

Université Mohamed Khider – Biskra
Faculté des Sciences et de la technologie
Département : Chimie Industrielle



جامعة محمد خيضر بسكرة
كلية العلوم و التكنولوجيا
قسم : الكيمياء الصناعية

Mémoire présentée en vue de l'obtention
du diplôme de Master en : Génie des Procédés

Option : Génie Chimique

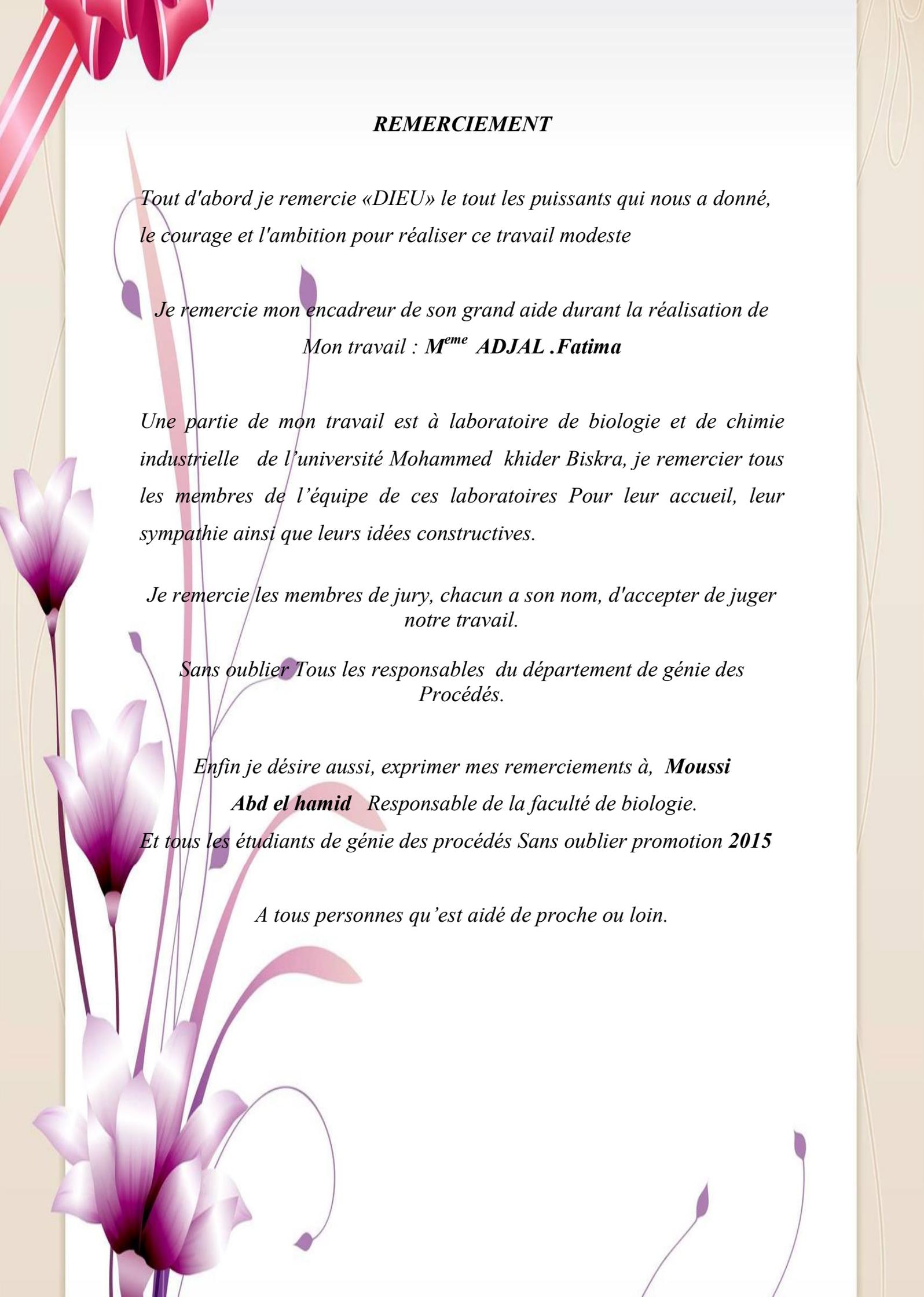
**Etude de l'activités antibactérienne des huiles
essentielles de *Juniperus phonicea* .L.**

Présenté par :
KEZZOUNA RADJA

Devant le jury composé de :

Président : M^{eme} AIDI AMEL
Encadreur : M^{eme} ADJAL FATIMA
Examineur : M^{eme} ALMI SANA

Promotion Juin 2015



REMERCIEMENT

*Tout d'abord je remercie «DIEU» le tout les puissants qui nous a donné,
le courage et l'ambition pour réaliser ce travail modeste*

*Je remercie mon encadreur de son grand aide durant la réalisation de
Mon travail : **M^{eme} ADJAL .Fatima***

*Une partie de mon travail est à laboratoire de biologie et de chimie
industrielle de l'université Mohammed khider Biskra, je remercier tous
les membres de l'équipe de ces laboratoires Pour leur accueil, leur
sympathie ainsi que leurs idées constructives.*

*Je remercie les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger
notre travail.*

*Sans oublier Tous les responsables du département de génie des
Procédés.*

*Enfin je désire aussi, exprimer mes remerciements à, **Moussi
Abd el hamid** Responsable de la faculté de biologie.*

*Et tous les étudiants de génie des procédés Sans oublier promotion **2015***

A tous personnes qu'est aidé de proche ou loin.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux deux êtres qui me sont très chers dans cette vie ; mon père et ma mère. Je les remercie pour leur éducation, leur sacrifice et leur assistance, et pour ce que vous m'avait fait et qui m'a permis d'avoir cette réussite et ce bonheur

Aussi je dédie ce travail

A ma sœur : Atika

Pour la deuxième sœur, m'a donnée par Dieu et qui m'a accompagné dans les moments les plus difficiles de ma carrière et le meilleur et la longueur de l'école a toujours tendu une main secourable à moi et est l'une des raisons pour les quelles je suis arrivé ici.

*Toute la chance et le bonheur « **Falima** »*

A mes frères: Mohammed, Abd Karim, Radwan, walid, chouaaibe.

A mes ancles et mes tantes

A tous mes amis et camarades

A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que connue moi.

Radja

Sommaire

Liste Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles	
I.1- Historique des huiles essentielles	3
I.2-Définition.....	3
I.2.1- Huiles essentielles	3
I.2.2- Les plantes aromatiques.....	4
I.2.3 –Essence	4
I.2.4 -Hydrolat aromatique	5
I.3- Répartition et localisation.....	5
I.3.1- Répartition	5
I.3.2- Localisation.....	6
I.4-Fonction biologique.....	6
I.5-Le rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	6
I.6- Composition Chimique des huiles essentielles.....	6
I.6.1- Les terpénoïdes	7
I.6.2- Les composés aromatiques.....	7
I.6.3- Les composés d'origines diverses.....	7
I.6.4- Les chémotypes.....	7
I.7-Activités biologiques.....	8
I.8 -Propriétés des huiles essentielles.....	11
I.8.1-Propriétés physico-chimiques.....	11
I.9-Les méthodes d'extraction.....	11
I.9.1- Distillation à vapeur saturée	13
I.9.2-Entraînement à la vapeur.....	13
I.9.3-Hydrodiffusion.....	14
I.9.4-L'expression à froid	14

I.9.5- Hydrodistillation.....	15
I.9.6- Extraction par les corps gras.....	15
I.9.7- Extraction par solvants volatils.....	16
I.9.8- Extraction par micro- ondes.....	16
I.10-L'utilisation des huiles essentielles.....	15
I.10.1- L'utilisation des huiles essentielles dans l'industrie agroalimentaire.....	17
I.10.2-L' utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique.....	18
I.10.3-L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie.....	18
I.11-Précautions d'emploi.....	19
I.12-Toxicité des huiles essentielles	19

Chapitre II : classification de *Juniperus phoenicea* L.

II.1- Noms vernaculaires.....	21
II.1.1-Données phytochimique.....	21
II.2- Description botanique.....	21
II.3- classification.....	22
II.4- Etude phytochimique de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	22
II.4.1-Composition chimique.....	22
II.4.2-Composition d'huile essentielle.....	22
II.5- Activité biologique de <i>Juniperus phoenicea</i> L	23
II.5.1- Activité antibactérienne.....	23
II.5.2-Activité antifongique.....	24
II.6- Variation géographique est systématique de <i>Juniperus phoenicea</i>.L.....	24
II.7- Utilisations médicinales.....	24

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1-Cadre.....	25
III.2- Matériel.....	26
III.2.2-Matériel de laboratoire	26
III.2.2.1- Produit de laboratoire.....	26
III.2.2.2- Milieux de culture.....	26
III.3- Les souches bactériennes testées.....	27
III.3.1-Bactéries Gram négatif.....	27
III.3.1.1- <i>Escherichia coli</i> (ATCC25922).....	27

III.3.1.2- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC27853)	27
III.3.2-Bactéries à Gram positif	28
III.3.2.1- <i>Staphylococcus aureus</i>	28
III.4- Méthodes	28
III.4.1- Les tests chimiques.....	28
III.4.1.1-Huiles essentielles.....	28
III.4.1.2- tanins.....	29
III.4.1.3-Cardénolides	29
III.4.1.4- Saponosides.....	29
III.4.1.5-Stérols saturés et terpènes.....	29
III.4.1.6-Flavonoïdes	29
III.4.2- Extraction des huiles essentielles.....	29
III.4.2.1- Calcul de rendement.....	30
III.4.2.2-Calcul de la densité.....	30
III.5- L'aromatogramme	31
III.5.1-Ré-isolément des souches bactériennes.....	31
III.5.2-Préparation des disques.....	32
III.5.3-Milieu de culture.....	32
III.5.4-Préparation des dilutions	32
III.5.5-Préparation de l'inoculum.....	32
III.5.6- L'ensemencement.....	33
III.5.7-L'application des disques.....	33
III.5.8- Lecture.....	34

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV.1-Résultats	35
IV.1.1- Résultats de l'extraction.....	35
IV.1.1.1- Caractères organoleptique.....	35
IV.1.1.2-Calcul du rendement.....	35

IV.1.1.3-Calcul de densité.....	35
IV.1.2- Résultats des tests chimiques.....	36
IV.1.3- Résultats de l'aromatogramme.....	36
IV.4-Discussions	38
IV.4.1- <i>Escherichia coli</i> (ATCC25922).....	38
IV.4.2- <i>Pseudomonas aenuginosa</i> (ATCC27853).....	39
IV.4.3- <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923).....	39
Conclusion générale.....	42
Référence bibliographique	

Liste des 'abréviations

J: juniperus phoenicea.l

HE : Huile essentielle

DMSO : diméthylesulfoxyde

AFNOR : Association Française de Normalisation

VMHD: Vacuum Microwave Hydrodistillation

LPS : lipopolysaccharide

E. coli : Escherichia coli

S.aureus : Staphylococcus aureus

P.aenuginosa : Pseudomonas aenuginosa

(v/v) : volume / volume

L'ATB : Antibiotique

Liste de figure

Chapitre I

Fig.1: Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle.....	13
Fig.2 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante.....	14
Fig .3: Extraction par hydrodistillation.....	15
Fig .4: Les différents types d'extraction par solvants volatil.....	16
Fig.5 : Extraction par micro- ondes +L'hydro- distillation traditionnelle.....	17

Chapitre II

Fig .6 : les rameaux de <i>juniperus phoenicea</i>	21
---	----

Chapitre III

Fig.7 : Extraction par hydrodistillation ce type clevenger.....	30
Fig.8 : schéma illustrant la méthode des aromagrammes.....	31
Fig. 9: Ré-isollement des souches	31
Fig .10 : Ecoulement du milieu de culture.....	32
Fig .11 : Ensemencement bactérie.....	33
Fig .12 : L'application des disques.....	34

Chapitre IV

Fig.13 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en cm de <i>E. coli</i> par l'HE de <i>juniperus phoenicea</i> L. à différentes dilutions.....	38
Fig.14 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en cm de <i>Pseudomonas aenuginosa</i> (ATCC27853) Par l'HE de <i>juniperus phoenicea</i> L. à différentes dilutions.....	39
Fig.15 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en cm de <i>Staphylococcus aureus</i>	

(ATCC25923) Par l'HE de <i>juniperus phoenicea</i> L. à différentes dilutions.....	40
Fig.16 : zones d'inhibition des HE de <i>juniperus phoenicea</i> L. vis- à -vis <i>E. coli</i>	40
Fig.17 : zones d'inhibition des HE de <i>juniperus phoenicea</i> L. vis- à -vis <i>P.aenuginosa</i>	41
Fig.18 : zones d'inhibition des HE de <i>juniperus phoenicea</i> L. vis- à -vis <i>S. aureus</i>	41

Liste de tableau

Chapitre I

Tableau 1: Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique.....	09
--	----

Chapitre II

Tableau 2 : classification de juniperus phoenicea L.....	22
Tableau 3 : Activité antibactérienne de Juniperus phoenicea L.....	23
Tableau 4 : Activité antifongique de Juniperus phoenicea L.....	24

Chapitre III

Tableau.5 : préparation des dilutions.....	32
---	----

Chapitre IV

Tableau.6 : Caractères organoleptique de juniperus phoenicea L.....	35
Tableau.7 : résultats des tests chimiques.....	36
Tableau .8: résultat de l'aromatogramme. (Diamètres des zones d'inhibition en cm de chaque dilution, l'ATB, DMSO, HE pur .)	37

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction générale

Depuis long temps l'homme reconnaît et utilise les plantes pour se nourrir et pour traiter diverses maladies.

Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles et leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs et dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant.

Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires. Leur utilisation s'appelle "l'aromathérapie", qui consiste à utiliser les huiles essentielles pour le traitement de diverses manifestations pathologique.

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux. [1]

L' *juniperus phoenicea* L. est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine Traditionnelle, de puis des siècles contre la diarrhée, et les diabètes et notamment comme antiseptique et antispasmodiques. Les études récentes soulignent des propriétés antibactériennes de ces huiles essentielles.

Dans ce contexte, l'objectif global de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne d'extrait riche en huiles essentielle de *juniperus phoenicea* .l de la région de Biskra – Algérie.

Notre étude sera répartie en quatre chapitres, initiés par une recherche bibliographique ou nous apportons dans le premier chapitre une généralité sur les huiles essentielles , leur compositions, activités biologiques et pharmacologiques ainsi que sur les méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Dans le second chapitre nous effectuerons une présentation botanique de la famille lamiacées et l'espèce *juniperus phoenicea*, sa localisation géographique dans le monde, et son utilisation.

Le troisième chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir:

- les tests chimique;
- l'extraction des huiles essentiels de *juniperus phoenicea*.
- test de sensibilités, des bactéries et des levures vis-à-vis de nos huile essentielle.

Le quatrième chapitre abordera les différents résultats et leurs discussions.

enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

I.1- Historique des huiles essentielles

L'histoire des huiles essentielles commence cependant 2000 à 3000 ans avant cette époque. Chez les Egyptiens, l'essence de térébenthine était déjà utilisée et tout porte à penser que certains parfums étaient obtenus sous forme d'huiles distillées. L'art de la distillation, initié par les Egyptiens, Indiens et Perses, s'améliora grandement au cours du IX^{ème} siècle sous l'impulsion des Arabes avec, notamment, le développement de l'alambic attribué à Avicenne (980-1037). La science des huiles essentielles prit ensuite le large pour gagner l'Europe au cours des croisades durant le XIII^{ème} siècle. Le développement des procédés de production et des connaissances de ces extraits fut alors majoritairement mené par des pharmaciens. Durant les siècles qui suivirent, les huiles essentielles étaient principalement utilisées pour leurs vertus thérapeutiques et ne nécessitaient qu'une production minime, ce qui n'est plus le cas de nos jours.

Les huiles essentielles font désormais partie de notre quotidien, leurs utilisations s'étant généralisées dans de nombreux domaines, des industries pharmaceutiques et cosmétiques à l'agro-alimentaire, en passant par l'aromathérapie et les parfums d'ambiance, mais également en agriculture où elles sont utilisées en tant que pesticides naturels [2].

I.2-Définition

I.2.1- Huiles essentielles

Plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle.

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur[3].

Selon la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (essences= huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation[4].

La norme AFNOR T75-006 (février 1998) définit l'huile essentielle comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche[4].

Les huiles essentielles sont des molécules volatiles et odoriférant, synthétisées grâce à l'énergie solaire, pour les cellules sécrétrices. Ces huiles sont comme sous différents noms :

Essences végétales, essences aromatiques, huiles volatiles ou parfums[5].

Donc le terme «huile» provient du fait que les volatiles contenus dans le végétal sont visqueux et hydrophobes, elles ont des propriétés de solubiliser dans les huiles végétales et minérales, et les graisses, les alcools et l'éther.

La dénomination «Essentielles» reflète le caractère principal des plantes qui dégagent des odeurs agréables[6].

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques.

I.2.2- Les plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont, par définition, des plantes dont les tissus sécrètent suffisamment d'essence pour que celle-ci puisse être extraite distillée.

Elles contiennent les molécules aromatiques ou odorantes dans un ou plusieurs de ses organes producteur : feuille, fleurs, fruits, graines, écorces, racines ... Tout plante à odeur n'est pas toujours une plante aromatique : le tilleul est un arbre odorant mais il n'existe pas d'huile essentielle de tilleul[7].

I.2.3 -Essence

L'huile essentielle est donc l'essence distillée .C'est le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou arbres aromatiques pour un extraire l'essence. Une essence et une huile essentielle sont deux substance différentes tant en nature qu'en composition, notamment en raison des modifications biochimiques que subit l'essence au cours de sa distillation.

Toutefois dans l'usage courant le terme «essence» est souvent utilisé pour parler d'une huile essentielle.

L'essence c'est une la substance aromatique naturelle que sécrète la plante dans ses organes producteurs. Pour être exacte, on parle d'essence de citron et non d'huile essentielle de citron, car elle n'a pas été distillée[7].

I.2.4 -Hydrolat aromatique

L'hydrolat est l'eau distillée que l'on sépare de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic .

Elle est plus ou moins aromatisée selon les plantes distillées car elle se charge de molécules aromatiques au cours de la distillation. Les hydrolats contiennent sous forme naturellement dissoute certains composés aromatiques des huiles essentielles (moins de5%).

On trouve beaucoup les acides dans les hydrolats car ils sont hydrosolubles. Ce sont des composés très actifs et efficaces même à l'état de traces (anti-inflammatoire) [7].

I.3- Répartition et localisation

On rencontre les huiles essentielles dans divers familles botaniques elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et forment dans le cytoplasme de cellules spécialisée[5].

I.3.1- Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y aurait 17500 espèces aromatiques.

Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limite de familles, EX: Myrtaceae (Girofle), Lauraceae (laurier), Rutaceae (citron), Lamiaceae (Menthe), Apiaceae (Coriandre),Zingiberaceae(Gingembre)...etc [9].

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples : dans les sommités fleuries (menthe, lavande) les feuilles (eucalyptus, laurier)

les rhizomes (gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (vétiver), les graines (muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (cannelier) [3].

I.3.2- Localisation

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles[6].

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécrétrices des Lamiaceae, les poches sécrétrices des Myrtaceae, des Rutaceae, et les Lamiaceae, et les canaux sécrétrices qui existent dans de nombreuses familles.

Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante[5].

I.4- Fonction

La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique.

À l'appui de cette hypothèse, on remarquera que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales comme agents idiopathiques, notamment inhibiteurs de germination, que dans celles des interactions végétales animales contre les insectes et les champignons[10].

I.5- Le rôle des huiles essentielles chez les plantes

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques :

- Interaction plante- plante (inhibition de la germination et de la croissance)
- Interaction plante animale, pour leur protection contre les prédateurs[10].

I.6- Composition Chimique des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes

caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : Les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane[11].

I.6.1- Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés.

Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes(n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés .

On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres[11].

I.6.2- Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol.

Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénoï qui est responsable de l'odeur du clou de girofle[11].

I.6.3- Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés[11].

I.6.4- Les chémotypes

La connaissance des chémotypes d'une huile essentielle et leur comportement est fondamentale car elle permet d'envisager l'activité pharmacologique, de prévoir aussi la pharmacocinétique et la biodisponibilité.

Pour une même espèce botanique, la composition chimique de l'huile essentielle n'est pas immuable. Les huiles essentielles sont élaborées par les plantes aromatiques au sein des cellules sécrétrices.

Leur élaboration est totalement tributaire du rayonnement solaire en l'absence duquel le rendement en produits aromatiques et leur nature sont affectés.

En sa présence, et tout particulièrement en fonction de la présence de tel ou tel rayonnement, les types de composants pourront varier considérablement au sein d'une même espèce [12].

I.7-Activités biologiques

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques [13]. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries en docanaliaires [14], ou au niveau de la microflore vaginale [15] et d'origine fongique contre les dermatophytes [16]. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [17] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

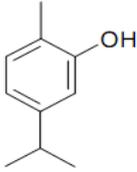
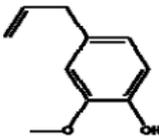
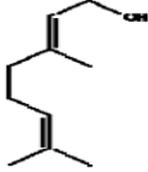
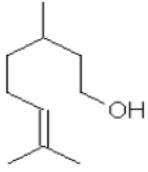
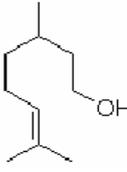
Par exemple dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques [18]. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingéré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées [19].

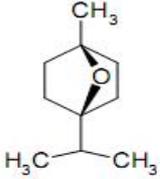
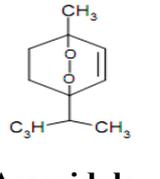
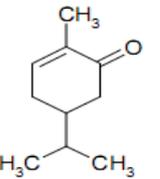
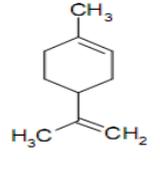
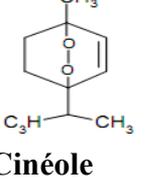
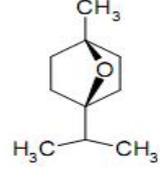
Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des labiateae: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge... etc. L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives [19].

L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de Zakarya et col [20] ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. Ils donnent un exemple de variations qualitatives et quantitatives de quelques espèces.

Dans le **Table 1** sont répertoriés les caractères physico-chimiques, les formules développées, ainsi que les propriétés de quelques terpènes [20].

Tableau 1: Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique.

Composés aromatiques	Formules développées	Caractères Physico-Chimiques	Teneur dans quelques plantes	propriétés
Phénols	 <p>Carvacrol</p>	Densité : 0.98g/ml	Thym (<i>T. vulgaris</i>) 33% . Origan (<i>Origanum Vulgare</i>) 76%	Stimulantes, Toniques Antiseptiques Bactéricide Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
	 <p>Eugénol</p>	Densité : 1.07g/ml	Girofle (<i>S. aromaticum</i>) 82% Bay St Thomas (<i>P. racemosa</i>) 60% Poivre (<i>P. dioica</i>) 54%	
Aldéhydes Terpéniques	 <p>Géranol</p>	Densité : 0.88g/ml	Palmarosa (<i>C. martinii</i>) 95% (<i>C. helichrysum</i> spp.) 80-90%	Anti-inflammatoire Antiseptiques, Bactéricide Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques
	 <p>Citronellol</p>	Densité : 0.86 g/ml	Citronelle (<i>C. winterianus</i>) 2-18% (<i>C. nardus</i>) 20-40%	
	 <p>Citronellal</p>	Densité : 0.89 g/ml	Citronelle (<i>C. winterianus</i>) 11-15% (<i>C. nardus</i>) 10-20%	

Ether-oxydes, peroxyde,	 Cinéole	Densité : 0,92 g/ml	Eucalyptus (Eucalyptus globulus) 56%	Antibactériens Antifongiques Insecticide L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-)
	 Ascaridole	Densité : 1,01 g/ml		
Cétones	 Carvone	Densité : 0,96 g/ml	Carvi (Carum carvi),50%	Calmantes, Antivirales, Antifongiques Neurotoxiques Anti-épileptique
Hydrocarbure aliphatiques, sesquiterpène	 Limonene	Densité : 0,96 g/ml	Carvi (Carum carvi),45%	Fongistatique Bactériostatique Insecticides Nematicide Herbicide
Ether-oxydes, peroxyde,	 Cinéole	Densité : 0,92 g/ml	Eucalyptus (Eucalyptus globulus) 56%	Antibactériens Antifongiques Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-)
	 Ascaridole	Densité : 1,01 g/ml		

I.8 - Propriétés des huiles essentielles

I.8.1- Propriétés physico-chimiques

D'une manière générale, les propriétés et caractéristiques d'une huile essentielle sont: les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation.

Plusieurs autres se sont intéressés aux caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle se présentent comme suit : Elles sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil, menthe de japon...)

Elles contiennent des substances volatiles dans le végétal ce qui les différencie des huiles « fixes ».

Toutes les huiles volatiles sont acres, très inflammables, et très odorantes.

