

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire: Biologie moléculaire des procaryotes

Thème : Evaluation de l'activité antifongique et antioxydante

des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* L et

Juniperus phoenicea L.

Présenté par : Chargui Imene

Lasmar Khadidja

Touahmia Karima

Devant le jury composé de :

Présidente : Tourche Asma (M.A.A).

Examineur : Amri Sandra (M.A.B).

Examineur : Marzoug Abed El-Ghani (M.A.A).

Encadreur : Khenaka Karima (M.A.A).

Juin 2012

Remerciement

*Avant toute chose, nous tenons à remercier **Allah** le tout puissant, pour nos avoir donnée la force et la patience.*

*Tout d'abord, nous remercions sincèrement madame **khanaka karima**, qu'elle trouve ici l'expression de nos profonde reconnaissances pour nos avoir accordé sa confiance et guidé dans nos travail. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse. Nous avons trouvé en lui une directrice disponible et ouverte.*

*Nous exprimons nos respectueux remerciements à monsieur le professeur **Benouarth. D** le doyen de la faculté de science de la terre et de l'univers à l'université de 8 mai 1945. Nous remercions également tous **les membres de jury** pour leurs présences.*

*Nous adressons encore nos remerciements à tous les membres de la polyclinique de **Hammam Debagh**, en particulier Madame **Lebad** pour leurs accueils à chaque fois chaleureux et amicaux.*

*Nous tenons à remercier toute les personnels techniques du laboratoire, en particulier **Leila et Houda** qui nous ont apporté une aide précieuse au cours de ce travail.*

*Un grand merci à **Assaad, Ali, Hamza, Issam, Hcen, Islam, Rabah, Hayet, Nardjes**, pour leurs aides, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils m'ont
offert d'affection et sacrifices sans limites*

*A la mémoire de mes grand-pères et ma grand-mère qui m'a
toujours aimé et comblé par ses benedictions, que dieu le puissant
les accueillent en son vaste paradis*

A mes sœurs :

*Noor elhouda, et Imane pour leur extrême serviabilité et
compréhension*

A mes frères :

Nasser edine, Islam et Lotfi,

A khadidja et Imane mes trinôme

Mes chers oncles, tantes, cousins et cousines.

Mes collègue de travaille

Tous mes proches et mes amis

Mes camarades de promotion

Tous mes enseignants

Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire

karima

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Aux deux êtres les plus chers, ma mère et mon grand frères pour
tout ce qu'ils m'ont offert d'affection et sacrifices sans limites*

*A la mémoire de mon père que dieu le puissant
les accueillent en son vaste paradis*

A mes sœurs :

*Aicha, saliha, soria pour leur extrême serviabilité et
compréhension*

A mes frères :

Mohamed, Hocine, Salah, Rabah, Zoubir, Djamel, et hacen

A Karima et Imane mes trinôme

Mes chères nièces et mes nouveaux

Surtout Ibtissam et Sofiane

Mes collègue de travaille

Tous mes proches

Mes amis

Mes camarades de promotion

Tous mes enseignants

Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire

khadidja

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils
m'ont offert d'affection et sacrifices sans limites*

A mes sœurs et mes frères :

A khadidja et karima mes trinôme

Mes chers oncles, tantes, cousins et cousines.

Tous mes proches

Mes amis

Mes camarades de promotion

Tous mes enseignants

Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire

Imane

Liste d'abréviation

- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- AGPI** : Acides Gras Polyinsaturés
- ATP** : Adénosine Triphosphate
- CMF** : Concentration Minimale Fongicide
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- HE** : Huile Essentielle
- ERO** : Espèce Réactive de l'Oxygène
- LDL** : Lipoprotéines de basse densité (Low Density Lipoprotein)
- MDA** : Malondéhyde
- pH** : Potentiel d'Hydrogène
- TBA** : Acide Thiobarbiturique
- TBA-r s** : Acide Thiobarbiturique- substances réactif
- TCA** : Acide Trichloracétique

Liste des figures

Figure 1. La plante <i>Mentha pulegium</i>	3
Figure 2. La plante <i>Juniperus phoenicea</i>	6
Figure 3. Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation.....	10
Figure 4. Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur de l'eau.....	11
Figure 5. Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par méthode d'hydrodiffusion.....	11
Figure 6. Appareil d'extraction des huiles essentielles par micro-onde.....	13
Figure 7. Structure de la molécule d'isoprène.....	14
Figure 8. Activité antifongique des huiles essentielles extraite de <i>Mentha pulegium</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange vis-à-vis <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Trichophyton rubrum</i> par la méthode de diffusion par disque.....	26
Figure 9. Activité antifongique des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange vis-à-vis <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Trichophyton rubrum</i> par la méthode de diffusion par puits.....	27
Figure 10. Activité antifongique des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange vis-à-vis <i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Trichophyton rubrum</i> par la méthode de micro-atmosphère.....	28
Figure 11. Révélation de l'inhibition de la peroxydation lipidique par la technique de Thio-barbiturique acide.....	31
Figure 12. Les pourcentages d'inhibitions de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange.....	32

Liste des tableaux

Tableau 1. Les principaux constituants des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> rapportés dans différentes études.....	3
Tableau 2. Les principaux constituants des huiles essentielles extraites de <i>Juniperus phoenicea</i> rapportés dans différentes études.....	7
Tableau 3. Les concentrations de détermination la CMI.....	23
Tableau 4. Valeurs des diamètres d'inhibition et des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange vis-à-vis <i>Aspérgillus fumigatus</i> et <i>Trichophyton rubrum</i>	25
Tableau 5. Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange vis-à-vis des deux espèces fongiques.....	29

