

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE RELIZANE
FACULTE DES SCIENCES ET DE LA NATURE DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MESTER EN:
MICROBIOLOGIE ET CONTROLE DE QUALITE

Intitulé

**Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'huile
essentielle de *Tetraclinis articulata***

Présenté par :

Mr: ASSAL Abdelkader

Mlle: BESSEGHIER Nour El Houda

Mlle: CHETOUANE Fatima Zohra

Devant les membres de jury :

Président (e) : BACHIR BOUIADJRA M.A.	Maître de conférence(A)	(U.Relizane)
Examineur : Dr DJELLOULI M.	Maître de conférence(A)	(U.Relizane)
Encadreur : Dr SI MOHAMMED A.	Maître de conférence(A)	(U.Relizane)

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Je tiens, en premier lieu, à exprimer ma profonde gratitude à Dieu, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je souhaite adresser mes sincères remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué au bon déroulement de ce mémoire de fin d'études.

Mes remerciements les plus distingués vont à Dr SI MOHAMMED A., mon encadrant, pour sa confiance, son accompagnement rigoureux et ses précieux conseils tout au long de ce travail.

Je remercie également Dr DJELLOULI M. d'avoir accepté d'examiner ce mémoire, ainsi que M. BACHIR BOUIADJRA M.A. pour l'honneur qu'il m'a fait en présidant le jury de soutenance.

J'adresse également mes remerciements à l'ensemble du corps enseignant de la Faculté des Sciences et de la Technologie, pour la qualité de leur encadrement, leur rigueur pédagogique et leur engagement constant tout au long de ma formation.

Toute souhaite enfin exprimer ma reconnaissance au personnel administratif de la faculté, pour leur disponibilité, leur professionnalisme et leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Dédicace

*À ma mère, pour son amour, pour l'énergie et pour les sacrifices
qu'elle dispensé pour nous.*

*À mon père, auprès duquel j'ai toujours trouvé de la quiétude, de la
compréhension et surtout du soutien et de l'accompagnement tout au
long de mes études. Trouve à travers ce modeste travail, la
récompense de ton affection et de tes sacrifices, que le DIEU le tout
puissant t'accepte dans son paradis éternel. « Amen ».*

À mes frères et ma sœur pour leur encouragement constant.

Je remercie chaleureusement mes amies pour leur présence précieuse.

*Enfin, je suis redevable à mes professeurs pour leurs précieux
enseignements et leurs conseils avisés.*

NOUR EL HOUDA

Dédicace

Au nom de Dieu, Clément et Miséricordieux Je dédie ce modeste travail à : À mes chers parents, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leur soutien indéfectible et leurs sages conseils. Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude. Que Dieu leur accorde santé, bonheur et longue vie.

À mes frères et sœurs, modèles de persévérance, de courage et de générosité, qui ont toujours été à mes côtés.

À toute la famille CHETOUANE et la famille BETTIR, pour leur affection, leur présence bienveillante et leur soutien constant.

À tous les étudiants de ma promotion, avec qui j'ai partagé des moments inoubliables, de travail et de solidarité.

À mes chers amis, qui embellissent mon quotidien par leur amitié et leur soutien. Et à toutes les personnes, de près ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

FATIMA ZOHRA

Dédicace

*À ma famille, pour leur soutien constant et leur confiance.
À mes amis, pour leur encouragement et leur présence.
À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.*

ABDELKADER

Résumé

La flore algérienne, riche en espèces médicinales, représente une source prometteuse de métabolites secondaires. Ce mémoire se concentre sur l'étude des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Thuya de Berbérie), une espèce réputée pour sa richesse en composés bioactifs. Une étude phytochimique approfondie a révélé la présence significative de polyphénols totaux, de flavonoïdes, de tanins et d'huiles essentielles. L'évaluation des activités biologiques de ces extraits a démontré des propriétés antioxydantes et antifongiques remarquables, corroborant son usage traditionnel. Les résultats obtenus confirment le potentiel de *Tetraclinis articulata* pour des applications biotechnologiques dans les secteurs pharmaceutique et cosmétique, ouvrant ainsi des perspectives intéressantes pour sa valorisation économique.

Mots clé: Tetraclinis articulata (Thuya de Berbérie), Polyphénols, Flavonoïdes, Activité antioxydante, Activité antifongique

Abstract

Algerian flora, rich in medicinal species, represents a promising source of secondary metabolites. This thesis focuses on the study of the leaves of *Tetraclinis articulata* (Sandarac or Barbary Thuya), a species renowned for its richness in bioactive compounds. An in-depth phytochemical study revealed a significant presence of total polyphenols, flavonoids, tannins, and essential oils. The evaluation of the biological activities of these extracts demonstrated remarkable antioxidant and antifungal properties, corroborating its traditional use. The obtained results confirm the potential of *Tetraclinis articulata* for biotechnological applications in the pharmaceutical and cosmetic sectors, thus opening interesting prospects for its economic valorization.

Keywords: Arar tree (Berber thuya), Polyphenols, Flavonoids, Antioxidant activity, Antifungal activity

الملخص

يُعدُّ التنوّع النباتي الجزائري، الغني بالأنواع الطبية، مصدرًا واعدًا للمركّبات الثانوية. يركّز هذا البحث على دراسة أوراق العرعار البربري، وهو نبات معروف بغناه بالمركّبات النشطة بيولوجيًا. وقد كشفت الدراسة الفيتوكيميائية الشاملة عن احتوائه على كميات معتبرة والزيوت الأساسية. كما أظهر، (العفص التانيات) (من الفينولات الكلية، والفلافونويدات، و التقييم البيولوجي لمستخلصاته خصائص فعّالة مضادّة للأكسدة ومضادّة للفطريات، مما يعزّز استخدامه في الطب التقليدي. وتؤكّد النتائج المتحصّل عليها الإمكانيات الكبيرة لـ العرعار البربري في التطبيقات البيوتكنولوجية، ولا سيّما في المجالين الصيدلاني والتجميلي، بما يفتح آفاقًا واعدة لزيادة قيمته الاقتصادية.

الكلمات المفتاحية

العرعار البربري، متعددات الفينول، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للفطريات

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition chimique de certaines essences de <i>T. articulata</i>	22
Tableau 2: Sites de récolte des plantes étudiées.	38
Tableau 3: la gamme d'étalon d'acide gallique.....	44
Tableau 4: La gamme d'étalon de la quercétine.....	45
Tableau 5: la gamme étalon de la catéchine.....	47
Tableau 6: propriétés organoleptiques d'huile essentielle de <i>Tetraclinis articulata</i>	53
Tableau 7: rendement en huile essentielle pour la plante étudiée (rapport eau/matière végétal des extraction).....	54
Tableau 8: Les résultats obtenus après l'application des différentes concentrations de l'HE.....	55

Liste des figures

Figure 1: Ecorce de thuya. (TOUENTI et al, 2019).....	21
Figure 2 : Les aiguilles de thuya (BENCHAIB et al, 2019).....	21
Figure 3: Les cônes de thuya (TOUENTI et BENCHAIB 2021).....	22
Figure 4: Structure de quelques terpènes.....	27
Figure 5: Stucture de quelques terpénoïdes	27
Figure 6: Structures de quelques composés aromatiques	28
Figure 7: entraînement à la vapeur d'eau (Fadi,2011)	30
Figure 8: l'hydrodiffusion (Fadi,2011)	31
Figure 9: Extraction par hydro distillation.....	31
Figure 10: Feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i>	37
Figure 11: Extraction des HEs par hydrodistillateur de type clevenger	39
Figure 12: Boîtes souches à partir desquelles le repiquage a été effectué.	41
Figure 13: le dépôt du disque au centre de la boîte de pétri.	42
Figure 14: La méthode de la mesure des diamètres D1et D2	42
Figure 15: les échantillons de la gamme d'étalon d'acide gallique pour le dosage polyphénols totaux	44
Figure 16: Échantillons de la gamme quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	46
Figure 17: La gamme d'étalon de catéchine pour le dosage des tannins.....	47
Figure 18: L'effet de L'HE de <i>Tetraclinis articulata</i> sur la souche <i>Fusarium</i>	56
Figure 19: L'effet de L'HE de <i>Tetraclinis articulata</i> sur la souche <i>Fusarium</i>	56
Figure 20: L'effet de L'HE de <i>Tetraclinis articulata</i> sur la souche <i>Fusarium</i>	56
Figure 21: la courbe d'étalon d'acide gallique	57
Figure 22: Teneur en polyphénols totaux.....	58
Figure 23: La courbe d'étalon de quercétine	59
Figure 24: Teneur en flavonoïdes	60
Figure 25: la courbe d'étalon de catéchine	61
Figure 26: Teneur en tanins	62
Figure 27: Inhibition du DPPH par HE de <i>Tetraclinis articulata</i>	63
Figure 28: Inhibition du DPPH par la vitamine C.	64
Figure 29: IC50 de la Vit C et l'HE de <i>Tetraclinis articulata</i>	64
Figure 30: la courbe d'étalon de vitamine C pour le test FRAP.....	66
Figure 31: Capacité réductrice de <i>Tetraclinis articulata</i>	66

Liste de Abréviations

CI₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test antioxydant)

FeCl₃ : Chlorure ferrique

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power (test antioxydant)

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse – Spectrométrie de masse

HE: Huile essentielle

MeOH : Méthanol

T. articulata : *Tetraclinis articulata*

TLC : Chromatographie sur couche mince

UV : Ultra-violet

C₅H₈ : Isoprène (unité de base des terpènes)

C₁₀H₁₆ : Monoterpène (2 unités isoprènes)

C₁₅H₂₄ : Sesquiterpène (3 unités isoprènes)

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide hétéropolyphosphotungstique (catalyseur de type HPA)

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), radical cation utilisé pour tester la capacité de piégeage des radicaux

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity, test quantifiant la capacité d'absorption des radicaux oxygénés

Table des matières

Remerciements	I
Dédicace.....	II
Dédicace	III
Dédicace	IV
Résumé	V
Abstract	VI
تلخيص	Error! Bookmark not defined.
Liste des tableaux	VIII
Liste des figures	IX
Liste de Abréviations.....	X
Introduction.....	XV
Chapitre I : Généralités sur la plante	16
I.1 Définition	17
I.2 Classification	17
I.3 Etymologie	17
I.4 Ecologie	18
I.4.1 Conditions climatiques.....	18
I.4.2 Conditions édaphiques	19
I.4.3 Altitude.....	19
I.5 Répartition géographique	19
I.6 Description botanique.....	20
I.6.1 L'écorce.....	21
I.6.2 Les feuilles	21
I.6.3 Les fleurs.....	22
I.6.4 Les fruits.....	22
I.7 Composition chimique de la plante	22
I.8 Usage thérapeutique de Tetraclinis articulata	23
I.8.1 Autres utilisations.....	24
Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles	25
II.1 Définition	26
II.2 Localisation des huiles essentielles.....	26
II.3 La composition chimique des huiles essentielles.....	26
II.4 Propriétés physico- chimiques des huiles essentielles	28

II.5 Mode d'obtention des huiles essentielles	29
II.5.1 Techniques classiques	29
II.5.1.1 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	29
II.5.1.2 Extraction par hydrodiffusion	30
II.5.1.3 Hydro-distillation	31
II.5.2 Expression à froid	32
II.6 La conservation des HE	32
II.7 Le rôle des huiles essentielles	32
II.8 Les activités biologiques des huiles essentielles	32
II.8.1 Activités antioxydantes	33
II.8.2 Activité antibactérienne	33
II.8.3 L'activité antifongique	34
Chapitre III : Matériel et méthode	36
III.1 Objectif de ce travail	37
III.2 Matériel Végétal	37
III.3 Extraction des Huiles Essentielles	38
III.4 Analyse des Huiles Essentielles	40
III.5 Le matériel fongique	40
III.6 Test in vitro de l'activité antifongique	40
III.7 Evaluation de la croissance mycélienne	41
III.8 Dosages des composés bio actifs	43
III.8.1 Dosages des polyphénols totaux	43
III.8.2 Dosage des flavonoïdes	45
III.8.3 Dosage des tanins condensés	46
III.9 Evaluation des activités biologiques	48
III.9.1 Activités antioxydantes	48
III.9.2 Test au DPPH	48
III.9.3 Test de FRAP	50
Chapitre IV : Résultats et discussion	52
IV.1 Examen organoleptique	53
IV.2 Rendement d'extraction	53
IV.3 Test in vitro de l'activité antifongique	54
IV.4 Dosage des polyphénols totaux	57
IV.5 Dosage des flavonoïdes	59
IV.6 Dosage des tanins condensés	61
IV.7 Évaluation de l'activité antioxydante	62
IV.7.1 Test de DPPH	62

IV.7.2 Test FRAP	65
Conclusion.....	67
Références bibliographiques	69

Introduction

Dans un contexte mondial marqué par la recrudescence des résistances microbiennes aux antibiotiques classiques, la recherche de nouvelles alternatives thérapeutiques s'impose comme une nécessité urgente. Parmi les pistes les plus prometteuses figure l'exploration du potentiel des plantes médicinales, riches en composés bioactifs, notamment les huiles essentielles.

La flore algérienne, de par sa diversité et sa richesse, constitue une source précieuse de plantes médicinales peu ou pas encore étudiées. *Tetraclinis articulata*, communément appelée « thuya de Berbérie » ou « Araar », est une espèce endémique du bassin méditerranéen, largement répandue dans certaines régions de l'Algérie. Utilisée traditionnellement pour ses vertus thérapeutiques, cette plante appartient à la famille des Cupressaceae et renferme des huiles essentielles aux propriétés potentiellement intéressantes sur le plan médical.

Ce travail de recherche vise à évaluer l'activité antimicrobienne et l'activité antifongique des huiles essentielles extraites de *Tetraclinis articulata*. À travers une approche expérimentale, nous tenterons de mettre en évidence l'efficacité de ces composés naturels contre différentes souches bactériennes et fongiques, et de déterminer leur spectre d'action.

L'étude des extraits de cette plante pourrait permettre de confirmer scientifiquement ses usages traditionnels, et surtout de contribuer au développement de nouveaux agents naturels capables de lutter contre les infections microbiennes, notamment dans un contexte de résistance croissante. Ce travail s'inscrit donc dans une démarche d'exploration des ressources végétales algériennes en vue de valoriser leur potentiel thérapeutique et de promouvoir une médecine alternative durable.

Chapitre I : Généralités sur la plante

I.1 Définition

Le Thuya de Berbérie « *Tetraclinis articulata* », espèce résineuse, de la famille des Cupressacées, encore porte l'appellation de Thuya articulé, est un arbre de 5-15m de hauteur (Tassin, 2012).