Elles ne sont très rarement colorées, (sauf quelques exceptions) mais prennent peu à peu une coloration bleu clair (camomille, patchouli) est due à la présence de chamazulène (carbure sesquiterpénique qui est l'azulène).

Du fait de leur nature huileuse, ces produits sont très peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques apolaires usuels, les huiles grasses, et dans les alcools à titre élevé et éther. La plupart des huiles sont plus légères, leur densité est en général inférieure à celle d'eau.

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles. Parfois très faibles elle est de l'ordre de 0,1% à 1%, ceci explique le coût élevé de l'HE, à l'exception de quelques-uns comme par exemple le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence.

L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés, et la plupart devient à la lumière polarisée, et sont plus souvent optiquement actives car elles sont constituées de molécules asymétriques.

Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et perdent rapidement leurs propriétés, lorsqu'elles sont exposées au soleil, ou lumière, ou à leur chaleur, elles

absorbent de grande quantité d'oxygène à l'air en se résinifiant, en même temps leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente et leur solubilité diminue.

Elles doivent être conservées dans des flacons en verre coloré bien fermés, à l'abri de l'air, de la lumière pour une meilleure protection [4, 9,21].

I.9-Les méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du Départ au cours de l'extraction. Les principales méthodes d'extraction sont :

- La distillation à vapeur saturée
- Entraînement à la vapeur
- L'hydrodiffusion
- L'expression à froid
- Extraction par solvants
- Hydrodistillation
- Extraction par les corps gras
- Extraction par micro- ondes

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quelque soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la figure[22].

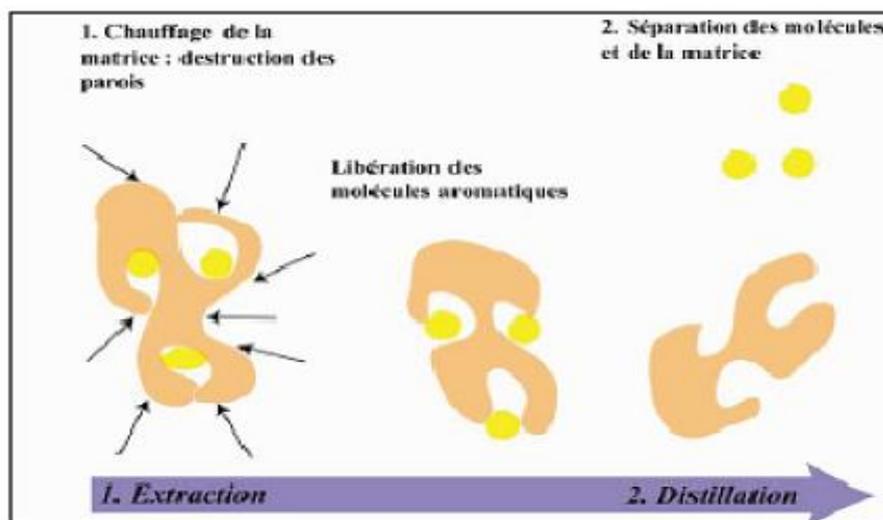


Fig.1: Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle.

1.9.1- Distillation à vapeur saturée

Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, il est placé sur une grille perforée

Au-dessus de la base de l'alambic. Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi.

La plus part des huiles essentielles sont obtenus par l'entraînement à la vapeur d'eau qui est applicable en générale à tous les essences qui ne sont pas sensiblement altérées par l'eau à 100°C°.

1.9.2-Entraînement à la vapeur

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la Vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe .

Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation[23].

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent
- au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont L'hydrodistillation , la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

I.9.3-Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale. La composition des produits obtenus est sensiblement différente au plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes.

L'industrie des parfums a utilisé jadis l'enflourage pour les organes fragiles comme les fleurs, c'est-à-dire le contact avec un corps gras qui se sature d'essence. Le corps gras est épuisé par l'alcool absolu et ce solvant est évaporé sous vide à 0°C

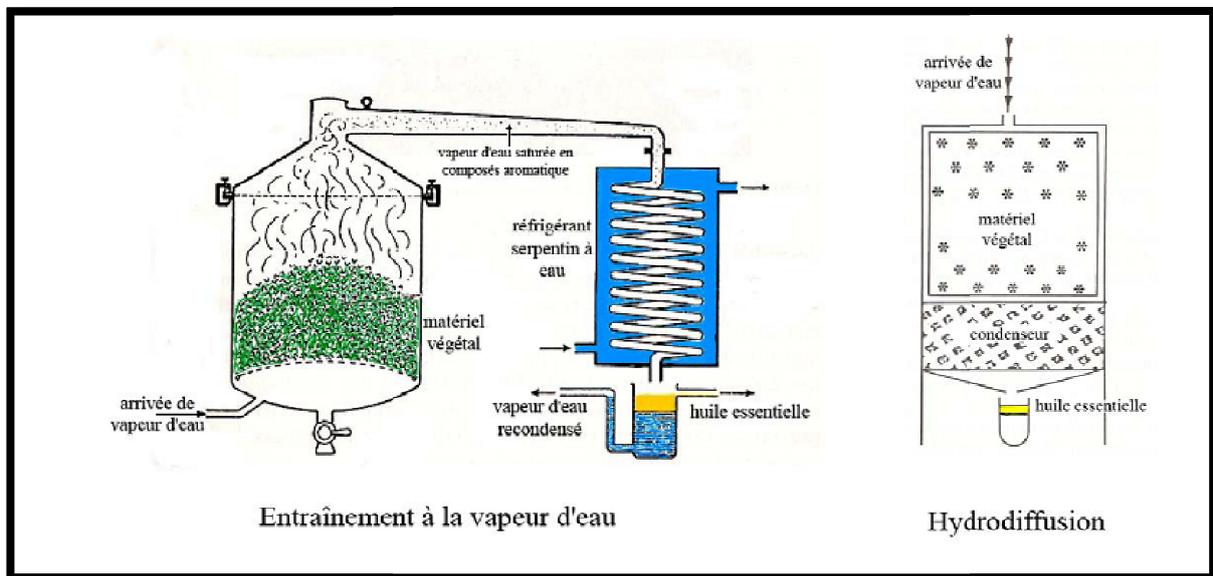


Fig.2 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante.

I. 9.4-L'expression à froid

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou Centrifugation.

D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

I.9.5- Hydrodistillation

La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité[24].

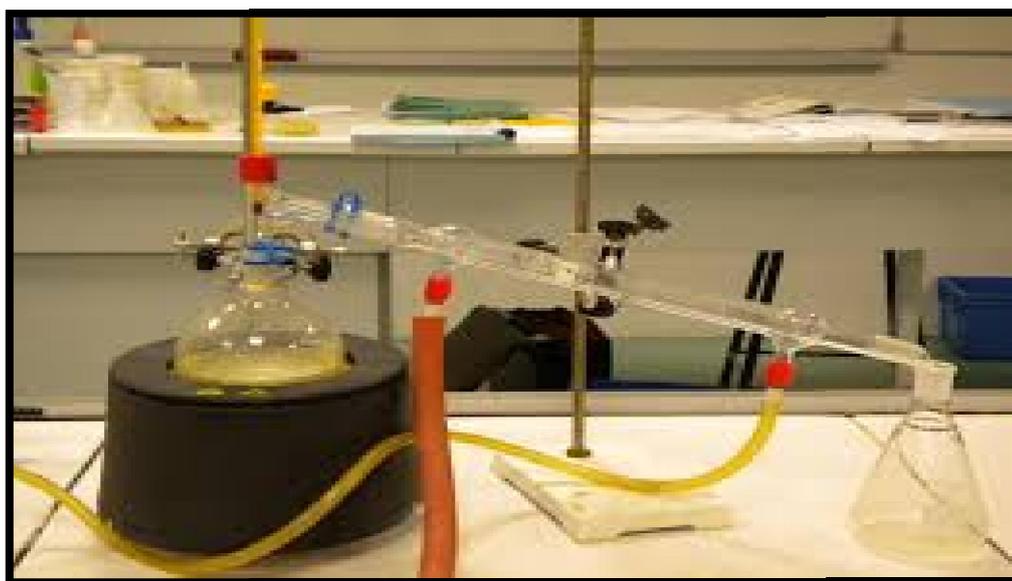


Fig .3: Extraction par hydrodistillation [24].

I.9.6- Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras.

Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite.

Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras[26].

I.9.7- Extraction par solvants volatils

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool.

L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure[26].

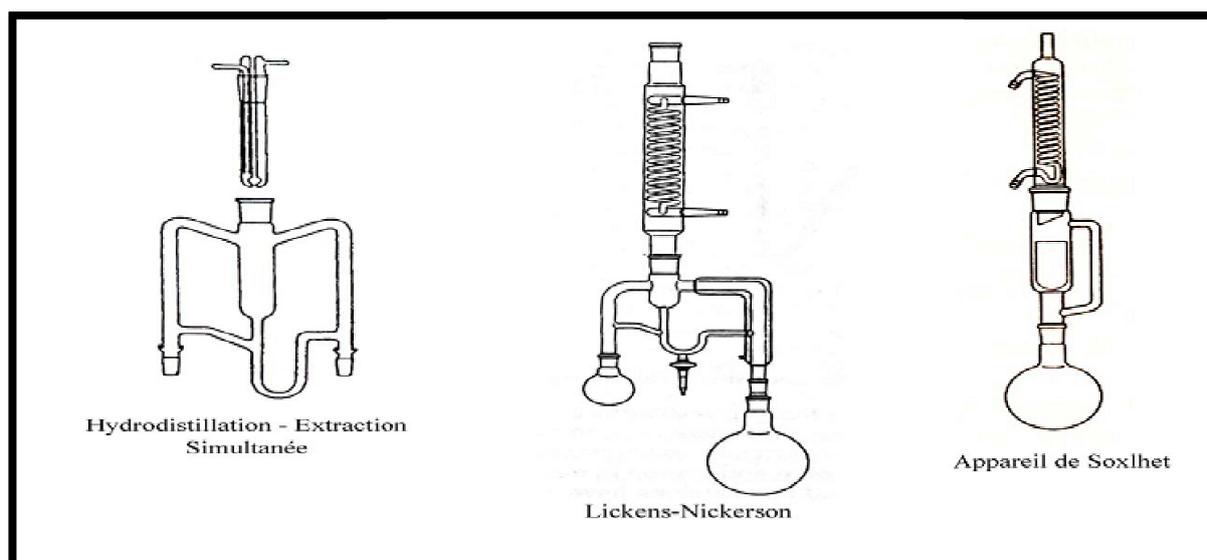


Fig .4: Les différents types d'extraction par solvants volatils.

I.9.8- Extraction par micro- ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (Vacuum Microwave Hydrodistillation) (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences.

Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon Séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche Entre brutalement en ébullition.

Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats.

Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel. [25,26]

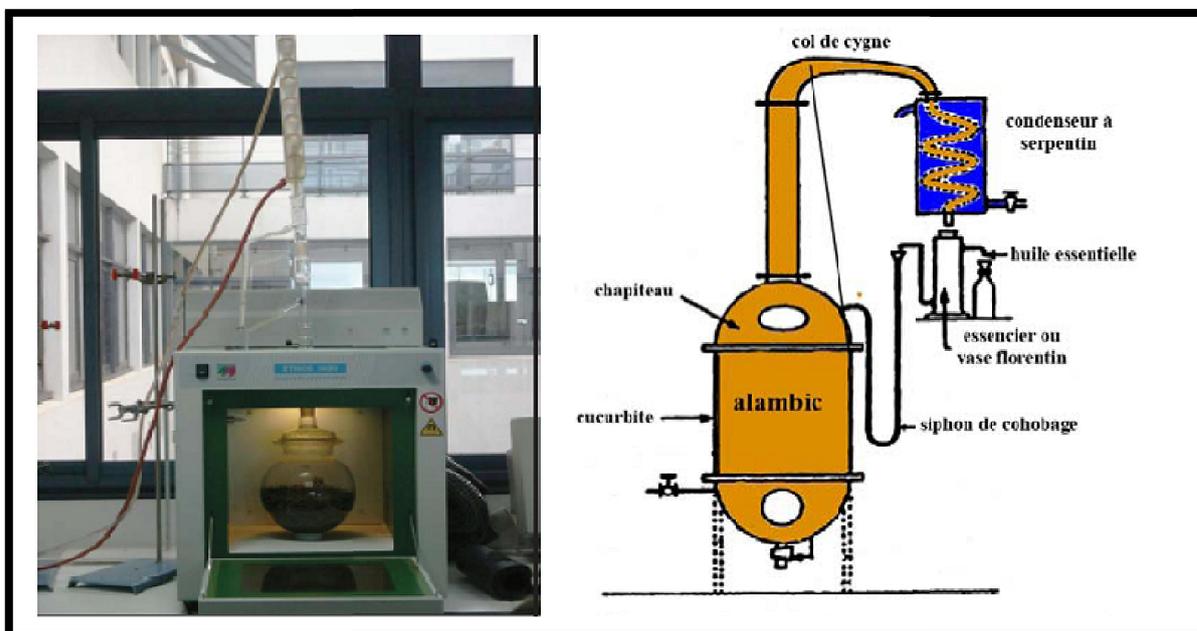


Fig.5 : Extraction par micro- ondes +L'hydro- distillation traditionnelle.