Produced with Scantopdf

Table des matières

Introduction	1
Revue bibliographique	
1. Les plantes médicinales.....	2
1.1 La plante <i>Mentha pulegium</i> L.	2
1.1.1 Description de la plante	2
1.1.1 Principe chimique	3
1.2 La plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.	6
1.2.1 Description de la plante	6
1.2.2 Principe chimique	6
2. Les huiles essentielles.....	8
2.1 Définition les huiles essentielles	8
2.2 Rôles des huiles essentielles	8
2.3 Localisation des huiles essentielles dans les plantes	9
2.4 Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	9
2.4.1 L'enfleurage et la macération	9
2.4.2 La distillation	9
• L'hydrodistillation	10
• La distillation par entraînement à la vapeur d'eau	10
• L'hydrodiffusion	11
2.4.3 L'extraction à froid	12
2.4.4 L'extraction par solvant.....	12
2.4.5 Extraction par micro-onde	12
2.5 Composition chimique des huiles essentielles.....	13
• Les terpènes.....	13
• Les phénylpropanoïdes	14
2.6 Les facteurs de variabilités de la composition chimique.....	14
• Les facteurs intrinsèques	14
• Les facteurs extrinsèques	15
2.7 Propriétés physique des huiles essentielles	15

2.8	Activité antimicrobienne des huiles essentielles	15
2.8	Mode d'action des huiles essentielles	16
3.	Le stress oxydatif	17
3.1	Définition	17
3.2	L'origine de stress oxydatif	17
3.3	Les conséquences biologiques	17
	• Les lipides	18
	• Les protéines	18
	• Les acides nucléiques	18
3.4	Les antioxydants	19
3.4.1	Définition	19
3.4.2	Les différents types d'antioxydants	19
	• Les antioxydants primaires	19
	• Les antioxydants secondaires	20

Matériel et méthodes

1.	Extraction des huiles essentielles	21
2.	Les espèces fongiques étudiées	21
3.	Milieux de culture utilisés	21
4.	Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles	21
4.1	Préparation des suspensions	21
4.2	Méthode de disc de diffusion	22
4.3	Méthode de diffusion en puits	22
4.4	Méthode des micro-atmosphères	22
4.5	Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide (CMI et CMF)	23
5.	Etude de l'inhibition de la peroxydation lipidique (Méthode de TBA-rs)	23
	• Principe	23
	• Mode d'opération	24
6.	Analyse statistique	24

Résultats et discussion

1.	Activité antifongique des huiles essentielles extraites de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Juniperus phoenicea</i>	25
----	---	----

2. Inhibition de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> , <i>Juniperus phoenicea</i> et de leur mélange.....	31
--	----

Conclusion.....	33
------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	34
---	-----------

Annexes

Produced with ScanTOPDF

Introduction

Produced with ScanTOPDF

La maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels, ce qui rend la recherche de nouvelles molécules douées des activités biologiques très indispensable [1, 2, 45]. Ces recherches sont orientées vers des substances naturelles pouvant constituer une nouvelle source de molécules actives et/ou des alternatives naturels aux molécules chimiques et synthétiques. Parmi ces substances naturelles figurent les huiles essentielles (HE) extraites des plantes aromatiques [2].

Les plantes aromatiques ont été utilisées dans la médecine traditionnelle comme agents antimicrobiens depuis longtemps car elles sont très riches en substances bioactives comme les HE. Certaines HE ont montré une importante activité antimicrobienne contre plusieurs pathogènes bactériens et fongiques [3, 4, 44].

L'Algérie, par sa situation géographique, possède une végétation riche et diverse, dont plusieurs poussent spontanément, l'un de groupes de ces derniers sont les plantes aromatiques. En effet, au cours de ces dernières années un grand intérêt est dirigé vers ces plantes et leurs métabolites [2]. *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* sont parmi ces plantes aromatiques qui sont largement utilisées en médecine traditionnelle.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de mettre en évidence les activités biologiques des HE extraites de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*, d'une part l'étude de leur activité antifongique contre deux espèces (*Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum*) par l'utilisation de techniques de diffusion par disque, puits et micro-atmosphère ainsi que la technique de dilution afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice et fongicide et d'une autre part l'étude de l'activité antioxydante par inhibition de la peroxydation lipidique.

Etude bibliographique

Produced with ScantOPDF

1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps par l'Homme pour prévenir, soigner et soulager diverses maladies. Depuis longtemps l'être humain a utilisé différentes parties de ces plantes (feuilles, racines, grains, fleurs, fruits,...) comme des antiseptiques, des anti-inflammatoires, des antiparasitaires et pour la stimulation de la digestion et le traitement de plusieurs maladies gastro-intestinales, ce pouvoir réside dans la richesse de ces plantes en molécules thérapeutiquement actives comme plusieurs types de métabolites secondaires [5, 6].

Récemment, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et les effets secondaires des molécules synthétiques ont mené les chercheurs à étudier les activités biologiques des plantes médicinales, ces études ont porté précisément sur leurs extraits et leurs métabolites secondaires [4].

1.1 La plante *Mentha pulegium* L.

1.1.1 Description de la plante

La menthe pouliot est une plante herbacée vivace à odeur aromatique forte et qui peut atteindre 15 à 40 cm d'hauteur, elle possède des tiges quadrangulaires, des feuilles opposées, des fleurs pédonculées et calice velu (figure 1). Cette plante fait partie de la famille des Lamiacées, elle se développe dans les lieux humides et inondés dans l'hiver, sa floraison est habituellement entre Juin et Août.