Cette plante est particulièrement répandue dans le nord de l'Afrique, notamment au Maroc, en Algérie et en Tunisie, où elle joue un rôle écologique important dans la stabilisation des sols et la lutte contre la désertification (Sahki, 1996; Farjon, 2010).

Elle est principalement exploitée pour son bois odorant, sa résine (sandaraque), et pour les propriétés biologiques de ses extraits, notamment de son huile essentielle (Farjon, 2010 ; Benabdelkader *et al.*, 2012).

I.2 Classification

Le Thuya de Berbérie appartient à la famille des Cupressaceae et au genre *Tetraclinis* qui ne comprend qu'une seule espèce *T. articulata*, selon (Fralish, 2002 ; Barrero *et al.*, 2003) Le Thuya de Berbérie appartient au :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Gymnospermes

Classe : Pinopsida

Ordre : Pinales

Famille : Cupressaceae

Genre : *Tetraclinis*

Espèce : *Tetraclinis articulata*

I.3 Etymologie

Tetraclinis articulata a plusieurs noms à travers le monde

- Nom commun (France) : Thuya de Berbérie, Thuya articulé, Thuya d'Algérie, Sandarac (Bärtels, 1998 ; Brosse, 2004 ; Farjo, 2010).

- Nom Arabe : Aaraar 'عرعار' Sandarus 'منضروس' Araar berboush 'بربوش' عرار (Abi Faraj, 2005 ; Baba-Aissa, 2011).
Shajarat-el-hayat 'الحياة شجرة'
- Nom Latin : *Tetraclinis articulata* (Farjo, 2010 ; Farjon et Filer, 2013).
- En Anglais : Cartagena cypress (Buhagiar et al., 2000 ; Barbary Thuya (El Bouhtoury-Charrier et al., 2009), Sandarac tree (El Bouhtoury-Charrier et al., 2009 ; Ben Jemia et al., 2012).
- Noms scientifiques : *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters : Callitris quadrivalvis Vent.: *C. articulata* (Vahl) Link (Quézel et Santa, 1962); *Thuja articulata* (Vahl) (Buhagiar et al., 2000 ; ElBouhtoury-Charrier et al., 2009).

I.4 Ecologie

I.4.1 Conditions climatiques

Le thuya est une essence de lumière thermophile et xérophile caractérisée par ses faibles exigences en eau, de 300 à 500 mm par an. Son optimum écologique est lié à l'étage bioclimatique semi-aride à variantetempérée douce, chaude et très chaude ; il se développe aussi en étage sub-humide à variante chaude, douce et tempérée sur sol filtrant (calcaire) ; il craint les froids humides et préfère les expositions chaudes (QUÉZEL, 2000).

De même que pour le pin d'Alep, sa rusticité, son indifférence vis-à-vis du sol, ses faibles exigences en eau lui permettent de se maintenir solidement dans les stations les plus variées et les plus sèches. Il se défend même mieux que le chêne vert sur les terrains qu'il occupe et, grâce à sa faculté de rejeter de souche jusqu'à un âge avancé, réagit vigoureusement au feu et aux mutilations de toutes sortes (BOUDY, 1952).

En Algérie, le thuya occupe essentiellement l'étage semi-aride, étage le plus répandu d'ailleurs en Oranie. Il peut déborder dans l'étage subhumide à la faveur de l'altitude (HADJADJ-AOUL, 1999).

I.4.2 Conditions édaphiques

Sur le plan lithologique le thuya se trouve aussi bien sur les roches siliceuses que sur les roches calcaires et les sols fertihalitiques plus au moins profonds. Il a cependant une préférence pour les sols calcaires, parce qu'ils sont plus aérés et plus chauds (**Boudy, 1952, Hadjadj Aoual, 1995**).

En Algérie, on le rencontre sur tous les étages, sur le crétacé, dans les régions de l'Ouarsenis et Ténès, sur le Jurassique dans celles de Frenda, Saida et Tlemcen et sur le quaternaire et pliocène dans celle de Mostaganem (**Boudy, 1950**).

I.4.3 Altitude

Le thuya ne se trouve pas en hautes altitudes, mais plutôt sur les plateaux dans la basse et moyenne altitude, Sa limite supérieure est de 1800 mètres (Grand Atlas), sa limite inférieure est variable, il va jusqu'au bord de la mer mais dans le grand Atlas il n'apparaît qu'à 800 ou 1000 mètres d'altitude (**Boudy, 1952**).

En Algérie le thuya existe en altitude maximale de 1400 m en montagne sèche (Djebel Reguirat), on le trouve jusqu'au bord de la mer dans la région de Mostaganem (**Hadjadj Aoual, 1995**). En haute altitude, le thuya se trouve écarté par des essences plus résistantes aux froids tels que le Chêne vert et le Genévrier oxycèdre. (**Alcaraz, 1982**) et (**Hadjadj Aoual, 1995**).

Dans les Monts de Tlemcen, l'essence, occupe le bas de l'étage méso-méditerranéen, néanmoins on observe son installation à des altitudes entre 1000 et 1020 m dans ce même étage (**Benab dellah, 2011**).

I.5 Répartition géographique

Le thuya de Berbérie *Tetraclinis articulata*, est une espèce endémique de l'Afrique du Nord et en particulier des pays du Maghreb (Maroc, Algérie et Tunisie) . Il se rencontre aussi dans quelques secteurs très ponctuels, au Sud-est de l'Espagne (région d'Almeria) et sur l'île de Malte (**Quézel, 1980**).

En Algérie

Au début du XXe siècle, les formations de *Tetraclinis articulata* (thuya de Berbérie) en Algérie couvraient une superficie estimée à 161 000 hectares.

Cependant, selon les données plus récentes de l'administration des forêts, cette surface aurait diminué au fil des décennies pour atteindre entre 130 000 et 143 000 hectares à la fin de ce siècle.

Selon **QUÉZEL & DE SANTA (1962, 1963)**, le thuya était très répandu dans la région oranaise, relativement commun dans le secteur algérois ainsi que dans les Hauts Plateaux, mais restait rare en Grande Kabylie.

Dans la région algéro-ouarsienne, les peuplements de thuya ne se distinguent pas nettement ; ils sont généralement associés au pin d'Alep. On les retrouve dans les circonscriptions de Cherchel, Médéa, Ténès et Theniet el Had sous forme de vieux taillis, souvent dégradés par les incendies. Dans les régions de Delles et Lakhdaria, le thuya apparaît sous forme de pieds isolés ou de petits groupes. On en trouve aussi dans la vallée de l'oued Sahel, vers M'Chandella, sur les contreforts sud de Lalla Khadidja, dans le massif du Djurdjura.

En Oranie, particulièrement dans l'ouest du pays, le thuya se limite aux zones bioclimatiques semi-arides à variantes chaude, douce, voire fraîche, et peut croître jusqu'à une altitude de 1 400 mètres.

Le thuya est particulièrement bien implanté dans les forêts de Ténès, El Guelta et Oued Ras, ainsi que dans celles de Mostaganem et Sidi Bel-Abbès, où il est largement dominant dans des massifs tels que Guetarnia, Oukar ou encore Zehoudj-Bouryates.

I.6 Description botanique

Les caractéristiques botaniques du thuya du Maghreb ont été décrites par plusieurs auteurs, notamment **BOUDY (1952)**, **BENABID (1976)**, **FENNANE (1987)** et **HADJADJ-AOUL *et al.* (2009)**. « Le thuya est un résineux à feuillage léger et persistant. Dans sa jeunesse, son port est pyramidal ; les feuilles sont réduites en écailles opposées et imbriquées par deux, les fleurs en chaton, situées à l'extrémité des rameaux. Le fruit est un cône d'allure cubique s'ouvrant par quatre valves sous l'effet de la chaleur, libérant ainsi six graines ailées ».

Port et dimensions : *Tetraclinis articulata* est une espèce monoïque qui ne dépasse généralement pas 6 à 8 mètres de hauteur, avec un diamètre moyen autour de 30 cm. Il arrive toutefois, bien que rarement, que certains vieux sujets atteignent jusqu'à 20 mètres de haut et un mètre de diamètre (**HADJADJ-AOUL *et al.*, 2009**).

I.6.1 L'écorce

Il est crevassé dans les deux sens, peu épaisse et forme une sorte de Quadrillage serré. Il contient des canaux résinifères renfermant une résine exploitable (gomme sandaraque) (**Boudy, 1952**).



Figure 1: Ecorce de thuya. (**TOUENTI *et al*, 2019**)

I.6.2 Les feuilles

Se sont réduites à des écailles aplaties, allongées et opposées- décussées. Les feuilles sont en aiguilles bleutées, de 1-2 cm chez les jeunes plantes. Elles vont ensuite, chez les plantes adultes, laisser la place aux feuilles en écailles, persistantes, opposées et plus ou moins verticillées par 4. (**Boudy, 1952**).



Figure 2 : Les aiguilles de thuya (**BENCHAIB *et al*, 2019**)

I.6.3 Les fleurs

Les fleurs monoïques, de couleur brune sont aussi petites que les feuilles, et se trouvent à l'extrémité des rameaux (**Baba Aissa, 2000**).

I.6.4 Les fruits

Ce sont des cônes verts de 10 à 15 mm de long, devenant marron à maturité (Farjon, 2005), constitués de 4 valves munies au sommet d'un appendice plat et réfléchi (**Quezel et santa, 1963**).



Figure 3: Les cônes de thuya (**TOUENTI et BENCHAIB 2021**)

I.7 Composition chimique de la plante

Tableau 1: Composition chimique de certaines essences de *T. articulata*

Auteurs et année de publication	Pays	Partie utilisé	Méthodes d'extraction	Méthodes d'analyse	Composés majoritaires
(Benali Toumi et al., 2011)	La région de Frenda, Tlemcen (Algérie)	Feuilles	Clevenger	CPG et CG/MS	Bornyle acetate (24, 59%) Camphre (23, 41%) α -pinene (11,34%)
(Bourkhiss et al., 2007)	La région de Khemisset(Maroc)	Rameaux sèche	Clevenger	CG/MS	L' α -pinène (30,22 %) le limonène (22,29 %)
(Ben jemia et al., 2012)	Parc national de Boukornine (Tunisie)	Feuilles séchées	Clevenger	CG/MS	l'acétate de bornyle (31,4%) l' α -pinène (24,5%) le camphre (20,3%)
(Buhagiar et al., 2000)	Ile de Malte	Cônes et Graines	Clevenger	CG/MS	l' α -pinène (68.2%, 46.3%) limonène (16.6% ,25.3%

La diversité chimique observée dans l'huile essentielle de thuya à travers les quatre pays est probablement attribuable à des variations dans les paramètres de récolte (lieu et période) ainsi qu'à l'influence de facteurs environnementaux et écologiques distincts.

I.8 Usage thérapeutique de *Tetraclinis articulata*

Cette essence forestière est très utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses multiples effets thérapeutiques. En effet, différentes parties du thuya sont préconisées dans le traitement des infections intestinales, des douleurs gastriques, des maladies respiratoires, du diabète, de l'hypertension et de la fièvre (Zahir et al., 2020).

Par ailleurs, une décoction de poudre des rameaux mélangée à la poudre de l'écorce de Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) est utilisée en bain contre la fièvre infantile.

Le cataplasme de feuilles est utilisé en cas de migraines. Une décoction de feuilles est indiquée dans le traitement des douleurs gastroIntestinales (Salhi et al., 2010)

Les feuilles en poudre associées au henné (*Lawsonia inermis* L.) sont appliquées en cataplasme, sur le cuir chevelu comme adoucissant et comme traitement antichute (**Lahsissene et al., 2009 ; Salhi et al., 2010**).

En usage externe, les feuilles sont utilisées sur les blessures et sur la plaie ombilicale du nouveau-né, comme cicatrisant (**Bellakhdar, 1997**).

I.8.1 Autres utilisations

- Le bois de thuya est utilisé surtout dans le secteur artisanal en menuiserie et en ébénisterie (**Hadjal-Chebheb, 2014**).
- La gomme sandaraque produite par *Tetraclinis articulata* est totalement exportée à l'étranger. Elle est utilisée dans la fabrication de vernis de luxe et en industrie pharmaceutique (**Boudy 1952 et Bellakhadar 1997**).
- La résine du thuya (la sandaraque) est utilisée dans :
 - a) L'industrie pour préparer les vernis, les laques, et est particulièrement évaluée pour préserver les peintures (**Farjon, 2005**).
 - b) La préparation des lames microscopique en remplaçant le baume de Canada (**Fasla, 2009**).
 - c) Les ciments dentaires et en fumigation (**Seth, 2004**).
 - d) Elle servirait surtout à la fabrication de colle (**Mered Chiali, 1973**).

Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles

II.1 Définition

L'Agence française de normalisation : Agence Française de Normalisation (AFNOR) donne la définition suivante (NF T 75-006) : " L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par des procédés Mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, ou distillation sèche ". L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des moyens physiques.

II.2 Localisation des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1999)**, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui Composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Les huiles essentielles se trouvent dans tous les organes de la plante : racines, fruits, graines, fleurs, feuilles, écorces, bois, etc. ... Elle se forment dans des cellules spécialisées le plus souvent regroupées en canaux ou en poches sécréteurs et elles sont ensuite transportés dans différentes parties de la plante, lors de croissance de cette dernière (**Bernard *et al*, 1988**).

II.3 La composition chimique des huiles essentielles

Plus de 300 composés différents peuvent être identifiés dans les huiles essentielles. Trois groupes de composés ont été décrits (**Pichersky *et al.*, 2006**). Le principal groupe est composé de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (**Ruberto and Baratta, 2000**), les autres groupes comprennent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcane et alcène) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (**Bakkali *et al.*, 2008**).

-Les terpènes et les terpénoïdes

Environ 30 000 terpènes ont été décrits dans la littérature (**Connolly and Hill, 1991 ; Pinder,1960**). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur

Squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (figures 1). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprène en monoterpène formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$).

En sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$), en diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$), en tétra terpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes, en poly terpènes (C_5H_8) n où n peut-être de 9 à 30 (Hernandez Ochoa, 2005). Les terpénoïdes (Figure 2) sont les terpènes dérivés des composés ayant un ou plusieurs groupes chimiques fonctionnels (alcool, aldéhyde, cétone, acide, ...).