I.10-L'utilisation des huiles essentielles

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plants aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que : agroalimentaire, la parfumerie et cosmétique, pharmacie.

I.10.1- L'utilisation des huiles essentielles dans l'industrie agroalimentaire

Les vertus antiseptiques et en même en temps les propriétés aromatisant des essences s'utilisent quotidiennement dans les préparations culinaires avec le thym, ail, laurier...

Les essences aromatiques donnent aux condiments (poivre, gingembre, ...) et aux aromates (menthe, anis, ...) leur saveurs. Les arômes sont à base d'huiles essentielles (citron, anis vanille, ...) ainsi les essences d'anis et de badiane sont les principales sources d'éthanol naturel, composé utilisé en liquoristerie (fabrication des boissons anisées), et en confiserie (bonbons, chocolats, ...). De même la vanille sert à aromatiser les biscuits, les chocolats, les glaces.

Par ailleurs, le pouvoir antioxydant de certaines essences permet la conservation des Aliments en évitant les moisissures. C'est ainsi que le thym et le romarin sert à conserver la Semence.

Les menthes sont d'excellents condiments crus hachées dans les salades ou dans divers plats ou bien sous formes de sauce à la menthe pour aromatiser les crèmes et les flans.

Actuellement, l'industrie agroalimentaire utilise des essences dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaire qui se développent (effet antimicrobien).

I.10.2-L' utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une Consommation importante en parfumerie et en cosmétique.

Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles Essentielles dans les préparations dermo pharmacologique (bais «calmant»ou «relaxant»), et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. [6,24]

I.10.3-L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière : L'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc.). Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces

derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive.

Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt Médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du Médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules, pommade...etc.

I.11-Précautions d'emploi

- Ne jamais appliquer une huile essentielle pure sur la peau, les muqueuses ou autour des Yeux.
- Les huiles essentielles sont à éviter pour les femmes enceintes, les personnes âgées ou fragiles et les enfants de moins de 3 ans.
- Ne jamais utiliser d'huile essentielle par voie orale sans l'avis d'un aromathérapeute qualifié.
- Conserver les huiles essentielles hors de portée des enfants, certaines des HE sont des Poisons mortels en cas d'ingestion.
- En cas d'ingestion accidentelle, prendre 1 à 10 cuillerées d'huile végétale. Consultez un médecin.

I.12-Toxicité des huiles essentielles

Les Huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et toxiques.

La toxicité des huiles essentielles (principalement des cétones mono terpéniques) est connue depuis le siècle dernier.

L'automédication (dangereuse) est favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmacies ; au mépris d'une législation qui réserve la distribution de certains d'entre eux aux pharmaciens garantissant ainsi un contrôle rigoureux d'identité et de conformité. Egalement les huiles essentielles de Lamiaceae ; peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles ingérées à forte dose.

Les intoxications décrites sont généralement consécutives à un usage inconsidéré (exp. 5 ml de l'huile essentielle). La symptomatologie de ce type d'intoxication est marquée par des épisodes de convulsions de type épileptique, parfois accompagnée de cyanose et entrecoupée de phases hypotoniques et hyporéflexique.

Elle peut aussi comporter une perte de conscience. L'un des cas les plus récemment publiés révèle que 12 gouttes peuvent suffire pour induire une sensation de malaise rapidement suivie d'un épisode de convulsion tonic cloniques généralisées. La lipophile de ces huiles essentielles explique que leur toxicité peut se manifester aussi bien par voie orale que par voie rectale ou par voie transcutanée (exemple, avec des préparations pour bains).

Le menthol lui-même n'est pas sans danger la dose létale pour l'homme est estimée à 2g et la simple administration de solutions pour instillation nasale ou d'autres produits à base de menthol à jeun peut déclencher un spasme léthal de la glotte[25].

PARTIE EXPERIMENTALE

II.1- Noms vernaculaires

Nom arabe: Arâr lahmar,

Nom français: Genévrier de phoenicie, Genévrier rouge,

Nom anglais: Phoenician juniper.

II.1.1-Données phytochimique

Cette plante est riche en polyphénols, les huiles essentielles tel que α -Pinène, β -phellandrene, α -terpinyl acetate et myrceneet les diterpènes[27].

II.2- Description botanique

D'origine américaine, asiatique, africaine et européenne, le genre *juniperus* (cupressacées)comprend un grand nombre d'espèces [28]. plus soixante espèces répartis dans les zones tempérées et froides de l'hémisphère nord. Neuf croissent dans les région méditerranéenne et deux seulement y sont endémique [29] .le Genévrier vient de « genièvre », antérieurement « genièvre », issu du latin populaire *juniperus*, altération du latin classique *juniperus* qui désignant déjà ces arbustes chez les Romains, c'est ce dernier terme que les botanique ont repris pour nommer les Genévriers[30].

Juniperus phoenicea est un arbre ou arbrisseau qui avoir cinq à dix mètre de hauteur à feuilles persistantes, étroites, linéaires, épineuses ressemblant à des aiguilles.ses fleurs donnent des fruit improprement qualifiés de bais, globuleux et charnus [31] . cette plante a deux habitats principaux , les sables littoraux et les haut plateaux et montagne de l'intérieur .En Algérie , il trouve sa plus grande extension dans l'atlas saharien bordant le désert[32].



Fig .6 : les rameaux de *juniperus phoenicea*

II.3- classification

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Pinophyta
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae

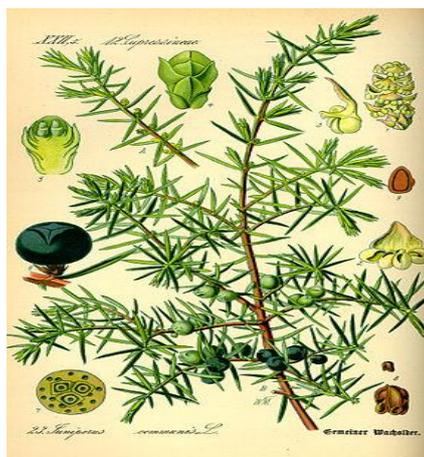


Tableau 2 : classification de *Juniperus phoenicea*

II.4- Etude phytochimique de *Juniperus phoenicea*

II.4.1--Composition chimique

La majorité des composants chimiques isolés des feuilles et des cônes (fruits) de *Juniperus phoenicea* sont des huiles volatiles [33]. Des études phytochimique antérieures de cette espèce ont montré que cette plante accumule des terpénoïdes, en particulier des monoterpène, sesquiterpènes et diterpènes Cette espèce ne comprend que de petites quantités de dérivés phénoliques : Bisflavones et Lignanes[34] . La même source a signalé la présence de phenylpropanes glycosides, juniperosides, rosarin et Skimmin et deux dérivés furanones glucosides. Stérol et hydrocarbures.

Ont démontré la présence de phoenicerosides : un pseudo dimères des deux furanones précédents, et apparition de phenylpropanes dérivé de la même espèce.

En Egypte ont identifié sept nouveaux composants diterpeniques extraits des fruit de *J.phoenicea* à l'éther et un stérol (2-sitosterol), ces diterpènes appartiennent aux groupes Labdane, Pimarane et Abietane.

II.4.1-Composition d'huile essentielle

L'analyse chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles séchées de *Juniperus phoenicea* .I récoltées de la région de Matmata (Tunisie) à permet l'indentification de vingt sept constituants, les

composés majoritaires sont : α -pinène (67.71%) accompagné de p-cymène (5.86%), β -phellandréne (2.21%) et α -acétate de terpényle (2.71%).

II.5- Activité biologique de *Juniperus phoenicea*.I

L'espèce *Juniperus phoenicea* est considérée comme une importante plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle. Les feuilles sont utilisées sous la forme de décoction pour traiter la diarrhée, les rhumatismes et les diabètes. Les branches de cette plante sont utilisées comme agent antiseptique et antispasmodiques [35]. Alors que plusieurs extraits et huiles essentielles montraient un certain nombre d'activités biologiques telles que antimicrobienne [36, 37], antifongique et antioxydant.

D'après les tests d'Aboul-Ela et al.(2005) les résultats ont montré un effet antihepatotoxique des extraits aqueux des baies de *Juniperus phoenicea* testés sur des rats. L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* a manifesté aussi un effet anti-appétant intéressant contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum* [36]. Le Genévrier est utilisé à l'état vapeur pour la bronchite et le contrôle de l'arthrite [38].

II.5.1- Activité antibactérienne

Diverses études ont été menées sur le pouvoir antibactérien de *Juniperus phoenicea*.I

Région	Souches utilisées	CMI	Zones d'inhibition
Algérie	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	10.3
	<i>Enterococcus faecalis</i> .	7	15.6
	<i>Escherichia coli</i>	-	9.6
Maroc	<i>Klebsiella pneumonia</i>	0.18	14
	<i>P. aeruginosa</i>	0.22	10
	<i>Streptococcus mutans</i>	0.40	8
Egypte	<i>Escherichia coli</i> .	12.34	20
	<i>Staphylococcus aureus</i> .	-	-
	<i>Bacillus cereus</i> .	12.34	0

Tableau 3 : Activité antibactérienne de *Juniperus phoenicea*.I, - : Pas d'activité. [39]

II.5.2-Activité antifongique

Région	Souches utilisés	Zones d'inhibition
Algérie	<i>Aspergillus flavus</i> .	40.6
	<i>Fusarium oxysporum</i>	47.1
	<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.0
Egypte	<i>Fusarium oxysporium</i>	-
	<i>Aspergillus niger</i>	20
	<i>Aspergilus flavus</i>	18

Tableau 4 : Activité antifongique de *Juniperus phoenicea*.I, - : Pas d'activité [39].

II.6- Variation géographique est systématique de *Juniperus phoenicea*.I

Juniperus phoenicea est une espèce qui se produit au Sud de l'Europe, Ouest d'Asie et le Nord Africain en Algérie (Cet arbre constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès) , au Maroc et Tunisie, également dans l'Est de Portugal jusqu'en Turquie et l'Egypte , dans les îles Canaries, et dans les montagnes de l'Ouest de l'Arabie Saoudite, mais il est plus fréquent dans la partie Ouest des régions méditerranéennes.

Juniperus phoenicea est une espèce qui appartient à la section *Sabina*, du genre *Juniperus*, c'est une espèce très variable, caractérisée par la présence de variations morphologiques, biochimiques et moléculaires, pour cette raison on distingue trois sous espèces [39].

II.7- Utilisations médicinales

Cette espèce est plus utilisée en médecine traditionnelle. Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction comme hypoglycémie anti -diarrhée et anti-rhumatisme et antiseptique et pour traiter les maladies broncho-pulmonaires, urinaires et d'estomac.

Les fruits peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès[40].