Depuis longtemps, l'Homme a connue et utilisée cette plante. Comme toutes les autres espèces de *Mentha sp*, employée en médecine traditionnelle, *Mentha pulegium* a des propriétés identiques. Elle est digestive, carminative, cholagogue expectorante, béchique, anti-vomitif, antispasmodique, tonique, et insecticide [7, 8].



Figure 1. La plante *Mentha pulegium* [4, 7].

1.1.2 Principe chimique

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des différentes parties de *Mentha pulegium*, plusieurs ont prouvé la richesse de cette plante en substances actives comme les HE, les flavonoïdes, les tanins... [7].

L'HE de cette plante est un liquide jaunâtre, d'odeur très forte, soluble dans l'alcool, composé de 75 à 80 de pulégone de menthol, de limonène, dipentène, et plusieurs autres composants (tableau 1).

Tableau 1. Les principaux constituants des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* rapportés dans différentes études [11].

Origine	Période d'échantillonnage	Méthodes d'extraction	La concentration des composés de l'HE
Bandar-Anzeli (Iran)	Été 2000	4h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Pulégone (37.8%) ; menthone (20.3%) ; pipéritone (6.8%).

Inde	Juillet 2001 et 2003	3h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Pulégone (65,9-83,1%) ; menthone (8,3-8,7%) ; isomenthone (3,8-4,0%).
Algérie	nd	Clevenger apparatus	Pulégone (4,4-87,3%) ; piperitenone (0,1-26,7%) ; isomenthone (remonter à 22,6%) ; B-Pinene (0,4- 20,9%).
Marché Espagnol	nd	2h simultané distillation-extraction	Pulegone (41,1-42,3%) ; piperitenone oxide (14,9- 16,9%) ; piperitenone (4,6- 6,1%).
Tunisie	nd	3h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Pulégone (61,1%) ; isomenthone (17,0%) ; menthone (5,9%).
Province de Gilan (Iran)	printemps 2008	hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Pulegone (40,5%) ; menthone (35,4%) ; piperitone (5,2%).
Kazeron (Iran)	Août 2007	hydrodistillation	Piperitone (38,0%) ; piperitenone (33,0%) ; α - terpinol (4,7%) ; menthone (3,0%) ; Pulégone (2,3%).
Marché portugais	Été 2004	hydrodistillation	Pulégone (35,1%) ; piperitenone (27,4%).
Monastir (Tunisie)	Été 1993	3h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Menthol (40,6-51,6%) ; menthone (7,3-20,0%) ; 1,8 cineol (11,1-18,5%).

Akzu (Turquie)	Avril-Août 1994	3h hydrodistillation	Pulégone (205,5mg/ml) ; 1,8-cinole (34,7mg/ml) ; borneol (13,8mg/ml) ; menthone (5,4 mg/ml).
Antalya, (turquie)	nd	3h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Pulégone (39,6-419,6 mg/ml) ; menthone (12,2- 166,0 mg/ml) ; borneol (16,7-47,6 mg/ml) ; 1,8 cineole (19,8-40,1 mg/ml).
Tunisie	Été 2007,2008	12h macération dans de l'hexane	Pulégone (17,5-70,2%) ; carvone (remonter à 55,7%) ; isomenthone (2,9-34,2%) ; menthol (0,1-21,2%) ; menthofuran (0,7-10,0%).
Grèce	Été 2007, 2008	4h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	Pulégone (61,3-77,9%) ; iso-menthone (10,6- 18,5%) ; menthone (0,6- 8,3%) ; piperitone (0,3- 3,2%) ; cis-isopulegone (0- 1,7%).
île de Crète (Grèce)	Juillet	4h hydrodistillation (Clevenger apparatus)	peperitone (69,3%) ; iso- menthone (24,8%) ; limonene (1,8%).

nd : non définie.

1.2 La plante *Juniperus phoenicea* L.

1.2.1 Description de la plante

Juniperus phoenicea (Genévrier de Phénicie, "Araar") est une plante appartenant à la famille des cupressacées. C'est un arbre branchu pouvant atteindre 8 mètres de hauteur, possédant un tronc court qui peut atteindre 2 mètres de circonférence. Cette espèce est monoïque, la floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante. A maturité, les fruits sont bruns rouges et luisants. Elle devient de plus en plus rare sous l'effet de son exploitation abusive (son bois est très recherché comme combustible et fournit un charbon très apprécié).

Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle: Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès [12].



Figure 2. La plante *Juniperus phoenicea* [12].

1.2.2 Principe chimique

Les HE extraites de *Juniperus phoenicea* contiennent principalement trois constituants chimiques dominants : l' α -pinène, le δ -3-carène et le limonène. D'autres composés ont été également identifiés à des pourcentages relativement faibles, tels que le germacrène et β -pinène (tableau 2) [13].

Tableau 2. Les principaux constituants des huiles essentielles extraites de *Juniperus phoenicea* rapportés dans différentes études.

