ont subi une double filtration sur une bande à gaze puis sur papier whatman N°1, les extraits ont été conservés au réfrigérateur, selon le protocole de Basli et *al.*, 2012.

Les extraits obtenus ont été conservés et stockés dans des tubes couverts de papier aluminium au réfrigérateur à 4°C et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leur utilisation (Basli, et *al.*, 2012 ; Kanoun, 2014).

V.4.2.2.b) Criblage phytochimique

Les tests phytochimique ont pour but de caractériser la présence ou l'absence des constituants phytochimiques de la plante. Les résultats sont notés immédiatement après la fin de la réaction de chaque extrait de la plante avec les différents réactifs utilisés dans les tests.

➤ **Caractérisation des terpénoïdes :**

On prend 5 ml de chaque extrait dans des tubes à essais et on ajoute 2 ml de chloroforme pure (CHCl_3) et 3 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) 96% (goutte à goutte). Un test positif est révélé dès l'apparition d'une coloration rouge marron (Abdul et *al.*, 2013).

➤ **Caractérisation des phénols :**

On traite un ml de chaque extrait avec quelques gouttes d'acide nitrique (HNO_3) diluée à 1%. La présence des phénols est mise en évidence par l'apparition d'une couleur jaune orangé (Ramkrishna et *al.*, 2013).

➤ **Caractérisation des flavonoïdes :**

On traite un ml de chaque extrait avec quelques gouttes de soude (NaOH) dilué à 4%. La couleur vire au jaune intense en présence de flavonoïdes (Mohammad Amzad et *al.*, 2013).

➤ **Caractérisation des tanins :**

On ajoute à un 1 ml de chaque extrait, 2 ml d'eau distillée et 2 à 3 goutte de trichlorure de fer (FeCl_3) à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration : bleu noir, verte ou bleu verte et un précipité qui témoignent respectivement la présence des tanins catéchique, gallique ou éllagique (Ramkrishna et *al.*, 2013).

➤ **Caractérisation des saponines**

Les extraits ont été dilués avec l'eau distillée à 20ml et cela a été secoué dans un cylindre gradué pendant 15mn. La formation d'une couche de mousse de 1cm indique la présence des saponines (Prashant, et *al.*, 2011).

V.4.2.2.c) Dosage des composés phénoliques

A- Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par Singleton et *al.* (1965). Le réactif de Folin-Ciocalteu d'une couleur jaune, est composé par un mélange de deux acides : l'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{43}$) et l'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$). En présence des phénols totaux dotés d'une capacité réductrice lors de la réalisation du test, ces deux acides vont être réduits en deux substances chromogènes qui donnent au mélange une couleur bleu. L'oxyde de tungstène et de molybdène issus successivement de l'acide phosphotungstique et de l'acide phosphomolybdique génèrent une coloration bleu proportionnelle à la concentration de phénols totaux présents dans le mélange. Le spectre de la lecture est compris entre 725 et 765 nm (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Macheix, et *al.*, 2005).

➤ **Mode opératoire**

Chaque extrait avec une quantité de 200 μL a été mélangé à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et à 2 ml de H_2O , et incubés à la température ambiante pendant 4 minutes. Après l'addition de 0,8 ml de bicarbonate de sodium de 7,5% au mélange, les phénols totaux étaient déterminés après 30mn d'incubation dans l'obscurité à la température ambiante. L'absorbance est lue par un spectrophotomètre Jenway 6504 UV/VIS, à 765 nm contre un blanc contenant la même composition à l'exception des échantillons, qui sont remplacés par 200 μL de méthanol.

L'acide gallique est utilisé pour l'élaboration de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont ensuite exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme de résidu sec.

B- Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par Zhishen et *al.*, (1999) avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et la soude (NaOH) utilisés lors de cette expérience vont former des liaisons avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes aboutissant à la génération d'une coloration jaune (AlCl_3) et rose (NaOH). La solution devient rosâtre en fin d'expérience, et absorbe dans le visible à 510 nm.

➤ Mode opératoire

De chaque extrait, 500 μl est ajouté à 1500 μl d'eau distillée. 150 μl de nitrite de sodium (NaNO_2) à 5% est ensuite ajouté, et le mélange est mis en incubation pendant 5 min à l'obscurité et à température ambiante. L'étape suivante consiste à ajouter 150 μl de AlCl_3 à 10% et à réincuber le tout dans les conditions précédemment mentionnées durant 6 min. En fin, 500 μl NaOH à 4% est additionné au mélange, et la lecture est tout de suite réalisée. Par ailleurs, la courbe d'étalonnage est réalisée par la catéchine, utilisée comme standard, à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'échantillon.

C- Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de la vanilline décrite par Julkunen-Titto (1985). En effet, la vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde (Ghedadba, et *al.*, 2015).

➤ Mode opératoire

Un volume de 50 μl de l'extrait brut est ajouté à 1500 μl de la solution vanilline/méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 μl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g EM) (Ghedadba, et *al.*, 2015).

V.4.3. Détermination des différentes activités biologiques

V.4.3.1. Détermination de l'activité antioxydante

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* des extraits des composés phénoliques et des huiles essentielles a été réalisée par deux méthodes; celle du DPPH et celle de la β -carotène.

V.4.3.1.a) Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le radical 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) présent en poudre noir va prendre une couleur violette après dissolution dans le méthanol. L'ajout des antioxydants à cette solution va réduire les radicaux libres en DPPH-H d'une couleur jaune. La décoloration de la solution ou la migration de la couleur violette vers la couleur jaune est proportionnelle à la concentration et au potentiel réducteur des échantillons. L'ajout des échantillons au même volume et à la même concentration va permettre donc une évaluation uniquement du potentiel réducteur. Pour vérifier la réactivité de la solution, l'acide ascorbique est utilisé comme témoin positif.

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits phénoliques et les huiles essentielles des bulbes *d'Allium Sativum* et *d'Allium vineale*, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par Sanchez-Moreno (2002).

➤ Mode opératoire

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,5 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Des dilués de chaque extraits dans le méthanol à des concentrations décroissantes ont été préparés, et 50 μ l des solutions des extraits ont été ajoutés à 1,96 ml de DPPH. Les mélanges ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes et la décoloration comparée au contrôle négatif contenant seulement la solution de DPPH mesurée à 517 nanomètres en utilisant un spectrophotomètre.

Le pourcentage de l'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{(\text{ABS blanc} - \text{ABS échantillon})}{\text{ABS blanc}} \times 100$$

Sachant qu'ABS blanc: est l'absorbance de la réaction de contrôle (solution DPPH), et ABS échantillon : est l'absorbance des extraits.

La concentration minimale d'inhibition de 50% de la DPPH (CI50) est calculée graphiquement à partir des courbes de tendance linéaire, puis utilisée pour la comparaison de l'activité antioxydante des différents échantillons.

V.4.3.1.b) Test de blanchissement de la β carotène

Cette méthode consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration de la β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et de la β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween®. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C). L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induits un retard de la cinétique de décoloration de la β -carotène (El-Haci, et *al.*, 2012). L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de décoloration de la β -carotène a été réalisée par le protocole expérimental décrit par Ozsoy et *al.* (2008).

➤ Mode opératoire

Pour préparer l'émulsion de la β -carotène, 2 mg de ce dernier sont dissouts dans 10 ml de chloroforme, puis 1 ml de cette solution est mélangé avec 20 μ l d'acide linoléique et 200 mg du Tween® 40. Ensuite, le chloroforme est évaporé sous pression réduite par un évaporateur rotatif, et le résidu obtenu est repris par 50 ml de peroxyde d'hydro-gène à 30 % (p/v). Des tubes contenant 5 ml de cette émulsion sont préparés, pour lesquels 200 μ l de chaque extraits bruts et les huiles essentielles à une seule concentration (2 mg/ml) sont ajoutés. Le mélange est bien agité, et la lecture de l'absorbance à 470 nm se fait immédiatement à t_0 contre un contrôle. Les tubes couverts sont placés dans un bain-marie réglé à 50 °C, et la lecture de l'absorbance est effectuée toutes les 20 mn pendant 2 heures, et de la même manière pour le standard vitamine C a été préparé pour contrôler les résultats des extraits bruts et des huiles essentielles.

Un contrôle négatif est réalisé en parallèle, comprenant 5 ml de l'émulsion du β -carotène et 200 μ l d'eau distillée. Les résultats obtenus sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition de la décoloration du β -carotène en employant la formule suivante :

$$\% I = [1 - (A_0 - A_t / A_0^0 - A_t^0)] \times 100$$

A_0 : absorbance de l'échantillon à $t = 0$. A_t : absorbance de l'échantillon après incubation de 120 minutes. A_0^0 : absorbance du contrôle négatif à $t = 0$. A_t^0 : absorbance du contrôle négatif après incubation de 120 minutes (Ozsoy, et *al.*, 2008).

V.4.3.2. Activité antibactérienne

La résistance aux antibiotiques par les microorganismes pathogènes telle que les bactéries, est devenue un problème grave car ces contaminations microbiennes touchent toujours la santé publique. Par conséquent, l'intérêt pour les antimicrobiens, particulièrement d'origine végétale, a considérablement augmenté ces dernières années (Edziri , et *al.*, 2012).

V.4.3.2.a) Micro-organismes étudiés

Trois bactéries : *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*) et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300(*S. aureus*) ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité. Les souches bactériennes sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection). Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 heures à l'obscurité à 37°C.

V.4.3.2.b) Procédures microbiologiques

Le test de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits phénoliques bruts a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ou aromagramme selon le protocole de Velnet (1973) (méthode des disques), qui est une méthode inspirée de l'antibiogramme (NCCLS, 1997; Vincent, 1991). La méthode des disques a été choisie dans cette étude pour sa fiabilité et sa simplicité. Cette méthode nous fournit des résultats sur la sensibilité des souches et les activités antibactériennes des huiles essentielles et des extraits , grâce aux diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des disques mesurés en millimètres puis comparés à celui donné par une substance de référence qui est dans le cas présent des antibiotiques de référence (Chebaibi, et *al.*, 2015 ; Yakhlef, et *al.*, 2011). Selon les travaux de Sagdiç (2003), il est considéré qu'un extrait a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est égal ou supérieur à 12 mm.

Pour tester l'effet des huiles essentielles de nos échantillons, des dilutions (100%, 50%, 25%, 12.5%) sont préparées. L'huile essentielle est non miscible dans l'eau donc on utilise le Tween 80 a 10% (v/v) pour préparer ces dilutions.

Les extraits dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) pour les deux extraits méthanolique et éthanolique et dans l'eau distillée stérile pour l'extrait aqueux, une dilution en série de cette solution mère filles (réalisation d'une gamme de concentrations de 100%, 50% et 25%).

Une suspension microbienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (108 UFC.ml⁻¹) est préparée en mettant quelques colonies bactériennes en suspension dans une solution saline (0,9% NaCl). Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture gélosé Mueller Hinton sont ensemencées en nappe avec l'inoculum.

A la surface de chaque boîte, pour les huiles essentielles cinq disques de papier filtre (Wattman n°1) stériles de 6 mm de diamètre imbibé avec 20 µL d'huile essentielle de chaque dilution est déposé, un disque imbibé de 20 µL de Tween 80 à 10% est utilisé comme témoin sur la même boîte, et pour les extraits quatre disques ont été imprégnés dans différentes solutions un disque imbibé par le DMSO a été employé en tant que contrôle négatif.

Pour chaque test deux boîtes ont été utilisées, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures, puis le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres (Figure 20) (Ghedadba, et *al.*, 2015 ; Chebaibi, et *al.*, 2015).

V.4.3.2.c) AntibioGramme

Ce test a été réalisé avec la technique de la diffusion sur gélose et dans les mêmes conditions pour étudier l'antibioGramme des germes utilisés et le comparer avec l'effet des huiles essentielles et des extraits, des deux espèces du genre *Allium*. Les disques d'antibiotiques utilisés sont répertoriés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les antibiotiques utilisés dans cette étude

Abréviation	Nom d'antibiotique	Charge	Type de Gram ciblé
C	Chloramphénicol	30µg	Gram positif et Gram négatif
GN	Gentamycine	10µg	Gram négatif
P	Pénicilline	10µg	Gram positif
SXT	Sulfaméthoxazole et Triméthoprine	23,75µg	Gram positif et Gram négatif

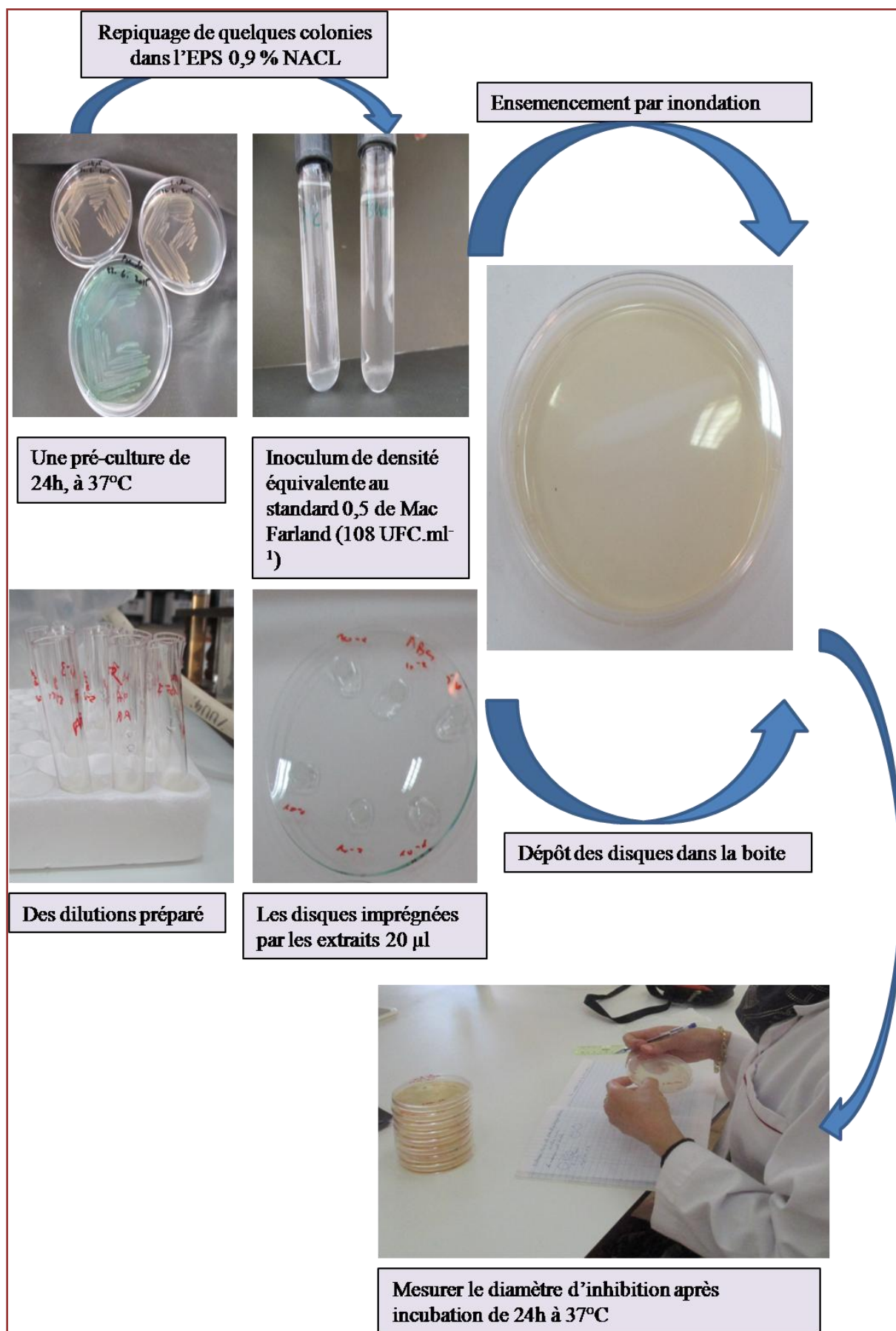


Figure 20 : Les principales procédures de l'activité antibactérienne (Cliché Moumène, 2014)

Chapitre VI : Résultats et discussion

VI-Résultats et discussion

VI.1. Résultats et discussion de l'enquête ethnobotanique

VI.1.1. Fréquence d'utilisation de l'espèce cultivée selon le sexe et la classe d'âge

L'utilisation de l'ail cultivée varie selon le sexe. Les femmes utilisent beaucoup plus l'ail comme condiment et traitement de certaines maladies que les hommes. En effet, 60% des femmes questionnées utilisent quotidiennement l'ail avec ces deux variétés rouge et blanche pour aromatiser les plats et pour des vertus thérapeutiques, contre 40% de la population masculine (Figure 21).

L'utilisation d'ail beaucoup plus par les femmes s'explique tous simplement par le fait que ce sont elles qui préparent les plats et donnent les premiers soins pour leur familles autant que mères.

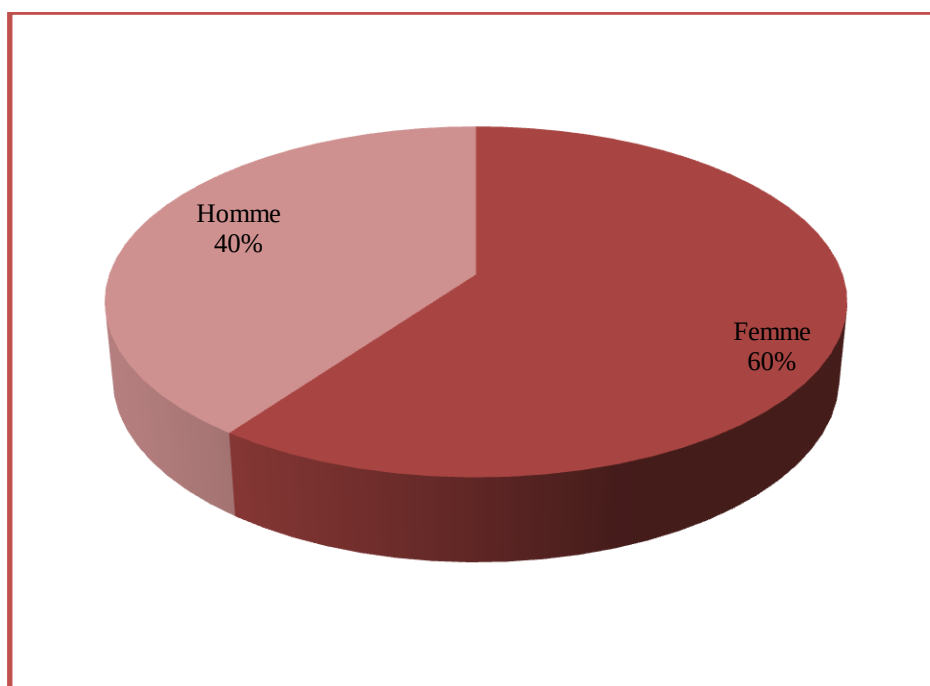


Figure 21 : L'utilisation de l'ail cultivée selon le sexe.

L'utilisation de l'ail est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance pour la tranche d'âge de > 60 ans, avec un taux de 47,50 %. La tranche d'âge de 40 à 60 ans, le consomment à un taux de 31,25%. Les deux tranches d'âge utilisent l'ail avec ces deux variétés rouge et blanche, dans les plats comme condiment et pour soigner certaines maladies.

Cependant, et pour les personnes âgées de 20 à 40 ans, l'utilisation de l'ail n'est que de 21,25% et représente l'utilisation de l'ail comme condiment. La variété d'ail cultivé la plus utilisée par la population enquêtée est celle du bulbe rouge. (Figure 22)

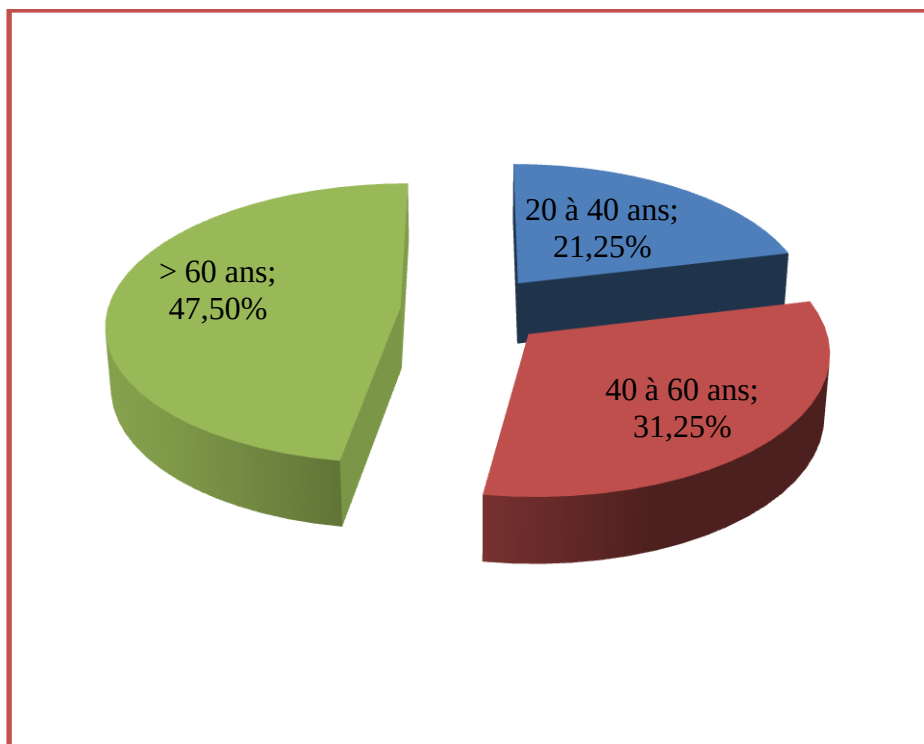


Figure 22 : Fréquence d'utilisation de l'ail selon la classe d'âge

VI.1.2. Utilisation de l'espèce cultivée comme condiment et/ou traitement

La population enquêtée qui représente les 100% des personnes consomment l'ail comme condiment, dont 26,25% l'utilisent pour traiter et éviter certaines maladies ; ils utilisent l'ail cru (seul) ou avec d'autre ingrédients pour préparer des recettes ou pour traiter des différents anomalies.