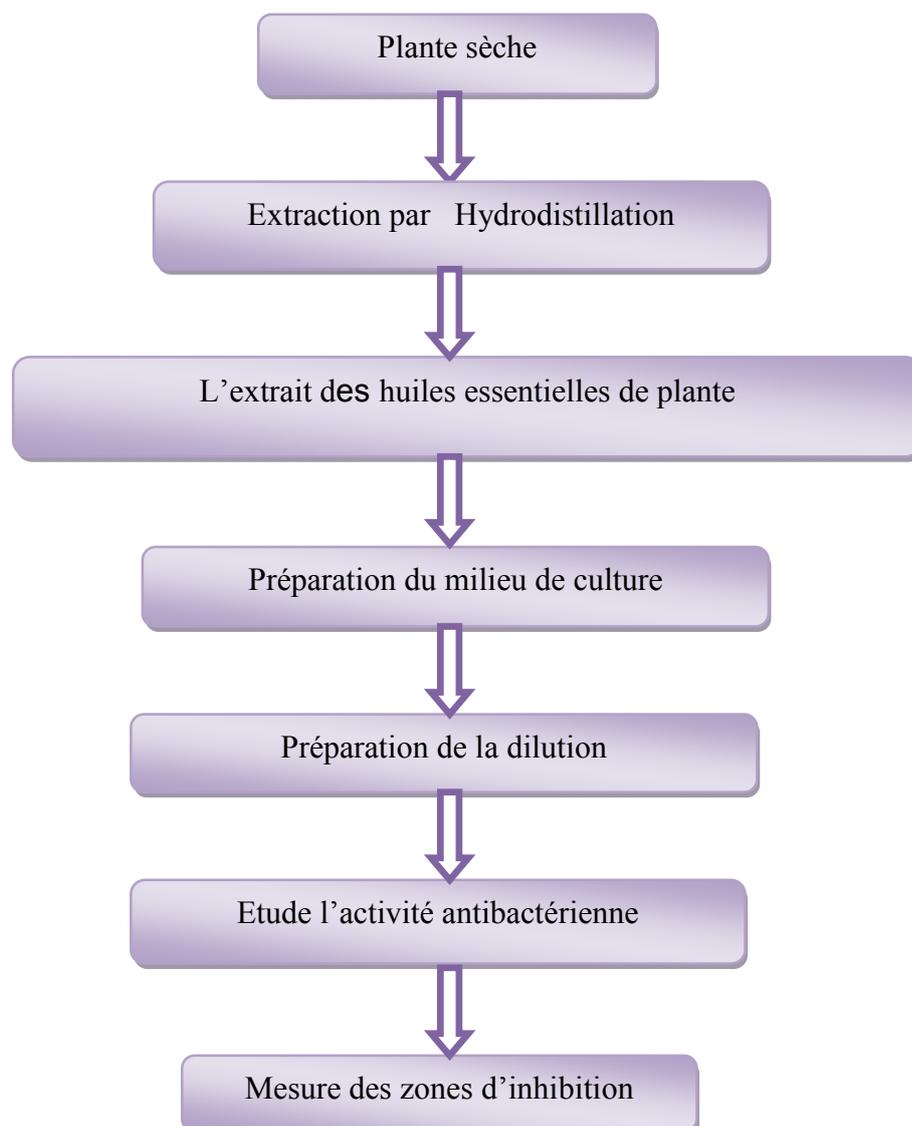
III.1-Cadre

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de recherche génie des procédés à la Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie à l'université de Mohamed khider Biskra Le laboratoire s'occupe de l'extraction des huiles essentielles et extraits végétaux des plantes aromatique ainsi que la détermination de l'activité biologique. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'obtention du Diplôme Master en génie chimique.

L'objectif de ce travail est la détermination des et l'activités antibactériennes d'huile essentielle d'*juniperus phoenicea*.l.

Le but est d'obtenir l'huile essentielle d'*juniperus phoenicea*.l par la méthode d'hydro distillation Et faire l'évaluation de l'activité antibactérienne.

Le schéma général adopté pour la réalisation de ce travail est résumé par la figure ci-dessous :



III.2- Matériel

III.2.1-Matériel végétal

La partie aérienne (de) plante « juniperus phoenicea.l »a été fraîchement récoltée au printemps 2015, séchée et bien conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

III.2.2-Matériel de laboratoire

- Une balance électronique sensible.
- Appareil d'hydrodistillation de type clevenger.
- L'étuve réglée à 37C°.
- Réfrigérateur.
- Autoclave.
- Flacons en verre teintés opaques (conservation des huiles essentielles) .
- Boites de pétri stériles.
- Tubes à essai stériles.
- Papiers wtaman (pour préparer les disques) .
- Pipette pasteur.
- Micropipette « 5µl ».
- Bec bunsen.
- Disques d'antibiotiques.
- Portoir de tubes à essais.
- Règle (pour mesurer le es diamètre des zones d'inhibitions) .
- écouvillon

III.2.2.1- Produit de laboratoire

- L'eau physiologique.
- DMSO (diméthylesulfoxyde).
- L'eau distillée.
- Ethanol (C₂H₅-OH).
- Chlorure du ferre FeCl₃.
- Chloroforme (CHCl₃).
- Acide acétique (CH₃COOH).
- Acide sulfurique (H₂SO₄).
- Hydroxyde d'ammonium (NH₄OH).
- Chlorure d'hydrogène (HCl).

III.2.2.2- Milieux de culture

- Gélose Mueller Hinton.
- Gélose Nutritive.

III.3- Les souches bactériennes testées

- *Escherichia coli* (ATCC25922) à gram négatif.
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) à gram négatif.
- *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) à gram positif.

III.3.1-Bactéries Gram négatif

Les bactéries Gram négatifs ont adopté une solution différente pour protéger leur membrane cytoplasmique, il fabriquent une structure particulière, la membrane externe, située à l'extérieur de la muréine la membrane externe est chimiquement distincte des autres membranes biologique, ce qui lui confère la capacité de résister aux agent chimiques nocifs, c'est une structure à deux feuillets mais le feuillet externe contient un composant unique en plus des phospholipides; il s'agit du lipopolysaccharide bactérien ou LPS, molécule complexe rencontrée uniquement chez les bactéries Gram (-)[41].

III.3.1.1-Escherichia coli (ATCC25922)

E. coli est une espèce commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Dans l'intestin, *E. coli* est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante, présente à raison de 10^9 corps bactériens par gramme de selles. Cette population bactérienne ne représente qu'environ 1 % de celle des anaérobies (voir encadré sur la flore du tube digestif). [42]

La recherche d'*E. Coli* dans l'eau d'alimentation (colimétrie) est fait pour apprécier sa potabilité. La présence d'*E. Coli* dans l'eau est le témoin d'une contamination fécale récente et la rend impropre à la consommation. [43]

III.3.1.2-Pseudomonas aeruginosa (ATCC27853)

Bacilles à Gram négatif, mobiles par une ciliature polaire, rarement immobiles, non Sporulés. Bactéries chimio- organotrophes avec un métabolisme strictement respiratoire avec comme accepteur terminal d'électrons l'oxygène en aérobiose et pour certaines espèces le nitrate en anaérobiose avec synthèse d'une nitrate- réductase (respiration des nitrates).

Oxydatifs ou inactifs dans l'épreuve de Hugh et Leifson. Presque toujours oxydase (+) c'est-à- dire possédant pour la plupart une chaîne cytochromique complète comprenant le cytochrome C et un cytochrome C oxydase. [44]

III.3.2-Bactéries à Gram positif

Les bactéries Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse, le composant majeur de la paroi est polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé Muréine ou peptidoglycane. La muréine est un composant essentiel qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité que ce soit chez les bactéries Gram positif ou chez la bactérie Gram Négatif. [41]

III.3.2.1-Staphylococcus aureus

Cocci à Gram positif, appartient à famille des micrococaceae, ubiquitaire qui retrouve dans le sol, l'air et l'eau, c'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme, on le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles et au niveau du périnée ou des aisselles. [45]

S.aureus résistante à plusieurs antibiotiques difficiles à traiter aux médicaments.[41]

Les Staphylococcus aureus produisent des toxines comme hémolysine, et les entérotoxines qui provoquent habituellement de vomissement et souvent la diarrhée Peu de temps après l'ingestion de nourriture contaminée. [46]

III.4- Méthodes

III.4.1- Les tests chimiques

les tests chimique sont effectués sur la poudre séchée de la plante . pour déterminer les différentes substance qu'elle contient. Ces test sont faits de la manière suivant :

III.4.1.1-Huiles essentielles

On met environ 10g de poudre sèche dans un appareil d'entraînement et à la vapeur on chauffe doucement pendant 4 à 5 heures, l'apparition d'une couche huileuse sur le distillat indique la présence des huiles essentielles.

III.4.1.2- tanins

On prend 10g du produit sec , on fait l'extraction avec l'alcool éthylique , on filtre, puis on teste le filtrat avec quelques gouttes de FeCl_3 . L'apparition d'une couleur verte indique la présence de tanins.

III.4.1.3-Cardénolides

Prendre 1g du produit sec, macérer dans 20 ml d'eau distillée puis filtrer, prélever 10ml du filtrat. Ce lui-ci est ensuite extraite avec un mélange de 10ml CHCl_3 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}(1 :1)$, évaporer la phase organique ,dissoudre le résidu dans 3ml d'acide acétique glacial, ajouter quelques gouttes de FeCl_3 suivi de 1ml d' H_2SO_4 .la présence de la couleur verte bleue dans la phase acide indique la présence des Cardénolides.

III.4.1.4- Saponosides

Prendre 2g produit sec, le chauffer dans 80 ml d'eau distillée , filtrer et refroidir la solution . Agiter le filtrat, l'apparition d'une mousse indique la présence des saponosides.

III.4.1.5-Stérols saturés et terpènes

Prendre environ 5g de produit, le dissoudre dans 20 ml de CHCl_3 et filtrer , ajouter au 1 ml du H_2SO_4 , avec précaution sur les parois du tube . le point de rencontre entre les deux phases donne une couleur verte qui indique la présence de stérols insaturés et des tri- terpènes.

III.4.1.6-Flavonoïdes

Macérer 10g du produit dans 150 ml d' HCl à 1% pendant une nuit , filtrer et procéder aux testes. Prendre 10 ml du filtrat, la rendre basique par NH_4OH . l'apparition de la couleur jaune claire indique la présence des flavonoïdes.

III.4.2- Extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle est extraite par la méthode d'hydro distillation d'un extracteur de type clevenger Cette technique pendant 4 à 5 h . 700g de juniperus phoenicea est introduites dans un ballon contenant de l'eau mise en chauffage, on monte un alambic

dans lequel on place la biomasse pesée. La vapeur d'eau traverse le matériel végétal en entraînant les produits volatils vers la colonne de condensation.

La vapeur condensée est le mélange d'eau et de l'huile essentielle. L'huile est séparée de l'eau par décantation.



Fig.7 : Extraction par hydrodistillation ce type clevenger

III.4.2.1- Calcul de rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extrait et le poids de la plante à traiter. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivant :

$$R \% = M_B / M_A * 100 \quad \text{ou} \quad R\% = \sum M_B / \sum M_A * 100$$

R% : Rendement en pourcentage %

M_B : masse de l'huile essentielle en g

M_A : messe initiale de matière végétal en g

III.4.2.2-Calcul de la densité

Elle constitue un point de repère important car sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE. la densité par l'expression suivant :

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

M_0 : la masse de flacon vide.

M_1 : la masse de flacon rempli d'eau distillée.

M_2 : la masse de flacon rempli d'HE.

III.5- L'aromatogramme

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Mueller Hinton, puis sont déposés à la surface du milieu. Ensuite ils ont été incubés et inversés à l'obscurité dans une étuve à une température de 37C ° durant 24 h.

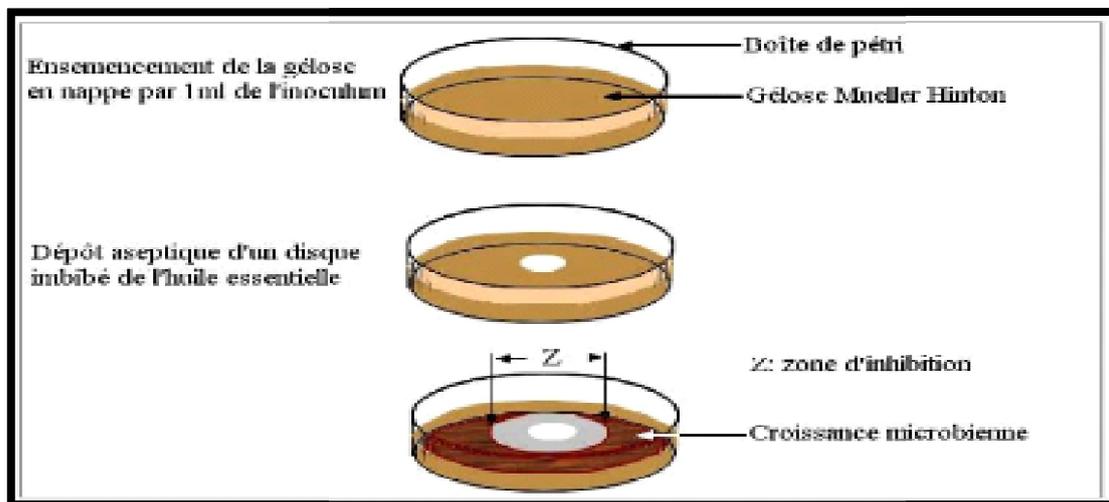


Fig.8 : schéma illustrant la méthode des aromatochromes

III.5.1-Préparation des disques

On utilise le papier Whatman coupé en 6mm, ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques, une fois préparés, sont introduits dans un flacon en verre et placés dans l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C.

III.5.2-Milieu de culture

La gélose Mueller Hinton est préparée en dissolvant 19g de poudre de gélose dans 500 ml d'eau distillé dans une Arlene placée sur un agitateur-plaque-chauffante.

gélose dissolue est versée dans des flacons puis stérilisé dans l'autoclave à 120 C° pendant 20 minutes, et enfin conservée dans le réfrigérateur à 4C°.