Origine	Période d'échantillonnage	Méthodes d'extraction	La concentration des composés de l'HE	Références
Egypte	Juillet 2007	4h hydridistillation	α -pinene (39%) ; β -phellandrene (4,31%) ; α -terpinyl acetate (3,36%) ; α -phillandrene (1,01%) ;	Selam A El-sawi et al. [40].
Maroc	2010	4h distillation (Clevenger apparatus)	α -pinene (49,15%) ; α -phillandrene (7,39%) ; myrcene (5,24%) ; β -pinene (3,58%)	E-Derwich et al. [41].
Maroc	2000	4h distillée à la vapeur d'eau	α -pinene (38,2%) ; δ -3-carene (7,6%) ; α -phillandrene (1,70%) ; myrcene (1,20%) ;	Achak Nadia et al. [42].
Tunisie	Avril 1999	4h hydrodistillation	α -pinene (67,71%) ; p-cynene (5,86%) ; α -phillandrene (2,21%) ; myrcene (1,19%) ;	A. Akrouit [43].
Le sud de Tunisie	Avril 2008	Distillation à la vapeur d'eau	α -pinene (59,10%) ; linalol (3,34) ; gimacrène B (3,22%) ; gimacrèneD (1,15%) ;	N. Bouzouita et al. [4].
Algérie	2010	3h distillée à la vapeur d'eau	α -pinene (34,5%) ; δ -3-carene (4,9%) ; α -phillandrene (22,4%) ; myrcene (5,9%) ;	Khadidja Mazari et al. [44].

2. Les huiles essentielles

2.1 Définition des huiles essentielles

Le terme «huiles essentielles» dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante [14], « Essence » signifie molécules odoriférantes contenues dans la plante [15].

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HE ne contiennent pas de corps gras (lipides), et ne sont pas « essentiel » dans le sens qu'elles sont nécessaires à la croissance ou au métabolisme [14], elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire [16].

Les HE sont des extrais naturels obtenus par entraînement à la vapeur d'eau d'un végétal [15], elles sont très réfringentes et hydrophobes, elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : L'aromathérapie [17].

Il est important de faire une différence entre les HE et les huiles végétales, une huile végétale est obtenue par pression, et est constituée majoritairement de corps gras associés à la propriété qu'ont la plupart des essences végétales [16].

2.2 Rôles des huiles essentielles

Dans le règne végétal, les HE sont considérées en tant que métabolites secondaires qui jouent des rôles écologiques importants, notamment en contribuant aux plusieurs phénomènes de communication et de défense.

Il est connu que les plantes aromatiques utilisent ces molécules pour la protection contre plusieurs microorganismes phytopathogènes et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux. Certains auteurs pensent que les plantes utilisent ces molécules aromatiques pour repousser et attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent les HE comme conservateurs de l'humidité dans les climats désertiques [18].

2.3 Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent située sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule, ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (*Lauraceae* et *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* et *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaceae* et *Asteraceae*) [19].

Les HE peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (ylang-ylang-bergamotier, rose,...), les sommités fleuries (tagète, lavande,...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma,...), les fruits (badiane,...), le bois (bois de rose, santal,...) ou les graines (ambrette, muscade,...). Cependant, plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe [19].

2.4 Procédés d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des HE. En générale le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter et la nature des composés recherchés [20].

2.4.1 L'enfleurage et la macération

C'est une technique ancienne, coûteuse et peu utilisée. Elle est employée aux fleurs sensibles qui ne supportent pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgés de parfum, les corps gras sont filtrés et évaporés [6].

2.4.2 La distillation

La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles [6]. Il existe trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau [21].

- **L'hydrodistillation**

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition (figure 3). Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'hydrolysât par différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysât [20].

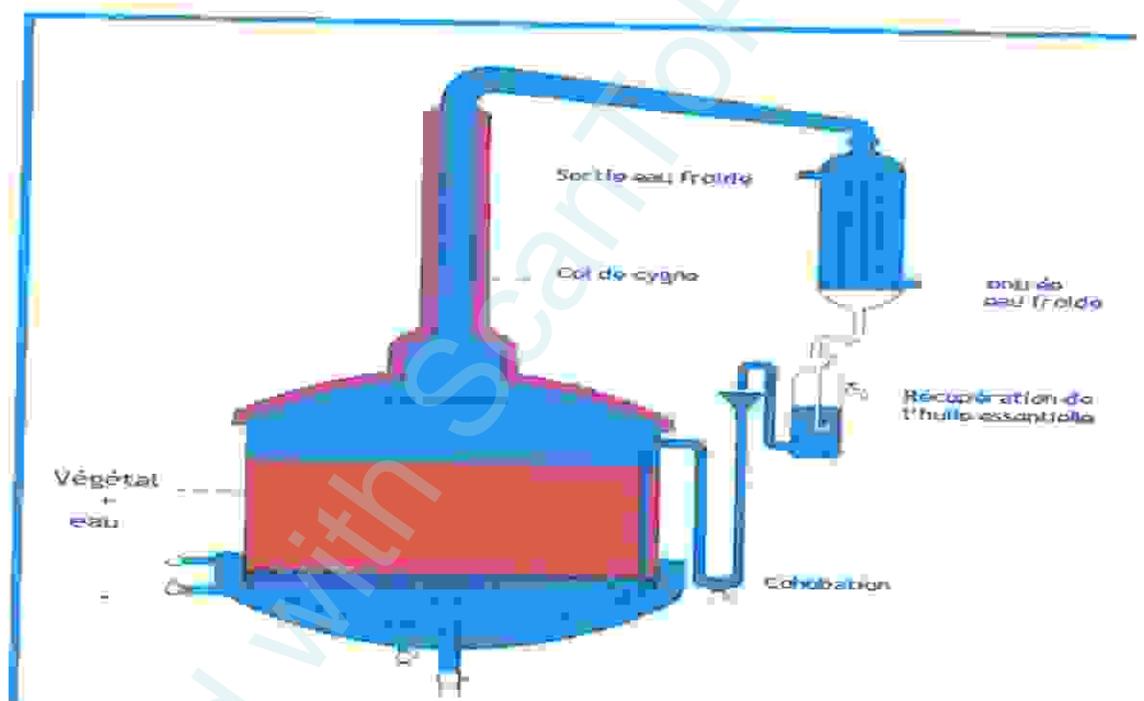


Figure 3. Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation [16].