L'enquête a révélé les vertus thérapeutiques de l'ail cultivée, en l'utilisant principalement comme régulateur de la tension artérielle (comme antihypertenseur), avec un taux de 30,23%, et notamment contre les maladies infectieuses avec le même pourcentage en virons, suivie des maladies dermiques, avec un pourcentage 11,63%, puis comme anti-cholestérol à un taux de 9,30% ; les maladies digestives et l'anti-hyperglycémie avec un pourcentage de 6,98 % pour chacune, et en fin 4,65 % de la population enquêtée utilisent l'ail comme traitement préventif du cancer. (Figure 23)

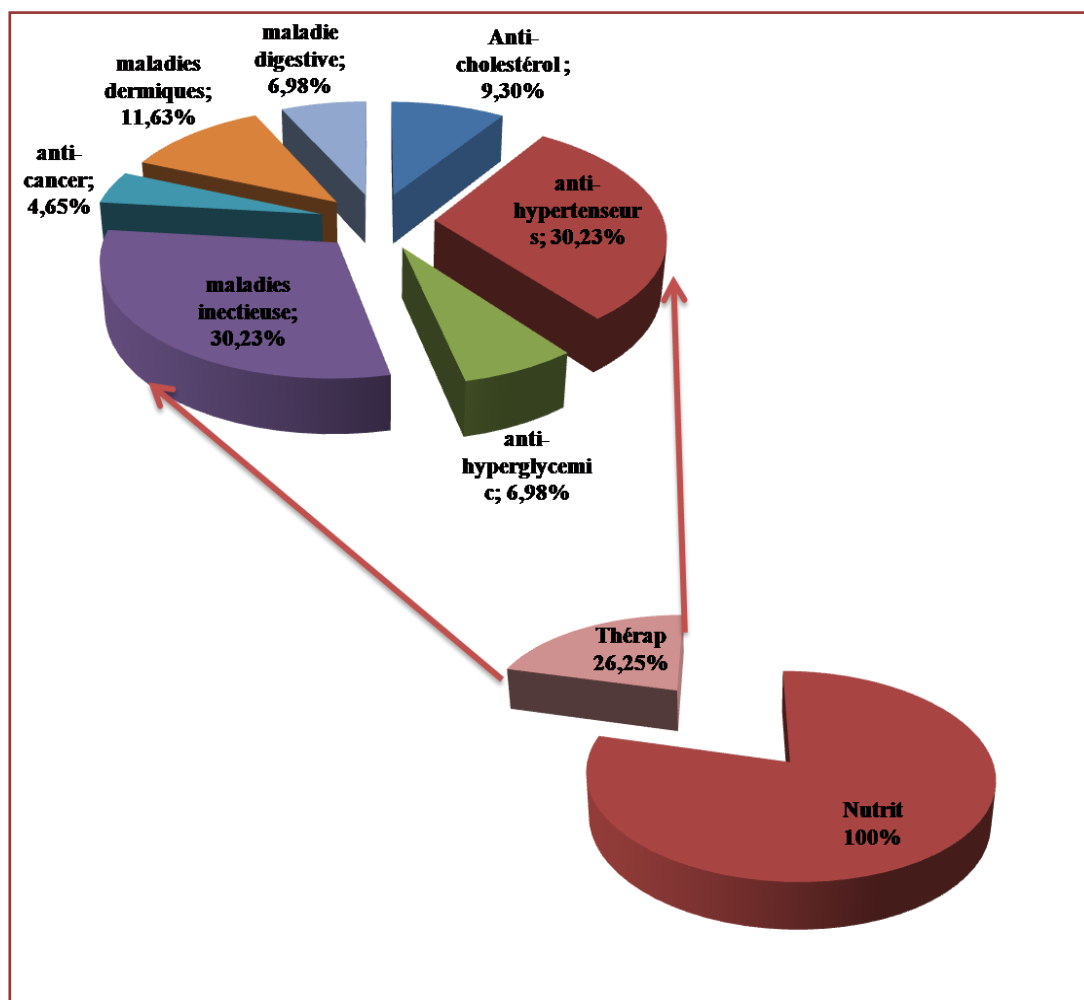


Figure 23 : Les maladies traitées par l'ail cultivé.

Comparés aux autres travaux réalisés sur l'ail cultivé et leur effet thérapeutique à travers le monde, les résultats de notre enquête indiquent une concordance avec les recherches réalisées, on peut citer par exemple, celles de :

Goetez, et *al.* (2008) qui ont confirmé que l'ail est un hypotenseur après 5min de leur consommation (crû) à deux niveaux, le niveau cholinergique et par le biais de son action vasodilatatrice. Mentionné aussi comme antibactérien, antifongique et antivirale de premiers lieux et prouvés par Rees et *al.* (1993), Loufoua et *al.* (2015) et Harris et *al.* (2001) et par d'autre travaux. L'effet anticancéreux de l'ail a été prouvé par de nombreux travaux, parmi eux celle de Rui Li et *al.* (2010) qui ont utilisé l'huile essentielle de l'ail, *in vivo*, pour traiter des rats malades par le cancer gastrique.

VI.1.3. Degrés d'utilisation de l'espèce d'ail sauvage:

L'enquête ethnobotanique a révélé que la majorité des enquêtes (83 %) ne connaissent pas l'ail sauvage, et que 17 % de la population seulement l'utilisent comme condiment. (Figure 24)

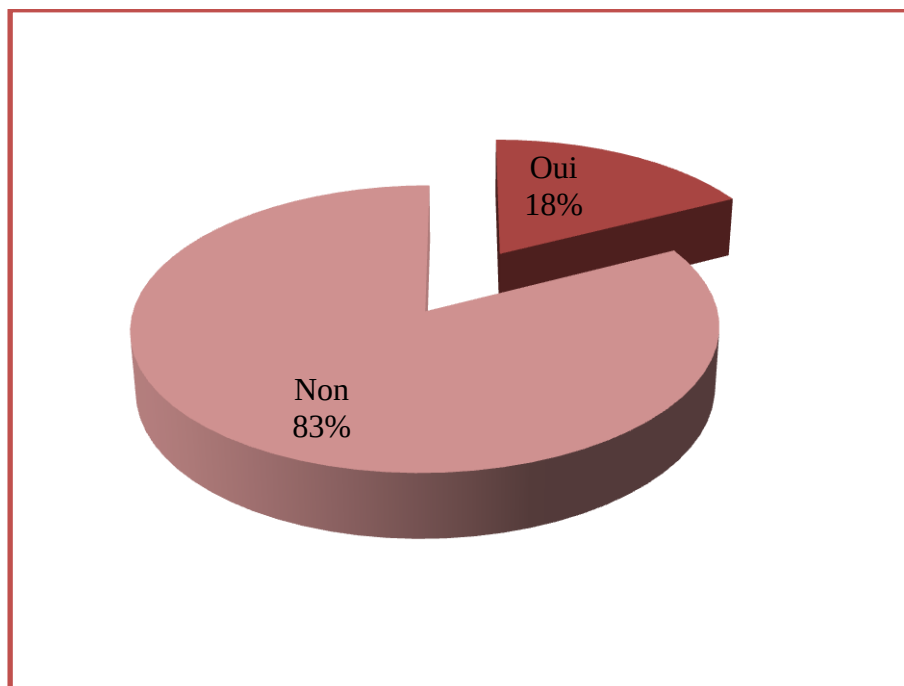


Figure 24 : Etat de connaissance de l'ail sauvage.

De ce fait, nous disons que cette étude qui rapporte la première enquête ethnobotanique sur l'ail cultivé et l'ail sauvage dans notre région, nous a permis de fournir des informations sur l'utilisation thérapeutique de l'ail cultivé et des informations sur l'ail sauvage et leur utilisation.

VI.2. Résultats et discussion de l'étude phytochimique

VI.2.1. Extraction des huiles essentielles

Les rendements moyens en huiles essentielles obtenus et ces caractéristiques organoleptiques sont illustrés dans le tableau 3.

Tableau 3: Rendements des huiles essentielles en % extraites des deux espèces du genre *Allium* et leurs caractéristiques organoleptiques.

L'échantillon étudié	Le rendement en HE	Les caractéristiques organoleptiques		
		aspect	couleur	odeur
ASbr	0,28 ±0,09	Visqueux	Jaune rougeâtre	Typique d'ail fort
ASbb	0,16± 0,06	Visqueux	Jaune claire	Typique d'ail
AVb	0,20± 0,06	Visqueux	Jaune verdâtre	Typique d'ail

Le rendement en huile essentielle le plus élevé est observé chez l'ASbr avec un pourcentage de 0,28 ; par contre, il est moins important chez l'AVb, à raison de 0,20 et encore moins remarquable chez l'ASbb (0,16%).

Les deux variétés d'*Allium sativum* qui sont cultivées dans la région de l'Ouest Algérien renferment une teneur en HE plus ou moins similaires aux teneurs obtenues par les différents chercheurs.

Ainsi, le rendement obtenu par Khadri et *al.* (2010), qui ont travaillé sur l'ail cultivé dans la région de l'Est Algérien, est de l'ordre de 0,09%, alors que les résultats des travaux de Jonhson et *al.* (2013) au Nigeria et ceux de Haciseferogülları et *al.* (2005) en Turquie, ont montré que les bulbes d'*Allium sativum* renferment 0,16% et 0,14%, respectivement.

D'autre part, les travaux de Douiri et *al.* (2013) au Maroc et ceux de Lawrence et *al.* (2011) à l'Inde réalisés sur la même espèce ont donnés des rendements plus élevés que les nôtres, à raison de 0,32 %, 0,4% respectivement.

En parallèle, les travaux réalisés sur les bulbes de l'espèce sauvage *Allium vineale* sont très rares. Une étude similaire faite par Liu et *al.* (2014) au Chine sur une espèce *Allium macrostemon* (oignon sauvage) qui appartient aussi au genre *Allium* a donné un rendement important en huile essentielle (0.56%).

Selon tous les auteurs cités ci-dessus ; les différences existantes entre les rendements d'extraction obtenues pour les bulbes d'ail cultivé ou bien sauvage poussant dans des

différentes régions sont liées aux paramètres écologiques tels que le climat, la nature du sol, les stress environnementaux..., et géographiques (altitude, latitude, exposition...) ou encore liées au capital génétique qui représente un facteur intrinsèque.

VI.2.2. Caractérisation des composés chimiques des huiles essentielles

Le GC/MS a permis d'identifier les principaux constituants des huiles essentielles de, l'ASbr, ASbb et AVb (Figure 25, 26,27). Les résultats de cette étude sont illustrés sous forme des figures qui représentent des spectres du CG/MS et récapitulés dans le tableau 6 .

Cette analyse a permis l'identification de 21 composés dont 14 composés représentent environ 99 % de la composition chimique totale de l'huile essentielle ASbr , 14 composés pour l'huile essentielle ASbb à raison de 98,9 % et 11 constituants représentant environ 96.5% de la composition totale de l'essence d'AVb.

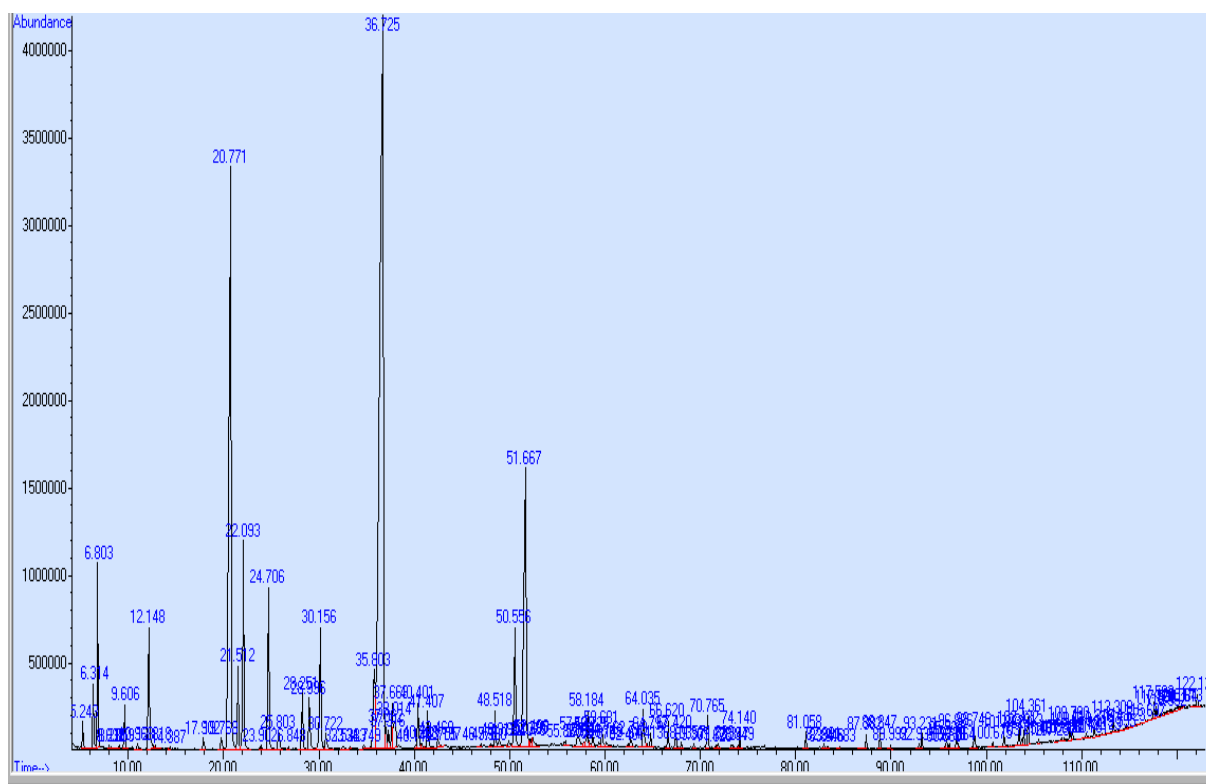


Figure 25 : Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'ASbr

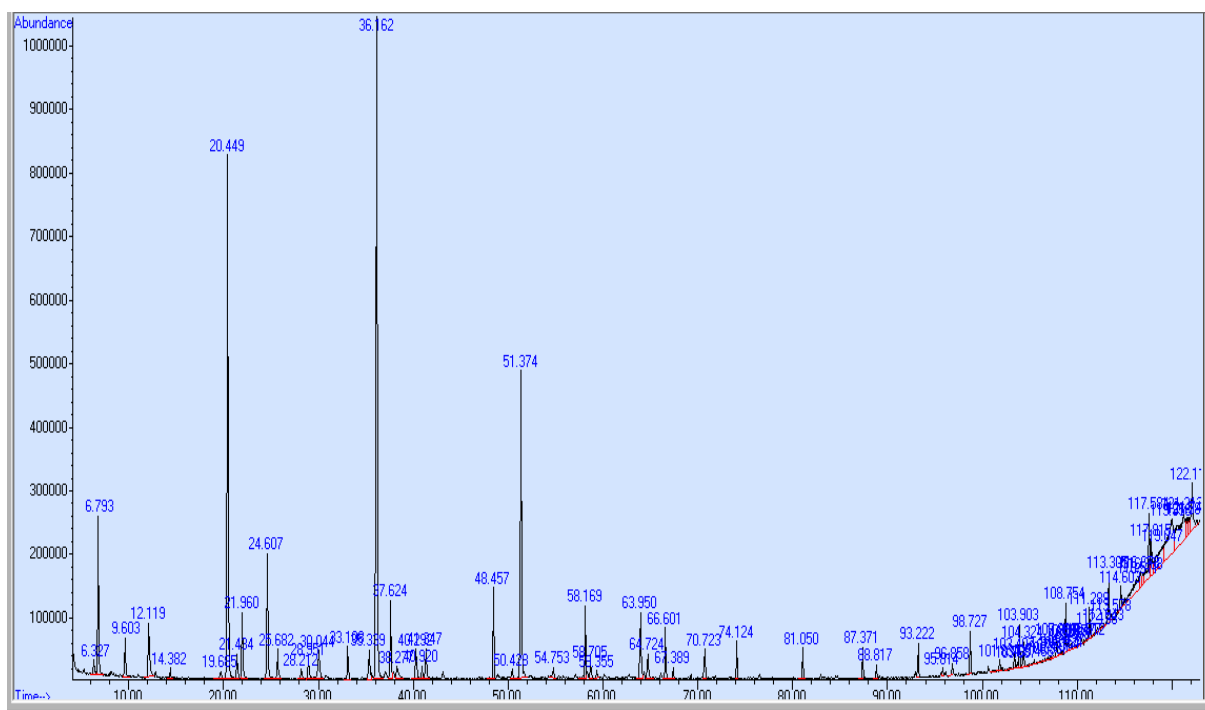


Figure 26 : Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'ASbb

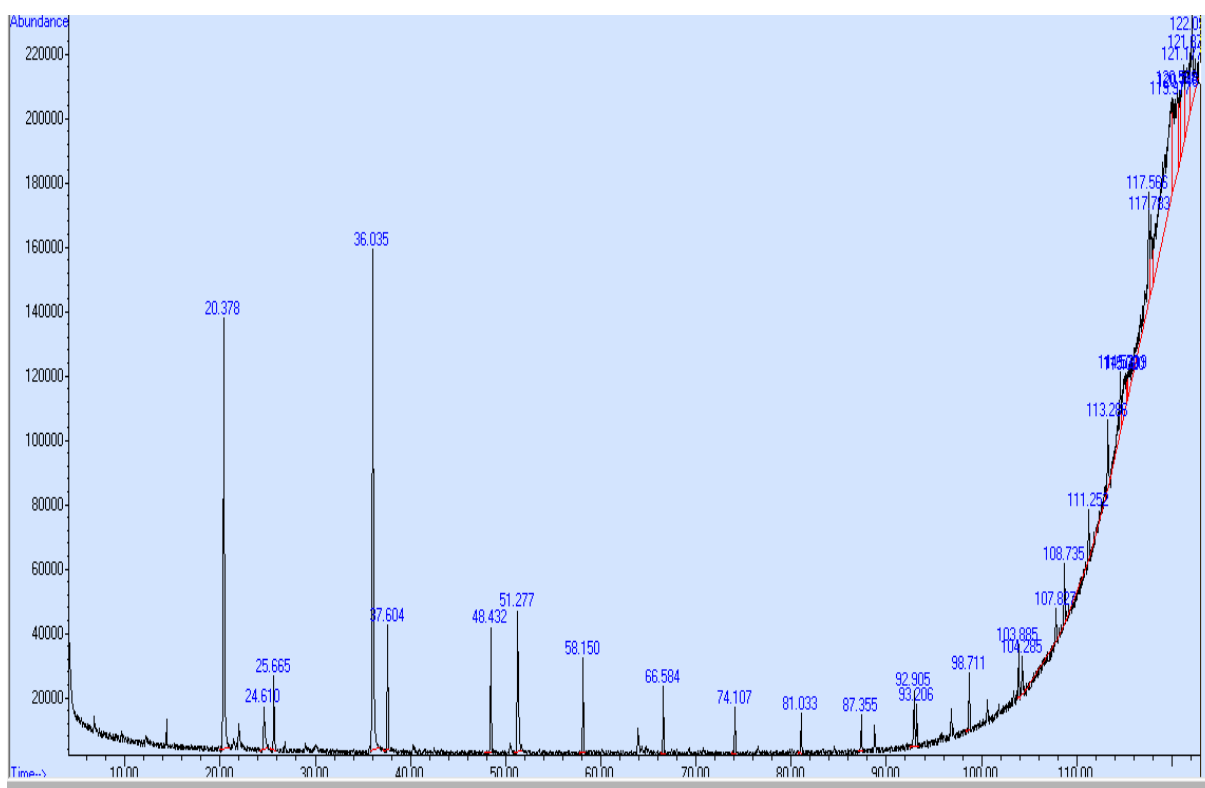


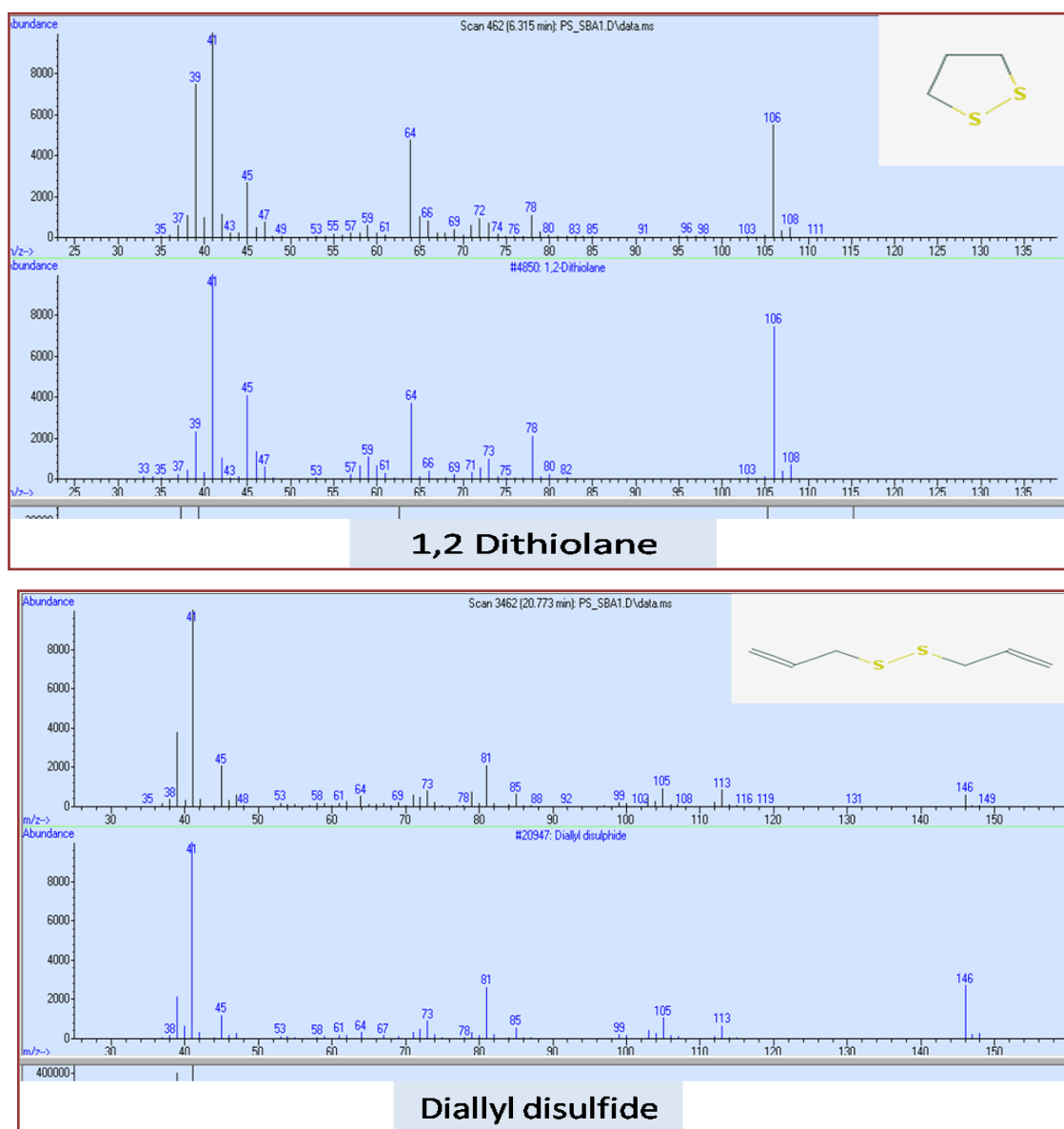
Figure 27 : Spectre GC/MS de l'huile essentielle d'AVb