Monoterpènes				
	β-myrcene Acyclic hydrocarbure	Limonene Cyclic hydrocarbure	α-phelladrene Cyclic hydrocarbure	α-terpinene Cyclic hydrocarbure
	α-pinene Bicyclic hydrocarbure	β-pinene Bicyclic hydrocarbure	Camphene Bicyclic hydrocarbure	β-pinene Bicyclic hydrocarbure
	Linalool Acyclic Alcohol	Nerol Acyclic Alcohol	Citronellol Acyclic Alcohol	Carvacrol Phenol
Sesquiterpènes				
	Tymol Phenol	Citronellal Acyclic Aldehyde	Carvone ketone	α-thujone ketone
	Zingiberene Monocyclic hydrocarbure	Humulene Monocyclic hydrocarbure	β-bisabolene Monocyclic hydrocarbure	Ar-curcumene Monocyclic hydrocarbure
	Trans α-bergamotene Monocyclic hydrocarbure	δ-Cadinene Bicyclic hydrocarbure	Caryophyllene Bicyclic hydrocarbure	Germacrene Bicyclic hydrocarbure

Figure 4: Structure de quelques terpènes

Terpénoïdes				
	Ascaridol Bicyclic peroxyde	Menthol Alcool	Sistostérol Alcool	Beta-carotene Bicyclic hydrocarbure

Figure 5: Structure de quelques trapézoïdes

- Les composés aromatiques :

Les composés aromatiques (Figure 3), des dérivés du phénylpropane, sont moins Abondants que les terpènes. On peut les classer en deux groupes : ceux qui sont modifiés directement sur leur noyau benzénique, et ceux qui le sont sur une chaîne latérale attachée à ce noyau.

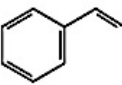
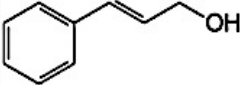
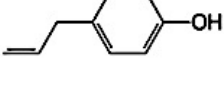
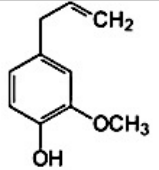
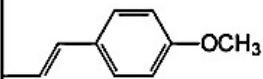
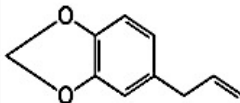
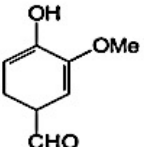
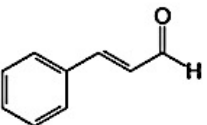
Composés Aromatiques				
	Styrene benzene	Cinnamyl alcohol alcohol	Charvicol phenol	Eugenol phenol
				
	Anethol Methoxy derivative	Safrol Methylene dioxy compound	Vaniline Phenol	Cinnamaldehyde phenol

Figure 6: Structures de quelques composés aromatiques

Notion de chémotype :

La notion de chémotype désigne les différences chimiques intraspécifiques que peuvent présenter une même espèce dans la composition de ses huiles essentielles, en fonction de ses conditions environnementales et de vie (Lahlou and Berrada, 2003 ; Lahlou, 2004). Il est important de noter que les huiles essentielles de chémotypes différents possèdent non seulement des activités biologiques distinctes, mais aussi des niveaux de toxicité très variables (Pibiri, 2005).

II.4 Propriétés physico- chimiques des huiles essentielles

Selon Couic-Marinier, 2018 :

- Les huiles essentielles (HE) ne se dissolvent pas dans l'eau. Il faut utiliser un excipient pour

leur mise en suspension dans un bain (tel un savon moussant) ou dans une tisane (miel).

- Les HE ont, en revanche, une affinité toute particulière avec les graisses de toute nature, ainsi qu'avec l'alcool de titre élevé et la majorité des solvants organiques.

- Elles sont liquides à température ambiante pour la plupart.

- La couleur des gouttes des HE au sortir de leur flacon en verre teinté varie du bleu marine au rouge brunâtre, en passant par le vert et le jaune pâle (la plus courante).

- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Zabeirou et Hachichou, 2005**).

II.5 Mode d'obtention des huiles essentielles

Le choix de la technique d'obtention de l'huile essentielle dépend principalement de la matière première : la fragilité de la plante utilisée, la partie du végétal traitée et ses caractéristiques. Les quantités d'essences secrétées par les plantes sont extrêmement variables, tout comme le rendement « huile essentielle/matière première végétale », qui varie d'une plante à une autre, de 150 ppm à plus de 20 %. La technique utilisée conditionne les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier la viscosité, la couleur, la solubilité, la volatilité, ainsi que l'enrichissement ou l'appauvrissement en certains constituants (**Desmares *et al.*, 2008**).

II.5.1 Techniques classiques

Pratiquée sous des différentes formes, la distillation est sans doute la méthode la plus employée pour extraire les essences des plantes (**Kone, 2001**). Parmi ces techniques :

II.5.1.1 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique n'implique pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau, produite par une chaudière, traverse la matière végétale placée au-dessus d'une grille (fig. 4.A). Pendant ce passage, la vapeur provoque l'éclatement des cellules et la libération de l'huile essentielle, qui est vaporisée sous l'effet de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Ce mélange est ensuite condensé dans le réfrigérant avant d'être décanté dans l'essencier. En raison de leur différence de densité, l'huile essentielle et l'eau se séparent en deux phases : phase liquide et phase organique, permettant ainsi la récupération des huiles essentielles (**Mnayer, 2014**).

Le distillat aqueux qui subsiste après la séparation est appelé « eau aromatique », « hydrolat » ou « eau distillée florale » (**Desmares et al, 2008**). 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 (**Fadi, 2011**).

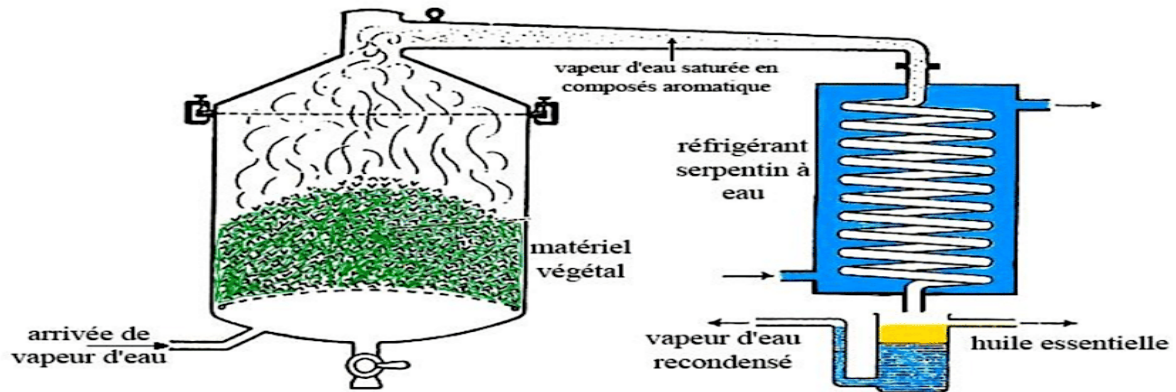


Figure 7: entraînement à la vapeur d'eau (**Fadi,2011**)

II.5.1.2 Extraction par hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, de haut en bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur (**Bouhaddouda, 2015**). Cette technique présente l'avantage de ne pas mettre en contact direct le matériel végétal avec l'eau. De plus, elle permet une économie d'énergie grâce à la réduction de la durée de distillation et donc de la consommation de vapeur (**Fadi, 2011**).

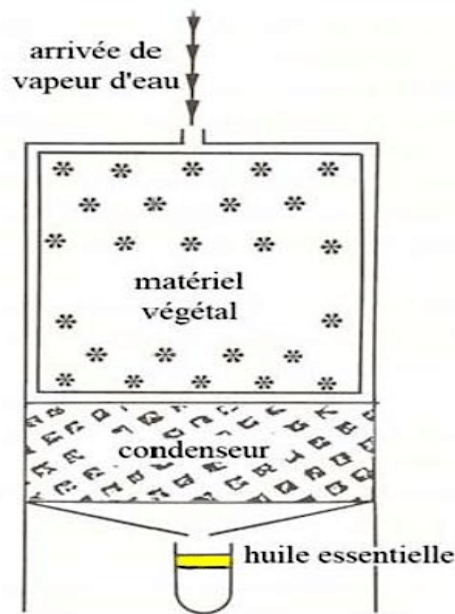


Figure 8: l'hydrodiffusion (Fadi,2011)

II.5.1.3 Hydro-distillation

C'est la méthode d'extraction la plus simple. Elle consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, puis à porter l'ensemble à ébullition, généralement à pression atmosphérique. Le chauffage provoque l'éclatement des cellules et la libération des molécules volatiles contenues dans la matière végétale. Les huiles essentielles se séparent de l'eau en raison de leur différence de densité. En laboratoire, l'extraction se réalise souvent à l'aide du montage Dean-Stark (Haib, 2011).

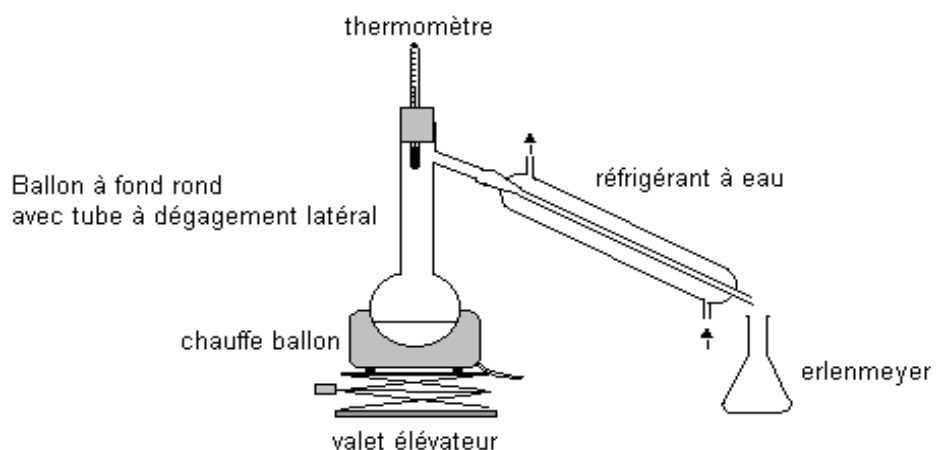


Figure 9: Extraction par hydro distillation

II.5.2 Expression à froid

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservé aux agrumes, le principe de ce procédé mécanique consiste à éclater les minuscules vésicules et les poches à essence, l'essence ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau (**Attou, 2017**).

II.6 La conservation des HE

- Si elles sont entreposées correctement, les HE distillées de bonne qualité peuvent être conservées au moins cinq ans, voire plus, et celles provenant d'agrumes exprimés, au moins trois ans [1]. Les HE ne rancissent pas, contrairement aux huiles végétales, mais elles peuvent s'oxyder et donc former des résidus résineux.

- Idéalement, il est conseillé de conserver les HE dans leur conditionnement d'origine, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Il est important de bien visser le bouchon, car elles sont très volatiles et risquent de s'évaporer rapidement. (**Couic-Marinier, 2018**)

II.7 Le rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles jouent un rôle crucial dans la protection des plantes, car elles contiennent divers métabolites secondaires capables d'inhiber ou de ralentir la croissance bactérienne (**Bouyahya et al., 2018**). Ces composés sont également responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques, essentielle pour attirer les insectes pollinisateurs. Par ailleurs, les huiles essentielles assurent une fonction défensive contre les prédateurs et les agents pathogènes (**Moro et al., 2018**).

Selon **Bouquet (1972)**, certains de ces composés pourraient être des intermédiaires métaboliques libérés à des périodes spécifiques liées à l'activité végétative de la plante. Les monoterpènes et sesquiterpènes, deux classes majeures de terpènes, jouent des rôles distincts dans les interactions des plantes avec leur environnement. Enfin, **Croteau (1986)** a suggéré que les huiles essentielles volatiles pourraient également participer à la mobilisation de l'énergie lumineuse et à la régulation thermique au bénéfice de la plante.

II.8 Les activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle dépend fondamentalement de sa composition Chimique et des interactions synergiques potentielles entre ses différents constituants (**Lahlou, 2004**). Son efficacité thérapeutique ne résulte pas uniquement de l'action

de ses Composés majoritaires, mais plutôt de l'effet intégré de l'ensemble de ses composants **(Lahlou, 2004)**.

II.8.1 Activités antioxydantes

Les huiles essentielles possédant des propriétés antioxydantes génèrent un intérêt croissant, particulièrement dans les sciences alimentaires et la médecine. Les systèmes modernes de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) permettent de détecter des milliers de constituants dans les HE, facilitant ainsi l'analyse détaillée de leurs profils chimiques complexes. Les composés antioxydants représentent une fraction essentielle de ces mélanges et sont considérés comme des sources prometteuses pour la découverte de nouveaux composés bioactifs, avec des applications potentielles en médecine, pharmacie, cosmétique et autres domaines.

Comprendre l'efficacité et le mécanisme d'action de chaque constituant est crucial pour prédire l'activité antioxydante globale d'une HE. D'un point de vue chimique, l'activité antioxydante correspond à la capacité d'un composé, même à faible concentration, à protéger des substances oxydables

- comme les lipides polyinsaturés
- contre les processus oxydatifs **(Ruberto & Baratta, 2000)**.

L'oxydation est principalement déclenchée par une réaction en chaîne radicalaire, durant laquelle l'oxygène est incorporé dans les molécules organiques, conduisant à la formation d'hydroperoxydes, d'époxydes et d'autres dérivés oxygénés. Ce phénomène est appelé peroxydation. Lors de ce processus, les radicaux alkylperoxy ($\text{ROO}\bullet$) sont les principaux acteurs de la propagation de la chaîne. D'autres radicaux à courte durée de vie, tels que les radicaux hydroxyles ($\text{HO}\bullet$) issus de la réaction de Fenton, peuvent également participer à l'initiation et à la propagation de la réaction. L'efficacité d'un antioxydant est étroitement liée à sa capacité à neutraliser les radicaux $\text{ROO}\bullet$ **(Amorati & Valgimigli, 2018)**.

II.8.2 Activité antibactérienne

Un agent antimicrobien est une substance d'origine synthétique ou naturelle, utilisée pour la destruction ou l'inhibition de la croissance de micro-organismes, notamment des bactéries **(Courvalin, 1990)**.

De nombreuses études ont mis en évidence l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles contre divers micro-organismes, y compris des bactéries résistantes aux antibiotiques **(Burt, 2004)**.

Cependant, leur mécanisme d'action sur les cellules bactériennes et fongiques reste mal élucidé en raison de la complexité de leur composition chimique (**Burt, 2004**). La variabilité des constituants des Hes suggère qu'elles agissent sur plusieurs cibles microbiennes, chaque composé possédant un mode d'action spécifique (**Guinoiseau, 2010**).

L'activité antibactérienne varie selon l'huile essentielle et la souche bactérienne concernée (**Kalemba, 2003 ; Oussou, 2009 ; Avlessi, 2012**). Certaines Hes ont un effet bactéricide, tandis que d'autres sont bactériostatiques (**Oussou, 2009**). Leur efficacité dépend principalement de leur composition chimique, notamment de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006 ; Oussou, 2009**).