Avant utilisation la gélose Mueller Hinton. est fondu dans un bain marie à 95C°et coulé en boîte de pétrie sur une épaisseur de 2mm, les géloses sont pré-séchées avant l'emploi.

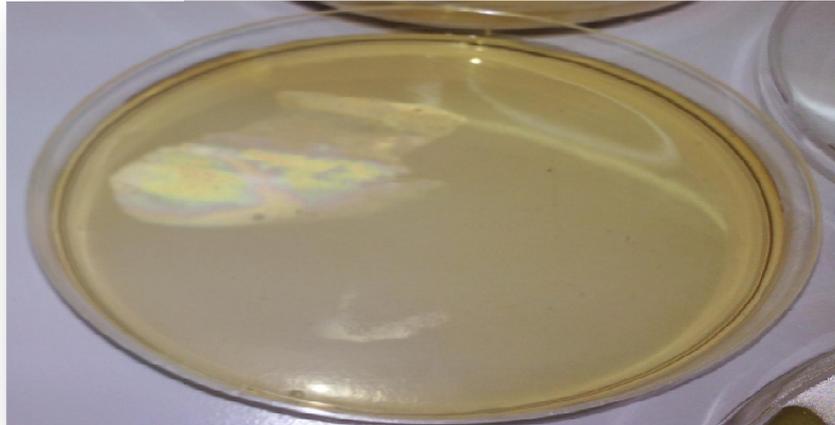


Fig .9 : Ecoulement du milieu de culture.

III.5.3-Préparation des dilutions

On préparé quatre dilution d'huile essentielle de concentrations déférentes : 1/2, 1 /4, 1/8,1/16 (v/v) dans diméthylesulfoxyde (DMSO).

concentration	HE pur (µl)	DMSO (µl)
1/2	500	500
1/4	250	500
1/8	125	500
1/16	62.5	500

Tableau.5 : préparation des dilutions.

III.5.4-Préparation de l'inoculum

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes (Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aenuginosa), on a préparé des suspensions microbiennes pour chaque espèce. A l'aide d'une pipette pasteur on prélève deux ou trois colonies pures

et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérilisée. L'enrichissement dure pendant 24 heures.

III.5.5- L'ensemencement

Cette opération doit se faire dans les 24 heures qui suivent la préparation de l'inoculum. On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Puis on fait flotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélifiée sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte de pétri d'un angle de 60° à chaque fois.

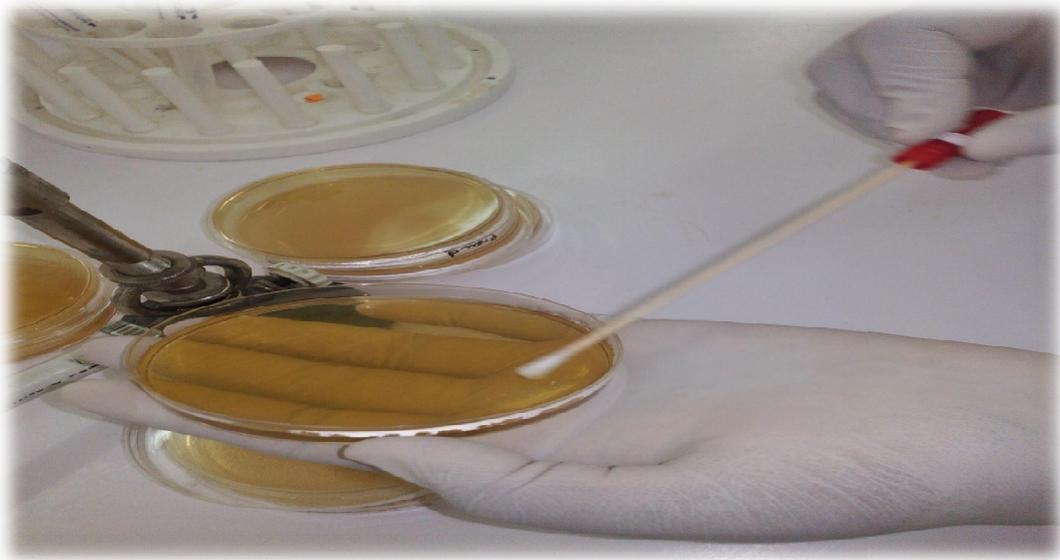


Fig .10 : Ensemencement bactérie.

III.5.6-L'application des disques

Pour les dilutions des huiles chaque boîte de pétri contenant 7 disques, 4 disques pour les dilutions préparés, 1 pour l'HE pur , 1 pour le DMSO " témoin négatif " et 1 pour l'antibiotique " témoin positif " .

A l'aide d'une micropipette on met sur chaque disque 5µl de chaque concentration différent dilution d'HE.

Après l'application immédiate des disques, les sont laissées pendant 20 minute à température ambiante pour la diffusion de l'huile dans la gélose puis on incube à 37C° pendant 24 h.

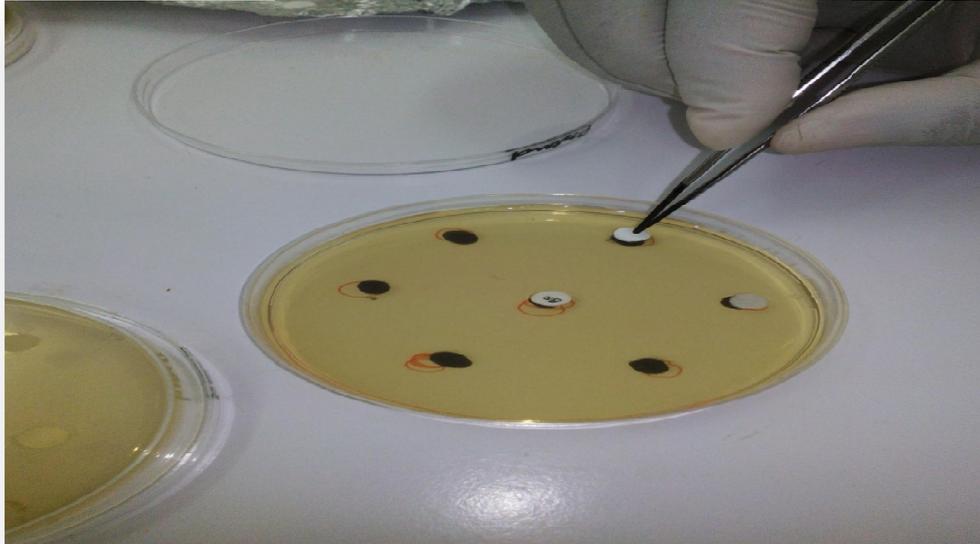


Fig .11 : L'application des disques.

III.5.7- Lecture

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'une règle, à l'extérieur de la boîte fermée.

- **Remarque**

Les essais sont répétés trois fois.

IV.1-Résultats

Les résultats obtenus au terme de ce modeste travail sont présentés en trois temps, d'abord l'opération de l'extraction ensuite ,les tests chimique , l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) de juniperus phoenicea .l.

IV.1.1- Résultats de l'extraction

On obtenu l'HE de juniperus phoenicea .l par hydrodistillation.

IV.1.1.1- Caractères organoleptique

L'huile essentielle obtenue possède les Caractères organoleptique tels qu'indiqués dans le tableau suivant .

La partie utilisée	Masse (prise d'essais)	Couleur	Odeur
La partie aérienne	700g	jaunâtre	juniperus

Tableau.6 : Caractères organoleptique de juniperus phoenicea .l

IV.1.1.2-Calcul du rendement

Nous avons utilisé 700 g de matière végétal, la masse d'huile essentielle obtenu après extraction égale 3.5g.

Le calcul du rendement R en % est alors effectué selon la formule et le résultat obtenu est dans notre cas :

$$R = 3.5 / 700 * 100 = 0.5\%$$

IV.1.1.3-Calcul de densité

Le calcul de densité est effectué selon la formule et résultat obtenu est :

$$d = 0.913$$

IV.2- Résultats des tests chimiques

Les tests chimique qui nous avons effectué , montrent l'existence des certains substances naturelle dans les juniperus phoenicea.l.

Principe actif	Résultats obtenus
Huiles essentielle	+
Tanins	+
Cardénolides	-
Saponosides	+
Stérols saturés et terpènes	-
Flavonoïdes	+

Tableau.7 : résultats des tests chimiques

IV.3- Résultats de l'aromatogramme

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de juniperus phoenicea.l se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par dilution des différent extraits autour des disque .

Pour l'évaluation du potentiel antibactérienne de notre extrait , on doit étudier les diamètre Des zones d'inhibitions.

Après le période de l'incubation on mesurer les diamètre des zones d'inhibitions autour les déférents disques.

Tableau .8: résultat de l'aromatogramme. (Diamètres des zones d'inhibition en cm de chaque dilution, l'ATB, DMSO, HE pur .)

Notes :(-) : pas d'inhibition, **DMSO** : témoin, **ATB** : antibiotique , **HE** : huile essentielle

Produit testés Souches bactérienne	Antibiotique Tétracycline (10mg /disc)	Témoin (DMSO)	HE (pur)	HE (1/2)	HE (1/4)	HE (1/8)	HE (1/16)
E. coli (ATCC25922)	1.7	–	–	0.6	0.7	–	0.8
	1.5	–	–	0.7	0.7	–	–
	1.4	–	–	0.9	0.8	–	0.9
Mayenne	1.53	–	–	0.73	0.73	–	0.85
Pseudomonas aenuginosa (ATCC27853)	1.6	–	–	0.9	0.8	–	–
	1.5	–	–	0.8	0.7	–	–
	1.6	–	–	0.9	0.7	0.7	0.8
Mayenne	1.56	–	–	0.86	0.73	0.7	0.8
Staphylococcus aureus (ATCC25923)	2.1	–	–	1	0.9	–	–
	2.5	–	–	0.7	1.1	–	–
	2.6	–	–	0.6	1	0.8	–
Mayenne	2.4	–	–	0.76	1	0.8	–

Selon l'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne donnée par Mutai et al ., 2009 les diamètres des zones d'inhibition(D) de la croissance microbienne sont classés en 5 classes

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 0.30\text{cm}$.
- Fortement inhibitrice : $0.21\text{cm} \leq D \leq 0.29\text{cm}$.
- Modérément inhibitrice : $0.16\text{cm} \leq D \leq 0.20\text{cm}$.
- Légèrement inhibitrice : $0.11\text{cm} \leq D \leq 0.16\text{cm}$.
- Nom inhibitrice : $D \leq 0.1\text{cm}$.

IV.4-Discussions

L'extraction de l'HE est obtenue avec un moyenne rendement qui est de 0.5% ce ci peut être attribué à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine du végétal étudié, son espèce, la période de récolte, la durée de séchage et peut être la technique d'extraction d'HE.

L'HE de *Juniperus phoenicea* a manifesté des caractéristiques antibactériennes très intéressantes vis-à-vis des micro-organismes *E. coli* et *P. aeruginosa*, par contre elle s'est avérée inefficace sur les micro-organismes *S. aureus*.

✚ *Escherichia coli* (ATCC25922)

L'observation a montré que les différentes dilutions d'HE de *Juniperus phoenicea* (1/2, 1/4, 1/16) ont induit des zones d'inhibition. À noter que les dilutions 1/2, 1/4 sont les plus efficaces vis-à-vis de cette souche, avec une zone d'inhibition dont le diamètre varie entre 0.73 et 0.85 cm (très fortement inhibitrice) et une égalité des diamètres entre les dilutions 1/2, 1/4. La dilution la moins efficace relativement aux trois autres.

Chez l'antibiotique, il a été observé une présence de zone d'inhibition dont le diamètre est de 1.53 cm (très fortement inhibitrice), par contre chez le DMSO (témoin), HE (pur) une absence de zone d'inhibition (non inhibitrice).