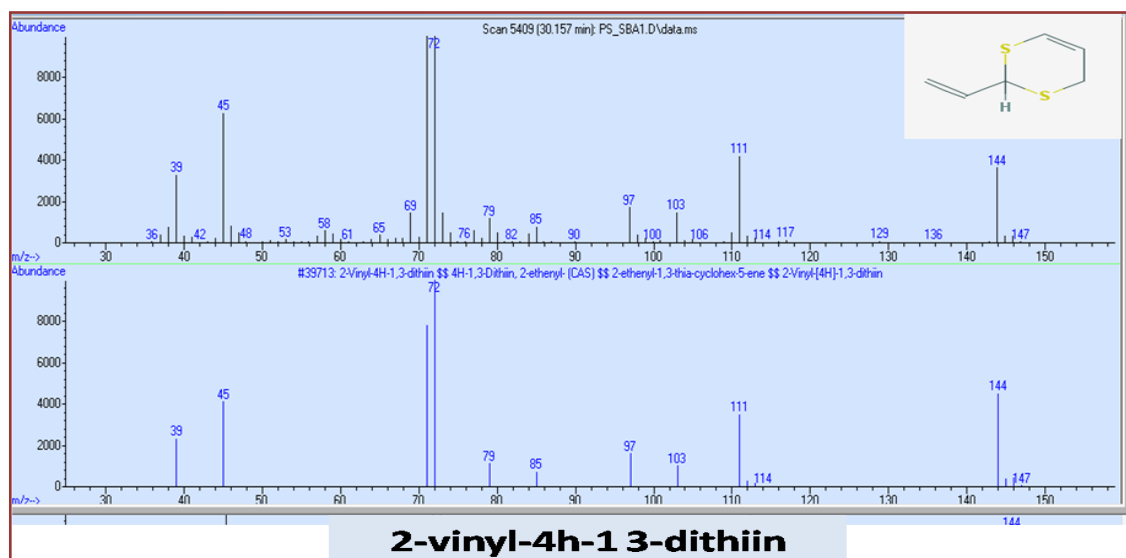
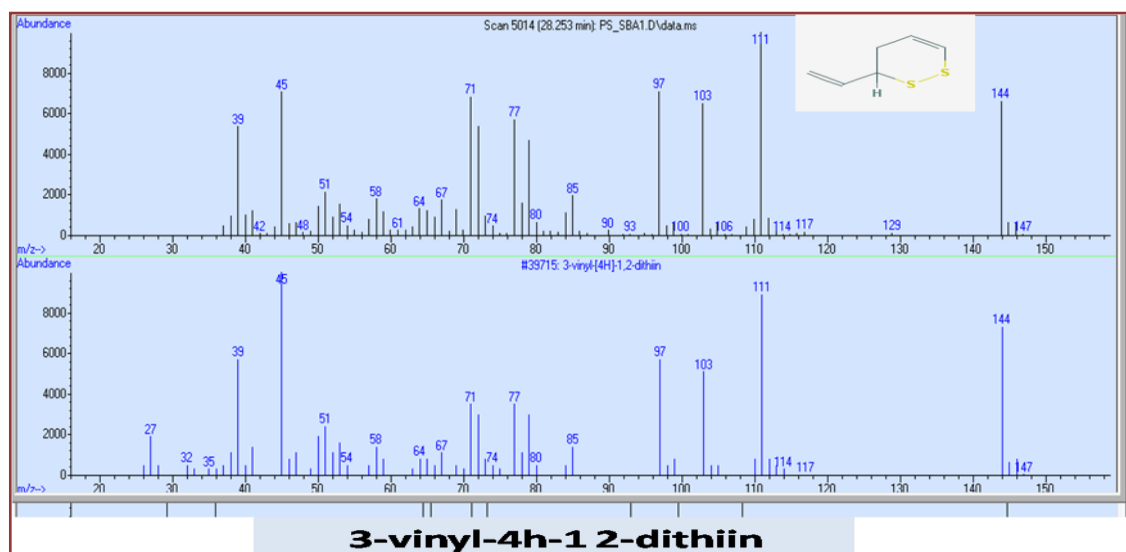
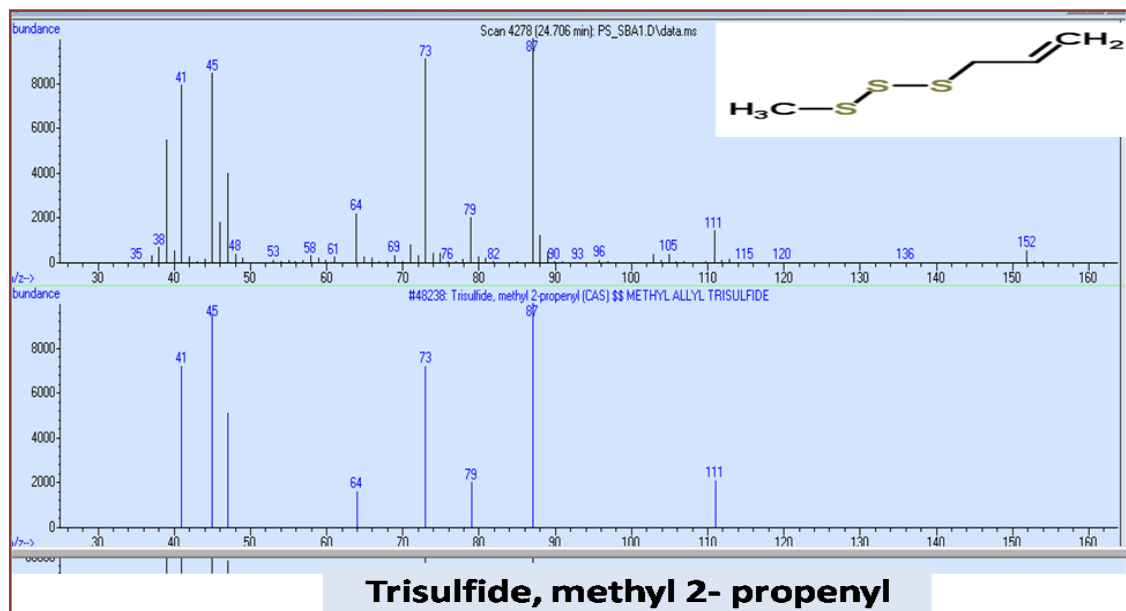
Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles des trois échantillons du genre Allium : ASbr, ASbb et AVb.

Composition	HE ASbr		HE ASbb		HE AVb	
	IK c	% HE	IK c	% HE	IK c	% HE
1,2- Dithiolane	844,7	2 %	840,5	3,2%	900	3%
Diallyle sulfide	858,3	3%	/	/		/
Thiophene 3,4- dimethyl	912,5	1.5 %	/	/		/
Disulfide, methyl 2-propenyl	921,5	2 %	919,4	5%	/	/
Diallyl disulfide	1088,3	22%	1080,4	20%	1082,8	18%
Disulfide, methyl (methylthio) methyl	1131,4	1.5%	/	/		/
Trisulfide, methyl 2-propenyl	1142,5	3%	1137,8	8.5%	1141,1	7%
4- methyl 1,2,3 –Trithiacyclopentane ou 1,2,3 –Trithiolane,4-methyl	1157,6	1,5%	/	/		/
3-Vinyl- (4H)- 1,2- dithiin	1191,3	2%	1188,9	1,5%	1190	2%
2-vinyl-(4H)- 1,3-dithiin	1218,1	2.5%	1212,7	2%	1218	1,5%
Allyl trisulfide	1312,5	45%	1299	30%	1302,2	24%
5-methyl-1,2,3,4-tetrathia cyclohexane	1367,4	2%	1360,7	3.5%	/	/
Diallyl tetrasulfide	1549,9	7%	/	/	/	/
1-Propene, 3,3-thiobis	/	/	855,9	5%	/	/
Dimethyltrisulfide	/	/		2%	/	/
Cyclopentasiloxane, decamethyl	/		1154,5	3.5%	1155,7	6%
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl	/	/	1324,2	2.7%	1325,7	9%
Dimethyl tetrasulfide	/	/	1377,1	4%	/	/
Tetrasulfide, di-2-propenyl	1560,2	4%	1562,8	8%	1543,4	16%
3- Isopropoxy -1,1,1,7,7,7 – hexamethyl -3,5,5- tris (trimethylsiloxy) tetrasiloxane	/	/	/	/	1495,4	5%
Silicate anion tetramer	/	/	/	/	1662,9	5%
21 Composants	/	99%	/	98.9%	/	96.5%

Remarque : les taux des composés majoritaires des trois huiles sont mentionnés en gras.
IKc : indice de kovats calculé

Cependant, les profils chimiques des essences des trois échantillons ASbr, ASbb et AVb montrent la dominance des composés soufrés avec sept molécules communes majoritaires : Diallyl disulfide, Trisulfide, Methyl 2-propenyl, 1,2- Dithiolane, Vinyl- (4H)- 1,2- dithiin, 2-vinyl-(4H)- 1,3-dithiin, Allyl trisulfide, Tetrasulfide, di-2-propenyl avec des pourcentages variables (Figure 29) et d'autres composés de faible pourcentage, notamment, 5-methyl-1,2,3,4-tetrathia cyclohexane, Cyclopentasiloxane, Decamethyl, Cyclohexasiloxane, Dodecamethyl, Dimethyltetrasulfide ou 1,4- dimethyltetrasulfide et Silicate anion tetramer. (Figure 28)





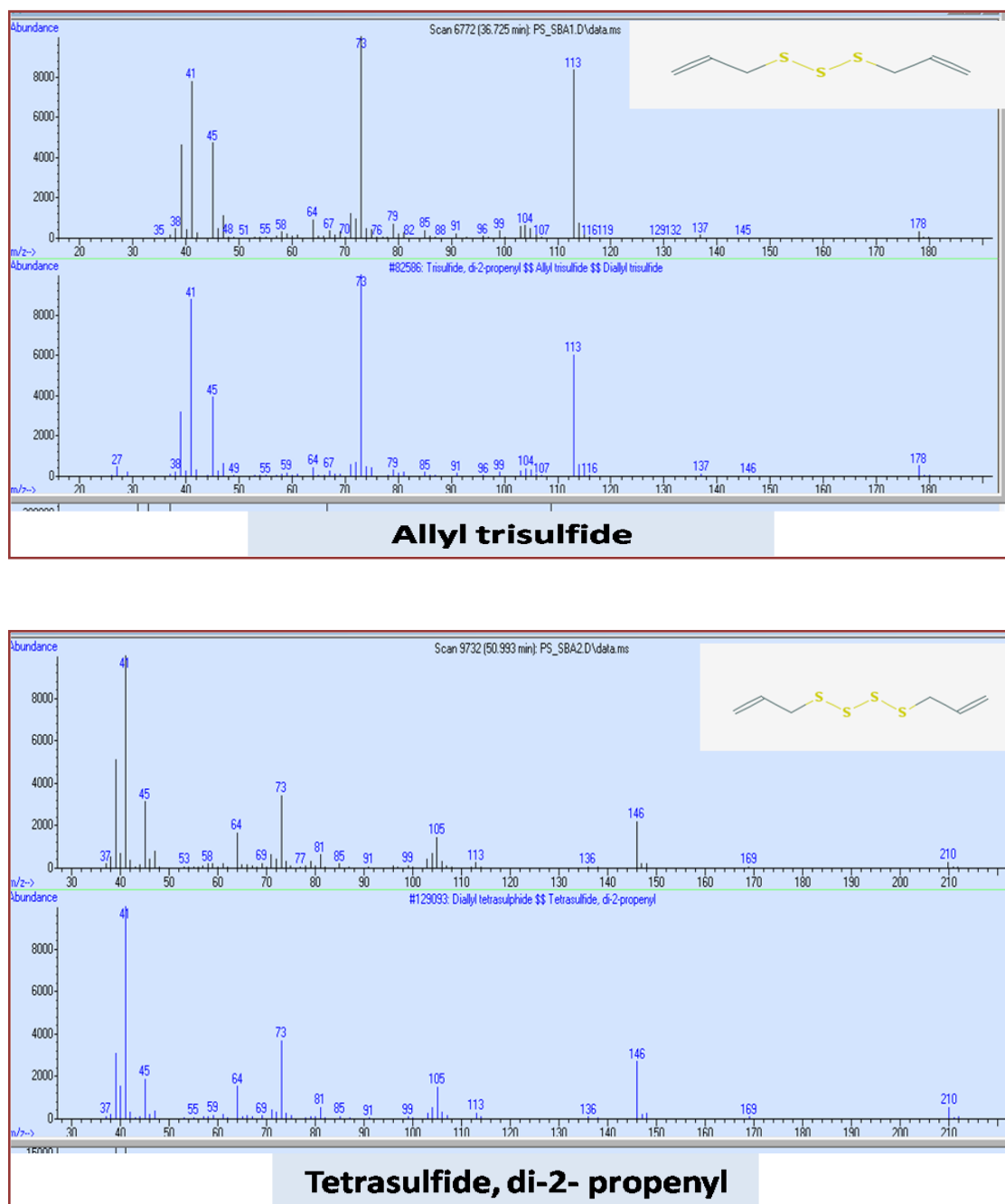


Figure 28 : Les spectres GC/MS et les structures chimiques des sept composés majoritaires des HE d'ASbr, ASbb et AVb

Nous constatons que, nos résultats sont plus ou moins identiques à ceux obtenus par d'autres chercheurs, en particulier le travail de Chekki et *al.* (2014) en Tunisie qui a caractérisé la composition chimique des huiles essentielles d'*Allium sativum* de la région étudiée, par la même technique d'analyse et a identifié les mêmes composés majoritaires tels que ; diallyle disulfide (44,6%), allyl methyl trisulfide (11,8%), diallyle trisulfide (27,7%), 3-Vinyl- (4H)- 1,2- dithiin (4,04%) et 2-vinyl-(4H)- 1,3-dithiin (1,2%).

Jay Wook Kin et *al.* (2004) en Corée, qui a cité que trois composés majoritaires comme ; diallyle tetrasulfide, 2-methyl tetrasulfide et 2- propyl tetrasulfide.

Mnayer et *al.* (2014) en Liban, a caractérisé les huiles essentielles de six espèces du genre *Allium* notamment l'*Allium sativum*, et a noté la majoration de diallyl disulfide avec un pourcentage de 37,9% et diallyl trisulfide avec 28,06%.

En revanche, les recherches réalisées sur l'identification des composés volatiles de l'huile essentielle des bulbes de l'*Allium vineale* sont très rares, raison pour la quelle nous avons comparé nos résultats avec d'autres espèces du même genre *Allium* et qui pousse spontanément dans la nature.

Ainsi, Radulovića et *al.* (2015) ont montré que les huiles essentielles des bulbes d'espèce spontanée d'*Allium ursinum*, contiennent les mêmes composés majoritaires que les huiles essentielles de l'AVb telle que: allyl methyl trisulfide 26,5%, diallyl disulfide 21,2%, diallyl trisulfide 19,6%, allyl methyl disulfide 18,9% et diméthyle trisulfide 7,5%.

En effet, les chercheurs ont signalés que la teneur et la composition chimique d'une huile essentielle varient en fonction d'un grand nombre de paramètres d'origine extrinsèque et intrinsèque et d'ordre technologique. De ce fait, les facteurs extrinsèques touchent particulièrement l'origine géographique et les conditions écologiques (climat et sol). Ainsi, les rendements des huiles essentielles et leur composition changent suivant l'origine géographique de la plante, la durée d'exposition au soleil, les températures minimales et maximales, le régime des vents et la pluviométrie. La nature du sol (calcaire gréseux ou siliceux), les aspects culturels comme la densité de culture, l'alimentation en eau, le nombre de récoltes par an et l'apport d'engrais affectent d'une manière déterminante la qualité et le rendement des huiles essentielles.

Par contre, les facteurs intrinsèques sont des variables qui dépendent de la plante elle-même (Génétique, localisation et maturité). On cite comme exemple l'origine botanique, les chémotypes, les sites producteurs et le cycle biologique.

Les paramètres technologiques se résument surtout dans le mode d'extraction de l'huile essentielle qui marque son empreinte sur la composition chimique et le rendement de celle-ci.

Ces multiples et divers paramètres sont liés entre eux et constituent un ensemble qui interfère au niveau du produit obtenu (Toumi, 2009).

VI.2.3. Extraction des polyphénols

La préparation des extraits à partir des bulbes frais de l'ASbr, ASbb et AVb a été effectuée par trois solvants, il s'agit du méthanol, éthanol et l'eau distillée. Cette extraction a permis d'obtenir trois extraits pour chaque échantillon.

Les résultats des rendements de chaque extrait porté au 100 g de matière végétale sont portés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Les rendements des composés phénoliques des différents extraits

Extraits	Rendements en %		
	ASbr	ASbb	AVb
Extrait Methanolique	9± 0,6	14±0,5	12±0,6
Extrait Ethanolic	3,4±0,9	5,7±0,6	2,4±0,3
Extrait Aqueux	19,3±0,9	23,3±0,5	27,4±0,5

Pour la nature du solvant, les résultats obtenus montrent que le méthanol et l'eau permettent une extraction intéressante des composés phénoliques, avec des rendements élevés par rapport à l'éthanol, qui révèle un taux moins remarquable, et cela pour les trois espèces: ASbr, ASbb et AVb (Figure 29).

Ainsi, le rendement en résidu sec de l'extrait aqueux, est de 27,40 g/ 100g pour AVb, suivie par ASbb 23,30g/ 100g ; le plus faible rendement est celui de l'ASbr, avec un rendement de 19,30g/ 100g.

Le rendement d'extrait méthanolique est presque égale dans les trois échantillons ; le plus élevé est celui d'AVb avec 12g/ 100g, suivie par ASbb avec un rendement de 11 g/ 100g et d'ASbr avec 9g/ 100g de matière végétale.

En fin, l'extrait éthanolic possède le plus faible rendement par rapport aux autres extraits, avec un taux élevé de 5,60g /100g pour ASbb, 3,4g/100g pour ASbr et le rendement le plus faible est celui de AVb avec 2,4 g/100g.

Des travaux identiques portés sur le rendement des extraits phénoliques, (aqueux, méthanolique et éthanolic) des échantillons d'ail cultivés indiquent une similarité à nos résultats, notamment, ceux obtenus par Kallel et *al.* (2014) qui ont travaillé sur l'activité

antimicrobien des différents extraits d'*Allium sativum* (l'extraits aqueux, l'extraits méthanolique et l'extraits éthanolique). Il a été signalé que le rendement le plus élevé est celui de l'extraits aqueux (26,5 g/ 100g) et les plus faibles sont ceux de l'extraits méthanolique (7g /100g) et éthanolique (4 g/100g).

Ces différences de rendement entre les solvants sont dues aux caractéristiques de ces derniers. Ces caractéristiques sont les conséquences de la structure des molécules qui composent chaque solvant et qui déterminent son caractère polaire, son aptitude à créer des liaisons hydrogènes...etc. (Milcent, 2007).

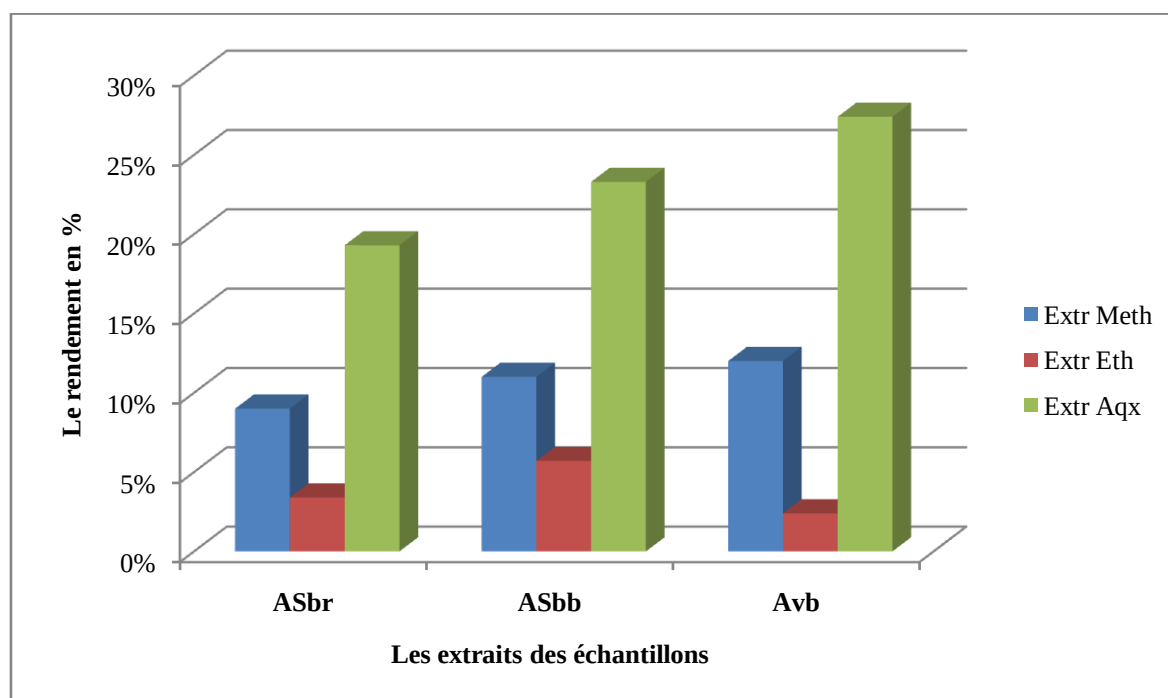


Figure 29 : Rendements des extraits phénoliques des échantillons et des solvants.

VI.2.4. Criblage phytochimique

Les tests phytochimique ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir des trois échantillons ASbr, ASbb et AVb.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre échantillon. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de réactions en donnant :

- Une turbidité.
- Un changement de couleur spécifique.

Selon le degré de la réaction entre nos extraits et les réactifs utilisés dans le criblage phytochimique, les résultats sont notés et présentés dans le tableau 6 suivant :

Tableau 6 : Résultats du test de screening en fonction des solvants et des échantillons étudiés.

L'extrait aqueux			
Echantillons Métabolites	ASbr	ASbb	AVb
Terpènes	++	++	+++
Tanin	-	-	+
Flavonoïde	+	+	++
Phénol totaux	+	+	+
Saponine	+++	+++	+++

L'extrait méthanolique			
Echantillons Métabolites	ASbr	ASbb	AVb
Terpènes	+++	+++	+++
Tain	-	-	-
Flavonoïde	-	-	-
Phénol totaux	+	+	+
Saponine	++	++	+++

L'extrait éthanolique			
Echantillons Métabolites	ASbr	ASbb	AVb
Terpènes	++	++	+++
Tanin	-	-	-
Flavonoïde	-	-	-
Phénol totaux	+	+	+
Saponine	++	++	+++

+++ : Test fortement positif ++ : test moyennement positif + : test faiblement positif - : test négatif.

Les résultats du screening phytochimique montrent que tous les tests de caractérisation des groupes chimiques dans l'extrait aqueux ont été positifs dans les trois échantillons sauf le test des tanins qui a été négatif dans ASbr et ASbb. Pour l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique, les tests des composés de métabolite secondaire ont été positifs dans les trois échantillons pour les terpènes, les phénols totaux et les saponines, et négatifs pour les tanins et les flavonoïdes. Ces résultats peuvent être expliqués par la faible ou forte solubilité des métabolites recherchés dans le différent solvant et le taux de rendement en résidu sec.

Beaucoup de travaux réalisés dans le même contexte affirment que le méthanol a un pouvoir d'extraction d'un nombre important de métabolites secondaires (Tiwari *et al.*, 2011), mais dans notre résultat c'est l'eau qui a extrait les composés de métabolites secondaires plus que le méthanol et l'éthanol.

Les résultats des travaux de Meriga, *et al.* (2011) réalisés sur les bulbes d'ail épuisés dans le méthanol et l'eau montrent que les tests de présence des composés de métabolites secondaires ont été positifs dans l'extrait méthanolique pour les terpènes et les saponines, et négatifs pour les tanins et les flavonoïdes.

VI.2.5. Dosage des composés phénoliques

L'étude quantitative des extraits bruts d'ASbr, ASbb et AVb, au moyen des dosages spectrophotométriques, a pour objectif la détermination de la teneur des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.

VI.2.5.1. Dosage des phénols totaux :

Les phénols totaux ont été déterminés par la méthode Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 765 nm.

La quantité des phénols totaux a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de poids sec de l'extrait (mg EAG/g Ps), et pour l'évaluer on utilise l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

La quantité des phénols totaux dans les différents extraits des trois échantillons varie de 4,55 mg EAG/ g Ps à 69,92 mg EAG/ g Ps (Tableau 7).

Tableau 7 : Teneur des phénols totaux des différents extraits des trois échantillons

Phénol totaux (mg EAG /g d'extrait sec)			
Extrait	ASbr	ASbb	AVb
Extrait Aqueux	11,1 ± 2,49	6,96 ± 0,22	4,55 ± 0,93
Extrait Méthanolique	14,13 ± 3,12	9,78 ± 0,86	5,16 ± 0,61
Extrait Ethanolique	17,94 ± 2,83	11,54 ± 1,69	69,92 ± 5,7
Chaque valeur est la moyenne de trois mesures ± écart type			

Les résultats du dosage des phénols totaux dans l'extrait éthanolique montrent que l'AVb renferme la plus grande proportion (69,92 mg AGE/g) suivies par les variétés cultivées ASbr et ASbb (17,94 mg AGE/g et 11,54 mg AGE/g), respectivement.

Par contre, dans les extraits méthanoliques et aqueux, la concentration des phénols totaux est moins importante, comparée à celle de l'extrait éthanolique, que se soit pour l'ASbr (14,13 mg AGE/g et 11,1 mg AGE/g, respectivement) ou bien pour ASbb (9,78 mg AGE/g et 6,96 mg AGE/g, respectivement). Elle reste encore moins importante dans les extraits de l'AVb (5,16mg AGE/g et 4,55 mg AGE/g).

En déduction, nous pouvons dire que les teneurs des phénols totaux les plus intéressantes sont ceux des bulbes de l'espèce sauvage (AVb) épuisés dans l'éthanol. (Figure 30).