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes sont responsables des propriétés antibactériennes des Hes. L'activité de ces molécules repose sur leur double caractère lipophile (dû à leur squelette hydrocarboné) et hydrophile (lié à leurs groupements fonctionnels). Les composés oxygénés présentent généralement une activité antimicrobienne supérieure à celle des hydrocarbures (**Kalemba, 2003 ; Guinoiseau, 2010**).

II.8.3 L'activité antifongique

Les huiles essentielles (HE) sont de plus en plus employées dans l'industrie agroalimentaire, non seulement en tant qu'arômes, mais aussi comme **agents conservateurs naturels**. Leur efficacité repose sur leur capacité à inhiber un large spectre de microorganismes, notamment les **moisissures et les levures**. Elles agissent en bloquant la croissance des levures, la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines fongiques (**Kurita et al., 1979**).

L'activité antifongique des HE est principalement liée à la présence de **fonctions chimiques spécifiques** dans leur composition. Plusieurs études ont démontré que leur pouvoir inhibiteur repose sur la **réactivité des aldéhydes** avec les groupements thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire (**Kurita et al., 1979**). D'autres recherches indiquent que la formation d'un complexe entre un donneur d'électrons et un aldéhyde provoque une **modification de l'état ionique membranaire**, entraînant un déséquilibre des échanges avec le milieu extérieur et, finalement, la mort cellulaire (**Baser & Buchbauer, 2010**).

Bien que les aldéhydes (tels que les dérivés cinnamiques) présentent une activité antifongique notable, certaines études montrent que les **composés phénoliques** (comme l'eugénol, le chavicol et le 4-allyl-2,6-diméthoxyphénol) possèdent une **action inhibitrice supérieure** contre les champignons (**Laib, 2010**). Cette différence d'efficacité pourrait s'expliquer par leur mécanisme d'interaction plus puissant avec les structures cellulaires fongiques.

Ces propriétés font des HE une alternative prometteuse aux conservateurs chimiques synthétiques, répondant à la demande croissante de solutions naturelles et sûres. Cependant, leur utilisation optimale nécessite une compréhension approfondie de leurs mécanismes d'action et de leur stabilité dans les matrices alimentaires.

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1 Objectif de ce travail

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département des Sciences Biologiques de l'université de Relizane. Au cours de ce travail, nous allons essayer de mettre en évidence l'activité antifongique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* sur trois champignons de genre *Fusarium* isolées à partir des tomates, des racines et des feuilles.

III.2 Matériel Végétal

Les feuilles ont été récoltées sur des arbres de *Tetraclinis articulata* au mois d'avril 2025 dans la localité d'Oued rhiau (Relizane, Algérie). Cette zone se caractérise par un étage bioclimatique subhumide. Les coordonnées géographiques de la station de récolte et l'apparence morphologique de la plante étudiée sont présentées dans le Tableau 2 et la Figure 7.

Les échantillons ont été séchés pendant plusieurs jours à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à leur utilisation pour l'extraction des huiles essentielles.



Figure 10: Feuilles de *Tetraclinis articulata*

Tableau 2: Sites de récolte des plantes étudiées.

Nom botanique	Localité	Région	Longitude(x)	Longitude(y)	Altitude(m)
<i>Tetraclinis articulata</i>	Relizane	WVXG+ W4V Oued Rhiau	0.541165	35.746303	65.59

III.3 Extraction des Huiles Essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles de *Tetraclinis articulata* a été réalisée par hydrodistillation, en utilisant un appareil de type Clevenger modifié. **Clevenger, 1928**), conformément à la procédure standard décrite dans la Pharmacopée Européenne (**EDQM, 2022**).

Ce dispositif est constitué d'un récipient en inox placé sur une plaque chauffante électrique, muni d'un couvercle hermétique traversé par un tube de sortie en verre permettant le passage de la vapeur.

Pour l'extraction, 02 kg de feuilles ont été immergés dans 1,5 litre d'eau distillée. La vapeur d'eau, générée par chauffage du mélange, traverse la matière végétale et entraîne avec elle les composés volatils. Elle est ensuite dirigée vers un condenseur à circulation d'eau froide, où elle se condense. Le distillat obtenu, composé d'un mélange d'eau et d'huile essentielle, a été soigneusement traité pour séparer entièrement la phase aqueuse. L'eau a été décantée et retirée manuellement, permettant de récupérer uniquement l'huile essentielle. Cette dernière a ensuite été conservée dans des flacons en verre brun, à l'abri de la lumière, à une température de 4 °C, en vue des analyses biologiques ultérieures. Le processus d'hydrodistillation a été maintenu pendant une durée de 3 heures.



Figure 11: Extraction des HEs par hydrodistillateur de type Clevenger modifié

III.4 Analyse des Huiles Essentielles

La chromatographie en phase gazeuse analytique a été réalisée à l'aide d'un chromatographe Perkin-Elmer Sigma-115 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'un système d'acquisition de données (Nazzaro *et al.*, 2022).

III.5 Le matériel fongique

Le matériel fongique utilisé dans ce travail comprend trois souches de *Fusarium* phytopathogènes : une isolée à partir de tomate, une autre à partir de feuilles et une troisième à partir de racines. Ces souches ont été employées pour tester l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles. Avant utilisation, elles ont été soigneusement conservées dans un milieu de culture approprié afin d'en préserver la viabilité et l'intégrité optimales.

III.6 Test *in vitro* de l'activité antifongique

La méthode de contact direct a été employée pour évaluer la sensibilité des souches fongiques aux huiles essentielles (HE). Des volumes croissants d'HE (100, 250, 500, 750 et 1000 μ L) ont été incorporés à 100 mL de milieu gélosé Sabouraud maintenu à l'état liquide (45-50°C). Après solidification, un disque mycélien de 6 mm de diamètre, prélevé en zone de croissance active à l'aide d'un emporte-pièce stérile, a été déposé en position centrale sur chaque boîte de Pétri (9 cm de diamètre) contenant le milieu enrichi (20 mL par boîte). Un témoin négatif (milieu Sabouraud seul) a été inclus dans chaque série expérimentale.

Les boîtes ont été scellées au parafilm puis incubées à 28°C pendant 9 jours. L'ensemble des essais a été réalisé en triple et les résultats exprimés sous forme de valeurs moyennes

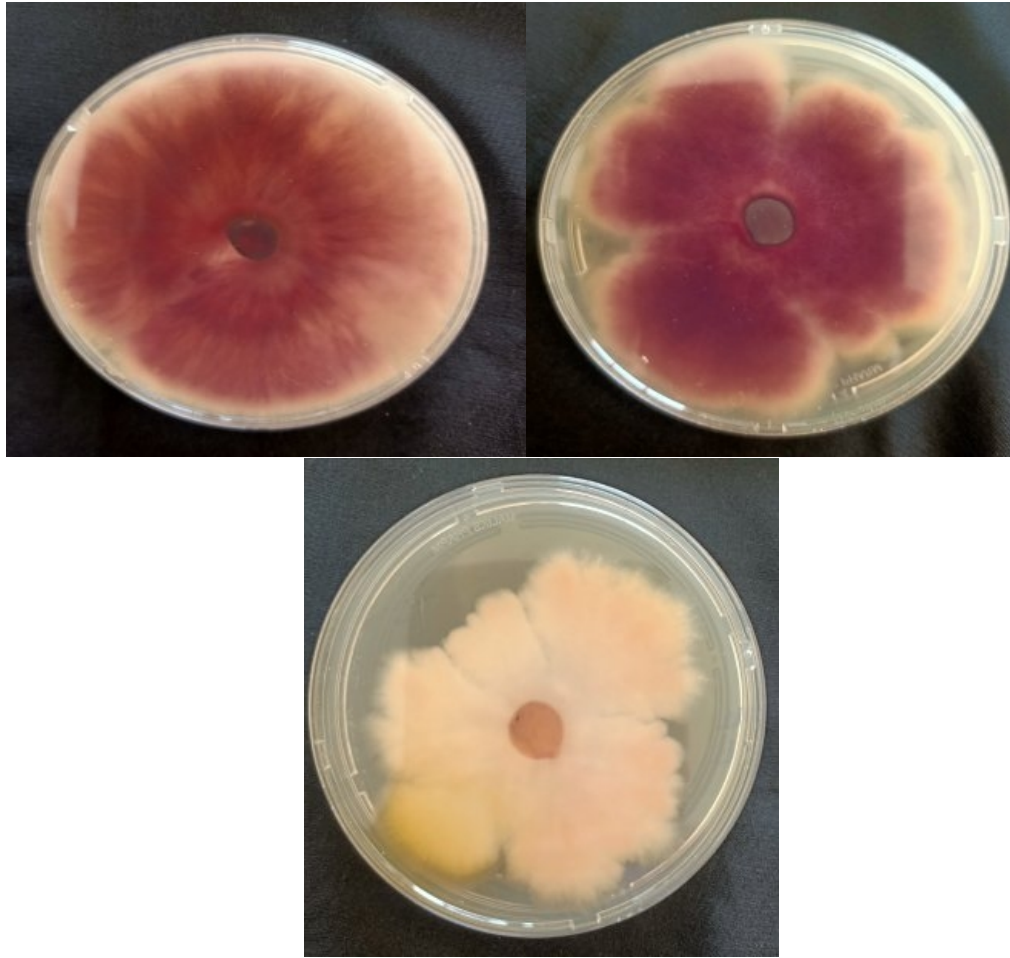


Figure 12: Boîtes souches à partir desquelles le repiquage a été effectué.

III.7 Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne des diamètres perpendiculaires. Ces mesures ont été systématiquement comparées à des cultures témoins initiées simultanément dans des conditions identiques (Terzi et al., 2014). Lorsque le mycélium des champignons a atteint le bord de la boîte témoin (sans ajout d'extraits), l'indice antifongique a été calculé comme suit (Chang et al., 1999) :

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = \frac{D_t - D_0}{D_t} \times 100$$

Dt : diamètre de la colonie mycélienne du témoin (en cm),

D0 : diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience (en cm), T : taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

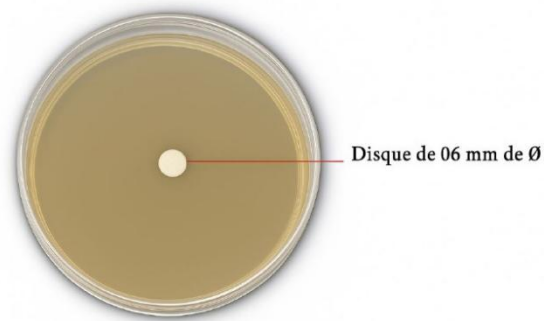


Figure 13: le dépôt du disque au centre de la boîte de pétri.

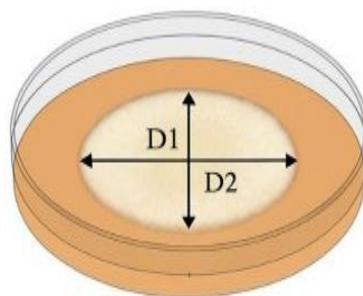


Figure 14: La méthode de la mesure des diamètres D1 et D2

III.8 Dosages des composés bioactifs

III.8.1 Dosages des polyphénols totaux

Principe

La méthode de dosage des *polyphénols totaux* repose sur l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu, comme décrit par **Wood et al. (2002)**. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque ces composés entrent en contact avec des groupements phénoliques, ils subissent une réduction qui génère un complexe coloré de teinte bleue. La mesure spectrophotométrique de cette coloration, effectuée à des longueurs d'onde comprises entre 725 et 765 nm, permet une quantification des polyphénols présente dans l'échantillon, l'intensité de la couleur étant directement corrélée à leur concentration.

-Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué en mélangeant 200 μ l d'huile essentielle (diluée au 1/10 dans du méthanol) avec 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10. Après homogénéisation, le mélange a été incubé pendant 5 minutes à température ambiante (23 ± 1 °C). Ensuite, 2 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 % (m/v) ont été ajoutés, suivis d'une incubation à 50 °C pendant 5 minutes. L'absorbance a finalement été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, en utilisant comme blanc un mélange de 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 4 ml de solution de carbonate de sodium.

-Préparation de la gamme étalon d'acide gallique :

L'acide gallique a servi d'étalon de référence pour construire la courbe d'étalonnage et quantifier les polyphénols totaux, avec les résultats exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait). La courbe a été réalisée parallèlement aux échantillons, dans des conditions expérimentales identiques. La solution mère a été préparée en dissolvant 1 mg d'acide gallique dans 5 mL de méthanol (MeOH), obtenant ainsi une concentration de 200 μ g/mL. Des dilutions en série ont ensuite été effectuées à partir de cette solution mère.

Tableau 3: la gamme d'étalon d'acide gallique.

Concentration de la solution étalon (Acide gallique) ($\mu\text{g/ml}$)	Dilution de la solution SM
25	25 μl de SM+175 μl de MeOH
50	50 μl de S1+150 μl de MeOH
75	75 μl de S1+125 μl de MeOH
100	100 μl de S1+100 μl de MeOH
125	125 μl de S1+75 μl de MeOH
150	150 μl de S1+50 μl de MeOH
175	175 μl de S1+25 μl de MeOH
200	200 μl de S1



Figure 15: les échantillons de la gamme d'étalon d'acide gallique pour le dosage polyphénols totaux

III.8.2 Dosage des flavonoïdes

Principe :

La quantification des flavonoïdes est basée sur la formation d'un complexe stable entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène en position 4 et 5 du noyau des flavonoïdes (**Ali-Rachedi *et al.*, 2018**). Cette méthode est une adaptation de celle proposée par Topçu et al. (2007).

Mode opératoire :

1 mg d'extrait est dissous dans 1 mL de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits, 50 µL de l'extrait sont mélangés à 100 µL de méthanol. Puis, 20 µL de nitrite de sodium et 20 µL de chlorure d'aluminium sont ajoutés. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 40 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 415 nm. Un blanc est réalisé en remplaçant les réactifs par du méthanol (50 µL d'extrait + 150 µL de méthanol).

Préparation de la gamme étalon à la quercétine :

Une solution mère (SM) de quercétine (200 µg/mL) est préparée en dissolvant 1 mg dans 5 mL de méthanol. Des dilutions sont effectuées selon le tableau 4. Ensuite, 50 µL de chaque dilution sont déposés dans une microplaque, additionnés de 130 µL de méthanol, 10 µL d'acétate de potassium (CH_3COOK) et 10 µL de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). Après 40 min d'incubation, la lecture est effectuée à 415 nm. Une courbe d'étalonnage est ensuite établie.