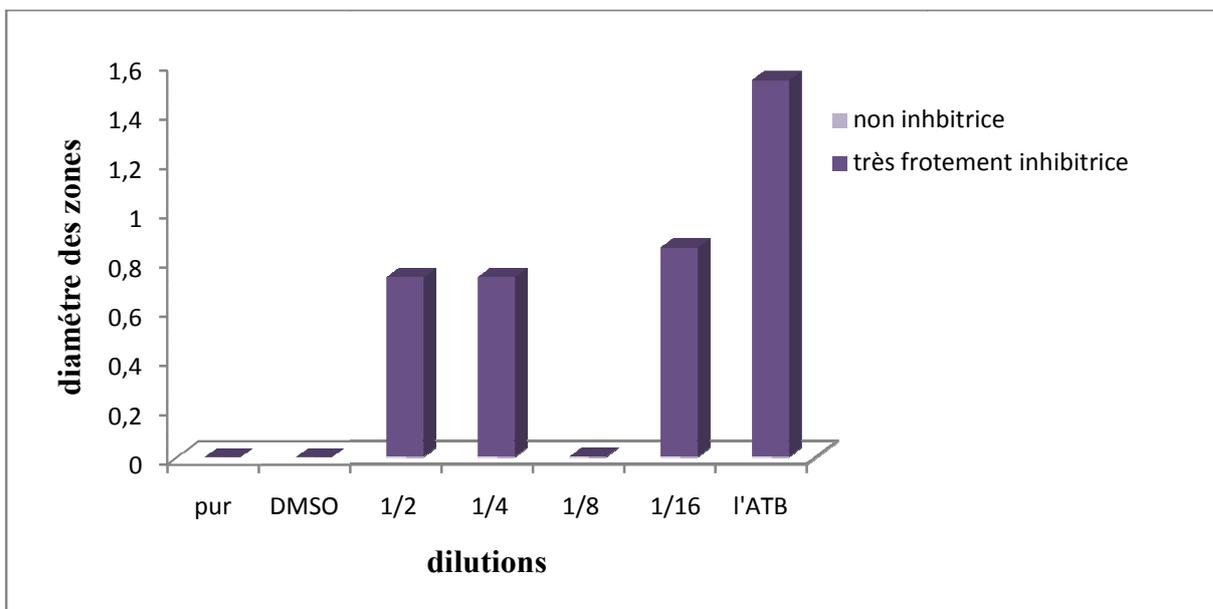


Fig.12 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en cm de *E. coli* par l'HE de *Juniperus phoenicea* à différentes dilutions.

✚ *Pseudomonas aenuginosa* (ATCC27853)

On utilise les mêmes solutions pour cette couche mais on observe des résultats semblables aux précédents. La plus efficace est les dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 avec des diamètres des zones d'inhibition égale 0.86, 0.73, 0.7, 0.8 cm (très fortement inhibitrice), par contre le DMSO et l'HE pur une absence de zone d'inhibition (non inhibitrice).

Chez l'antibiotique, il a été observé une présence de diamètre de zone d'inhibition égale 1.56 cm (très fortement inhibitrice) a été observée.

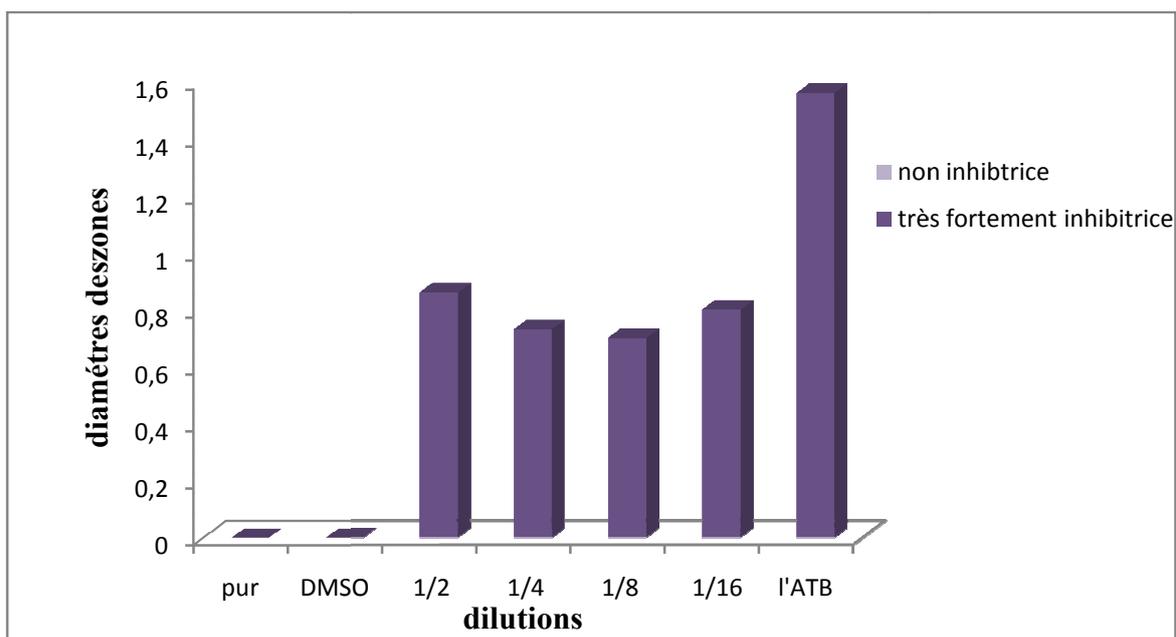


Fig.13 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en cm de *Pseudomonas aenuginosa* (ATCC27853) Par l'HE de *Juniperus phoenicea* à différentes dilutions.

✚ *Staphylococcus aureus* (ATCC25923)

On utilise les mêmes solutions pour cette souche mais on observe des résultats semblables aux précédents. La plus efficace est les dilutions 1/2, 1/4, 1/8 avec les diamètres des zones d'inhibition : 0.76, 1, 0.8 cm (très fortement inhibitrice). Mais les autres « DMSO, pur, 1/16 » une absence de zone d'inhibition (non inhibitrice).

Chez l'antibiotique, il a été observé une présence de diamètre de zone d'inhibition égale 2.4 cm (très fortement inhibitrice).

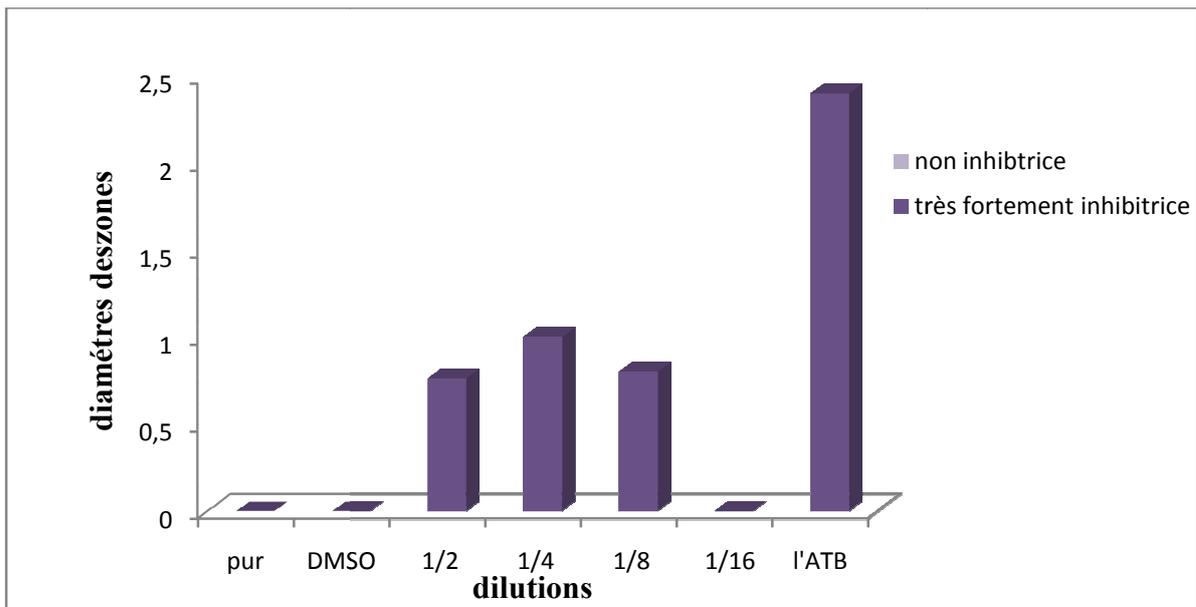


Fig.14 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition en cm de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) Par l'HE de *Juniperus phoenicea* à différentes dilutions.

D'après ces résultats, il se trouve que les échantillons testés (*E. coli* et *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) sont résistants à l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* pure mais sont sensibles par rapport aux dilutions, mais de façon moindre par rapport à l'antibiotique parce que ce dernier est à forte dose (les zones de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* égales 1,53, 1,56, 2,4 cm respectivement).

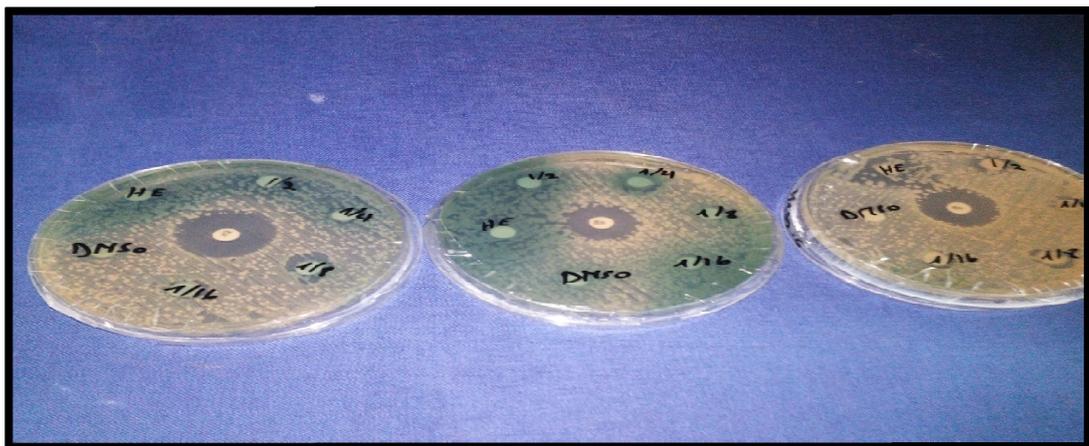


Fig.15 : zones d'inhibition des HE de *Juniperus phoenicea* vis-à-vis

S. aureus

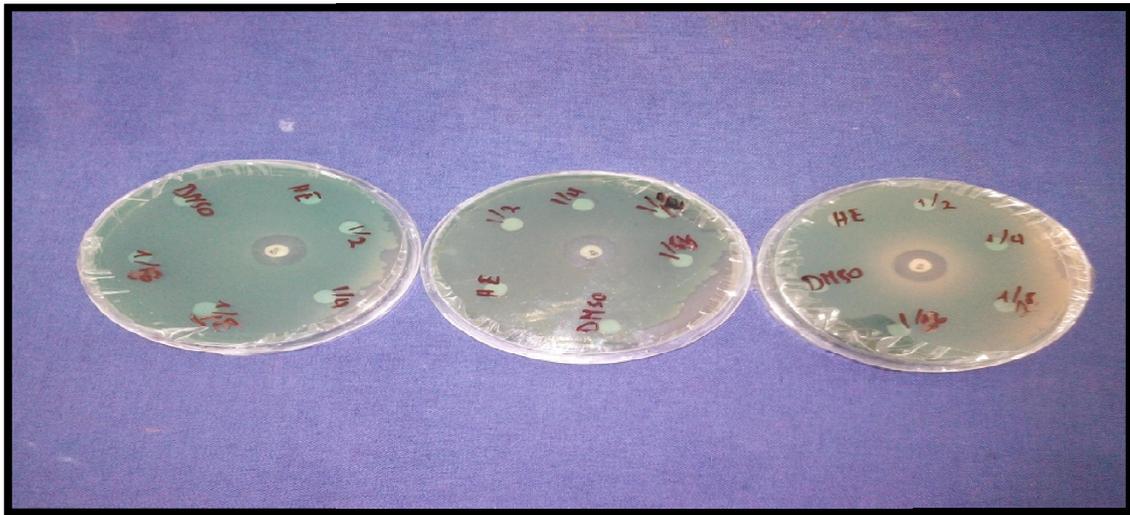


Fig.16 : zones d'inhibition des HE de *Juniperus phoenicea* .l vis- à -vis
P.aeruginosa

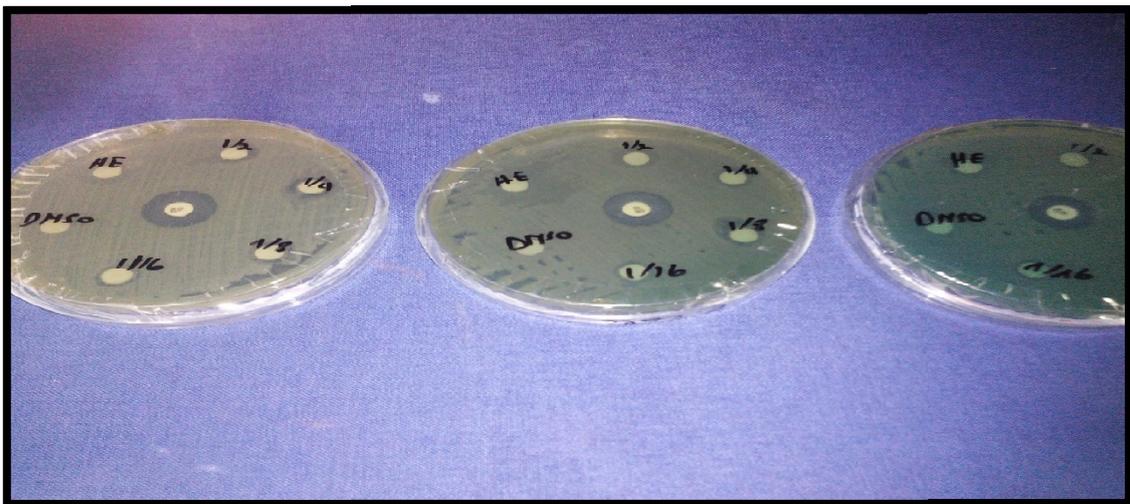


Fig.17 : zones d'inhibition des HE de *Juniperus phoenicea* .l vis- à -vis
E. coli

Conclusion générale

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remède contre plusieurs maladies, elles constituent une source naturelle de molécules chimiques telles que les métabolites secondaires qui représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes. Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes les rendant intéressants comme produits de remplacement des antibiotiques.