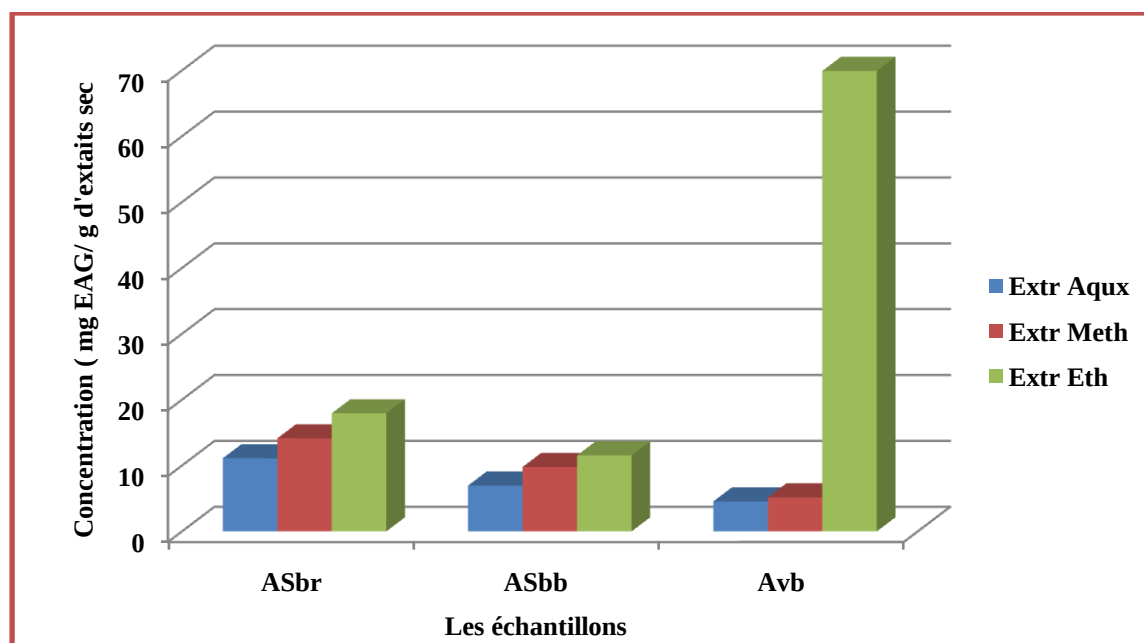


Figure 30 : Comparaison des teneurs des phénols totaux des différents échantillons étudiés.

En parallèle, les travaux réalisés sur *Allium sativum*, dans différentes régions du monde, montrent que la teneur des phénols totaux n'est pas toujours la même que celle de l'*Allium sativum* de notre région.

Ainsi, les études de Chekki et al., (2014) indiquent un taux de phénols totaux élevé dans les extrait éthanolique de l'ail (43,6 mg AGE/g) par rapport aux extrait méthanolique de la même plante (5 mg AGE/g), tandis que Poliana et al. (2014) qui ont travaillé sur l'extrait éthanolique de l'ail originaire du Brésil, signale une teneur de (10,55 mg AGE/g) et qui est une valeur moins considérable.

D'autre par, Kallel et al. (2014) ont montré que l'extrait méthanolique renferme un taux de phénols totaux (22,83 mg AGE/g) représentant le double de celui de l'extrait éthanolique (11,8 mg AGE/g), tandis que l'extrait aqueux ne peut extraire qu'une quantité de (2,97 mg AGE/g) de phénols totaux, seulement.

Nencini et al. (2010), qui ont évalué le pouvoir antioxydant des extraits aqueux des différentes espèces sauvages et cultivées d'ail, montrent que les teneurs en phénols totaux obtenues sont inférieures à nos résultats, à raison de 0,49 mg AGE/g, pour l'espèce sauvage *Allium subhirsutum*, 0,52 mg AGE/g pour la deuxième espèce sauvage *Allium neapolitanum*, et 0,38 mg AGE/g. pour l'espèce cultivé *Allium sativum*.

Cette différence entre les résultats trouvés peut être due à divers facteurs, notamment, les conditions environnementales, climatiques et la période de récolte, sans oublier les conditions expérimentales et le capital génétique, héréditaire.

En parallèle, des études réalisées antérieurement, ont démontré que l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale, est aussi influencée par la nature du solvant utilisé dans la technique d'extraction, le degré de solubilité de ces composés et leur polymérisation ainsi que leur interaction avec d'autres constituants de la plante (Gálvez et *al.*, 2005). Les solvants organiques, généralement utilisés pour l'extraction des composés phénoliques, sont le méthanol, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, le chloroforme et 1-butanol qui sont aussi utilisés pour extraire les phénols à partir des produits frais (Tan et *al.*, 2011).

En effet, les différences dans la polarité des solvants utilisés peuvent aussi expliquer les différences de rendements d'extraction et leur activité biologique.

De ce fait, la polarité du solvant joue un rôle déterminant dans l'augmentation de la solubilité des composés phénolique (Naczki et *al.*, 2006).

En revanche, il est difficile de définir une procédure standard pour l'extraction des phénols des végétaux, néanmoins, nous pouvons avancer que les solvants les moins polaires sont généralement considérés comme étant convenable pour l'extraction des phénols lipophiles et les solvants polaires sont utilisés pour des phénols hydrophiles (Bouزيد, 2014).

VI.2.5.2. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (ALCL₃). La quantification des flavonoïdes a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée à partir d'une solution étalon de catéchine à différentes concentrations, le calcul de la teneur en flavonoïdes dans les différents échantillons est donc exprimé en mg équivalent de catéchine par gramme de résidu sec d'extrait (mg EC/g) .

Les teneurs des flavonoïdes varie entre 1,05 mg EC/ g qui représente la valeur minimale, décelée dans l'extraits éthanolique d'ASbb et 62,11 mg EC/ g détectée dans l'extraits éthanolique d'ASbr et qui représente la valeur la plus élevée. (Tableau 8)

Tableau 8 : Teneur des flavonoïdes dans les différents extraits des trois échantillons

Les flavonoïdes (mg EC/ g d'extrait sec)			
Les extraits	ASbr	ASbb	AVb
Extrait Aqueux	23,97 ± 1,5	14,38 ± 2,4	16,06 ± 4
Extrait Méthanolique	15,21 ± 0,93	10,22 ± 0,85	33,05 ± 5,64
Extrait Ethanolique	62,11 ± 5,33	1,05 ± 0,8	17,5 ± 3,35
Chaque valeur est la moyenne de trois mesures ± écart type			

Le tableau ci- dessus indique que l'extrait éthanolique renferme la quantité la plus élevé des flavonoïdes, avec une valeur de 62,11 mg EC/g Ps pour l'ASbr, suivie par l'AVb avec une valeur de 17,5 mg EC/ g Ps et que l'ASbb ne renferme que 1,05 mg EC/g Ps seulement.

Pour l'extrait méthanolique, c'est l'échantillon d'AVb qui révèle la teneur la plus élevée (33,05 mg EC/ g Ps), suivie par l'ASbr et l'ASbb à raison de 15,21 mg EC/ g Ps et 10,22 mg EC/ g Ps, respectivement.

D'autre part, il est à noter que les extraits aqueux de l'ASbr, ASbb et AVb renferment aussi des valeurs plus ou moins importantes, avec des taux de 23,97 mg EC/ g Ps, 14,38 mg EC/ g Ps et 16,06 mg EC/ g Ps, respectivement. (Figure 31).

En comparant nos résultats avec les valeurs trouvées par Chekki et *al.* (2014) et celle de Kallel et *al.* (2014) qui ont travaillé sur l'ail cultivé, nous constatons que les teneurs en flavonoïdes sont moins remarquables. Pour le premier auteur, il annonce des teneurs de 13,2 mg EC/ g Ps dans l'extrait éthanolique et 0,42 mg EC/ g Ps dans l'extraits méthanolique. Pour le deuxième auteur, il déclare une teneur de 0,48 mg EC/ g Ps dans l'extraits éthanolique, et 0,6mg EC/ g Ps dans l'extraits méthanolique, avec une valeur plus inférieurs de 0,04 mg EC/ g Ps dans l'extrait aqueux.

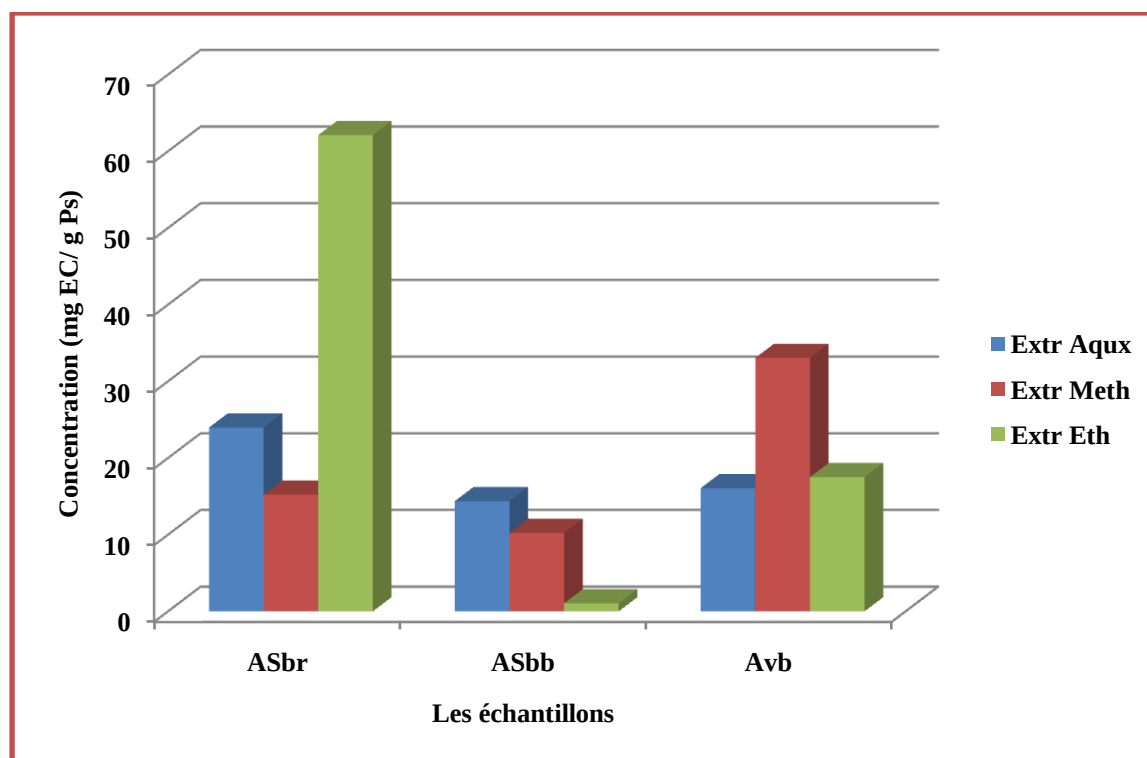


Figure 31 : Comparaison des teneurs des flavonoïdes entre les différents échantillons

En fin, les résultats obtenus illustrés dans la figure ci-dessus montrent clairement, la richesse des extraits de l'ASbr en flavonoïdes, suivi par ceux de l'AVb, puis ceux de l'ASbb avec des teneurs moins remarquables

VI.2.5.3. Dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été effectuée par la méthode de la vanilline. La teneur des tanins condensés a été obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations croissantes de catéchine. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g).

Les résultats indiquent que la teneur des tanins condensés des différents extraits des trois échantillons représente des valeurs moins importantes qui varient entre 0,69 mg EC/g à 5,69 mg EC/g (Tableau 9).

Tableau 9 : Teneurs des tanins condensés des extraits des trois échantillons

Les tanins en mg EC/ g d'extrait sec			
Les extraits	ASbr	ASbb	AVb
Extrait Aqueux	1,35 ± 0,5	0,89 ± 0,21	1,28 ± 0,1
Extrait Méthanolique	3,01 ± 0,39	2,88 ± 0,12	4,14 ± 0,26
Extrait Ethanolique	0,69 ± 0,2	0,81 ± 1	5,69 ± 0,87
Chaque valeur est la moyenne de trois mesures ± écart type			

Dans l'extrait éthanolique, la teneur en tanins condensés de l'AVb (5,69 mg EC/g) représente le double de celle de l'ASbr (0,69 mg EC/g) et ASbb (0,81 mg EC/g), alors que l'extrait méthanolique renferment des doses en tanins plus ou moins identiques dans les trois échantillons, avec un taux de 3,01 mg EC/g pour ASbr; 2,88 mg EC/g pour ASbb et l'AVb avec le taux le plus élevé 4,14 mg EC/g. (Figure 32)

Les quantités des tanins condensés les plus faibles ont été relevées dans l'extrait aqueux des trois échantillons avec des taux variant entre 0,89 mg EC/g (au sein de l'ASbb) et 1,35 mg EC/g (au sein de l'ASbr) ; une valeur moyenne est enregistrée au sein d'AVb et qui est de 1,28 mg EC/g.

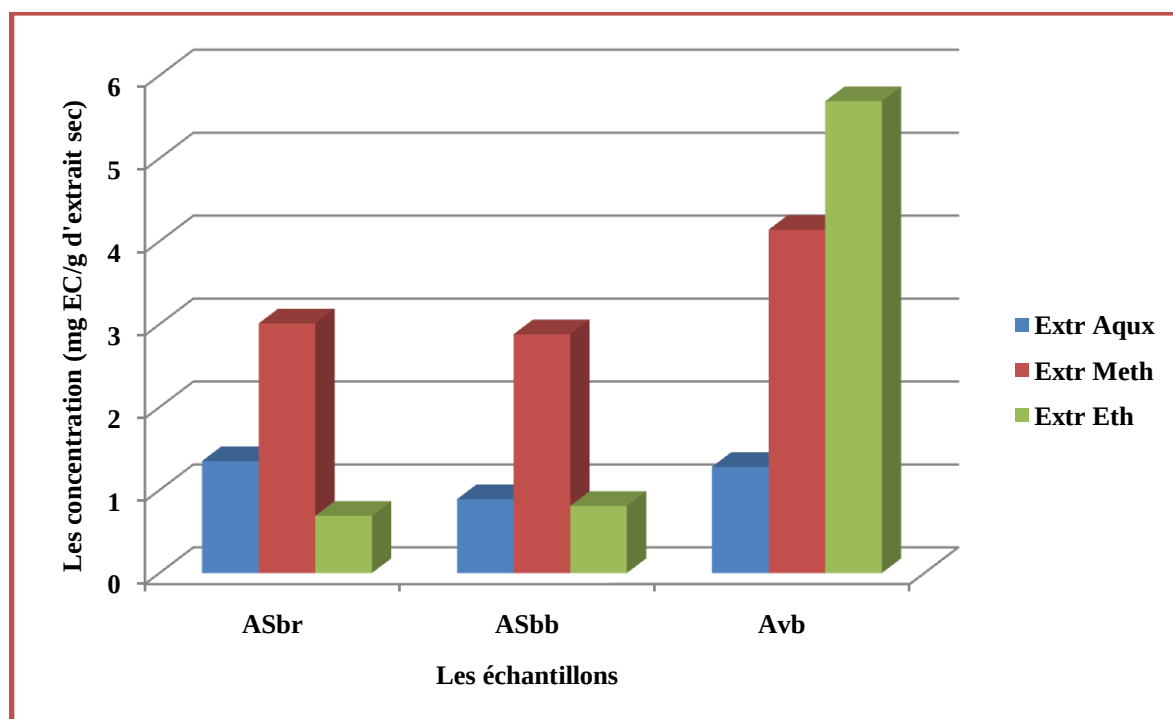


Figure 32 : Comparaison des teneurs en tanins entre les différents échantillons

VI.3. Résultats des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits phénoliques des trois échantillons étudiées

Nous rappelons qu'après le dosage des composés phénoliques et la caractérisation chimiques des huiles essentielles, nous avons entamé la deuxième partie de la thèse et qui réside dans la valorisation des bulbes d'*Allium sativum* avec ces deux variétés rouge et blanche et l'*Allium vineale*, à travers la détermination de leur pouvoir antioxydant et leur pouvoir antibactérien.

Nous avons testé l'activité antioxydante de ces composés bio- actifs, selon deux méthodes : une avec le DPPH et la deuxième correspond au blanchissement du β -carotène.

Quant à l'activité bactérienne, nous avons testé le degré d'inhibition de nos composés bioactifs sur trois souches bactériennes référenciées.

VI.3.1. Activité antioxydante

Les résultats d'une méthode ne donnent que des suggestions réduites sur les propriétés antioxydantes des huiles essentielles ou des extraits bruts. La combinaison de plusieurs techniques complémentaires, associant des mécanismes différents serait idéale pour une évaluation efficace et complète des potentiels antioxydants chez les végétaux. Deux méthodes sont employées : piégeage du radical libre DPPH et blanchissement du β -carotène.

VI.3.1.1. Piégeage du radical libre stable DPPH des huiles essentielles et des extraits

L'activité antiradicalaire des HE et des différents extraits a été évaluée par le test au DPPH, celle-ci est souvent utilisée pour la rapidité et l'efficacité des résultats. L'effet antioxydant des HE et des extraits vis-à-vis du radical DPPH est exprimé par la concentration inhibitrice à 50 % (IC50) qui correspond à la concentration nécessaire pour inhiber ou réduire 50% de la concentration initiale du DPPH. Une IC50 faible représente l'activité antiradicalaire la plus élevée. Tous les IC50 sont calculés à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des différents composés à tester avec un coefficient de corrélation (R2) inférieur à 0,9.

Les HE et les différents extraits phénoliques des trois échantillons ASbr, ASbb et AVb, ont montré une activité antiradicalaire variable vis-à-vis des radicaux libres de DPPH.

VI.3.1.1.a) Résultats des huiles essentielles

Selon les résultats enregistrés (Tableau 10) de l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois échantillons testés par la méthode de DPPH, l'huile essentielle d'AVb est dotée d'un pouvoir antioxydant remarquable par rapport à celui de l'huile essentielle d'ASbr et ASbb. Toute fois, la comparaison de nos résultats des trois huiles essentielles à ceux de l'acide ascorbique (Ac As), nous permet de conclure que les huiles essentielles d'ASbr, ASbb et AVb représentent des pouvoirs antioxydants plus faibles que celui de l'acide ascorbique.

Tableau 10 : Valeurs des IC50 des huiles essentielles des ASbr, ASbb et AVb

Les huiles essentielles	ASbr	ASbb	AVb	Ac As
IC 50 (mg/ml)	16,3	18,9	5,03	0,13

En revanche, l'ordre de la tendance des huiles essentielles est donc le suivant : l'AVb avec 5,08 mg/ml, l'ASbr avec 16,3 mg/ml et l'ASbb avec un taux de 18,9 mg/ml le plus faible. (Figure 33)

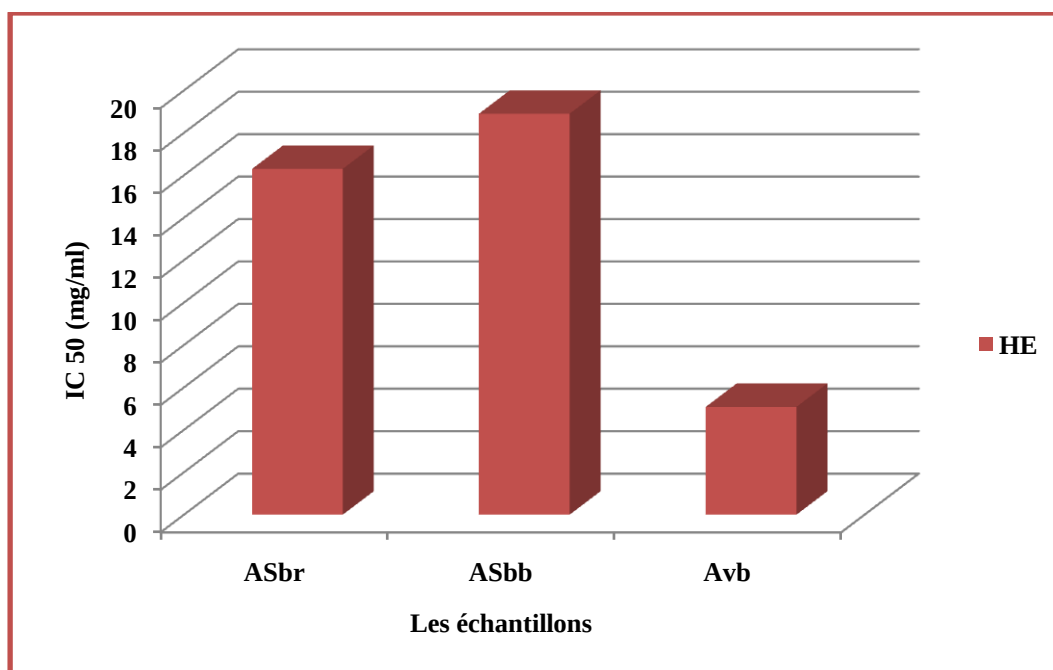


Figure 33 : Comparaison des IC₅₀ des huiles essentielles des trois échantillons

Par ailleurs, des résultats similaires ont été révélés par Mnayer et *al.* (2014) qui ont travaillé sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de six espèces du genre *Allium* par la méthode de DPPH, en indiquant que les valeurs d'IC₅₀ sont de l'ordre de 7,67 mg/ml pour *Allium sativum* et 20,19 mg/ml pour *Allium cepa* qui sont des espèces cultivées, par contre pour l'espèce sauvage *Allium schoenoprasum*, l'IC₅₀ est de 4,59 mg/ml.

Quant aux travaux de Chekki et *al.* (2014) et celle de Lawrence et *al.* (2011), ils signalent que le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de l'ail de la Tunisie et de l'Inde, permet une inhibition d'IC₅₀ de 0,3 mg/ml et 0,5 mg/ml, et qui est considérée comme une activité plus intéressante que celle de nos échantillons.

VI.3.1.1.b) Résultats des différents extraits phénoliques

Les résultats obtenus de l'inhibition IC₅₀ des différents extraits du méthanol, d'éthanol et de l'aqueux sont très voisines pour les trois échantillons ; en revanche, la différence est observée que dans les résultats de l'extrait méthanolique d'ASbr qui représente une activité plus ou moins remarquable par rapport aux autres extraits (Tableau 11).

De la même manière que pour les huiles essentielles, les résultats de l'activité anti radicalaire des extraits phénoliques est relativement faible par rapport à celui du standard de l'acide ascorbique.

Tableau 11 : Valeurs des IC50 des différents extraits des ASbr, ASbb et AVb

Les échantillons	AcAs	ASbr			ASbb			AVb		
		Extr Aqux	Extr Meth	Extr Eth	Extr Aqux	Extr Meth	Extr Eth	Extr Aqux	Extr Meth	Extr Eth
IC50 mg/ml	0,13	36,51	8,36	21,42	19,7	38,87	38,55	47,87	21,57	21

Ce pendant, Kallel, et *al.* (2014) ont montré que l'extrait méthanolique de *l'Allium sativum* a un pouvoir antiradicalaire important avec une IC50 de 0,64 mg/ml suivie par l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux avec une valeur d'IC50 de 1,26 mg/ml, chacun.

VI.3.1.2. Blanchissement du β -carotène des huiles essentielles et des différents extraits phénoliques

Le potentiel antioxydant des huiles essentielles et des extraits phénoliques est évalué par la détermination de la capacité d'inhibition de l'oxydation du β -carotène. Les figures ci-contre montrent l'oxydation (blanchissement) de la β -carotène dans un temps de 120min, la diminution de l'absorbance est due à l'oxydation de la β -carotène et l'acide linoléique (Figure 34, 35, 36 et 37).

L'ajout de substance antioxydante, joue un rôle protecteur et empêche ou ralentit cette oxydation. Cet effet protecteur est mesuré par le taux d'inhibition du blanchissement de la β -carotène à la fin de la durée d'incubation. L'acide ascorbique est l'un des antioxydants les plus connue qui est utilisé comme standard.