- **La distillation par entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (figure 4). Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques [20].

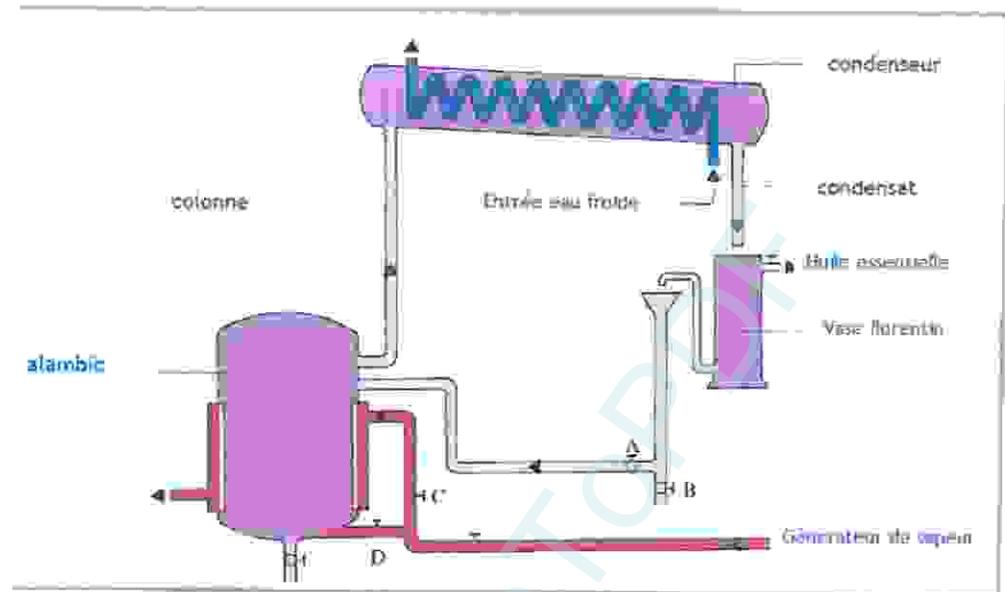


Figure 4. Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur de l'eau [16].

- **L'hydrodiffusion**

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus raide donc, moins de dommageable pour les composés volatils (figure 5) [20].

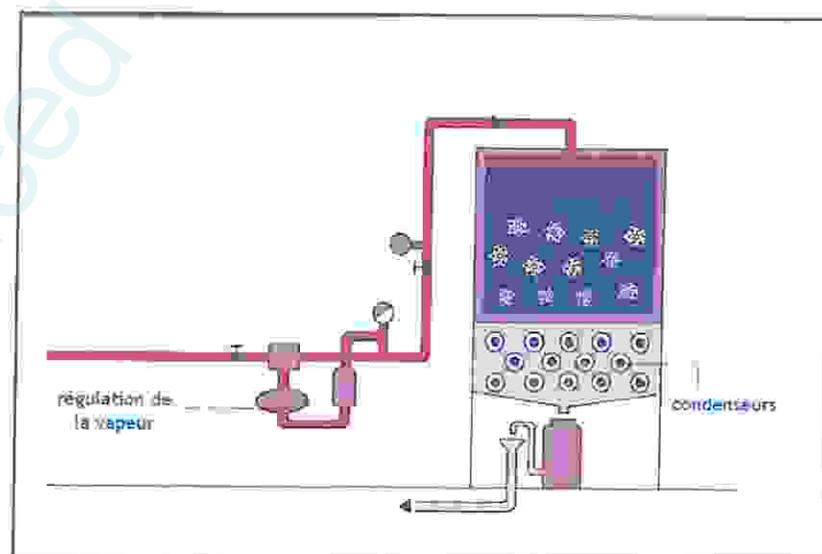


Figure 5. Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par méthode d'hydrodiffusion [16].

2.4.3 L'extraction à froid

C'est un simple procédé d'extraction mais qui ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence [20].

2.4.4 L'extraction par solvant

Certains procédés d'extraction ne permettent pas d'obtenir des HE à proprement parler, il s'agit d'extraits de plantes obtenus au moyen de solvants. Ces derniers peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique comme l'hexane et l'éther de pétrole ou des graisses (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras) ou même encore des gaz. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que celui de l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également d'autres composés tels que des cires, des pigments, des acides gras ..., l'élimination des composés indésirables est assurée par lavage à plusieurs solvants, cependant, cette extraction pose un problème de toxicité grâce aux solvants résiduels après distillation [22].

2.4.5 Extraction par micro-onde

Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-onde, les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation (figure 6). Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable [22].



Figure 6. Appareil d'extraction des huiles essentielles par micro-onde [16].

2.5 Composition chimique des huiles essentielles

Sur le plan chimique, les HE sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité soit à la famille des terpènes ou à la famille des Les phénylpropanoïdes.

- **Les terpènes**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (figure 7).

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, ...)

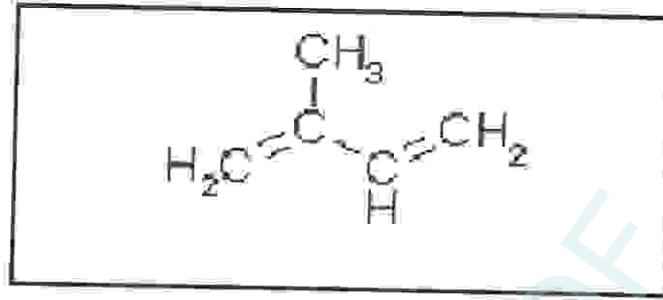


Figure 7. Structure de la molécule d'isoprène.