L'objectif assigné à ce travail est l'extraction des huiles essentielles de *juniperus phoenicea* L. ainsi l'étude de leurs effet antibactérien.

La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *juniperus phoenicea* L. était de 0.5%.

Les huiles essentielles de *juniperus phoenicea* L. ont été analysées selon la méthode standard AFNOR afin de déterminer les constantes physiques habituelles définissant l'huile essentielle extraite par hydrodistillation : densité relative, l'indice de réfraction, indice d'acide.

les résultats obtenues montre que la valeurs de la densité relative est égale à 0.921g/cm.

De même que l'activité biologique de l'huile du *juniperus phoenicea* L. donné un pouvoir antibactérien très important sur la souche *Staphylococcus aureus*.

A la base des résultats trouvés on peut prédire que nos huiles essentielles peuvent servir comme base de lutte biologique.

[1] yahyaoui n. extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de menthe spicata *Isurhizophora dominica* (f.) (coleoptera, bostrychidae) et *tribolium confusum* (duv.) (coleoptera, tenebrionidae). thèse de magister en sciences agronomiques, option écologie, ina, el-harrach, 2005.

[2] : european pharmacopoeia essential oils - aetherolea; 2008.

[3] : bruneton j , pharmacognosi «phytochimie plante »médicinales 3eme éd, tec et doc, paris 1999-pp 484-540.

[4] : bouamer a .bellaghit m.et mollay amera. étude comparative entre l'huile essentielle de la menthe verte et la menthe poivrée de la région de ouargla ; mémoire des. univ. ouargla, 2004 p 2-5; 10; 19; 21-22

[5] :patricia bechaalany, l'utilisation des huiles essentielles dans les affections inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. mémoire du diplôme ostéopathie animal ,european school of animal osteopathy .2005pp 10,11

[6] : belkou h, beyoud f.et taleb bahmed z, approche de la composition biochimique de la menthe verte (*mentha spicata* l) dans la région de ouargla ,mémoire des, univ ouargla.2005.pp 2,61.

[7] : benkada, isolation des huiles essentielles de la menthe *suaveolens* , ehrh (bous domrane) de la région de tlemcen et leur analyse par différentes méthodes chromatographique mise en évidence du composé majoritaire «la pulégone», thèse magister .univ . tlemcen, 1990, pp 42,76.

[8] : teisseire p.j. chimie des substances odorantes. tec et doc., lavoisier, paris, france.1991, 480 p

[9] : azalenko k. contribution à la détermination des chémotypes d'une plante à huile essentielle du togo: *lippia mutiflora* . mémoire d'ingénieur de travaux, estba, univ . lomé, 1995.

[10] : mme chouitah ourida . composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *glycyrrhiza glabra* thèse de doctorat –sciences (université d'oran) 2011-2012 ,p18.

[11] : charpentier, guide de préparateur pharmacie, ed, masson, paris france 1998 ; pp 1068- 1071,1242

- [12] : chacou m.et bassou k. efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *mentha spicata* lisdue de la région de ouargla sur quelques germes pathogenes : *e. coli* , *pseudomonas aeroginosa*, *staphylococcus aureus*, *bacillus subtiluis* et *candida albicans* mémoire de des microbiologie. université de kasdi merbah ouargla, 2007 p1427.
- [13] : ziming wang, lan ding, tiechun li, xin Zhoua, lu wanga, hanqi zhang, li liu, ying li, zhihong liu, hongju wang, hong zengb, hui h, 2005. *journal of hromatography a*, 1102 (2006) 11–17
- [14] : j. pellecuer, j.l.roussel c. andary. recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles, 1980. *rivista italiana essenzo (eppos)*. 23, 45-50.
- [15] : c. viollon. j.p. chaumont. antifungal properties of essential oils and their main components upon *cryptococcus neformans*, 1994. *mycopathologia*. 128(3), 151-153.
- [16] : j.p. chaumont. d. leger. propriétés antifongique de quelques phénols et des composes chimiquement très voisin. relation structure-activité, 1989. *plant med. phyto*.23 (2), 124-126.
- [17] : a. sivropoulou, e; papanikolaou, c. nikolaou, s. kokkini, t. lanaras and m. arsenakis. antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *j. agric. 1996. food chem.* 44, 1202-1205.
- [18]: a. agnihotri, s. khatoon. m. shanta. pharmacognostic evaluation of an antioxidant plant-*acorus calamus* linn 2003. *nat. prod. sci.* 9(4), 264-269.
- [19]: a. zambonelli., a.z. d'aurelio., a. severi., e. benvenuti., l. maggi., a. bianchi. chemical composition and fungicidal activity of comercial essential oils of *thymus vulgaris* l 2004. *j. essent oil res* 16(1), 69-74.
- [20]: d. zakarya; t. fathallah; m. chascrette. use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices 1993. *j. phys. org.chem.*6 (10), 574-582.
- [21] : bouanane n, boussehel n, contribution agro écologique aux essais d'introduction de la menthe poivré (*mentha piperata* l) dans la région de ouargla en vue de l'utilisation des ses huiles essentielles en thérapie; mém ing. univ. ouargla 2005-p22-23; 28
- [22]: guenter e. the essential oils vol ii, iii, iv,v, vi, d. van nost rand ed. new york usa1975.
- [23] : marie elisabeth lucchesi .extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles(2005)pp 17;23 ,52,

- [24]: das h. c. wang j. h et lien e. j. (1994) carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: a structure-system-activity relationship (ssar) analysis, page 133-136. in: jucker e ed. progress in drug research. basel: birkhauser verlag. h. c, et weaver g. m. 1972. cellulose thin-layer chromatography of phenolic substances. j. chromatogr. 67, 105-111.
- [25]: brian m.l the isolation of aromatic materials from plant products, r.j. reynolds tobacco company, winston-salem(usa),1995p.57148
- [26]: mompon b. quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction: co2, micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4ièmerencontre internationale de nyons,1994p. 149-166.
- [27]: tabacik c. et poisson c., 1971. diterpenes de juniperus phoenicea: constituants mineurs. phytochemistry , 10:1639-1645
- [28]: adams, r,p,a.f.barrero, a .lara.1996.comparisons of the leaf essential oils of juniperus phoenicea .l phoenicea subsp.eu mediterranea lebr.and j .phoenicea var. turbinata (guss) parl.journal of essential oil research 8:367-371.
- [29] : mhirit, o et p, blerot.1999.le grand livre de la forêt marocaine . editions mardage. bruxelles. belgique .p.80.
- [30]: couplan, f.2012.les plantes et leurs noms : histoires insolites .edition quae. france. pp.65-66. cox, s.d, c.m.manne, j.l.markham ,h.c.bell, j.e. gustafson, j.r. warmington, s.g.wyllie.2000. the mode of antimicrobial action of the essential oil of melaleuca alternifolia (tea tree oil) . journal of applied microbiology 88:170-175
- [31]: auclair, l.1993.le genévrier thurifère (juniperus thurifera) :géant de l'atlas. forêt méditerranéenne 14(4) :306-314
- [32]: white, f.1986.la végétation de l'afrique (the vegetation of africa). edition ird. paris. france. p.169.
- [33]: el –sawi, s.a, h.m.motawae, m.a. amal.2007.chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of juniperus phoenicea grown in egypt. african journal of traditional, complementary and alternative medicines 4(4):417-426.
- [34]:aboul-ela, m., n.el-shaer, t.a.el-azim.2005.chemical constituent and antihepatotoxic effect of the berries of juniperus phoenicea part ii .natural produc. sciences 11(4):240-247.

- [35]:bellakhder,j.1997.la pharmacopée marocaine traditionnelle. médecine arabe ancienne et savoirs populaires .edition ibis press.paris.p.272.
- [36]:bouzouita,n,f.kachouri,m.b.halima,m.m.chaabouni.2008.composition chimique et activités antioxydant, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de juniperus phoenicea .journal de la société chimique de tunisie 10 :119-125.
- [37]: mazari, k.,n.bendimerad, c.bekhechi and x.fernandez.2010.chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from algerian juniperus phoenicea .l and cupressus sempervirens.ljournal of medicinal plants research4 (10) : 959-964.
- [38]: derwich, e.,z.benziane,a.boukir .2010.chemical composition of leaf essential oil of juniperus phoenicea and evaluation of its antibacterial activity. international journal of agriculture and biology 12(2) : 199-204.
- [39] fouzi adjenadi(2011). mémoire online, contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (juniperus phoenicea): essai des huiles essentielles et composés phénoliques université a mira de bejaia algérie-master en biologie option biochimie appliquée .
- [40]: floc'h e., 1983.contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne, ed. publications scientifiques tunisiennes, 130-134.cité par hammiche et merad, 1997.
- [41]: escott, harlein, klein (2006).microbiology 2eme edition française, deboek, p: 2.guentere (1975).the essential oils vol ii, iii, iv, v, vi, and d. van no strand ed. new york usa.
- [42]:nauciele et vildej.l(2005).bactériologie médicale.2émeed. masson. paris .isbn: 2-294-018583.257p.
- [43]: jean-pierrededet(2006).la microbiologie de ses origines aux maladies émergents.isbn978-26106-b, p213-245.
- [44]: judd et al(2002).botanique systématique une perspective phylogénétique .pp84-87 fernandez-lopez et al (2005).antioxydant and antibacterial activites of natural extracts: application in beef meatballs. meat science.p.69:371-380

[45]: balentine et al (2006).the pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. meat science.73, p.413-421

[46]: belakhdar, j (1997) .la pharmacopée marocaine traditionnelle. idis press (ed). paris, p. 764

المخلص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو استخلاص الزيوت الأساسية من نبات العرعر، وتقييم فعاليتها ضد البكتيريا المسببة للأمراض. تم استخلاص الزيوت الأساسية عن طريق التقطير البخار من نوع Clevenger. بينت النتائج المتحصل عليها أن المردود قدر بنسبة 0.5%.

وقد أثبتت التطبيقات التي تم إجراؤها على *Escherichia coli*, *Staphylococcus* و *Pseudomonas aenuginosa* أن الزيوت الأساسية لنبات العرعر لها فاعلية ضد هذه البكتيريا.

الكلمات المفاتيح : العرعر , الزيت الأساسي, نشاط البكتيريا .

RÉSUMÉ

L'objectif principal de ce travail est l'extraction des huiles essentielles, et l'évaluation de leur activité vis-à-vis des bactéries pathogènes.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation de type clevenger. les résultats obtenus montre que le rendement en HE est de l'ordre de 0.5% .

Les applications réalisées sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Pseudomonas aenuginosa* nous ont démontré que les huiles essentielles du *juniperus phoenicea* L. sont doués d'une activité inhibitrice sur ces pathogènes.

Mots clefs : juniperus phoenicea.l, huile essentielle, activité antibactérienne.

ABSTRACT

The main objective of this work is the extraction of essential oils, and evaluation of their activity against pathogenic bacteria.

The extraction was carried out by steam distillation of Clevenger type. the results obtained shows that the average yield of essential oil of the essentials oils is in the order of 0.5%.

the study of the activity on *Escherichia coli*, *Staphylococcus* and *Pseudomonas aenuginosa* have demonstrated that essential oils of *juniperus phoenicea* L .

are endowed with inhibitory activity against these bacteria.

Key words: *juniperus phoenicea* L., essential oil , antibacterial activity .