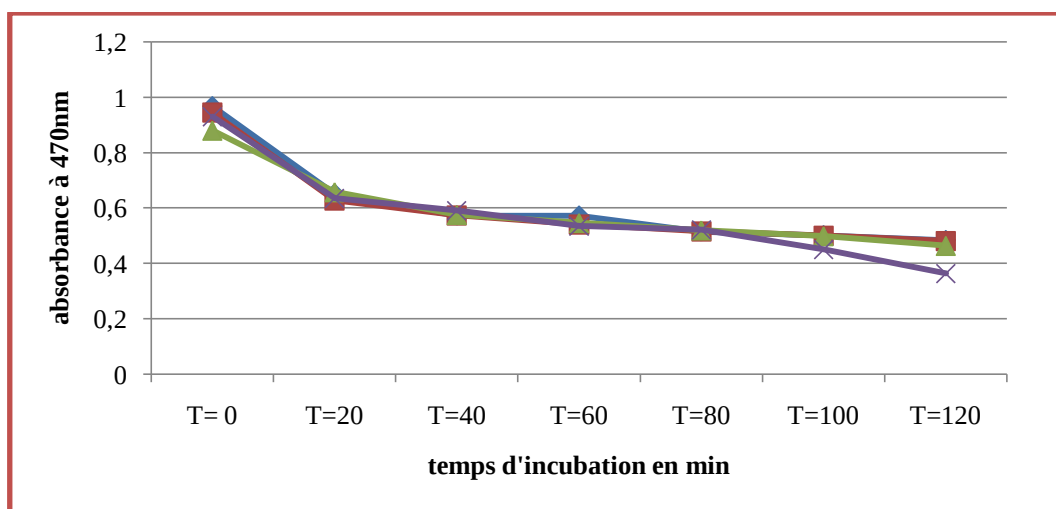


Figure 34 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur les huiles essentielles.

Cont : le contrôle, **Ac As :** acide ascorbique

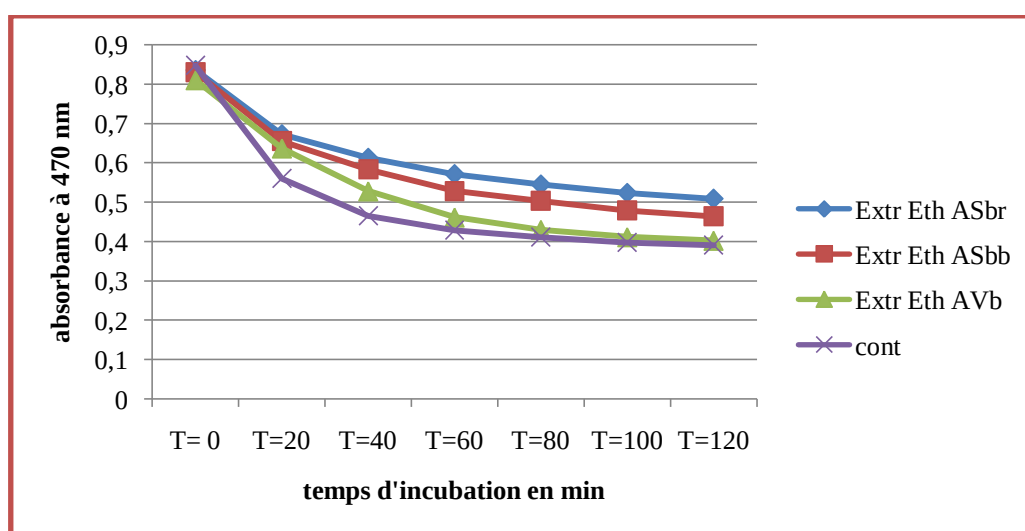


Figure 35 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur l'extrait éthanolique.

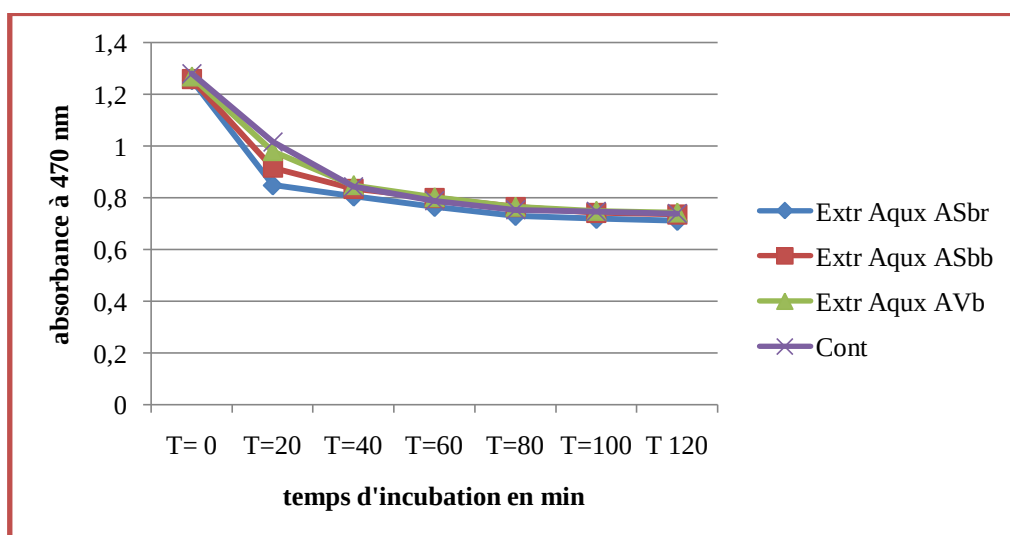


Figure 36 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur l'extrait aqueux.

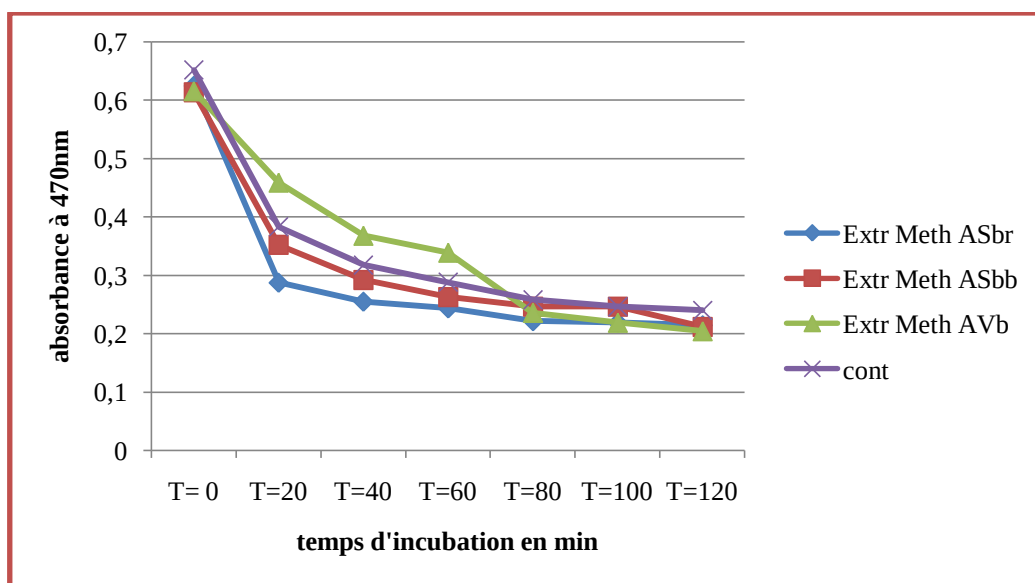


Figure 37 : Cinétique de l'oxydation de la β - carotène sur l'extrait méthanolique

Cont : le contrôle, **Ac As :** acide ascorbique

VI.3.1.2.a) Résultats des huiles essentielles :

Les résultats des huiles essentielles illustrés dans les figures indiquent qu'entre les trois échantillons, la meilleure activité est celle de l'espèce sauvage AVb, avec un pourcentage de 26,54%, suivie par l'huile essentielle d'ASbb et d'ASbr avec des taux de 18,25% et 14,64 % ; respectivement. (Figure 38).

Tandis que l'acide ascorbique, il a révélé une activité de l'ordre de 23,37%.

Ce pendant, l'activité de l'huile essentielle d'AVb est meilleure que celle de l'acide ascorbique et protège encore plus efficacement la β - carotène contre l'oxydation.

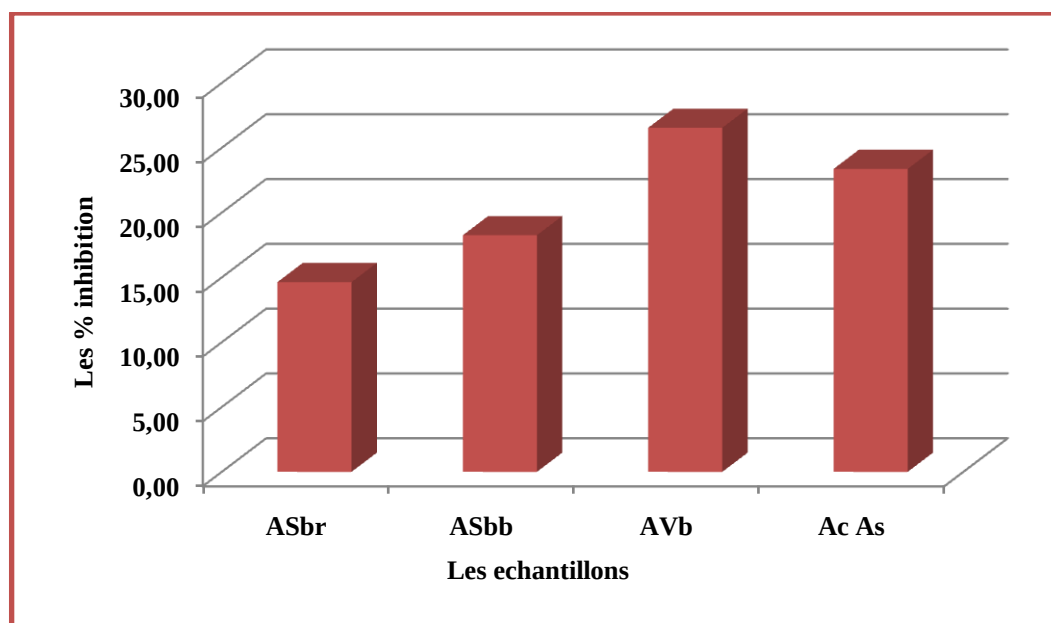


Figure 38 : Pourcentage d'inhibition du blanchissement du la β -carotène par les huiles essentielles des trois échantillons

Nos résultats sont plus ou moins similaires à d'autre travaux, en particulier ceux de Lawrence et *al.* (2011) qui montrent que le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle d'*Allium sativum* est de 25% en comparaison avec le standard BHT qui donne un pourcentage de 45%.

VI.3.1.2.b) Résultats des extraits phénoliques

Les résultats obtenus relatifs à l'activité antioxydante selon la méthode de blanchissement de la β -carotène des différents extraits phénoliques des trois échantillons, sont représentés dans la figure ci-contre (Figure 39), avec une activité réductrice remarquable de l'extrait éthanolique par rapport aux autres extraits phénoliques

Ainsi, l'extrait éthanolique des trois échantillons a révèle des pourcentages d'inhibition importants, même plus important que le standard, et qui est de l'ordre de 28,34 % pour l'ASbr, 19,69 % pour l'ASbb et 10,72 % pour l'AVb. Le taux d'inhibition du standard d'acide ascorbique est de (23,37%).

Concernant les résultats du test de blanchissement de la β -carotène des extraits méthanolique et aqueux des trois échantillons, on peut dire qu'ils possèdent un pouvoir antioxydant très faible comme le montre la figure ci-contre.

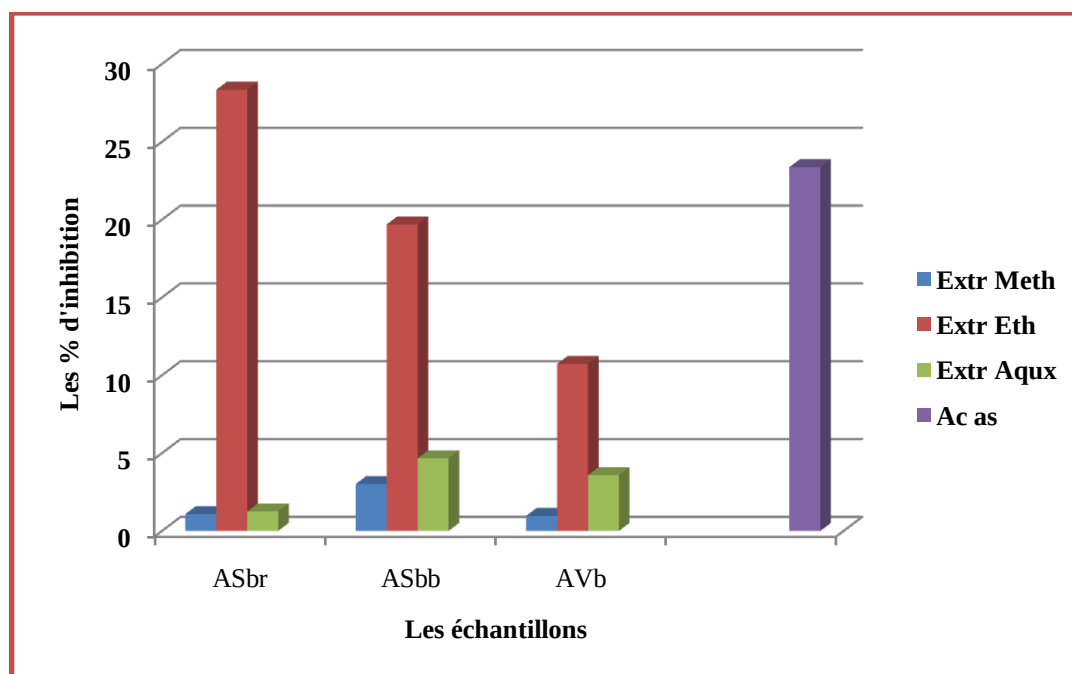


Figure 39 : Pourcentage d'inhibition du blanchissement du la β -carotène par les extraits bruts des trois échantillons

Des multiples recherches sont intéressées par l'extraction et le test de l'activité antioxydant des composés active, plusieurs méthodes sont utilisées pour juger cette activité, telle que le piégeage des radicaux libres DPPH, la méthode de FRAP et celle de TEAC.

Ces méthodes sont les plus utilisées à cause de leur simplicité et leur rapidité, alors que, la méthode du blanchissement de la β - carotène est peut utilisable surtout pour les extraits alcooliques ou les extraits aqueux (Rezaire, 2012).

VI.3.2. Résultats de l'activité antibactérienne

La technique de Vincent (milieu solide), est la méthode la plus simple et la plus utilisable. L'aromatogramme représente, cependant, un point de repère essentiel puisque sa technique est identique à celle utilisée pour mesurer l'activité bactéricide des antibiotiques (Bachir Raho, 2011). Les résultats sont présentés par le diamètre des zones d'inhibition apparaissent autour des disques mesurés en millimètre.

VI.3.2.1. Sensibilité des souches aux antibiotiques :

La connaissance de la sensibilité des bactéries pathogènes est un élément essentiel pour une thérapeutique adaptée et une utilisation rationnelle des antibiotiques. La sensibilité des souches étudiées vis-à-vis des antibiotiques testés est décrite dans le tableau 12.

Tableau 12 : Sensibilité et résistance des bactéries testées aux différents antibiotiques.

Les antibiotiques	Les bactéries testent et les diamètres d'inhibition en mm		
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
C 30µg	25	8	25
GN 10µg	20	18	18
P 10µg	10	6	9
SXT 23,75µg	22	/	22

Pour les trois souches, la comparaison de la sensibilité, traduite par les diamètres des zones d'inhibition obtenus, selon la méthode de diffusion, montre l'absence de résistance pour la plupart des antibiotiques; les trois souches ont exprimé une sensibilité variable vis-à-vis les quarts antibiotiques.

E.coli et *P. aeruginosa* ont révélé une sensibilité aux quatre antibiotiques testés, par contre *S. aureus* est résistante aux SXT, néanmoins, elle est sensible aux autres.

VI.3.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois échantillons sur les trois souches bactériennes *E.coli* et *P. aeruginosa* et que *S. aureus*, montrent de larges écarts dans les valeurs des zones d'inhibition, allant de 6 à 15 mm pour l'ASbr, de 7 à 13 mm pour l'ASbb et de 7 à 20 mm pour l'AVb.

Nos résultats sont portés dans le tableau 13, en montrant clairement l'activité antibactérienne de nos huiles essentielles avec ses trois dilutions qui sont réparties en quatre concentrations. L'huile de l'AVb apparaît active sur les trois souches bactériennes, le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 7 et 20 mm. L'activité la plus importante est obtenue à partir des concentrations de 100 mg/ml, 50 mg/ml et 25 mg/ml, alors que la plus faible est obtenue avec la concentration de 12,5 mg/ml de l'huile essentielle d'AVb.

L'huile essentielle de l'ASbr a montré, elle aussi, une activité antibactérienne intéressante sur *E.coli* et *S. aureus* avec des diamètres qui varie entre 6 et 15 mm et qui sont obtenue avec les concentrations de 100 mg/ml, 50 mg/ml et 25 mg/ml, par contre *P. aeruginosa* a exprimé une résistance vis-à-vis l'huile essentielle de l'ASbr.

Par ailleurs, l'huile essentielle d'ASbb a marqué une activité antibactérienne importante (entre 7 et 13 mm) sur les trois souches mais avec les trois premières concentrations : 100 mg/ml, 50 mg/ml et 25 mg/ml.

De ce fait, il est à noter que l'huile essentielle d'AVb présente des activités antibactériennes intéressantes et son effet est supérieur à celui des antibiotiques testés tels que (P), (GN) et (SxT).

En revanche, beaucoup de travaux de recherche ont montré que l'huile essentielle d'*Allium sativum* a un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Tels que ceux de Benmeddour et al. (2015) et Mnayer et al. (2014) qui ont révélé une activité des huiles essentielles aussi importante que la nôtre, avec les résultats suivants : *E. coli* (10mm), *S. aureus* (15mm), *P. aeruginosa* (13 mm) et *E. coli* (9,3 mm), *S. aureus* (20mm) respectivement.

Contrairement aux travaux de Johnson et al. (2013) qui ne sont pas du tout similaires aux nôtres et qui déclarent que l'huile essentielle d'*Allium sativum* a un effet antibactérien sur *P. aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 30mm et que *E.coli* et *S.aureus* présente une résistance remarquable.

Il est également à noter qu'aucune étude n'a été faite sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Allium vineale* sauf celle de Durmaz et al. (2006) qui ont travaillé sur l'activité antibactérienne des différents extraits de la partie aérienne de l'*Allium vineale*.

Ainsi, les résultats obtenus par les travaux de Benmeddour et al. (2015), montrent que *S.aureus* et *P.aeruginosa* sont sensibles aux huiles essentielles des deux espèces du même genre d'*Allium* : *Allium cepa* avec un diamètre de zone d'inhibition de (12mm) et (11mm) et *Allium fistulosum* (13mm) et (14mm) respectivement. Ils ont enregistré, en revanche, seulement une activité de (7mm) et (8mm) pour *E. coli*. Par contre les travaux de Chun lin Ye et al. (2013) sur l'*Allium cepa* montrent que *E. coli* est très sensible à l'huile essentielle avec un diamètre considérable de (13mm).

Singh et Shukla (1984) ont déclaré que l'ail est actif contre les souches des bactéries qui sont très résistantes aux antibiotiques, et qu'il soigne toutes sortes de maladies : tuberculose, infections bronchiques, rhumes, gripes et qu'on l'utilisait également pour panser les blessures durant la première guerre mondiale.

Tableau 13 : Diamètres des zones inhibitrices (mm) des huiles essentielles des deux espèces du genre *Allium* : ASbr, ASbb et AVb relatives aux souches testées

Bactéries	Les concentrations des huiles essentielles											
	ASbr				ASbb				AVb			
	100mg/m l	50mg/m l	25mg/m l	12.5mg/m l	100mg/m l	50mg/m l	25mg/m l	12.5mg/m l	100mg/m l	50mg/m l	25mg/m l	12.5mg/m l
<i>E.coli</i>	15 ±0.6	12±0.6	8±0.6	6	13±0.6	11±0.6	10±1.5	7±0.6	20±0.6	17±1.5	12±1.5	9±1
<i>S. aureus</i>	11±0.6	12±0.6	11±0.6	9±0.6	11±0.6	9±1	9	7±0.6	20±0.6	17±1.2	11±1	9±0.6
<i>P.aeruginosa</i>	6	/	/	/	11±0.6	9±1.5	7±0.6	/	20±0.6	18±1	15±0.6	7±1

Tableau 14 : Diamètres des zones inhibitrices (mm) des différents extraits des deux espèces du genre *Allium* : ASbr, ASbb et AVb relatives aux souches testées

Les extraits	Bactéries	Les concentrations des extraits								
		ASbr			ASbb			AVb		
Extr Meth		100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	25mg/ml
	<i>E.coli</i>	9±0,58	7	6	12±0,58	11±0,58	8±1,15	12±0,58	9±1	6
	<i>S. aureus</i>	6	/	/	6	6	/	10± 0,58	8±1	6
	<i>P. aeruginosa</i>	17±0,58	15	10±0,58	10±1	8±1,15	/	12±0,58	10±1,5	6
Extr Eth	<i>E.coli</i>	9±0,58	7±1	/	12±0,58	9±0,58	6±0,58	12±0,58	8±0,58	6±0,58
	<i>S. aureus</i>	/	/	/	/	/	/	9±0,58	7±0,58	/
	<i>P. aeruginosa</i>	13±0,58	11±0,58	9±0,58	9±0,58	6±0,58	/	12±0,58	9±0,58	7±1,15
Extr Aqux	<i>E.coli</i>	16 ±0,58	10 ±1	7±0,58	13±0,58	10±0,58	8±1,15	9±0,58	6	/
	<i>S. aureus</i>	12±0,58	11±1	9±0,58	12±0,58	9±0,58	7±0,58	13±0,58	10±0,58	9±0,58
	<i>P. aeruginosa</i>	10±0,58	9±0,58	7±1	10±0,58	8±0,58	7	10±0,58	9	7±0,58

VI.3.2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits :

L'activité antibactérienne des différents extraits phénoliques des trois échantillons a été évaluée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de croissance sur les souches bactériennes testées.

En testant les extraits des trois échantillons, on a constaté que pour les trois extraits il y a eu un effet inhibiteur apparent avec une variation considérable (Tableau14).

Par ailleurs, plus la concentration de l'extrait augmente plus le diamètre de la zone d'inhibition augmente, en comparant entre l'activité inhibitrice des trois extraits sur les trois souches testées, on peut dire que l'extrait aqueux des trois échantillons a montré une activité remarquable sur les trois souches bactériennes, avec des diamètres variable entre 6 et 16 mm.

Par contre, l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique des trois échantillons, ont révélé une activité intéressante sur *E.coli* et *P. aeruginosa* et que *S. aureus* a montré une résistance vis-à-vis ces deux extraits.

Pour *E.coli*, on a constaté que l'extrait aqueux d'ASbr et d'ASbb a attribué le plus grand pouvoir inhibiteur, avec un diamètre de zone d'inhibition de 16 mm à 100 mg/ml et 13 mm à 100 mg/ml, respectivement, suivie par l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique d'AVb et d'ASbb, où la plus haute zone d'inhibition était de 12 mm à 100 mg/ml, pour les deux extraits d'AVb et d'ASbb.

Concernant la deuxième souche testée *P. aeruginosa*, on distingue une très haute inhibition par l'extrait méthanolique d'ASbr avec un diamètre de 17 mm à 100 mg/ml suivie par l'extrait éthanolique du même échantillon avec un diamètre de 13 mm à 100 mg/ml, à moindre degré d'inhibition, pour l'extrait méthanolique et éthanolique d'AVb, avec un diamètre de 12 mm à 100 mg/ml seulement pour les deux extraits.

Par contre, l'extrait aqueux des trois échantillons a montré une faible inhibition de croissance de *P. aeruginosa* avec un diamètre qui varie entre 7 et 10 mm.

Pour la troisième souche testée *S. aureus*, elle a marqué une sensibilité vis-à-vis les extraits aqueux des trois échantillons, en présentant une zone d'inhibition de 13 mm à 100 mg/ml marquée par l'extrait aqueux d'AVb, suivie par l'extrait aqueux d'ASbr et d'ASbb avec un diamètre d'inhibition de 12 mm à 100 mg/ml.

Toute fois, la même souche testée, *S. aureus* a révélé une résistance considérable vis-à-vis les deux extraits méthanolique et éthanolique des trois échantillons étudiés.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Meriga et *al.* (2011) qui ont signalé que parmi les souches microbiennes testées (*Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *E.coli* et *Klebsiella pneumonia*) vis-à-vis trois extraits d'*Allium sativum* (méthanolique, éthanolique et aqueux).