- **Les phénylpropanoïdes**

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine. Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones [14].

2.6 Les facteurs de variabilités de la composition chimique des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les HE présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que peuvent être regroupé en deux catégories :

- **Les facteurs intrinsèques**

Facteurs intrinsèques sont principalement liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat,...) et au degré de maturité du végétal concerné.

Les cellules productrices d'HE pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante, à titre d'exemple, les HE extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. L'influence de l'origine géographique et de la saison sont mises en évidence aussi, de plus, la variation de la composition des HE est liée au cycle végétal de la plante.

- **Les facteurs extrinsèques**

Plusieurs études ont montré l'influence des méthodes d'extraction (hydrodistillation, par solvant,...) et de leurs durées sur la composition et le rendement des HE. Le stockage est aussi un autre facteur de variabilité de la composition des HE, en effet, la durée de séchage, ainsi que la durée de stockage influence fortement la composition des HE [22].

2.7 Propriétés physique des huiles essentielles

Les HE sont en général liquides à température ambiante, volatiles, d'odeur très forte, incolores, jaunes pâles ou quelques fois bleues. Leur densité est inférieur à 1 sauf pour les HE de quelques plantes comme le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) [20].

Ces métabolites secondaires sont liposoluble, ce qui explique l'utilisation du terme « huile » qui est lié à leur solubilité dans les graisses et leur caractère hydrophobe, de plus, ils possèdent un indice de réfraction élevé [20].

2.8 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits de plantes aromatiques ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne, les constituants des HE sont actifs contre une large gamme de bactéries, de levures et de champignons.

Les HE les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent à la famille des *Lamiaceae*: origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques riches en composés phénoliques actifs comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Helicobacter pylori*. Ainsi que le pouvoir antifongiques des HE des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes, les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*. Certains virus sont également sensibles aux molécules aromatiques des HE, en effet, de nombreuses pathologies virales sévères traitées avec des HE ont montrées des améliorations importantes, à titre d'exemple, une inhibition de 50% des virus d'Herpès

Simplex (HSV-1 et HSV-2) a été observée avec des concentrations entre 0,002% et 0,008% d'HE de *Mentha piperita* [20].

2.9 Mode d'action des huiles essentielles

Du fait de la variabilité de qualité et des profils des composants des HE, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HE sur les bactéries comme perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules [23].

Quelques investigations sur le mécanisme d'action antimicrobienne des HE ou de leurs constituants ont été menées par différents auteurs :

Kuritta *et al.* [24] Pensaient que l'activité inhibitrice de ces composés serait due à leur affinité avec les groupements SH impliqués dans la division cellulaire.

Franchomme [25] suggère que l'HE hydroxylées créent des perturbations enzymatiques et prennent pour cibles les enveloppes protectrices et le cytoplasme.

Boochird et Flegel [26] ont suggéré que les HE auraient des cibles qui dépendent de la concentration en HE qui sont la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique et le cytoplasme.

Ultée *et al* [27] ont montré que le carvacol provoque un effet inhibiteur chez *Bacillus cereus*. Cet effet réside dans une forte diminution de l'adénosine triphosphate (ATP) intracellulaire. Une réduction du potentiel membranaire et du pH intracellulaire et aussi une influence sur le flux de potassium (intra et extracellulaire). Ceci témoigne de l'endommagement de la membrane cytoplasmique.

3. Le stress oxydatif

3.1 Définition

Dans les systèmes biologiques, l'oxygène est normalement transformé en molécules d'eau au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette réaction est cruciale puisqu'elle apporte à la cellule la majorité d'énergie nécessaire sous forme d'ATP pour assurer ses multiples fonctions. Le processus n'est toutefois pas parfait car une faible partie de l'oxygène (2% à 5%) est convertie en espèces réactives de l'oxygène (ERO) [28]. le stress oxydatif se définira donc comme un déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs [6].

3.2 L'origine de stress oxydatif

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur) [29].

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants / pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé «stress oxydant » [6].

3.3 Les conséquences biologiques

Le déséquilibre de ERO peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, herbicides, métaux toxiques,...). L'accumulation des EOR a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique [30].

- **Les lipides**

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle, réaction appelée peroxydation lipidique [6]. Les produits de peroxydation formés peuvent participer en tant que second messenger à la régulation de fonctions métaboliques, de l'expression des gènes et de la prolifération cellulaire. Ils peuvent aussi, et surtout, se comporter comme des substances toxiques responsables des dysfonctionnements et d'altérations cellulaires : perte d'acides gras polyinsaturés, diminution de la fluidité membranaire, modification de l'activité des enzymes et des récepteurs membranaires, libération du matériel à partir du compartiment subcellulaire [30], la formation de LDL oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires [6].

- **Les protéines**

Les acides aminés et les protéines sont la cible des ERO, soit au niveau de leur chaîne latérale, avec formation des produits d'oxydations, soit au niveau de la liaison peptidique, entraînant la fragmentation de la chaîne, les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et aromatiques (tyrosine, tryptophane) sont les plus sensibles. L'oxydation des acides aminés génère des groupements hydroxyles et carbonyles sur les protéines mais peut également induire des modifications structurales plus importantes comme des réticulations intra ou intermoléculaires, ce qui affecte leurs fonctionnements, antigénicités et leurs activités. Les protéines modifiées deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases [30].