Tableau 4: La gamme d'étalon de la quercétine

Concentration de la solution étalon (Quercétine) (µg/ml)	Dilution de la solution mère
25	25µl de SM+175µl de MeOH
50	50µl de SM+150µl de MeOH
75	75µl de SM+125µl de MeOH
100	100µl de SM+100µl de MeOH
125	125µl de SM+75µl de MeOH
150	150µl de SM+50µl de MeOH

175	175µl de SM+25µl de MeOH
200	200µl de SM

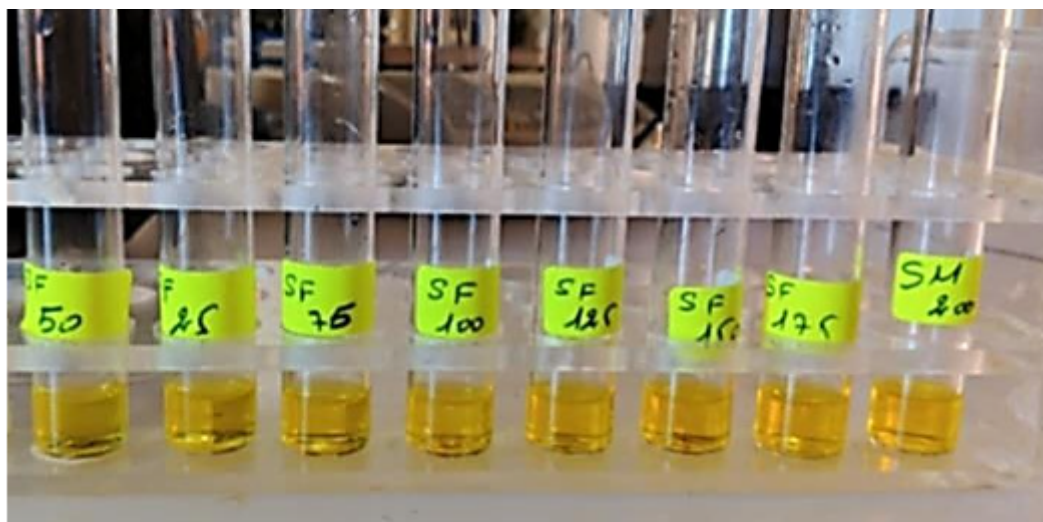


Figure 16: Échantillons de la gamme quercétine pour le dosage des flavonoïdes

III.8.3 Dosage des tanins condensés

Principe

La quantification des tanins condensés (proanthocyanidines) repose sur une méthode colorimétrique utilisant la réaction avec la vanilline en milieu acide fort (HCl). Cette réaction produit un complexe chromophore rouge-rose dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en tanins condensés. La mesure de l'absorbance est effectuée par spectrophotométrie à environ 500 nm. Les résultats sont exprimés en équivalents de catéchine (EC), cette molécule étant un monomère de référence des proanthocyanidines (**Schofield *et al.*, 2001**).

--Mode opératoire

400 µL d'échantillon ou de standard sont mélangés avec 3 mL de solution de vanilline à 4% dans le méthanol et 1,5 mL d'acide chlorhydrique concentré. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 500 nm. Les concentrations en tanins condensés sont déterminées à partir de la gamme étalon de

catéchine (0-0,5 mg/mL) et exprimées en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg ECT/g).

-Préparation de la gamme étalon de catéchine :

Une solution mère de catéchine à 1 mg/mL est préparée en dissolvant 20 mg de catéchine dans 20 mL de méthanol. Les différentes concentrations de la gamme étalon sont obtenues par dilution appropriée de cette solution mère comme indiqué dans le tableau 5

Tableau 5: la gamme étalon de la catéchine

Concentration de la solution de la gamme étalon catéchine (µg/ml)	Dilution de la solution mère
100	100µl SM+900 MeOH
250	250µl SM+750 MeOH
500	500µl SM+500 MeOH
750	750µl SM+250 MeOH
1000	1000 µL SM

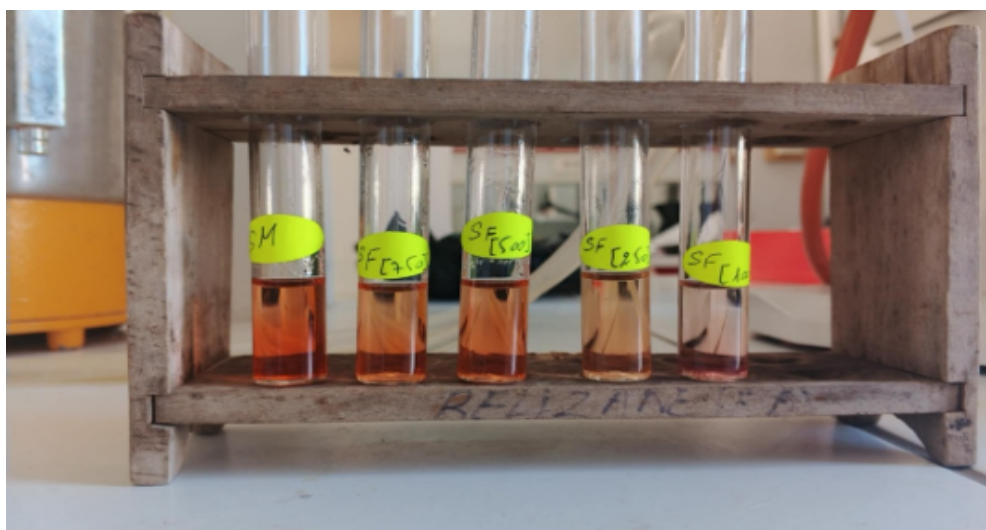


Figure 17: La gamme d'étalon de catéchine pour le dosage des tannins.

III.9 Evaluation des activités biologiques

III.9.1 Activités antioxydantes

L'évaluation de l'activité antioxydante repose sur la capacité des composés à neutraliser les radicaux libres ou à inhiber les processus d'oxydation responsables de dommages cellulaires. Les antioxydants peuvent agir par transfert d'électrons ou par transfert d'atomes d'hydrogène

Permettant ainsi de stabiliser les espèces réactives de l'oxygène et de protéger les biomolécules telles que les lipides, protéines et acides nucléiques (**Halliwell & Gutteridge, 2015**).

Diverses méthodes *in vitro* ont été développées afin de quantifier cette activité, notamment les tests basés sur la décoloration de radicaux stables (DPPH, ABTS), la réduction de complexes métalliques (FRAP), ou encore la capacité d'absorption des radicaux oxygénés (ORAC) (**Apak et al., 2016**).

Toutefois, en raison de la diversité des mécanismes d'action des antioxydants, il est recommandé d'utiliser plusieurs approches complémentaires et d'exprimer les résultats par rapport à des standards de référence tels que le Trolox ou l'acide ascorbique (**Prior, Wu & Schaich, 2005**).

III.9.2 Test au DPPH

-Principe

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode courante pour évaluer l'activité antioxydante d'une substance. Cette technique est simple, rapide et économique. Le DPPH est un radical libre stable, de couleur violette intense. Lorsqu'il rencontre un antioxydant capable de donner un atome d'hydrogène ou un électron, le radical DPPH[•] est réduit en DPPH-H, une molécule non radicalaire de couleur jaune pâle. La décoloration de violet à jaune reflète ainsi la capacité de l'échantillon à piéger les radicaux libres, selon la réaction suivante :



-Mode opératoire

Le test suit le protocole de Brand-Williams et al., (1995), avec quelques adaptations.

-Préparation de la solution de DPPH (60 μ M) :

1,18 mg de DPPH sont dissous dans 50 ml de méthanol, puis la solution est conservée à l'abri de la lumière à 4 °C.

-Préparation des échantillons :

Différentes concentrations des huiles essentielles de *Tétraclinis articulata* sont préparées par dilution dans du méthanol.

Dans des tubes secs, 1 ml de chaque échantillon est ajouté à 2 ml de solution de DPPH.

-Le contrôle positif :

Une solution d'acide ascorbique (vitamine C) sert de référence antioxydante, testée dans les mêmes conditions.

-Le contrôle négatif :

Un témoin composé de 0,1 ml de méthanol mélangé à 1 ml de DPPH est préparé.

-Incubation :

Les tubes sont agités et laissés à température ambiante, à l'obscurité, pendant 30 minutes.

-Lecture spectrophotométrique :

L'absorbance est mesurée à 517 nm avec un spectrophotomètre.

Pour chaque concentration, le test est réalisé trois fois. L'activité antioxydante est ensuite exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (% PI) selon la formule suivante :

$$\% PI = [(A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle négatif}] \times 100$$

Où :

-A contrôle négatif

Est l'absorbance de la solution de DPPH seule après la durée de la réaction,

-A échantillon :

Est l'absorbance de la solution contenant l'échantillon et le DPPH après la même durée.

L'activité antioxydante est quantifiée par la valeur d'IC₅₀, qui correspond à la concentration d'extrait nécessaire pour réduire de moitié (50%) le radical DPPH.

III.9.3 Test de FRAP

Le pouvoir antioxydant des échantillons a été évalué par la méthode du pouvoir réducteur ferrique (FRAP pour Ferric Reducing Antioxidant Power), selon le protocole décrit par Prasad et al. (2009) avec des modifications mineures. Cette méthode colorimétrique repose sur la capacité des antioxydants présents dans l'échantillon à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). La réduction du fer ferrique (contenu dans le ferricyanure de potassium) en fer ferreux conduit à la formation d'un complexe ferrocyanure de fer, de couleur bleue verdâtre (Prussian blue), dont l'intensité est mesurée par spectrophotométrie. Une absorbance élevée à 700 nm indique un pouvoir réducteur important.

-Préparation des échantillons :

Une solution mère de l'huile essentielle a été préparée en dissolvant 50 μL d'huile dans 1 mL de méthanol. À partir de cette solution mère, une gamme de concentrations finales a été préparée par dilution : 10, 30, 50, 70, 100 et 500 $\mu\text{g/mL}$.

-Mode opératoire :

Le protocole expérimental a été suivi comme suit : 50 μL de chaque dilution à différentes concentrations ont été mélangés à 1,25 mL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 1,25 mL de solution de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1 %). Les tubes ont ensuite été incubés à 50 °C pendant 20 minutes dans un bain-marie.

-Précipitation :

Après incubation, 1,25 mL d'une solution aqueuse d'acide trichloroacétique (TCA à 10 %) ont été ajoutés au milieu réactionnel. Les tubes ont ensuite été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes afin de précipiter les protéines et autres interférences potentielles.

-Mesure de l'absorbance :

Un volume de 1,25 mL du surnageant a été prélevé et mélangé avec 1,25 mL d'eau distillée et 250 μ L d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3 à 1 %). L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc, contenant tous les réactifs à l'exception de l'échantillon, a été utilisé comme référence.

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1 Examen organoleptique

Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* obtenue par l'hydrodistillation sont consignés dans le tableau 06.

Tableau 6: propriétés organoleptiques d'huile essentielle de *Tetraclinis articulata*

Origine d'HE	Caractères organoleptiques		
	Couleur	Odeur	Aspect
Tetraclinis articulata	Jaune pale	Forte odeur rappelant l'odeur des feuilles et tiges	Liquide limpide a légèrement visqueux

IV.2 Rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle obtenu à partir des feuilles de *Tetraclinis articulata* dans notre étude est de 0,33 %. Ce résultat est relativement faible par rapport à certaines valeurs rapportées au Maroc (2,68 % ; **Bouyahya et al., 2017**) et en Algérie (0,86 % ; **Bensalem et al., 2015**). Toutefois, il est en accord avec les travaux de **Hadj-Mahammed et al. (2024)** réalisés dans le massif Sdama (Algérie), où les feuilles ont présenté des rendements variants entre 0,20 % et 0,33 % selon l'exposition. Les écarts observés entre les différentes études peuvent être expliqués par plusieurs facteurs : les conditions édapho-climatiques, la période et la zone de récolte, l'état physiologique de la plante ainsi que la technique d'extraction utilisée. Ainsi, bien que notre rendement soit inférieur aux valeurs maximales décrites dans la littérature, il reste cohérent avec les variations généralement rapportées pour les feuilles de cette espèce.

Tableau 7: rendement en huile essentielle pour la plante étudiée (rapport eau /matière végétal des extraction)

Espèce botanique	Quantité de la biomasse (en g)	Quantité d'huile essentielle (en g)	Rendement (%)
<i>Tetraclinis articulata</i>	2000 g	6,6 g	0.33%

IV.3 Test in vitro de l'activité antifongique

Les phytopathologies causées par les microorganismes, notamment les champignons, sont un obstacle majeur qui touche de nombreuses cultures agricoles, menant ainsi à leur altération et à de grandes pertes économiques (Zahir, 2016; Zahir *et al.*, 2018 b). Actuellement, les plantes infestées sont traitées à l'aide de pesticides. Cependant, cette méthode conventionnelle pollue l'environnement et présente un effet néfaste pour la santé humaine (Zahir *et al.*, 2018 b). Pour faire face à cela, les plantes médicinales sont utilisées dans le cadre du contrôle biologique.

Résultats des tests antifongiques :

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a été évaluée in vitro sur trois souches fongiques par la méthode des boîtes de Pétri. L'analyse qualitative, après une période d'incubation de 10 jours, repose sur l'observation de l'inhibition de la croissance mycélienne.