S. aureus est inhibée par l'extrait aqueux avec un diamètre de zone d'inhibition de 14 mm à 100 mg/ml, par contre cette dernière a révélé une résistance vis-à-vis l'extrait méthanolique. Quant à *E.coli*, elle a montré une sensibilité aux deux extraits aqueux et méthanolique avec des diamètres de 16 mm à 100 mg/ml et 13mm à 100 mg/ml, respectivement.

Ce pendant, Kallel et *al.* (2014) qui, eux aussi, ont testé, avec les trois souches étudiées, l'activité antibactériennes, de trois extraits d'*Allium sativum*, où l'extrait méthanolique a inhibé la croissance du *S. aureus* et *E.coli*, avec un diamètre de 10 mm chacune, mais à des concentrations plus élevées (500mg/ml).

Par contre et contrairement à nos résultats, les trois souches *S. aureus*, *E.coli* et *P. aeruginosa* ont révélé une résistance vis-à-vis les extraits éthanolique et aqueux, ce qui signifie que les extraits phénoliques de nos espèces présentent une inhibition plus efficace que ceux de Kallel et *al.*

Conclusion

L'étude que nous avons entreprise s'inscrit dans la perspective de la valorisation des plantes condimentaires cultivées et spontanées de l'Ouest Algérien. Les plantes condimentaires sont les plus utilisées dans le monde, pour aromatiser les plats et pour des fins thérapeutiques.

Ces espèces contiennent une gamme extraordinaire de molécules bioactives non seulement comme étant, des agents chimiques contre les maladies, les attaques des herbivores et les prédateurs en général, mais aussi, comme des agents médicaux actifs, tels que les antimicrobiens et les antioxydants.

Dans le même contexte, et dans la première partie de ce document, nous avons mis en relief les potentialités thérapeutiques des deux espèces du genre *Allium* ; *Allium sativum* et *Allium vineale* ; qui font partie intégrante du régime alimentaire et thérapeutique traditionnel de la population locale, à travers la caractérisation du profil chimique de ses huiles essentielles, la quantification de leur composés phénoliques, et la détermination du pouvoir antioxydant et antibactérien de ces deux substances naturelles (les huiles essentielles et les composés phénoliques).

D'autre part, l'utilisation de l'ail en abondance, depuis l'antiquité, en médecine traditionnelle, dont les vertus thérapeutiques sont reconnues, nous a incités, à aborder une enquête ethnobotanique. D'ailleurs, le critère du choix de ces deux espèces l'ail cultivée et spontanée est basé essentiellement sur le fait qu'elles sont largement utilisées par la population algérienne et aussi, dans le monde entier. L'enquête effectuée, a révélé une multitude résultats sur l'utilisation de ces deux espèces et sur les maladies traitées.

Elles montrent que 60% des femmes de la population questionnées, en utilisent quotidiennement, et avec ses deux variétés; par contre les hommes représentent un pourcentage de 40%.

La population enquêtée qui représente les 100%, utilise l'ail comme condiment, et aussi dans le traitement de diverses maladies, notamment, les maladies infectieuses, les maladies dermiques, les maladies digestives ; utilisées aussi comme traitement préventif du cancer, comme antihypertenseur, anticholestérol et antihyperglycémie et cela avec des pourcentages remarquables.

L'enquête ethnobotanique a révélé que 17% de la population utilisent l'ail sauvage comme condiment. De ce fait, il est important de noter que cette étude ethnobotanique sur l'ail sauvage et l'ail cultivée, nous a permis de fournir, pour la première fois, une source d'information sur l'utilisation thérapeutique de ces deux espèces dans notre région.

En parallèle, en seconde partie, l'étude phytochimique nous a permis de déterminer au niveau des bulbes des deux espèces étudiée ;

Le rendement en huile essentielle extrait par la méthode d'hydrodistillation, révèlent que ASbr représente le rendement le plus élevé 0,28%, suivi par AVb avec un pourcentage de 0,20%, puis ASbb avec une valeur de 0,16%.

La caractérisation par la CG/MS a permis d'identifier les principaux constituants chimiques des huiles essentielles des trois échantillons étudiés. Cependant, les profils chimiques des essences des trois échantillons ASbr, ASbb et AVb montrent la dominance des composés soufrés avec sept molécules communes majoritaires : Diallyl disulfide, Trisulfide, Methyl 2-propenyl, 1,2- Dithiolane, Vinyl- (4H)- 1,2- dithiin, 2-vinyl-(4H)- 1,3-dithiin, Allyl trisulfide, Tetrasulfide, di-2-propenyl avec des pourcentages variables et d'autres composés de faible pourcentage, notamment, 5-methyl-1,2,3,4-tetrathia cyclohexane, Cyclopentasiloxane, Decamethyl, Cyclohexasiloxane, Dodecamethyl, Dimethyltetrasulfide ou 1,4- dimethyltetrasulfide et Silicate anion tetramer.

D'autre part, la quantification des composés phénoliques des différents extraits bruts des trois échantillons, a été effectuée par les méthodes spectrophotométriques ; le dosage des phénols totaux, par le réactif du Folin- Ciocalteu, a signalé que le taux le plus élevé de ces composés est obtenu dans l'extrait éthanolique de l'AVb (69,92 mg AGE/g), suivi par celui de l'ASbr et l'ASbb avec des valeurs plus ou moins remarquables.

La même méthode d'analyse est utilisée pour déterminer la teneur des flavonoïdes, selon le test de trichlorure d'aluminium, en enregistrant la valeur la plus importante (62,11 mg EC/g), dans l'extrait éthanolique d'ASbr ; la teneur la plus faible (1,05 mg EC/g), a été relevée dans l'extrait éthanolique de l'ASbb.

Les tannins ont aussi été quantifiés par le test de la catéchine. Ainsi, les différents extraits des trois échantillons ont révélé des teneurs en tannins allant de 0,69 mg EC/g à 5,69 mg EC/g, avec la dominance de l'espèce AVb (5,69 mg EC/g).

En terme de quantification des composés bioactifs, nous déduisons que l'espèce *Allium vineale* et l'espèce cultivée *Allium sativum* (variété bulbe rouge) renferment les teneurs les plus importantes des composés phénoliques et des huiles essentielles.

La troisième partie, est consacrée à la valorisation proprement dite, des composés bioactifs, en évaluant le pouvoir antibactérien et le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des différents extraits phénoliques, des trois échantillons (ASbr, ASbb et AVb).

Ainsi, le potentiel antioxydant des huiles essentielles et des différents extraits méthanolique, aqueux et éthanolique, sont évaluées par deux procédés: piégeage directe des

radicaux libres par la méthode du radical libre DPPH et le pouvoir protecteur de la β -carotène.

Les résultats *in vitro* ont révélé des activités antioxydantes variables pour l'ensemble des extraits bruts, où le fort pouvoir de piégeage du DPPH est exercé par l'extrait méthanolique d'ASbr IC 50 : 8,36 mg/ml ; par contre les résultats des deux autres extraits, aqueux et éthanoliques des trois échantillons étudiés, possèdent une activité antiradicalaire très faible et donc des IC50 plus élevés que l'IC50 du standard.

Par ailleurs, avec la même méthode DPPH, les huiles essentielles ont manifesté un pouvoir antioxydant élevé dont l'huile essentielle d'AVb (IC50: 5,03 mg/ml), suivi par celles de d'ASbr et d'ASbb avec des valeurs moins importantes (IC50 : 16,3 mg/ml ; IC50 : 18,9 mg/ml), respectivement.

Concernant le blanchiment de la β -carotène, l'extrait éthanolique d'ASbr a exercé un rôle protecteur (28,34%), plus élevé que celui de l'antioxydant de synthèse et qui est dans notre cas l'acide ascorbique (23,37%), suivi par celui d'ASbb, avec un pourcentage de 19,69%.

Pour les résultats du test de blanchissement de la β -carotène, des extraits méthanolique et aqueux des trois échantillons, on peut dire que ces deux extraits disposent d'un pouvoir antioxydant très faible.

Les capacités antioxydantes des huiles essentielles testées par la méthode de la β -carotène, ont aussi un très bon pouvoir réducteur qui est plus élevé que celui du standard, en particulier l'huile essentielle de l'AVb avec un taux de 26,54%. L'effet inhibiteur des huiles essentielles de l'ASbb et de l'ASbr est toute fois, inférieur à celui du standard avec des taux de 18,25% et 14,64%, respectivement.

La valorisation du pouvoir antibactérien des huiles essentielles et des extraits phénoliques bruts des trois échantillons ASbr, ASbb et AVb, vis-à-vis trois les souches bactériennes : *E.coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*, montre que l'extrait aqueux des trois échantillons a dévoilé une activité remarquable sur les trois souches bactériens avec des diamètres variable entre 6 et 16 mm.

Par contre l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique, ont révélé une activité intéressante sur *E.coli* et *P. aeruginosa* et que *S. aureus* a montré une résistance vis-à-vis ces deux extraits.

D'autre part, l'activité antibactérienne des huiles essentielles des trois échantillons, montre que les huiles essentielles de l'AVb apparaissent actives sur les trois souches bactériennes, suivi par l'huile essentielle d'ASbb qui a marqué une activité antibactérienne plus ou moins importante sur les trois souches.

Par contre, l'huile essentielle de l'ASbr a montré une activité antibactérienne intéressante sur *E.coli* et *S. aureus* et pour *P. aeruginosa*, elle a exprimé une résistance vis-à-vis cette huile.

A la fin, et en terme de valorisation on peut dire que pour les deux méthodes d'activité antioxydante (piégeage de DPPH et blanchissement de β -carotène), l'espèce sauvage *Allium vineale* présente le meilleur potentiel antioxydant par rapport aux deux variétés de l'espèce cultivée *Allium sativum*.

En revanche, même si l'activité antiradicalaire des HE et des extraits phénoliques évalués par le teste de DPPH révèle des résultats acceptables, la méthode de blanchissement de la β -carotène reste la technique la plus adéquate pour assurer la meilleur protection contre l'oxydation.

Quant à l'activité antibactérienne, l'*Allium vineale*, assure encore une fois, l'activité la plus importante, que ce soit pour ses HE ou pour ses extraits phénolique (notamment l'extrait aqueux), par rapport aux deux variétés de l'espèce cultivée.

En perspective, et toujours dans le cadre de la valorisation, on compte caractériser les composés naturels que renferment d'autres organes, de ces deux espèces *Allium vineale* et *Allium sativum*, notamment leurs feuilles. Ceux-ci pourrait, peut être, mettre en évidence d'autres composés bioactifs qui possèdent un intérêt pharmaceutiques ou cosmétique, sachant que notre étude peut être considérée comme une première source d'information sur les propriétés chimiques, l'activité antioxydante et antibactérienne des composés naturelles de ces espèces du genre *Allium* de l'Ouest Algérien.

On recommande aussi, de réaliser d'autres activités biologiques *in vivo* telles que : l'activité antifongique, antiviral, antibactérienne sur d'autres souches, et comme hypertenseur. Nous recommandons aussi, la caractérisation, par des techniques plus poussées, les substances actives responsables de ces pouvoirs, en particulier, les flavonoïdes et les phénols simples.

A la fin, nous pensons qu'il serait intéressant de mener d'autres études de valorisation, et de caractérisation sur d'autres plantes condimentaires cultivées et spontanées, dans le domaine médicinale, pharmaceutique et industrielle.

Références bibliographiques

1. Abayomi, S., (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition Kartala 2010. P.384.
2. Abdul, W., Mehreen, G., Syed Babar, J., Muhammad Naeem, M., Khan, A. et Rukhsana, G A., (2013). Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in local area of Mardan. *Biochemisry Analytical Biochemistry*, 2, série 4, pp 1-4.
3. Adams, R., (2001). Identification of Essential Oils components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. Edition Carol Stream, USA. P.454.
4. Adida, H., Benariba, N., Bechiri, A., Chekroun, E. et Djaziri, R. (2015). Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius* . *Phytothérapie* 2015 12 : pp 1–6.
5. Adjou, E.S., Kouton, S. et Dahouenon-Ahoussi, E., (2013). Effect of essential oil from fresh leaves of *Ocimum gratissimum* L. on mycoflora during storage of peanuts in Benin. *Mycotoxin Research* 29:29–38.
6. AFNOR., (2008). Huiles essentielles, échantillonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2).
7. Ali, M., (1995). Mechanism by which garlic (*Allium sativum*) inhibits cyclooxygenase activity, Effect of raw versus boiled garlic extract on the synthesis of prostanoids. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 53(6): 397-400.
8. Ali, M., Al-Qattana, K.K. et Al-Enezia, F., (2000). Effect of Allicin from garlic powder on serum lipids and blood pressure in rats fed with a high cholesterol diet. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 62(4): 253-9.
9. Ali, M., Bordia, T. et Mustafa, T., (1999). Effect of raw versus boiled aqueous extract of garlic and onion on platelet aggregation. *Prostagland Leukot Essen Fatty Acids* 60(1): 43-7
10. Andrade Fabio, D.P., Santos Lourdes, C., Datchler, M., Albert, K. et Vilegas, W., (2002). Use of on-line liquid chromatography–nuclear magnetic resonance spectroscopy for the rapid investigation of flavonoids from *Sorocea bomplandii*. *J. Chromatogr. A*, 953 : 287-291.
11. Anonymous, S., (1975). Crow garlic (*Allium vineale* L.). *Tasman. J. Agric.* 46: 165–169.
12. Arpino, P., Prévôt, A., Serpinet, J., Tranchant, J., Vergnol, A. et Wittier, P., (1995). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Masson, Paris. P.700.

13. Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S. et Khebri, S., (2010). Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L., Lebanese. Science Journal, Vol. 11, No. 1, 2010.
14. Auger, J., Boscher, J., Lages, B., Postaire, E. et Viel, C., (1992). Différences et similitudes des composés secondaires chez deux espèces d'*Allium*: *Allium vineale* L. et *Allium ursinum* L. BuU. Soc. bot. Fr., 139, Lettres bot. (1), 61-66, (1992).
15. Bachir Raho, G., (2011). Etude de l'effet des huiles essentielles extraites de cinq plantes médicinales de l'Ouest Algérien contre *Echerichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Thèse du doctorat. Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbes.
16. Balamaniandan, T., Balaji, S. et Pandiarajan, J., (2015). Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by Using Onion (*Allium cepa*) Extract and Their Antibacterial and Antifungal Activity. World Applied Sciences Journal 33: 939–43.
17. Basli, A., Chibane, M., Madani, K. et Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie *Origanum glandulosum* Desf. Phytothérapie 2012 10:2-9.
18. Baudoux, D., (2008). L'aromathérapie. Edition Amyris, Bruxelles, 2008. 253 Pages.
19. Benkeblia, N., (2004). Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). Lebensm. -Wiss. u.-Technol. 37: 263-8.
20. Benkeblial, N. et Shiomil, N., (2006). Fructooligo saccharides of Edible Alliums: Occurrence, Chemistry and Health Benefits. Current Nutrition & Food Science 2: 181–9.
21. Benmeddour, T., Laouer, H., Benabdi, A.A. et al., (2015), Evaluation of antibacterial and antifungal activity of extracts from three species of the genus *Allium*: *Allium cepa*, *Allium fistulosum* and *Allium sativum* grown in agricultural area of doussen (wilaya of biskra). Courrier du Savoir 19: 09-14.
22. Bennabi, F., Hamel, L., Bachir Bouiadjra, S.E. et Ghomari, S., (2012). Ressources hydriques sous tension et enjeux de développement durable dans la wilaya de Sidi Bel Abbes (Algérie occidentale). Méditerranée 118 (2012) Dynamique et gestion des cours d'eau méditerranéens et de leurs marges. p. 105-111.
23. Bianchini, F. et Vainio, H., (2001). Allium Vegetables and Organosulfur Compounds: Do They Help Prevent Cancer. Environmental Health Perspectives 109:893–902.
24. Bicchi, C., Liberto, E., Matteodo, M., Sgorbini, B., Mondello, L., d'Acompara Zellner, B., Costa, R. et Rubiolo, P., (2008). Quantitative analysis of essential oils: a complex task. Flavour Fragr. J. 23: 382-391.

25. Birlouez, E., (2016). Ail, oignon et autres Alliées : approche historique et culturelle. *Phytothérapie*. V14, Issue 3, pp 141–148.
26. Botineau, M., (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Lavoisier. P.1403.
27. Bouterfas, K., (2011). Etude de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) autoécologie, histologie, quantification de quelques polyphénols et évaluation du pouvoir antimicrobien des flavonoïdes. Mémoire de Magister. Université de Djilali Liabes Sidi Bel Abbès.
28. Bouvet, M., (1937). Histoire de la pharmacie en France des origines à nos jours. Edition Occitania, Paris. P.447.
29. Bouzid, K., (2014). Contribution à l'étude des options de valorisation de l'espèce *Arbutus unedo* L. dans l'Ouest Algérien. Thèse de doctorat. Université Djilali Liabes Sidi Bel Abbès.
30. Bruneton, J., (1993). Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition Lavoisier, Paris. P.915.
31. Bruneton, J., (2009). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4ème édition Lavoisier 2009. P.1243.
32. Burrows, G.E. et Tyrl, R.J., (2001). Toxic Plants of North America. Ames, IA: Iowa State University Press. P.1342.
33. Cazau-Beyret, N., (2013). Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. Université Toulouse.
34. Chabert, G., (2013). Myrtacées et aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier Grenoble.
35. Chebaibi, A., Marouf, F.Z. et Rhazi-Filali, M., (2015). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie aromathérapie expérimentale* 13:1-8
36. Chekki, R. Z. , Snoussi, A., Hamrouni, I. et Bouzouita, N., (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic (*Allium sativum*) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry* 2014, 3(4), 947-956
37. Chouitah, O., (2011). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat. Université d'Oran.
38. Chun-Lin, Y., De-Hui, D., Wei-Lian, H., (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil from onion (*Allium cepa* L.). *Food Control* 30:48–53

39. Couderc, V.L. (2011). Toxicité des huiles essentielles. Thèse du doctorat vétérinaire. L'université Paut Sabatier de Toulouse.
40. Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S.L., Duke J.A. et Briemann H.L., (2006). Natural Products from Plants. 2eme edition Taylor & Francis Group New York 2006. P.587.
41. De Rijke, E., Out, P., Niessen, W.M., Ariese, F., Gooijer, C., et Brinkman, U.A., (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography, 112, 31 - 63.
42. Delaveau, P., (1982). Histoire et renouveau des plantes médicinales. Paris. A.Michel. P.353.
43. Demirtas, I., Erenler, R. et Elmastas, M., (2013). Studies on the antioxidant potential of flavones of *Allium vineale* isolated from its water-soluble fraction. Food Chemistry 136 (2013) 34–40.
44. Dif, M.M., (2014). Etude écologique, phytochimique et valorisation des plantes médicinales des monts de Tessala (W. de Sidi Bel-Abbés, Algérie NW) : Cas de *Daphne gnidium* L. Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes.
45. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. et Vidal, N., (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry 97, 654–660.
46. Djibo, A.K., (2000). Analyses des huiles essentielles de quelque plantes de la flore du Burkina Faso appartenant aux familles des *Lamiaceae* et des *Poaceae*. Thèse de doctorat. Université d'Ouagadougou.
47. Donatien, K., (2008). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de Bamako.
48. Douiri, L.F., Boughdad, A., Assobhei, O. et *al.*, (2013). Chemical composition and biological activity of *Allium sativum* essential oils against *Callosobruchus maculatus*. J Environmental Science, Toxicology And Food Technology (IOSR-JESTFT) pp 30-36.
49. Durmaz, H., Sagun, E., Tarakci, Z. et Ozgokce, F., (2006). Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodium* and *Prangos ferulacea*. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (19), pp. 1795-1798, 2 October, 2006
50. Edziri, H., Mastouri, M. et Aouni, M., (2012). Polyphenols content, antioxidant and antiviral activities of leaf extracts of *Marrubium deserti* growing in Tunisia. South Afr J Botany 80:104–9.

51. El Haib, A., (2012). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
52. EL Kalamouni, C., (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
53. El-Demerdash, F.M., Yousefa, M.I. et Abou El-Naga, N.I., (2005). Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and garlic in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 43(1): 57-63.
54. Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A. et Mount, J.R., (2001). Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *Journal of Food Protection* 64(7): 1019-24.
55. El-Haci, I.A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M. et Didi, M.A., (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara Algérien. *Phytothérapie*. Springer V 10, Issue 5, pp 280–285.
56. Faraoun, F., (2002). Cartographie des sols de la plaine de Sidi Bel Abbès et évaluation des potentialités édaphiques. Mémoire de magister en écologie Appliquée. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès.
57. Fawcett, C.H. et Spencer, D.M. (1970). Plant chemotherapy with natural products. *Ann. Rev. phytopath.* 8:403-418.
58. FPM 1, (2014). Pharmacognosie Chapitre 8 les tanins. Faculté de pharmacie de Monastir - DCEP 1 2013 – 2014. P.12.
59. FPM 2, (2014). Pharmacognosie Chapitre 5 drogues à anthocyanosides et à coumarine. Faculté de pharmacie de Monastir - DCEP 1 2013 – 2014. P.7.
60. Franchomme, P., Jollois, R. et Pénéol, D., (2001). L'Aromathérapie ; exactement encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Edition Limoges (France), 2001. P.495.
61. François, C., (2013). Le guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Edition 3 Delachaux Niestlé, France. P.415.
62. Gallouin, F. et Arvy, M.P., (2003). Épices, aromates et condiments. Edition Belin France. P.403.
63. Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P.J. et Ayuso, M.J. (2005). Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *J Agric Food Chem.* 2005 Mar 23;53(6):1927-33.