- **Les acides nucléiques**

Les bases puriques, pyrimidiques et le désoxyribose sont la cible privilégiée des ERO [30]. Les ERO provoquant des altérations de bases (bases oxydées), des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins [6]. Les bases oxydées qui est normalement éliminée par des enzymes de réparation de l'ADN qui peuvent, elles aussi, être victimes de l'action des radicaux libres. Si ces systèmes de protection sont débordés ou defectueux, les altérations du matériel génétique s'accumuleront au sein de l'ADN représentant ainsi la première étape impliquée dans la mutagenèse, la carcinogénèse et le vieillissement [30].

3.4 Les antioxydants

3.4.1 Définition

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [6]. Et leur effet provient de deux mécanismes : 1) Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers. 2) Les antioxydants détruisent les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O), diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres [31].

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, collectivement connu sous le nom d'oxygène actif [6].

D'un point de vue biologique les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires [6], et ils jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps [31].

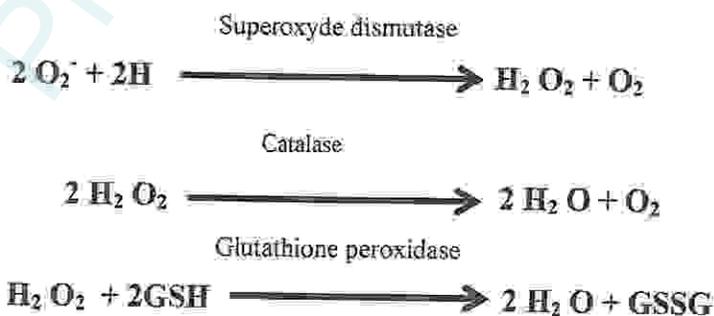
3.4.2 Les différents types d'antioxydants

Les défenses antioxydantes de l'organisme peuvent se diviser en :

- **Les antioxydants primaires**

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique [32].

- **Les antioxydants secondaires**

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes.

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques, ... Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [32].

Matériel et Méthodes

Produced with ScanTOPDF

1. Extraction des huiles essentielles

Les extraits utilisés dans cette étude sont fournis par le laboratoire de Génie microbiologique et Application de Constantine. Les huiles essentielles de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* sont obtenues par hydrodistillation. L'extraction est faite par un montage d'hydrodistillation, elle est réalisée par ébullition pendant 3 heures d'un mélange de 100 g de matériel végétal et 1400 ml d'eau distillée. Les HE obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes bien fermés, en verre ombré.

2. Les espèces fongiques étudiées

Pour une meilleure évaluation de l'activité antifongique des extraits étudiés, le choix est porté sur deux espèces fongiques référenciées, il s'agit de *Aspergillus fumigatus* CIP 1082.74 et *Trichophyton rubrum* CIP 2043.92.

3. Milieux de culture utilisés

Suivant les techniques employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- la gélose Sabouraud : un milieu de culture solide utilisé pour l'isolement et la purification des champignons, l'acidité de cette gélose inhibe la croissance bactérienne (annexe I)
- Le bouillon Sabouraud : un milieu de culture liquide utilisé pour la croissance des champignons (annexe II).

4. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles

4.1 Préparation des suspensions

Les suspensions de spores des souches fongiques sont préparées dans de l'eau physiologique stérile, les spores sont grattées par écouvillon à partir de la surface d'une culture de sept jours sur la gélose de Sabouraud.

Différentes dilutions sont réalisées dans l'eau physiologique stérile, après une bonne agitation de chaque tube, pour avoir une répartition homogène des spores dans l'eau physiologique, un comptage des spores à l'aide d'une cellule de Malassez et le microscope optique (x40). A l'aide d'un spectrophotomètre, l'absorbance de chaque dilution a été déterminée à une

longueur d'onde de 650 nm. Une courbe d'étalonnage a été tracée à partir des valeurs de l'absorbance et le nombre de spores (annexe III).

4.4 Méthode de disque de diffusion

Des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant la gélose Sabouraud sont ensemencées à partir des suspensions contenant 10^4 spores /ml (l'ensemencement est fait par écouvillonnage).

Des disques stériles de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont déposés à la surface de la gélose, ces derniers sont ensuite imbibés avec un volume de 10 μ l de l'une des HE ou de leur mélange (V/V). Un contrôle négatif a été réalisé aussi par des disques imprégnés d'eau distillée stérile. Les boîtes de Pétri sont conservées à 4°C pendant 2 heures, ensuite, elles sont incubées à 30°C pendant 3 jours. Trois répétitions sont réalisées pour chaque extrait.

Après l'incubation, la lecture a été réalisée par mesure de diamètre d'inhibition et par calcul du pourcentage d'inhibition.

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{boîte de pétri}}) \times 100$$

D_{test} : diamètre de la zone d'inhibition.

D_{control} : diamètre de la boîte de pétri.

4.3 Méthode de diffusion en puits

Sur une gélose Sabouraud ensemencé par écouvillonnage avec une suspension de 10^4 spores/ml, des puits de 6 mm sont réalisés à la surface à l'aide d'une pipette pasteur stérile. Une quantité de 10 μ l de l'une des HE ou de leur mélange est déposée aseptiquement dans ces puits. Les boîtes de Pétri sont transféré d'abord au réfrigérateur pendant 2 heures, ensuite à une étuve réglé à 30°C pendant 72 heures.

4.4 Méthode des micro-atmosphères

Des disques stériles de papier Whatman de 25 mm de diamètre sont déposés sur le couvercle des boîtes de Pétri, ces disques sont imbibés avec un volume de 50 μ l d'extrait. Des disques imprégnés d'eau distillée sont utilisés comme contrôle. Les boîtes de Pétri sont placées 2 heures à 4°C, ensuite, elles sont incubées à 30°C pendant trois jours.