Les résultats démontrent une activité inhibitrice dose-dépendante de l'huile essentielle sur l'ensemble des souches testées. Cette inhibition contraste fortement avec la croissance mycélienne abondante et normale observée dans le témoin négatif (non traité). Les données quantitatives de ces observations sont synthétisées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8: Les résultats obtenus après l'application des différentes concentrations de l'HE

Traitement	Concentration	2 jours	4 jours	6jours	8jours	10 jours
FR	Témoin	3.9cm	4.5cm	5cm	5.5cm	7.5cm
	C1=100uL	0.4cm	2cm	2.4cm	4cm	5cm
	C2=250uL	/	1.4cm	2cm	3.5cm	4.5cm
	C3=500uL	/	/	1.6cm	3.1cm	4cm
	C4=750uL	/	/	1.8cm	3.2cm	4.5cm
	C5=1000uL	/	/	1.5cm	3cm	4.3cm
FT	Témoin	3.6cm	5cm	5.5cm	7,3cm	8cm
	C1=100uL	0.3cm	2.1cm	2.6cm	4.3cm	5cm
	C2=250uL	/	1.3cm	1.7cm	3.5cm	4.8cm
	C3=500uL	/	/	1.2cm	2.4cm	3.6cm
	C4=750uL	/	/	/	2cm	3.2cm
	C5=1000uL	/	/	/	1.7cm	2.5cm
FF	Témoin	2.3cm	3.4cm	4.5cm	5cm	7cm
	C1=100uL	0.4cm	2cm	2.5cm	5cm	6.4cm
	C2=250uL	/	1.3cm	1.6cm	3.3cm	5.7cm
	C3=500uL	/	/	/	1.9cm	3.4cm
	C4=750uL	/	/	/	1.5cm	2,3cm
	C5=1000uL	/	/	/	1.2cm	2.1cm

Les résultats indiquent une sensibilité de tous les isolats de *Fusarium* à l'huile essentielle (HE) de *Tetralinis articulata*. Son action, dont l'effet est proportionnel à la concentration, se traduit par une inhibition progressive de la croissance mycélienne à mesure que sa concentration augmente, les figures ci-dessous montrent l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Tetralinis articulata* sur les 3 souches de fusarium

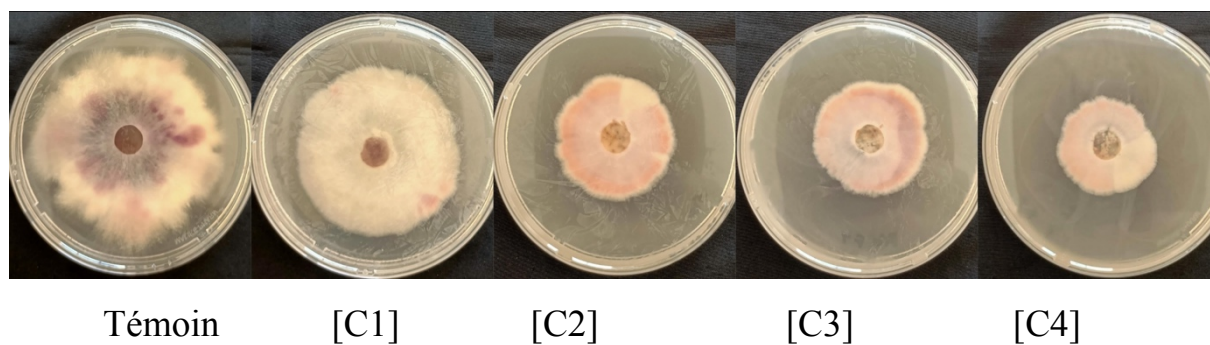


Figure 18: L'effet de L'HE de *Tetraclinis articulata* sur la souche *Fusarium*

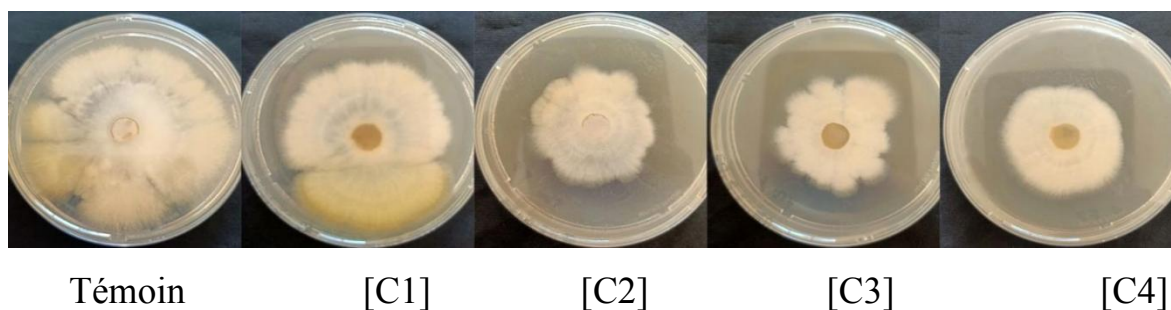


Figure 19: L'effet de L'HE de *Tetraclinis articulata* sur la souche *Fusarium*

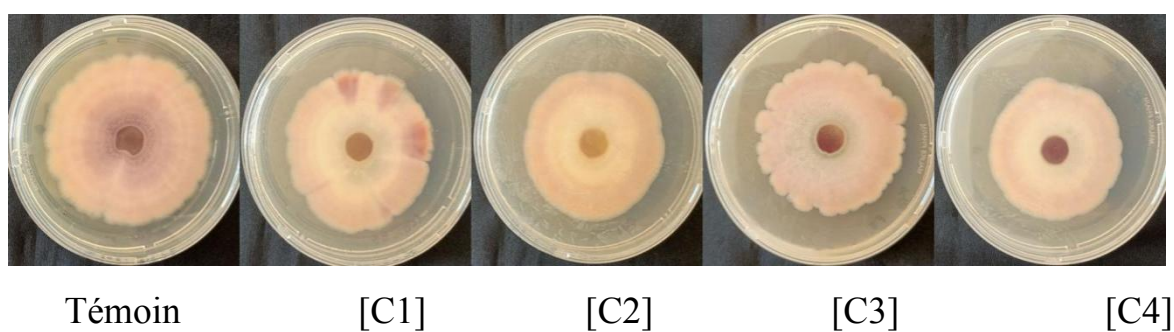


Figure 20: L'effet de L'HE de *Tetraclinis articulata* sur la souche *Fusarium*

IV.4 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon le protocole spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu, adapté d'après la méthode de **Wood *et al.* (2002)**. La quantification a été effectuée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des standards d'acide gallique. La teneur en composés phénoliques, calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe, est exprimée en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

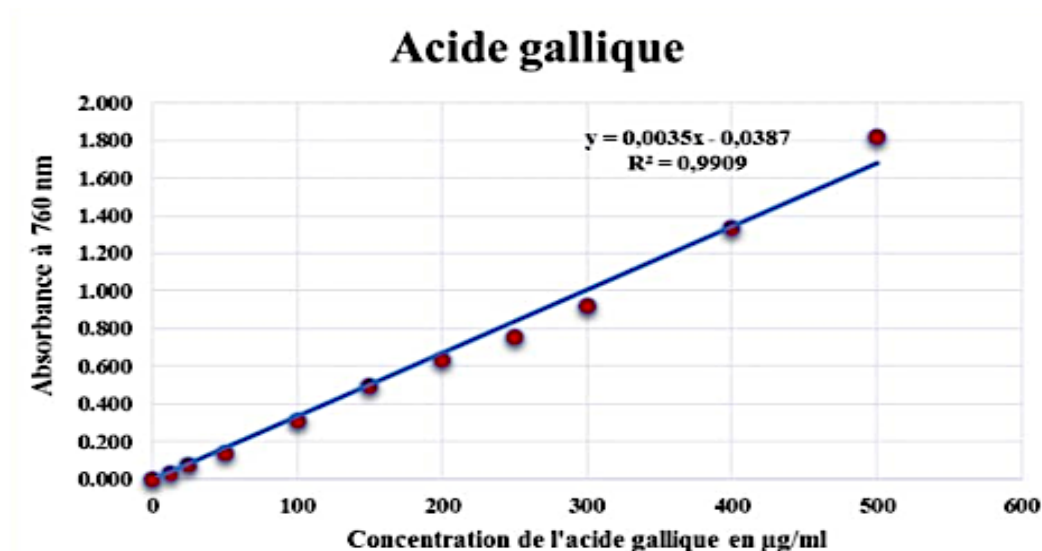


Figure 21: la courbe d'étalon d'acide gallique

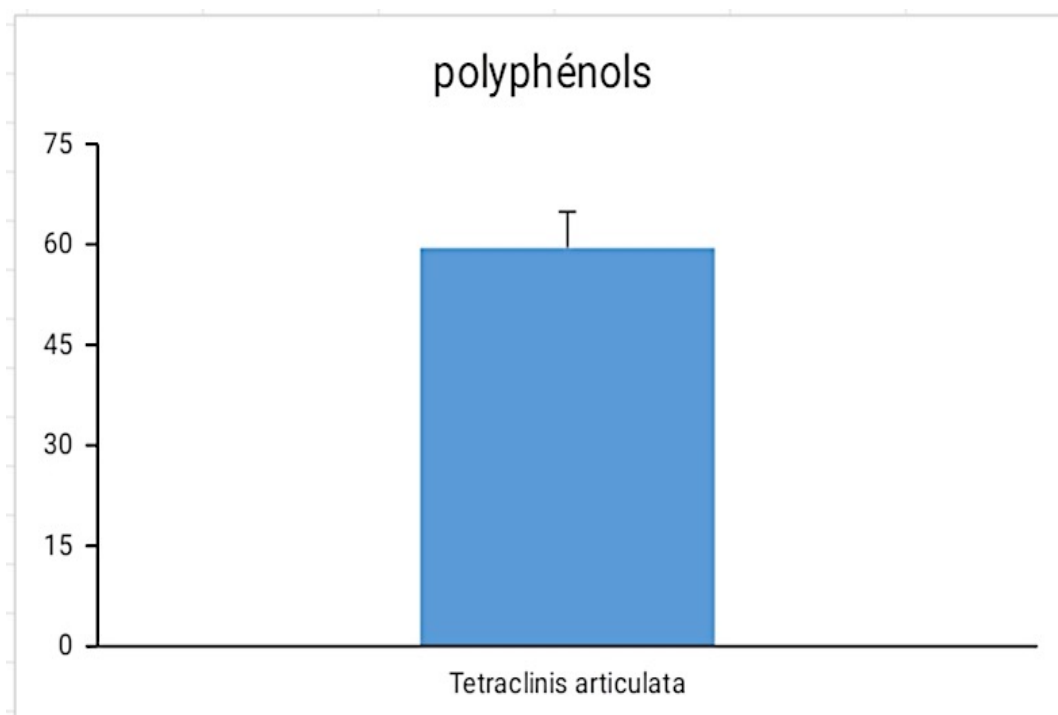


Figure 22: Teneur en polyphénols totaux.

Les résultats de cette étude révèlent que l'extrait de *Tetraclinis articulata* présente une teneur élevée en composés phénoliques totaux, évaluée à **59,48 ± 5,93 mg EAG/g**. Cette valeur significative corrobore son potentiel antioxydant remarquable et est en accord avec la littérature

Existante. En effet, **Bouyahya *et al.* (2018)** ont mesuré des teneurs pouvant atteindre 75 mg EAG/g dans des extraits foliaires méthanoliques, riches en flavonoïdes et tanins condensés. Des observations similaires ont été rapportées par **Boukhris *et al.* (2013)**.

Cette production phénolique abondante est attribuable à l'adaptation de *Tetraclinis articulata* aux contraintes environnementales méditerranéennes (sécheresse, stress hydrique, fort ensoleillement), qui stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires comme mécanisme de défense (**Elicoh-Middleton *et al.*, 2000; Lattanzio *et al.*, 2006**).

Les variations inter-études peuvent s'expliquer par des facteurs intrinsèques (génétiques, densité des structures sécrétrices, composition enzymatique) et extrinsèques (conditions écologiques).

IV.5 Dosage des flavonoïdes

L'analyse quantitative a mis en évidence des teneurs notables en composés flavoniques dans les huiles essentielles (HE) étudiées. Les concentrations, exprimées en milligrammes équivalents quercétine par gramme d'extrait sec (mg ÉQ/g ES), ont été déterminées par spectrophotométrie en utilisant une courbe d'étalonnage établie à partir de quercétine comme standard. Cette abondance en flavonoïdes est un indicateur d'un potentiel antioxydant significatif. En effet, ces métabolites secondaires sont connus pour leur forte capacité à piéger les radicaux libres, propriété conférée par la présence de groupements hydroxyles phénoliques dans leur structure. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Ali-Rachedi *et al.* (2018)**, validant à la fois la fiabilité du protocole analytique employé et l'intérêt phytochimique de l'espèce végétale investiguée. La présence de flavonols, de flavones ou d'autres dérivés flavoniques est susceptible de contribuer de manière substantielle aux activités biologiques globales observées lors des tests pharmacologiques

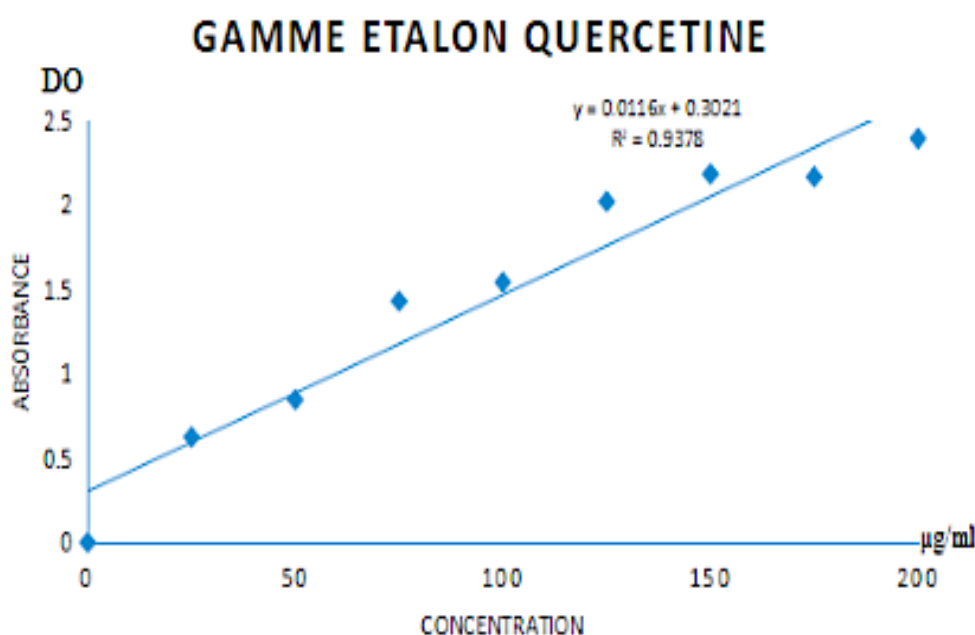


Figure 23: La courbe d'étalon de quercétine

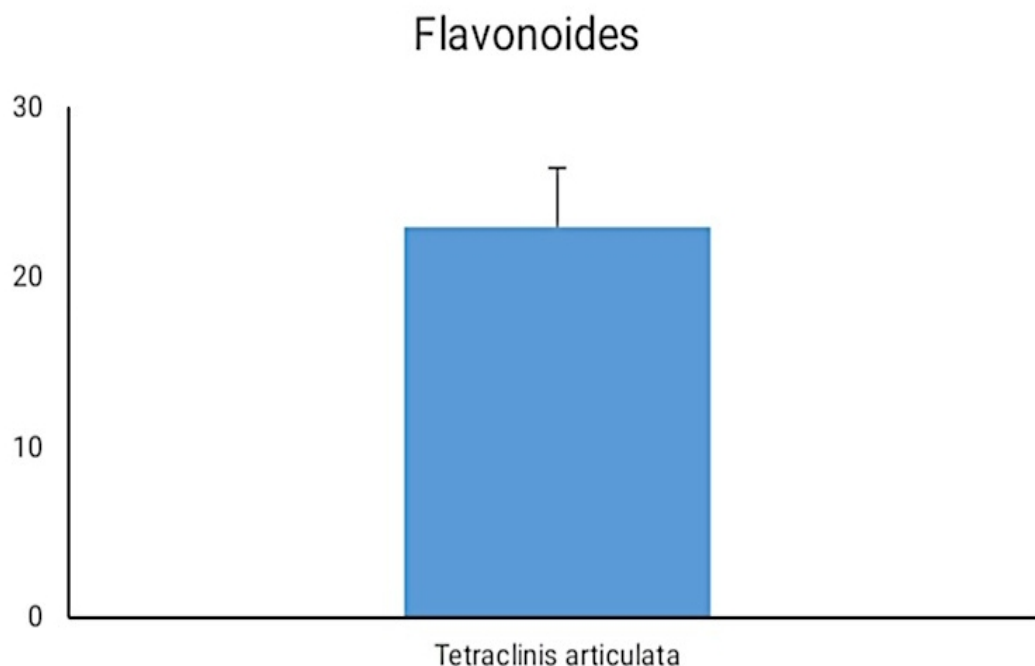


Figure 24: Teneur en flavonoïdes

Les résultats du dosage spectrophotométrique indiquent une teneur moyenne notable de **22,95 ± 3,48 mg EQ/g ES** en flavonoïdes totaux dans les extraits de feuilles de *Tetraclinis Articulata*..