64. Gao, C.M., Takezaki, T. et Ding, J.H., (1999). Protective Effect of Allium Vegetable against Both Esophageal and Stomach Cancer: A Simultaneous Case-referent Study of a High-epidemic Area in Jiangsu Province, China. Jpn. J. Cancer Res 90: 614-21
65. Gardet, C., (2006). Les plantes aromatiques. Edition Jean- paul France. P.125.
66. Gayet, M., (2012). Grand traité des herbes aromatiques. Edition le sureau 2012 France. P.231.
67. Gerhard, K.H. P., Mattson, J., Hardtke, C.S., Sung Z.R. et Berleth, T., (1993). Studies on the role of the *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* in vacular development and plant cell axialization. Journal of physiological plant .vol 11p 165- 170.
68. Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane M. C., Bousselsela, H. et Oueld-Mokhtar S. M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé, 2015, Phytothérapie.
69. Gibbons, S., (2008). Phytochemicals for bacterial resistance strengths, weaknesses and opportunities. Planta Med. 74: 594-602.
70. Goetez, P. et Wuyts, D., (2008). Phytothérapie et nutrithérapie de l'hypertension artérielle. Phytothérapie (2008) 6: 247–252.
71. Goetz, P. et Ghédira, K., (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition France Paris springer. P.394.
72. Goetz,P., Drouard, A., Stoltz, P., Delaporte, S. et Dominique, D., (2009).Le Ginseng, vertus thérapeutiques d'une plante adaptogène. Edition springer verlag France paris 2009. P.144.
73. Grubben, G.J.H., (2004). Légumes. Prota, Pays Bas. P.737.
74. Grundschober, F., (1991). The identification of individual components in flavorings and ed foods. Z. Lebensm Unters Forsch. 192 : 530-534.
75. Guignard, J.L., (1996). Biochimie végétale. Edition France Masson. P.255.
76. Guinoiseau, E., (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat. Université de corse.
77. Guo, N.L., Lu, D.P. et Woods, G.L., (1993). Demonstration of the anti-viral activity of garlic extract against human cytomegalovirus in vitro. J Trad Chin Med 106: 93-6.
78. Gutteridge, J.M., (1993). Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. Free Radic Res Commun, 9:141-158.
79. Haciseferogülları, H., Özcan, M., Demir, F. et al., (2005). Some nutritional and technological properties of garlic (*Allium sativum* L.). Turkey Journal of Food Engineering 68:463–69

80. Halliwell, B., (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 91(3C):14S-22S.
81. Hambaba, L., Boudjellal, K., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C. et Boudiaf K., (2012). Étude in vitro des activités antimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d'*Elaeagnus angustifolia* L. *Phytothérapie* (2012) 10:350-356
82. Harris, J.C., Cottrell, S.L., Plummer, S. et Lloyd, D., (2001). Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl Microbiol Biotechnol* (2001) 57:282–286.
83. Hartmann, T., (2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, Review. *Phytochemistry* 68 2831–2846.
84. Helou, L., Ila, M., (2007). Harris in *Herbal Products: Toxicology and Clinical Pharmacology*, TS Tracy, RL Kingston (ed.) Humana Press Inc., Totowa, NJ Second Edition.
85. Hirschegger, P., Jakse, J., Trontelj, P., et Bohanec, B., (2010). Origins of *Allium ampeloprasum* horticultural groups and a molecular phylogeny of the section *Allium* (*Allium*: *Alliaceae*). *Mol Phylogenet Evol*, 54(2) :488–497.
86. Hisamettin, D., Emrullah, S., Zekai, T. et Fevzi, O., (2006). Antibacterial activities of *Allium vineale*, *Chaerophyllum macropodium* and *Prangos ferulacea*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (19), pp. 1795-1798, 2 October, 2006.
87. Hmamouchi, M., (1997). Plantes alimentaires, aromatiques, condimentaires, médicinales et toxiques au Maroc. *CIHEAM (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 23)* 1997. p. 89 -108
88. Hodek, P., Trefil, P., et Stiborova, M., (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P 450. *Chemico Biological Interactions*, 21.
89. Iserin, P., (2001). *Larousse Encyclopédie des plantes médicinales*, Edition Larousse Paris. P.331.
90. Ítajner, D., Milić, N., Çanadanoviç-Brunet, J., Kapor, A., Ítajner, M. et Popoviç, B.M., (2006). Exploring *Allium* species as a Source of Potential Medicinal Agents. *Phytotherapy research phytother. Res.* 20, 581–584 (2006).
91. Jay Wook, K., Jung, E.H. , Suk, H.K. et Kyu, H.K., (2004). Antimicrobial Activity of Alk(en)yl Sulfides Found in Essential Oils of Garlic and Onion. *Food Sci. Biotechnol.* Vol. 13, No. 2, pp. 235 ~ 239 (2004)
92. Johnson, O.O., Ayoola, G.A., Adenipekun, T.,(2013). Antimicrobial Activity and the Chemical Composition of the Volatile Oil Blendfrom *Allium sativum* (Garlic Clove)

- and *Citrus reticulata* (Tangerine Fruit). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 5: 187–93.
93. Jones, J.D.G., Dangl, J.L., (2006). The plant immune system. *Nature*. 444: 323-329.
94. Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., et Stevens, P., (2002). *Botanique systématique : une perspective phylogénétique*. De Boeck supérieur, 1 Edition. P.467.
95. Julkunen-Titto, R., (1985). Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J Agricult Food Chem* 33: 213–7
96. Kallel, F., Driss, D., Chaari, F., Belghith, L., Bouaziz, F., Ghorbel, R. et Ellouz Chaabouni, S., (2014). Garlic (*Allium sativum* L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Industrial Crops and Products* 62 (2014) 34–41.
97. Kaloustian, J. et Hadji-Minaglou, F., (2012). *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie*. Edition Springer Paris. P.210.
98. Kanoun, K., (2014). Etude de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits végétaux bruts de *Punica granatum* vis-à-vis de certaines souches bactériennes résistantes aux antibiotiques et antifongiques. Thèse de doctorat. Université Djilali Liabés de Sidi Bel Abbès.
99. Kato, T., Lijima, H., Ishihara, K., Kaneto, T., Hirai, K., Naito, Y. et Okuda, K., (1990). Antibacterial effect listerine on oral bacteria. *Bull Tokyo dent coll*, 31:301-307
100. Khadri, S., Bouteffnouchet, N. et Dekhil, M., (2010). Antibacterial activity evaluation of *Allium sativum* essential oil compared to different *Pseudomonas aeruginosa* strains in eastern Algeria. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry* 11:421–8
101. Kumar, M. et Berwal, J.S., (1998). Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). *Journal of Applied Microbiology* 84(2): 213-5.
102. La Torre, G.L., Saitta, M., Vilasi, F., Pellicanò, T. et Dugo, G., (2006). Direct determination of phenolic compounds in Sicilian wines by liquid chromatography with PDA and MS detection, *Food Chem.* 94: 640-650.
103. Lan Burrows, (2010). *La nature comestible*. Edition de la chaix et niestlé France 2010. P.142.
104. Lanzotti, V., (2006). The analysis of onion and garlic. *J Chromatogr A*, 1112(1-2):3–22
105. Laurioux, R., (1985). *Spices in the Medieval Diet: a New Approach*. *Food et Foodways* 1985, vol. 1, p. 43-76.

106. Lawrence, R., Lawrence, K., (2011). Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, pp1-3.
107. Lebham, G., (2005). Thèse au laboratoire d'écophysiologie et biotechnologie des halophytes et des algues au sein de l'institut universitaire Européen de la mer. (VEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
108. Léger, J.F., (2007). Noms vernaculaires des taxons de la BDTFX. par - 2007.
109. Letief- Delcourt, A., (2012). L'ail malin. Edition Leduc 2012. P.160.
110. Lewis, K., (2001). In search of natural substrates and inhibitors of MDR pumps. J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 3: 247-254.
111. Li, J., et Jiang, Y., (2007). Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. Molecules, 12, 745-758.
112. Liu, C.T., Lee-Yan Sheen, L.Y. et Chong-Kuei, L., (2007). Does garlic have a role as antidiabetic agent? Molecular Nutrition & Food Research 51(11): 1353-6.
113. Liu, L. et Yu-Yan, Y., (2000) Inhibition of cholesterol biosynthesis by organo sulfur compounds derived from garlic. Lipids 35(2): 197-203.
114. Liu, L. et Yu-Yan, Y., (2002). Alk(en)yl Cysteines of Garlic Inhibit Cholesterol Synthesis by Deactivating HMG-CoA Reductase in Cultured Rat Hepatocytes. J Nutr 132: 1129-34.
115. Liu, X.C., Liu, Q., Zhou, L. et Liu, Z.L. (2014) Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Allium macrostemon* Bunge and its selected major constituent compounds against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Parasites & Vectors 2014, 7:184.
116. Liu, Z.F., Fang, F. et Dong, Y.S., (2004). Experimental study on the prevention and treatment of murine cytomegalovirus hepatitis by using allitridine. Antiv Res 61: 125-8.
117. Loufoua, B.A.E., Bassoueka, D.J., Nsonde Ntandou, G.F., Nzonzi, J., Etou-Ossibi, A.W., Ouamba, J.M. et Abena, A.A., (2015). Étude ethnobotanique, pharmacologique et phytochimique de quelques plantes médicinales congolaises à potentialité antitussive. Phytothérapie Décembre 2015, Volume 13, Issue 6, pp 377–383.
118. Lugasi, A., Hovari, J., Sasi, K.V. et Biro, L., (2003). The role of antioxidant phytonutriments in the prevention of diseases. Act Biologica szegedensis 1-4;119-125.
119. Macheix, J.J., Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Lausame Italie. P.185.
120. Marroki Bousmaha, L., (2007). Contribution a la valorisation d'espèces végétales aromatiques des genres *Lavandula* et *Thymus* d'Algérie : analyse des huiles essentielles

-
- par CPG, CPG-SM et RMN 13C et étude de leur pouvoir antimicrobien sur des germes d'origine Hospitalière. Thèse de Doctorat. Université Djilali Liabes de Sidi Bel Abbes.
- 121.Martin, S., et Andriantsitohaina, R., (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire. *Annales de cardiologie et d'angéologie*, 51, 304-315.
 - 122.McMahon, F.G. et Vargas, R., (1993). Can garlic lower blood pressure? A pilot study. *Pharmacotherapy*; 13(4): 406-7.
 - 123.Meriga, B., Mopuri,R. et MuraliKrishna, T., (2011). Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of bulb extracts of *Allium sativum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2012)391-395
 - 124.Michael, S., (2003). Wild Garlic, *Allium vineale* L.. *Defelice Weed Technology*. 2003. Volume 17:890–895 *Intriguing World of Weeds*.
 - 125.Milane, H., (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg.
 - 126.Milcent, R., (2007). *Chimie organique*. France: Ed. EDP science. P.821.
 - 127.Mohammad Amzad, H., Khulood Ahmed, S., Zawan Hamood, A. et Afaf Mohammed, W., (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3, série 9, pp 705-710.
 - 128.Mohammedi, Z., (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Belkaid Tlemcen.
 - 129.Moon, J.K. et Shibamoto, T., (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *J Agr Food Chem* 57: 1655–66.
 - 130.Morigane, (2002). *Grimoire des Plantes*. Edition France 2002. P.192.
 - 131.Naczki, M. et Shahidi,F., (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomes. Anal.* 41, 1523-1542.
 - 132.Nayar, N.M., Ahmedulla, M., et Singh, R., (1992). Alliums in South Asia: importance, ethnobotanical uses, genetic resources, enumeration of species and distribution. *Proceedings of International Symposium; Gatersleben, Germany*. Pp. 205–213.
 - 133.NCCLS, (National Committee for Clinical Laboratory Standards), (1997). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Sixth Ed. Approved Standard M2-A6, Wayne, PA.
-

- 134.Nencini, C., Franchi, G.G., Cavallo, F. et Micheli, L., (2010). Protective Effect of *Allium neapolitanum* Cyr. Versus *Allium sativum* L. on Acute Ethanol-Induced Oxidative Stress in Rat Liver. *J. Med. Food* 2010, 13, 329–335.
- 135.Novak, P., Tepeš, P., Fistrić, I., Bratoš, I. et Gabelica, V., (2006). The application of LC-NMR and LCMS for separation and rapid structure elucidation of an unknown impurity in 5-aminosalicylic acid. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 40 : 1268-1272.
- 136.Ozgen, M., Reese, R.N., Tulio JR, A.Z., Scheerens J.C. et Miller, A.R., (2006). Modified 2, 2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. *J. Agric. Food Chem.* 54, 1151-1157.
- 137.Ozsoy, N., Can, A., Yanardag, R. et Akev, A., (2008). Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chem* 110: 571–83
- 138.Parajuli, D.P., Gyawali, A.R. et Shrestha, B.M., (1998). A Manual of important Non-timber Forest Product in Nepal. Training and manpower development in C.F.M. Pokhara Nepal.
- 139.Perret, C., (2001). Analysis de tannins inhibiteurs de stilbène oxydase produite par *Brytis cinerea* Pers. Thèse de Doctorat.Université de Neuchatel Sarni-Manchado.
- 140.Pierron, C., (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse Doctorat en Pharmacie. Université Lorraine.
- 141.Poliana, S.E., Kassandra, L.G.V.A., Jaqueline, A.N., Alline, L.R.R. et Antonio, G.S., (2014) Assessment of the antioxidant effect of ethanol extract of *Allium sativum* L., isolated and/or synergistically associated with synthetic antioxidants, applied to linseed oil. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* April 2015, Volume 120, Issue 1, pp 617–625.
- 142.Portes, E., (2008). Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat. L'Université Bordeaux I.
- 143.Prashant, T., Bimlesh, K., Mandeep, K., Gurpreet, K. et Harleen, K. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale pharmaceutica sciencia*. Jan-March 2011, Vol. 1, Issue 1.

- 144.Prior, R.L., Wu, X. et Schaich, K., (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10): 4290-4302.
- 145.Quezel, P. et Santa, S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Tom I. Edition France Paris 1962. P.632.
- 146.Radulovića, N.S., Miltojevića A.B., Stojkovića, M.B. et al., (2015). New volatile sulfur-containing compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L., Liliaceae). *Food Research International* 78:1–10
- 147.Ramkrishna, U., Dinesh kumar, B., Narayan, S. et Ratna, P., (2013). Phytochemical screening and polyphenol estimation by HPLC of *Terminalia arjuna*. *Intrnationa journal of research in pharmacology and pharmcotherapeutics*. 2. Série 3, pp 471-482.
- 148.Rees, L.P., Minney, S.F., Plummet, N.T., Slater, J.H. et Skyrme, D.A., (1993). A quantitative assessment of the antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 9, 303-307.
- 149.Retsky, K.L., Chen, K., Zeind, J. et Frei, B., (1999). "Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine* 26(1-2): 90-98.
- 150.Reuter, H.D. et Sendl, A., (1994). *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Chemistry, pharmacology, and medicinal applications. In: Wagner H, Farnsworth NR, eds. *Economic and medicinal plants research*, Vol. 6. London, Academic Press, p. 55-113
- 151.Rezaire, A., (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de doctorat en Phytochimie. Université des Antilles et de la Guyane.
- 152.Rhayour, K., (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès (Maroc).
- 153.Ribéreau-Gayon, P., (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris. P.254.
- 154.Rui, L., Wei-chang, C.,Wei-peng, W., Wen-yan, T. et Xue-guang, Z., (2010). Extraction of essential oils from garlic (*Allium sativum*) using ligarine as solvent and its immunity activity in gastric cancer rat. *Med Chem Res* (2010) 19:1092–1105.
- 155.Sagdiç, O., (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thym and oregano hydrosols. *Lebensm-Wiss, U-technol* 36:467–73.

- 156.Sanchez-Moreno, C., (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Internat J Food Sci Technol* 8: 121–37
- 157.Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V., (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*. Paris: Edition Lavoisier. P.398.
- 158.Scalbert, A., et Williamson, G., (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Nutr* , 130 , 2073-2085.
- 159.Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V. et Bitsch, R., (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36, 177-187
- 160.Sebai, M. et Boudali, M., (2012). *Phytothérapie entre la confiance et méfiance*. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA (Algérie).
- 161.Sell, Y., Benezra, C. et Guerin, B., (2002). *Plantes et réactions cutanées*. Edition John Libbey Eurotext et Allerbio France. P.157.
- 162.Silagy, C.A. et Neil, H.A., (1994). A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *J. Hypertens* 12 (40): 463-8.
- 163.Singh, K.V., Shukla, N.O., (1984). Activity on Multiple Resistant Bacteria of Garlic (*Allium sativum*) Extract. *Phytotherapy* 155:313–5.
- 164.Singleton, C.P. et Rossi, J.A., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*, 1965; 16, pp.144-58.
- 165.Sipailiene, A., Venskutonis, P.R., Baranauskiene, R. et Sarkinas, A., (2006). Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18: 698-703.
- 166.Small, E. et Deutsch, G., (2001). *Herbes culinaires pour nos jardins de pays froid*. NRC research press. P.193.
- 167.Soussy, C.J., Cavallo, J.D., Courcol, R., Drugeon, H., Fabre, R., Jarlier, V. et al. (2000). Sensibilité aux antibiotiques de souches *d'Escherichia coli* isolées en 1998 et 1999. Résultats d'une enquête multicentrique française. *Méd Mal Infect.* 30 :650.
- 168.Stajner, D., Milic, N. et Canadanovic-Brunet, J., (2006). Exploring *Allium* species as a Source of Potential Medicinal Agents. *Phytother Research* 20: 581–4.
- 169.Stalikas, C.D., (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids Review. *J. Sep. Sci.* 30, 3268 – 3295
- 170.Sutour, S., (2010). *Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats*. Thèse doctorat. Université de Corse.

- 171.Tan, K.W. et Kassim, M.J., (2011). A correlation study on the phenolic profiles and corrosion inhibition properties of mangrove tannins (*Rhizophora apiculata*) as affected by extraction solvents. Corrosion Science. 53, 569-574
- 172.Teuscher, E., Anton, R. et Lobstein, A., (2005). Plantes aromatiques. Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 361-5
- 173.Tieppo, J., Vercelino, R., Dias, A., Silva Vaz, M., Silveira, T. et Marroni, C., (2007). Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. Food and Chemical Toxicology, 45, 1140- 1146.179.
- 174.Timite, G., (2012). Isolement et caractérisation des saponosides de plantes de la famille des *Alliaceae*, *caryophyllaceae* et *Polygalaceae* et évaluation de leurs activités cytotoxiques sur cellules tumorales. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne.
- 175.Tiwari, P., Kumar, B. et Kaur, G., (2011). Phytochemical screening and extraction. Internationale pharmaceutica scientia,1, pp 98-106.
- 176.Toumi- Benali, F., Benyahia, M., Hamel, L., Mohamedi, H. et Boudaghen, L., (2011). Etude comparative de la composition des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata (vahl)* originaire d'Algérie. Acta botanica gallica, 158, pp93-100
- 177.Toumi- Benali, F. (2009).Valorisation de *Tetraclinis articulata* dans la mise en valeur des espèces dégradés dans l'Ouest Algérien, possibilité de culture, régénération et potentielité phyto-bioclimatique de l'espèce. Thèse de doctorat. Université Sidi Bel Abbès
- 178.Uttara, B., Singh, AV. et Zamboni, P., (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. Curr Neuropharmacol 7: 65–74.
- 179.Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. et Mazur, M., (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions 160(1): 1-40.
- 180.Valnet, J., (1983). Phytothérapie se soigner par les plantes. Librairie générale française, 1983.
- 181.Verpoorte, R., Choi, Y.H. et Kim, H.K., (2010). Metabolomics: will it stay? Phytochem. Anal. 21: 2-3.
- 182.Vickery, R., (1995). A Dictionary of Plant Lore. Oxford: Oxford University Press. P.437.
- 183.Victoria, M. et Elipe, S., (2003). Advantages and disadvantages of nuclear magnetic resonance spectroscopy as a hyphenated technique. Analytica Chimica Acta, 497 : 1-25.

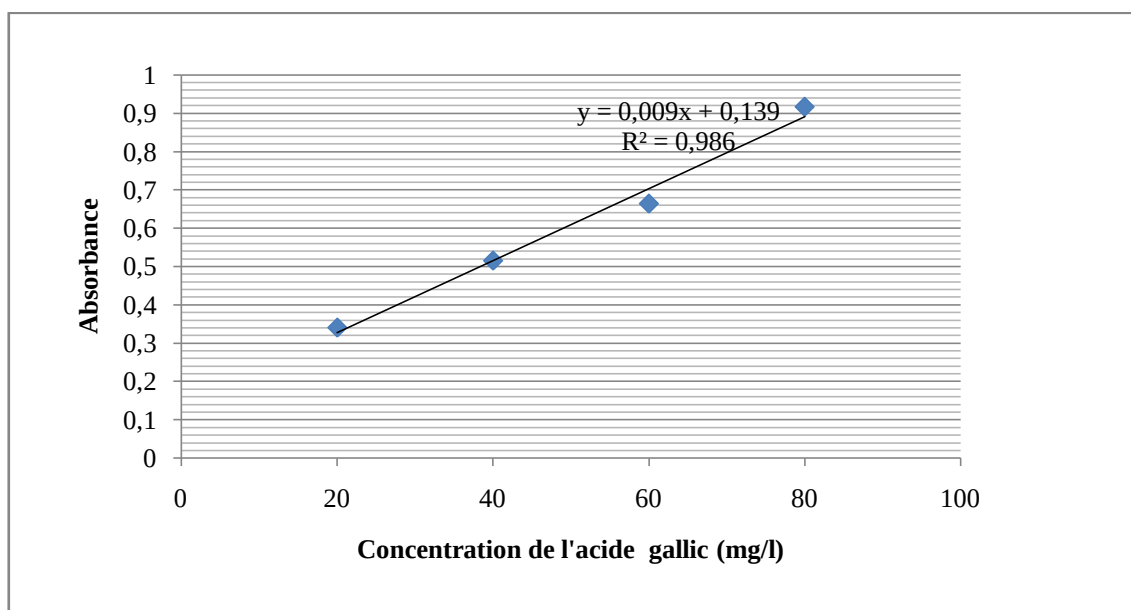
- 184.Vincent, M.C., (1991). L'aromatogramme, Encyclopédie de médecine naturelle (Paris, France). Phytothérapie, aromathérapie.
- 185.WHO, (1999). Monographs on selected medicinal plants. vol. I, World Health Organization, Geneva. P. 16-32.
- 186.Wilson, E.A. et Barbara, D.A., (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial properties of garlic and onions. Nutrition & Food Science 37(3): 178-83.
- 187.Wilson, M., (2007). Fleurs comestibles du jardin à la table. Edition Fides, Canada. P.278.
- 188.Yakhlef, G., Laroui, S. et Hambaba, L., (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Phytothérapie 9:209–18.
- 189.Zhishen, J., Mengcheng, T. et Jianming, W., (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. Food Chem.,64, 555-559.
- 190.Zouaria, S.B., Ketataa, M.C. et Boudhriouac, N., (2013). *Allium roseum* L. volatile compounds profile and antioxidant activity for chemotype discrimination – Case study of the wild plant of Sfax. Industrial Crops and Products journal 41:172-78

Biblio-net

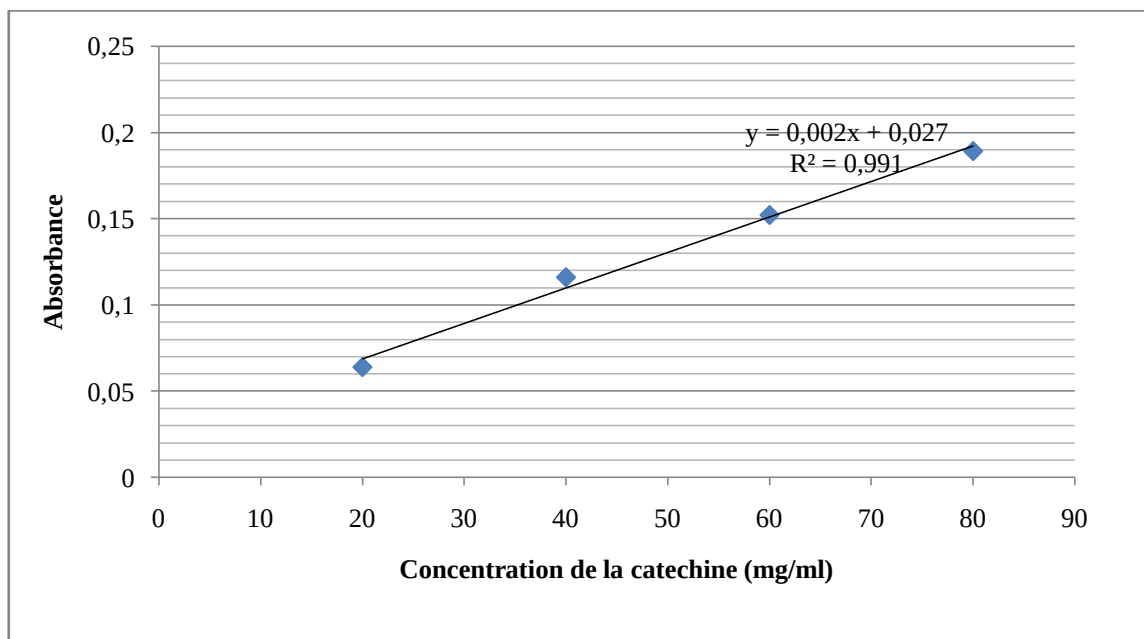
- Web Master 1: <https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/1669/ail-des-vignes>. 20/01/2015.
- Web Master 2: <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-3276-synthese> . 3/12/2013.
- Web Master 3: <http://www.annuaire-mairie.fr/ville-ain-nehala.html> 9/3/2015.
- Web Master 4:
- <http://www.sante.dz/dsp22/files/Wilaya%20de%20Sidi%20Bel%20Abbes.pdf><http://www.sante.dz/dsp22/files/Wilaya%20de%20Sidi%20Bel%20Abbesn>. 19/3/2015
- Web Master 5 : <http://www.itcmidz.org/activites.htm>. 27/7/2014