Cette concentration se situe dans un ordre de grandeur comparable. Voire supérieur, à ceux rapportés dans la littérature pour des extraits de nature différente (e.g., ~15 mg EQ/g). (**Boukhris et al., 2013**)

Cette accumulation substantielle de composés flavoniques est un indicateur fort d'un potentiel antioxydant significatif, ce qui corrobore les conclusions d'**Abdennabi et al. (2017)** sur la corrélation entre phénols et activité biologique chez cette espèce. D'un point de vue écophysiologique, cette biosynthèse accrue est fréquemment observée chez les plantes xérophiiles soumises à un stress oxydatif généré par des conditions arides (**Elicoh-Middleton et al., 2000 ; Lattanzio et al., 2006**). Les flavonoïdes joueraient ainsi un rôle de photoprotection et de défense cellulaire.

En conclusion, la richesse flavonique mesurée dans *Tetraclinis articulata* ne fait que renforcer son statut d'espèce à haute valeur ajoutée biotechnologique, justifiant son étude approfondie comme source d'antioxydants naturels.

IV.6 Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés a révélé une teneur significative de $5,21 \pm 0,81$ mg EC/ml dans les extraits huileux de *Tetraclinis articulata*. Cette valeur, conforme aux données de la littérature (Bouyahya *et al.*, 2018), confirme la richesse de cette espèce en composés polyphénoliques. Ces tanins, dont la biosynthèse est stimulée par les stress abiotiques de son habitat (sécheresse, fort ensoleillement), sont reconnus pour leur contribution aux activités antioxydantes et antimicrobiennes (Lattanzio *et al.*, 2006). Ces résultats renforcent le potentiel de *Tetraclinis articulata* en tant que source de molécules bioactives prometteuses pour des applications pharmacologiques.

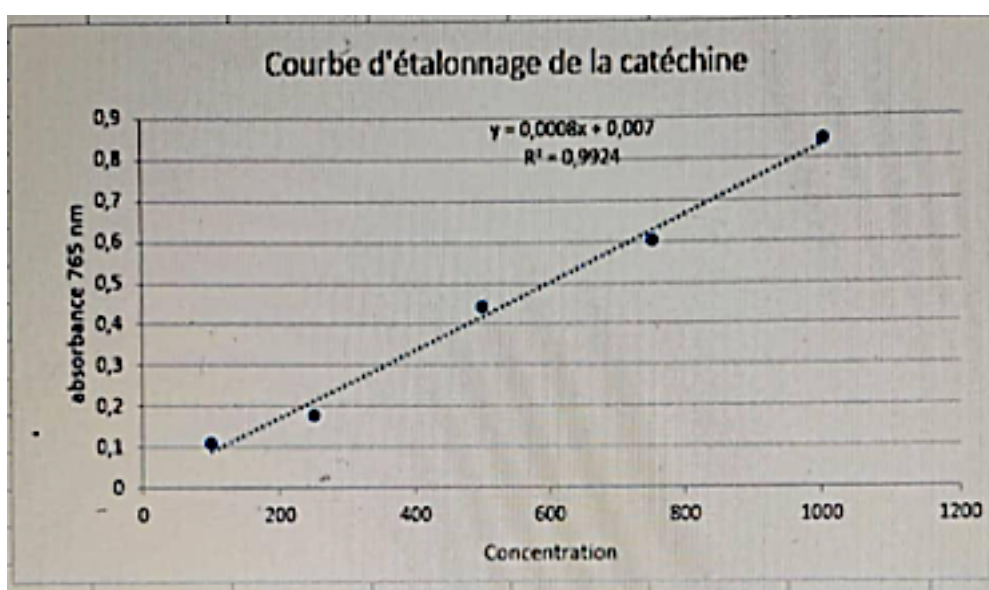


Figure 25: la courbe d'étalon de catéchine

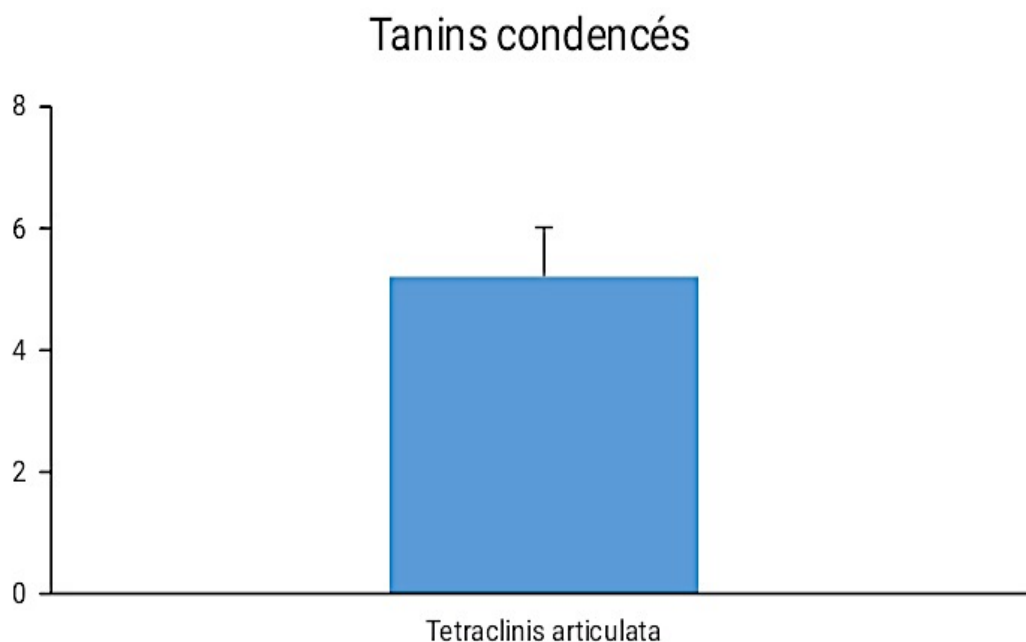


Figure 26: Teneur en tanins

IV.7 Évaluation de l'activité antioxydante

IV.7.1 Test de DPPH

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a été évaluée à l'aide du test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), une méthode standard qui mesure la capacité des composés à neutraliser les radicaux libres par transfert d'hydrogène. Les résultats ont mis en évidence une inhibition dose-dépendante du radical DPPH, se traduisant par une diminution progressive de l'intensité de la coloration violette caractéristique avec l'augmentation des concentrations testées. Une activité antioxydante significative a été observée dès la concentration de 0,05 mg/mL, avec une inhibition croissante atteignant son maximum à 0,5 mg/mL.

La valeur d'IC₅₀, déterminée graphiquement, a été estimée à 65 µg/mL, indiquant une efficacité antioxydante notable. Cette performance a été comparée favorablement à celle de l'acide ascorbique (vitamine C), utilisé comme témoin positif, qui a présenté une IC₅₀ de 100 µg/mL dans les conditions expérimentales employées. La forte activité antioxydante de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* peut être attribuée à sa composition riche en composés phénoliques et terpéniques, tels que le carvacrol, le thymol ou le limonène, connus pour leur capacité à agir comme donneurs d'électrons ou d'hydrogène.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Ben Hsouna *et al.* (2013)**, qui ont obtenu une valeur d'IC₅₀ proche (70 µg/mL) pour la même espèce végétale originaire de Tunisie, renforçant ainsi la validité de nos observations. La comparaison avec la vitamine C, bien que montrant une activité supérieure de cette dernière, souligne le potentiel de l'huile essentielle en tant qu'antioxydant naturel. La valeur d'IC₅₀ obtenue place *Tetraclinis articulata* parmi les sources aromatiques aux propriétés antioxydantes prometteuses, potentiellement exploitables dans les domaines pharmaceutiques, cosmétique ou alimentaire. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* représente un candidat intéressant pour des applications nécessitant une inhibition des radicaux libres. Des études complémentaires, incluant d'autres tests antioxydants (FRAP, ORAC) et une analyse chromatographique approfondie, permettraient de mieux identifier les molécules responsables de cette activité et d'élucider leurs mécanismes d'action.

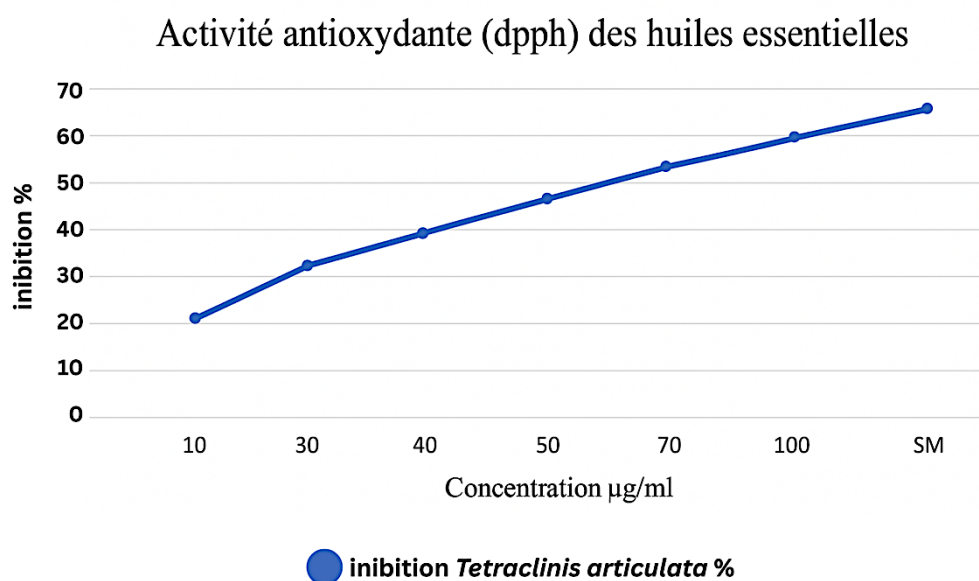


Figure 27: Inhibition du DPPH par HE de *Tetraclinis articulata*.

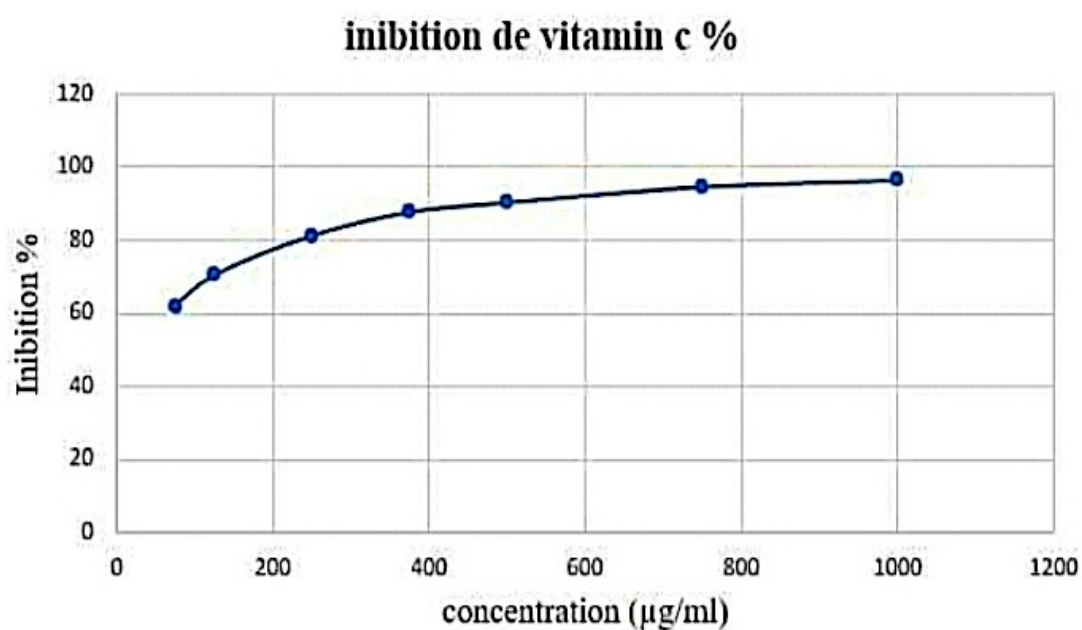


Figure 28: Inhibition du DPPH par la vitamine C.