Annexes

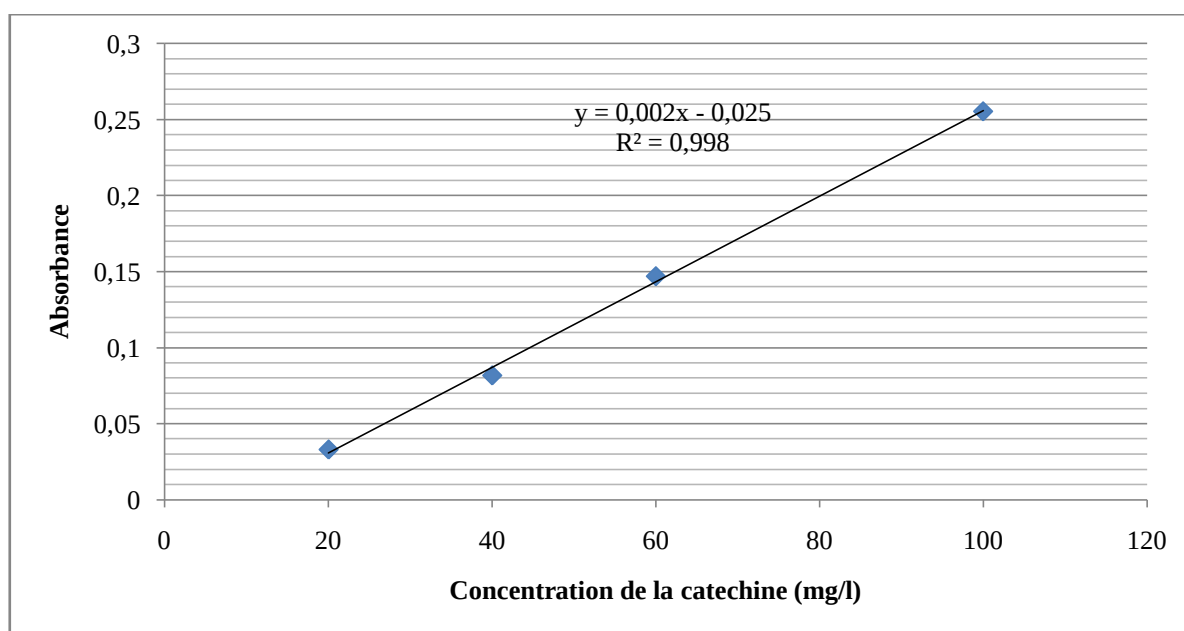
Annexe A : Les courbes étalonnages



Courbe d'étalonnage des polyphénols



Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

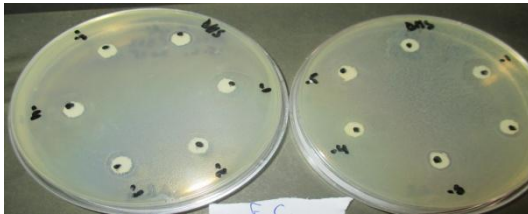


Courbe d'étalonnage des tanins

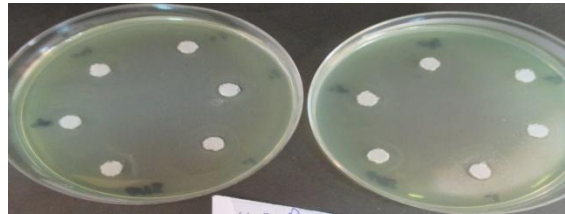
Annexe B : Résultats numériques

1- Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

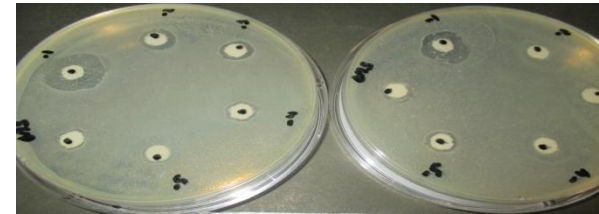
1-1 L'huile essentielle ASbr



HE ASbr *E.coli*

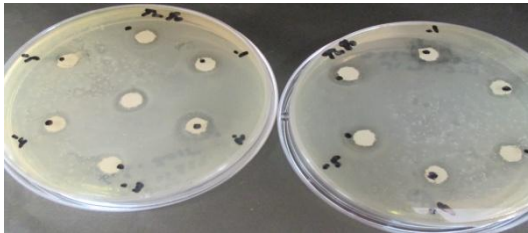


HE ASbr *P. aeruginosa*

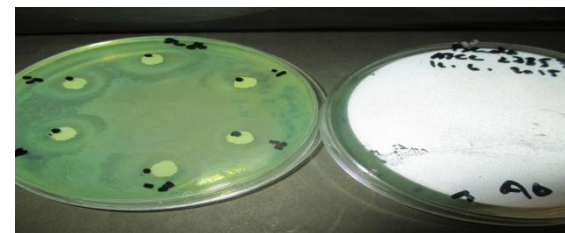


HE ASbr *S. aureus*

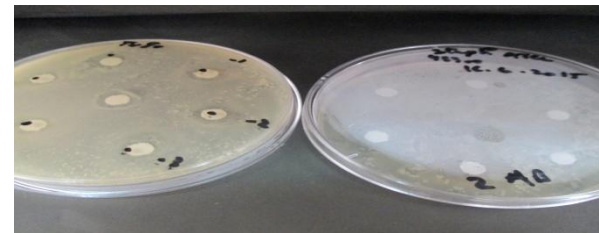
1-2 L'huile essentielle ASbb



HE ASbb *E.coli*

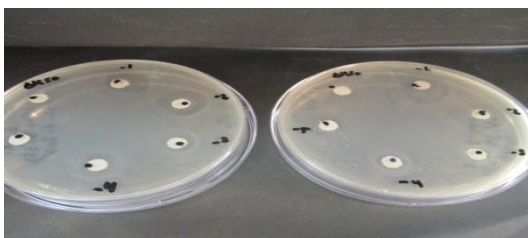


HE ASbb *P. aeruginosa*

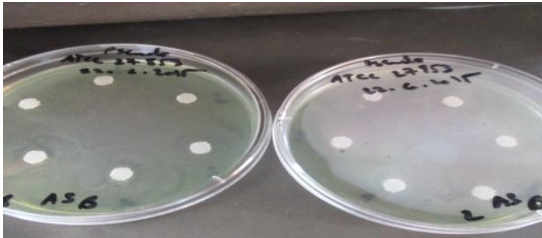


HE ASbb *S. aureus*

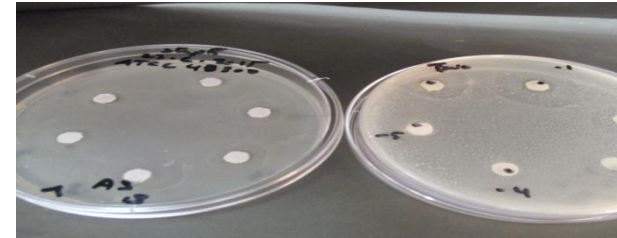
1-3 L'huile essentielle AVb



HE AVb *E.coli*



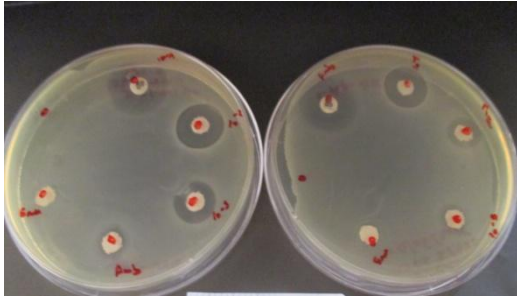
HE AVb *P. aeruginosa*



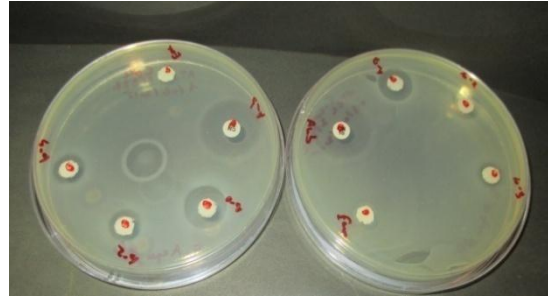
HE AVb *S. aureus*

1- Résultats de l'activité antibactérienne des extraits bruts

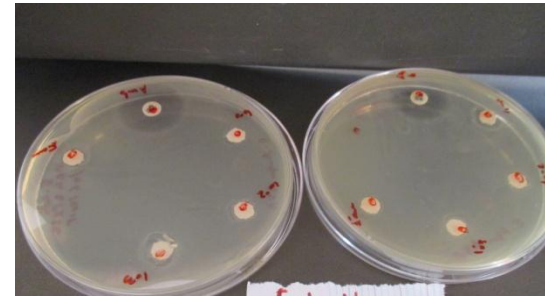
2-1 Résultats de l'extrait aqueux



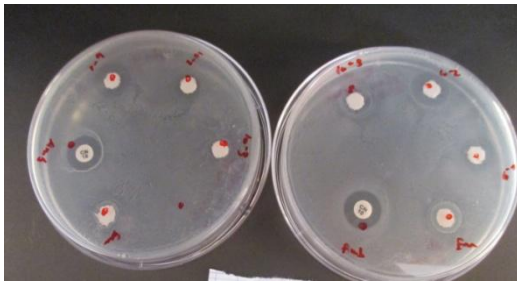
Extrait aqueux ASBr *E.coli*



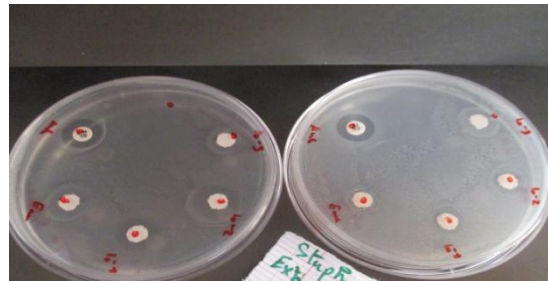
Extraits aqueux ASbb *E.coli*



Extraits aqueux AVb *E.coli*



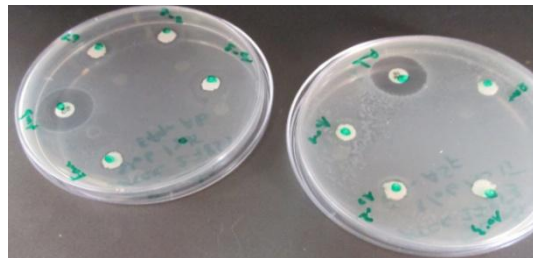
Extraits aqueux ASBr *S. aureus*



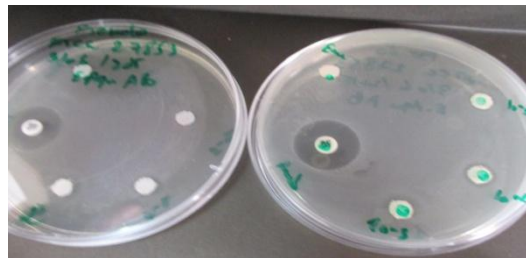
Extrait aqueux ASbb *S. aureus*



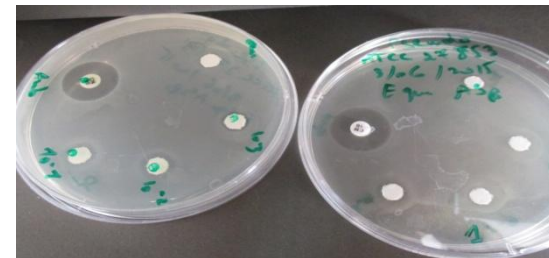
Extraits aqueux AVb *S. aureus*



Extrait aqueux ASBr *P. aeruginosa*

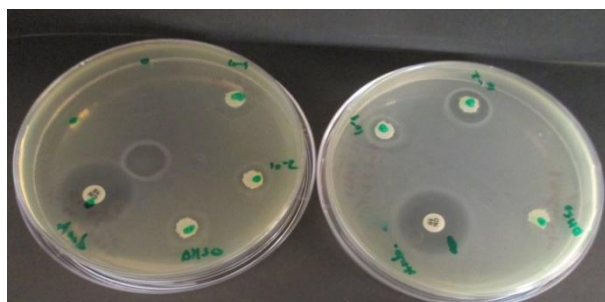


Extraits aqueux ASbb *P. aeruginosa*

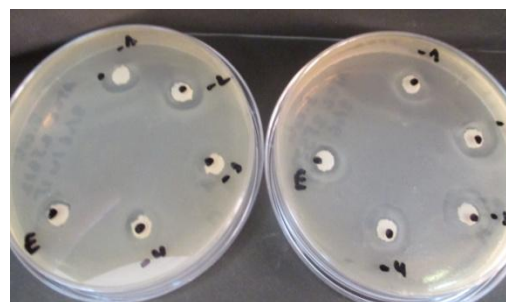


Extrait aqueux AVb *P. aeruginosa*

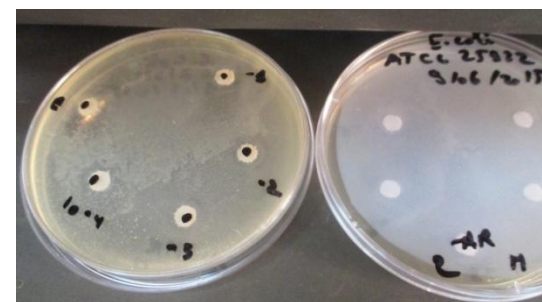
2-2 Résultats de l'extrait méthanolique



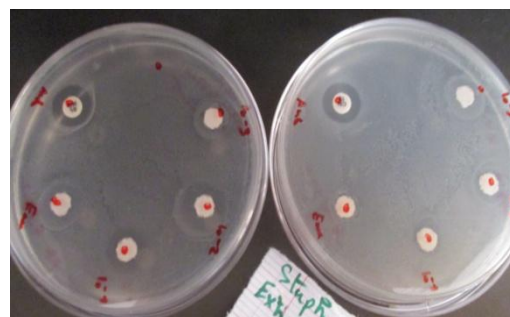
Extrait méthanolique AVb *E.coli*



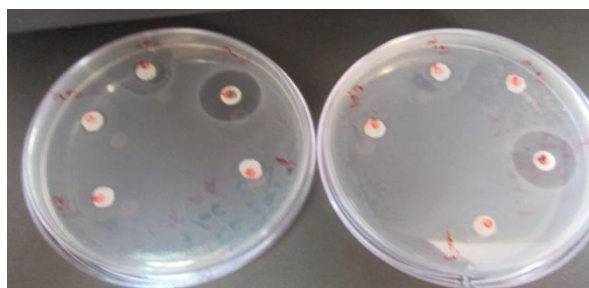
Extrait méthanolique ASbb *E.coli*



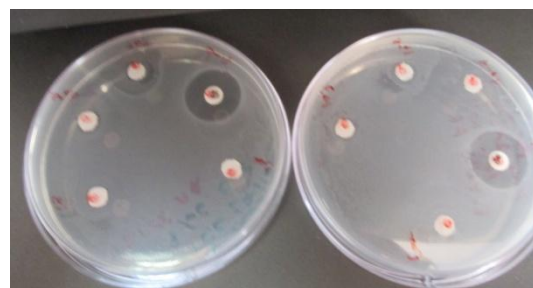
Extrait méthanolique ASbr *E.coli*



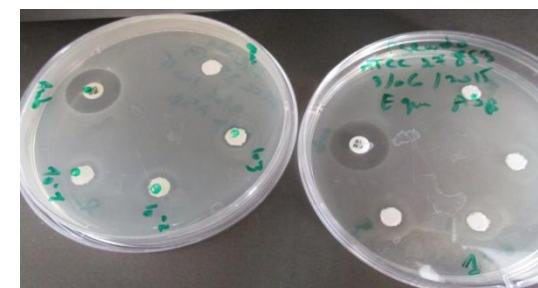
Extrait méthanolique AVb *S. aureus*



Extrait méthanolique ASbr *P. aeruginosa*

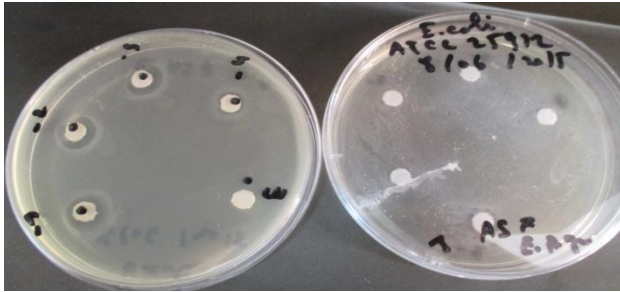


Extraits Méthanolique ASbb *P. aeruginosa*

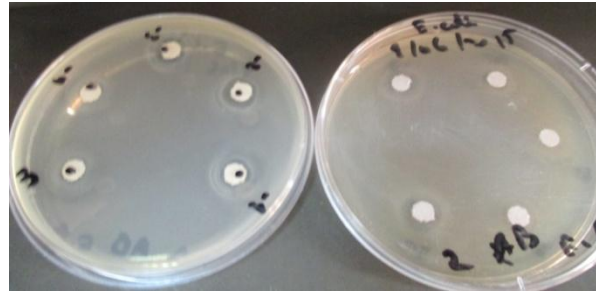


Extrait méthanolique AVb *P. aeruginosa*

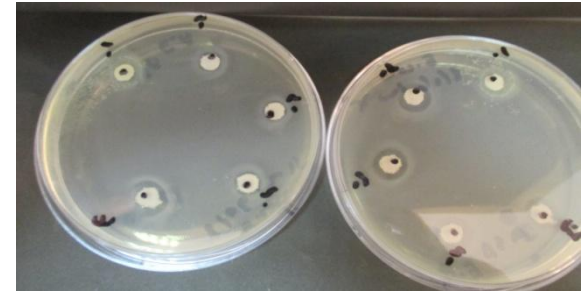
2-3 Résultats de l'extrait éthanolique



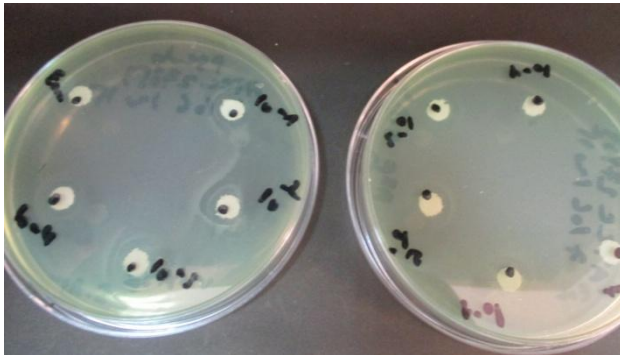
Extrait éthanolique ASbr *E. coli*



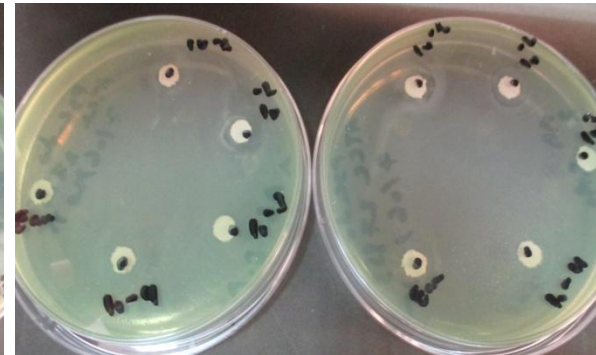
Extrait éthanolique ASbb *E. coli*



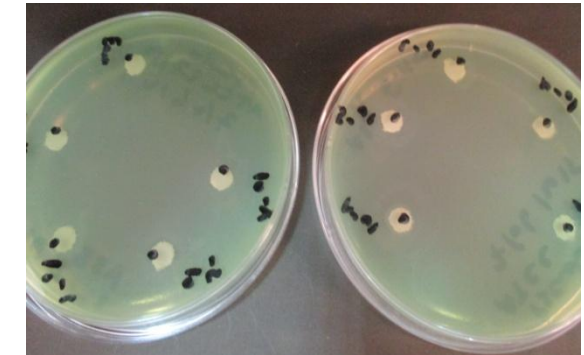
Extraits éthanolique AVb *E. coli*



Extraits éthanolique ASbr *P. aeruginosa*



Extrait éthanolique ASbb *P. aeruginosa*



Extrait éthanolique AVb *P. aeruginosa*

Annexe C : Article numéro I

Annexe D : Article numéro II

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des plantes condimentaires cultivées et spontanées de l'Ouest Algérien, des huiles essentielles et des extraits bruts phénoliques de deux espèces du genre *Allium*, l'une cultivée *Allium sativum* et l'autre spontanée *Allium vineale*, ont été testés pour leurs activités antioxydante et antibactérienne après une quantification et une identification de leurs principes actifs.

Dans ce contexte, une recherche est débutée d'abord, par une enquête ethnobotanique réalisée à l'aide d'un questionnaire, pour la détermination des différentes utilisations médicinales des ces deux espèces du genre *Allium*. L'enquête a prouvé d'une part, que l'ail cultivé est utilisé comme condiment et aussi pour traiter des différentes maladies telles que : les maladies infectieuses, l'hypertension, les maladies dermiques, l'hypercholestérolémie, les maladies digestives, l'hyperglycémie et comme traitement préventif du cancer ; d'autre part, 17% de la population enquêtée connaissent l'espèce sauvage et l'utilise comme condiment.

La caractérisation des huiles essentielles des bulbes des deux espèces étudiées *Allium sativum* : avec deux variétés rouge (ASbr) et blanche (ASbb) et *Allium vineale* (AVb), par la technique de la CG/MS, a permis d'identifier des composés chimiques, en particulier des composés soufrés qui est majoritaires. Ainsi, *Allium vineale* est formée en majorité d'allyl trisulfide (24 %) et diallyl tetrasulfide (16 %) et *Allium sativum* (45 %) d'allyl trisulfide et (22 %) diallyl disulfide.

La quantification des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes et des tanins, extraits à partir des trois solvants (méthanol, éthanol et eau distillée) des trois échantillons étudiés, a révélé la plus importante teneur des composés phénoliques, enregistrée dans l'extrait éthanolique de l'AVb (69,92 mg AGE/g), suivie par celles des deux variétés cultivées ASbr (17,94 mg AGE/g) et ASbb (11,54 mg AGE/g).

Les résultats du dosage des composés flavonoïdes, montrent que l'extrait éthanolique de l'ASbr donne la valeur la plus remarquable (62,11 mg EC/g) puis l'extrait méthanolique de l'AVb (33,05 mg EC/g), comparés aux autres extraits qui enregistrent des valeurs entre 1,05 à 23,97 mg EC/g.

Les résultats du dosage des tanins condensés, indiquent que l'extrait éthanolique d'AVb renferme la valeur la plus importante (5,69 mg EC/g) suivi par l'extrait méthanolique du même échantillon (4,14 mg EC/g).

La valorisation de nos espèces du genre *Allium* : *Allium sativum* et *Allium vineale*, est parachevée par la détermination du pouvoir antioxydant *in vitro*, en utilisant deux méthodes, la méthode du DPPH et celle de la β - carotène, et d'autre part par l'activité antibactérienne vis-à-vis de trois souches bactériennes : *Escherichia coli* (*E.coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) selon la méthode de Vincent (aromatogramme), sur les huiles essentielles et les trois extraits phénoliques des trois échantillons étudiés.

Les résultats de l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois échantillons ont montré que l'huile essentielle d'AVb renferme l'activité la plus importante avec les deux méthodes, celle du DPPH (IC₅₀ = 5,08 mg/ml) et celle de la β - carotène (26,54%) par rapport à l'acide ascorbique (23,37%).

Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits des trois échantillons a montré que les extraits éthanoliques testés avec la méthode de la β - carotène ont présenté l'activité la plus forte par rapport aux autres extraits ; par contre les résultats du pouvoir antioxydant déterminé par la méthode du DPPH, montre une activité très faible dans les différents extraits des trois échantillons.

Les résultats du pouvoir antibactérien des huiles essentielles des trois échantillons étudiés des vis-à-vis trois souches bactériennes montrent que l'huile essentielles d'AVb apparait plus active sur les trois souches bactériennes suivie par l'ASbb, par contre ; *P. aeruginosa* a montré une résistance vis-à-vis de l'huile essentielle de l'ASbr. Parmi tous les extraits, l'extrait aqueux des trois échantillons a montré une activité inhibitrice remarquable sur les trois souches bactériennes étudiées, par rapport aux autres extraits méthanolique et éthanolique qui ont révélé un pouvoir inhibiteur très faible contre *S. aureus*.

Mots clé : Ouest Algérien, huile essentielle, extraits bruts phénoliques, *Allium sativum*, *Allium vineale*, activité antioxydante, activité antibactérienne, CG/MS.