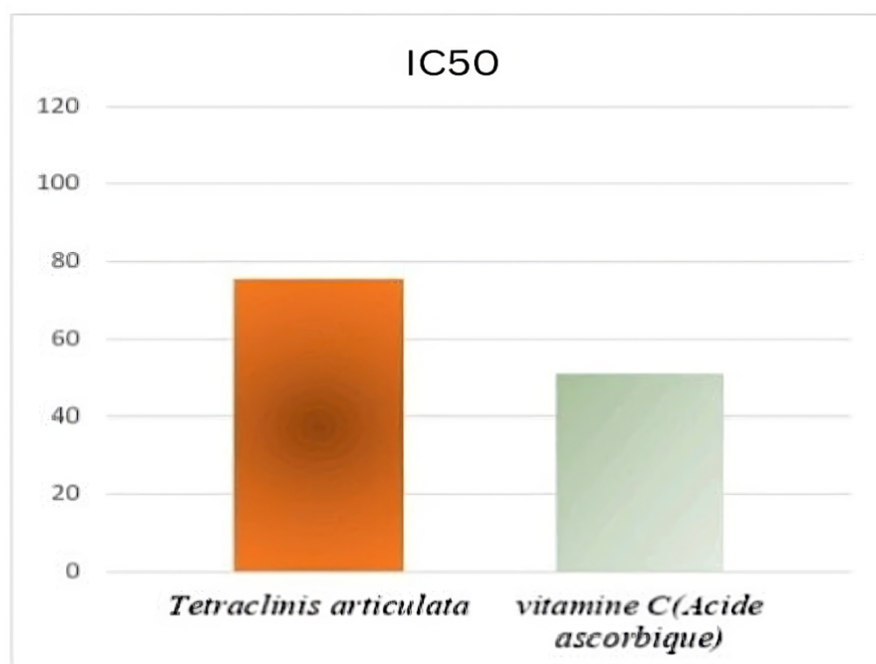


Figure 29: IC50 de la Vit C et l'HE de *Tetraclinis articulata*

IV.7.2 Test FRAP

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a été évaluée par le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), selon le protocole décrit par **Prasad *et al.* (2009)**. Ce test mesure la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en présence de ferricyanure de potassium. Le complexe fer-ferreux formé, de coloration bleue, est quantifié par spectrophotométrie à 700 nm. Une absorbance élevée indique un pouvoir réducteur important. La concentration équivalente en acide ascorbique (μg EAA/mL) a été déterminée à partir d'une courbe étalon d'acide ascorbique, selon l'équation de régression linéaire : $\text{Concentration} = (\text{Absorbance} - b) / a$ où « a » représente la pente de la droite et « b » l'ordonnée à l'origine. Les résultats ont montré une relation dose-dépendante entre la concentration de l'huile essentielle et son activité antioxydante. À la concentration maximale testée (150 μL), l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a présenté une activité antioxydante équivalente à 144,81 μg EAA/mL.

Cette valeur reflète une capacité réductrice modérée mais significative, attribuable à la présence de composés actifs tels que les phénols et les terpénoïdes. Ces observations sont en accord avec les travaux de **Hazzoumi *et al.* (2018)**, qui ont rapporté une activité FRAP notable pour *T. articulata*, tout en soulignant l'influence de facteurs tels que l'origine géographique et le stade de développement de la plante.

Bien que L'activité de l'huile essentielle reste inférieure à celle de l'acide ascorbique utilisé comme référence, elle témoigne néanmoins d'un potentiel antioxydant prometteur. La capacité réductrice de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* suggère son possible intérêt comme antioxydant naturel dans les domaines cosmétique, pharmaceutique ou alimentaire. Des études complémentaires, incluant une analyse chromatographique détaillée, permettraient d'identifier les composés spécifiques responsables de cette activité et d'optimiser les conditions d'extraction pour maximiser son potentiel.

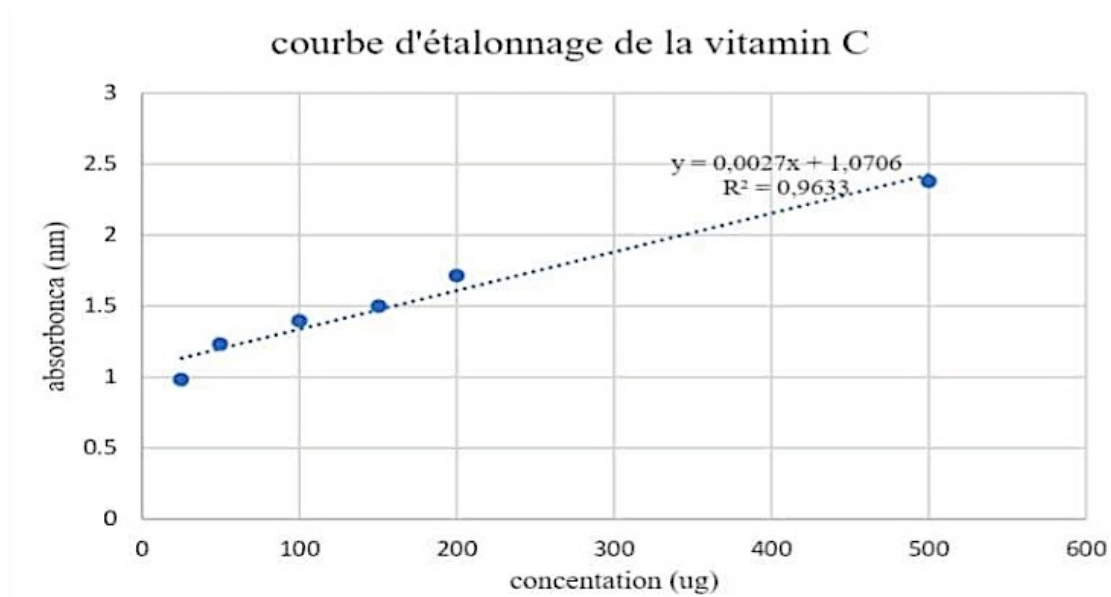


Figure 30: la courbe d'étalon de vitamine C pour le test FRAP

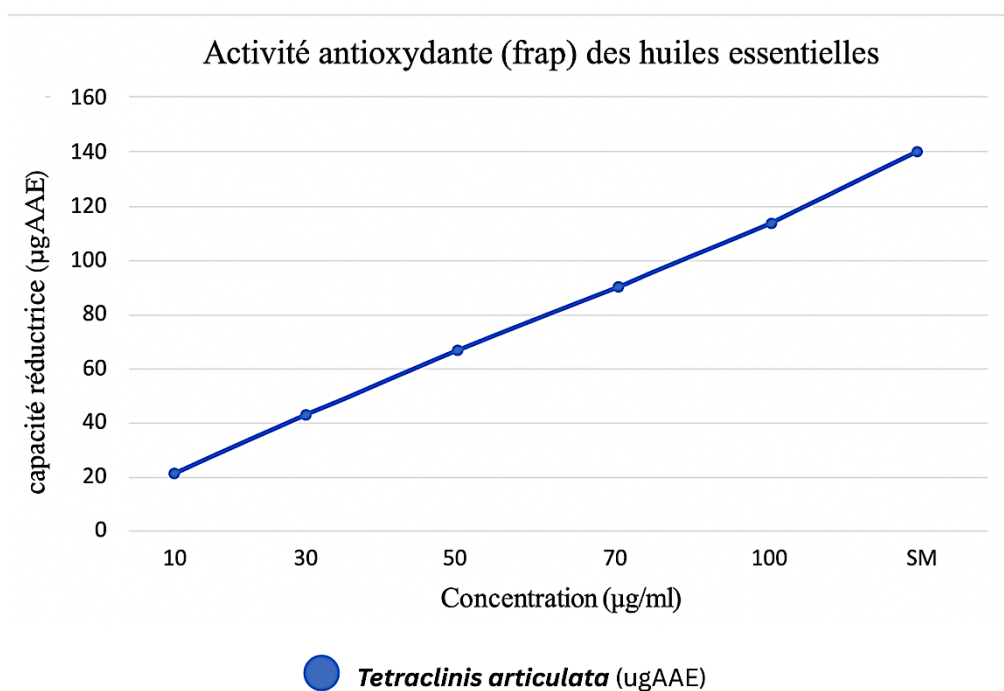


Figure 31: Capacité réductrice de *Tetraclinis articulata*

Conclusion

Ce mémoire de fin d'études a permis d'évaluer le potentiel biologique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata*, contribuant ainsi à la valorisation des ressources phytochimiques locales dans une perspective de développement d'alternatives naturelles aux produits de synthèse.

Les analyses phytochimiques ont mis en évidence une composition riche et variée, avec des teneurs notables en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins. Cette composition complexe est à l'origine de la remarquable activité antioxydante observée, confirmée par les tests DPPH et FRAP, qui démontrent une capacité significative à piéger les radicaux libres et à lutter contre le stress oxydatif.

Par ailleurs, les résultats des tests biologiques ont révélé une activité antifongique prometteuse, avec une inhibition notable de la croissance des souches fongiques testées. Cette propriété antifongique, couplée à l'activité antioxydante, confère à cette huile essentielle un intérêt particulier pour des applications dans les domaines de la protection des cultures, de la conservation des produits agricoles ou dans le développement de produits pharmaceutiques et cosmétiques naturels.

Références bibliographiques

- Abri Faraj, C. (2005). A guide to medicinal plants in North Africa. Malaga, Spain : IUCN.
- Alcaraz, C. (1982). La végétation de l'Ouest algérien. Thèse d'État, Université de Perpignan, 415 p.
- Ali-Rachedi, R., Touahria, F., Boudjedjou, L., & Didi, M. A. (2018). Détermination des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant d'extraits d'Eucalyptus globulus. *Revue des Bioressources*, 8(1), 73–85.
- Amorati, R., & Valgimigli, L. (2018). Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free Radical Research*, 52(7), 651–663.
- Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., & Çapanoğlu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement: Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron-transfer (ET)-based assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 997–1027.
- Attou, A. (2017). Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques de l'ouest algérien (région d'Ain Temouchent) et étude de leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- Baba Aïssa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Orient et d'Occident. Alger : EDAS, Librairie Moderne, Rouiba.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009). Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. CRC Press.
- Benabdelkader, T., Zitouni, A., & Yahia, A. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 24(4), 389–393.
- Benabdellah, M. A. (2011). Analyse phytoécologique des groupements à thuya (*Tetraclinis articulata*) et à chêne vert (*Quercus rotundifolia*) dans les monts de Tlemcen (Algérie occidentale). Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen, 270 p.
- Benabid, A. (1976). Étude écologique, phytosociologique et sylvo-pastorale de la tétraclinaie de l'Amisttène. Thèse de 3ème cycle, Université d'Aix-Marseille III, 155 p.

- Bensalem, S., et al. (2015). Chemical composition and biological activities of essential oils of *Tetraclinis articulata* from Algeria. *Natural Product Communications*, 10(9), 1609–1612.
- Boudy, P. (1950). *Économie forestière nord-africaine*. Tome II : Monographies et traitement des essences forestières. Paris : Larousse.
- Boudy, P. (1952). *Guide du forestier en Afrique du Nord*. Paris : La Maison Rustique.
- Bouquet, A. (1972). *Plantes médicinales du Congo Brazzaville*. Paris : ORSTOM.
- Bourkhiss, M., Hnach, M., Lakhlifi, T., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Satrani, B. (2010). Caractérisation de l'huile essentielle de la sciure de bois de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Master. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 79, 4–11.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Dakka, N., & Et-Touys, A. (2018). Polyphenols composition and antioxidant activity of *Tetraclinis articulata* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(5), 234–240.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Figuira, L., Al-Zahrani, M., & Abrini, J. (2017). Chemical composition of essential oils and their antioxidant, antifungal and antibacterial activities. *Microbial Pathogenesis*, 111, 41–49.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., & Dakka, N. (2018). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173–S183.
- Bouyahya, A., et al. (2017). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 373.
- Brosse, J. (2004). *Larousse des arbres : Dictionnaire des arbres et des arbustes*. Paris : Larousse.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Paris : Tec & Doc, Lavoisier.
- Buhagiar, J., Podestà, M. T. C., Cioni, P. L., Flamini, G., & Morelli, I. (2000). Essential oil composition of different parts of *Tetraclinis articulata*. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1), 29–32.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
- Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 17, 345–349.

- Connolly, J. D., & Hill, R. A. (1991). Dictionary of terpenoids. Chapman & Hall.
- Connolly, J. D., & Hill, R. A. (2005). Triterpenoids. Natural Product Reports, 22(4), 487–503.
- Couic-Marinier, F. (2018). Les huiles essentielles en pratique : administration et précaution d'emploi (pp. 26–28). Paris.
- Farjon, A. (2005). A monograph of Cupressaceae and Sciadopitys. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Farjon, A. (2010). A handbook of the world's conifers (Vol. 2). Leiden: Brill.
- Farjon, A., & Filer, D. (2013). An atlas of the world's conifers: An analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status. Leiden: Brill.
- Fennane, M. (1987). Étude phytoécologique des tétraclinaïes marocaines. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université Aix-Marseille III, 147 p.
- Frankel, E. N. (2005). Lipid Oxidation (2nd ed.). Woodhead Publishing.
- Guenther, E. (1975). The essential oils. Vol. I. History – Origin in plants – Production – Analysis. New York : D. Van Nostrand Company.
- Hadjadj, K. (2016). Étude de la productivité du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata* Vahl Mast.) dans l'Ouest algérien dans une perspective de développement durable. Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen.
- Hadjadj, K., & Latreuch-Belarouci, A. (2017). Synthèse bibliographique sur le thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.). 27 p.
- Hadjadj-Aoul, S. (1995). Les peuplements du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) en Algérie : phytoécologie, syntaxonomie et potentialités sylvicoles. Thèse de Doctorat d'État, Université Aix-Marseille III.
- Hadjadj-Aoul, S. (1999). Les peuplements du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) en Algérie : phytoécologie, syntaxonomie et potentialités sylvicoles. Thèse de Doctorat, Université Es-Senia, Oran.
- Hadjadj-Aoul, S., Chouieb, M., & Loisel, R. (2009). Effet des facteurs environnementaux sur les premiers stades de la régénération naturelle de *Tetraclinis articulata* en Oranie (Algérie). *Ecologia Mediterranea*, 35(1), 19–31.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine (5th ed.). Oxford : Oxford University Press.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). Free radicals in biology and medicine (5th ed.). Oxford University Press.

- Lahlou, M. (2004). Les huiles essentielles : chimie, bioactivité et applications thérapeutiques. Paris : Editions Tec & Doc.
- Lahlou, M., & Berrada, M. (2003). Chémotypes et variation chimique intraspécifique chez les plantes aromatiques et médicinales. *Phytothérapie*, 1(2), 45–52.
- Miguel, M. G. (2010). Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5), 291–312.
- Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503–515.
- Pibiri, F. (2005). Variabilité chimique et toxicologie des huiles essentielles : importance des chémotypes. *Journal of Essential Oil Research*, 17(4), 321–330.
- Pichersky, E., Noel, J. P., & Dudareva, N. (2006). Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311(5762), 808–811.
- Quézel, P. (1980). Biogéographie et écologie des conifères sur le pourtour méditerranéen. In *Actualité d'écologie forestière* (pp. 205–256). Paris : Bordas.
- Quézel, P. (2000). Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen. Paris : Ibis Press.
- Quézel, P., & Santa, S. (1962–1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (2 vol., 1170 p.). Paris : CNRS.
- Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2),
- Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2), 167–174.
- Ruzicka, L. (1953). The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 9(1), 1–6.
- Sahki, A. (1996). Étude écologique du *Tetraclinis articulata* dans les monts de l'Ouarsenis (Algérie). Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Functional properties of essential oils and their application in food systems. *Food Science and Technology International*, 16(2), 131–148.