Comme précédemment la lecture a été réalisée par mesure de diamètre d'inhibition et par calcul du pourcentage d'inhibition.

4.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide (CMI et CMF)

- La détermination de la CMI est réalisée par la méthode de dilution en milieu Sabouraud liquide.

Des dilutions ont été réalisées afin d'obtenir les concentrations suivantes en HE :

Tableau 3. Les concentrations de détermination la CMI

Tubes	1	2	3	4	5	6	7
[HE]	40	08	1,600	0,320	0,064	0,0128	00
$\mu\text{l/ml}$							

Après agitation, chaque tube est inoculé avec 400 μl de l'une des suspensions fongiques avec une charge de 10^5 spore/ml. L'ensemble est incubé à 30°C pendant 72 heures.

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en HE où aucune croissance fongique n'est observée.

- À partir des dilutions qui ont inhibées la croissance fongique, des ensemencements sont réalisés sur une gélose Sabouraud. Après l'incubation à 30°C pendant 72 heures, la CMF est la concentration en HE pour laquelle il n'y a aucune croissance sur le milieu solide.

5. Etude de l'inhibition de la peroxydation lipidique (Méthode de TBA-rs)

La méthode à l'acide thiobarbiturique (TBA) est la méthode la plus couramment utilisée pour le dosage des composés secondaires de l'oxydation des lipides dans les produits d'origine animal.

• Principe

Les produits secondaires de l'oxydation des lipides les plus couramment dosés sont les aldéhydes. Le TBA réagit avec le malonaldéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 532 nm. Il réagit également avec d'autres aldéhydes résultant de l'oxydation des AGPI à longue chaîne. La concentration en substances réactives au TBA (TBA-rs) est évaluée par la lecture de

l'absorbance au spectrophotomètre visible des TBA-rs extraites des échantillons par l'acide trichloracétique (TCA).

- **Mode d'opération**

Dans cette étude, le foie de trois souris est utilisé comme une source de lipides. Après décapitation des souris, le foie est récupéré afin de produire un mélange de 10% dans un tampon phosphate salin de pH égale à 7,4 (annexe VI). 1 ml du mélange est additionné avec une quantité précise d'HE et/ou de méthanol [33]. Les concentrations en HE étudiées sont les suivantes : 0, 41,66 et 83,33 µl/ml. 1 ml de l'homogénéisat obtenu est additionné de 100 µl d'une solution de FeSO₄ 15 mM est ajouté à 1 ml.

Les échantillons sont incubés pendant 30 min à 37°C au bain marie. Après incubation, 100 µl du contenu des tubes est additionnée avec 1,5 ml de TCA. Les tubes sont laissés 10 min à température ambiante, ensuite, le contenu est centrifugé à 1000 g pendant 10 min. Le surnageant récupéré est mélangé avec 1,5 ml de TBA, le mélange ainsi obtenu est chauffé à 100°C pendant 30 minutes. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 532 nm.

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

$$\text{Inhibition} = [(A \text{ control} - A \text{ test}) / A \text{ control}] \times 100\%$$

A control: est la densité optique du témoin sans extrait.

A test: la densité optique à du test [6].

6. Analyse statistique

Les données sont traitées par le logiciel statistique STATITCF version 4. Elles sont soumises à une analyse de la variance ANOVA à deux facteurs (activité antifongique) et à un seul facteur (inhibition de la peroxydation lipidique).

Résultats et discussion

Produced with ScanTOPDF

1. Activité antifongique des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*

L'évaluation de l'activité antifongique des HE de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* ainsi que leur mélange a été réalisé sur deux espèces (*Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum*). Les diamètres et les pourcentages d'inhibition obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 4. Valeurs des diamètres d'inhibition et des pourcentages d'inhibition des HE extraites de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* et de leur mélange vis-à-vis *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum*.

Méthodes		<i>Aspergillus fumigatus</i>			<i>Trichophyton rubrum</i>			P
		<i>Mentha</i>	<i>Juniperus</i>	mélange	<i>Mentha</i>	<i>Juniperus</i>	mélange	
Disques	D (mm)	It	14,5	21,33	It	14,5	21,33	-
	I%*	100a	16,11c	23,70b	100a	16,11c	23,70b	0,0462
Puits	D (mm)	It	14,00	19,00	It	14,00	19,50	-
	I%*	100a	15,55c	21,11b	100a	15,55c	21,66b	0,0493
Micro-Atmosphère	D (mm)	It	43,25	It	It	43,25	It	-
	I%*	100a	48,05b	100a	100a	48,05b	100a	0,0472

* : a, b, c, Moyennes dans une même colonne affectées d'exposants différents sont statistiquement distincts (P < 5%).

It : inhibition totale.

- Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition.

Selon ces résultats les deux espèces fongiques étudiées sont plus sensibles à l'action des HE extraites de *Mentha pulegium* où une inhibition totale a été observée avec les trois méthodes (figure 8, 9, 10). L'effet des trois extraits était le même sur les deux espèces (P > 5%).

Comparativement à l'effet des HE de *Juniperus phoenicea*, le mélange a un effet plus significative sur les deux espèces fongiques, avec la technique de diffusion par disque une inhibition de 23,70% a été observé comparativement à 16,11% de l'effet de *Juniperus phoenicea*, de même avec la diffusion par puits l'effet de mélange a été plus significative comparativement à celui de *Juniperus phoenicea*. Dans la technique des micro-atmosphères, le mélange a inhibé totalement la croissance des deux espèces fongiques.

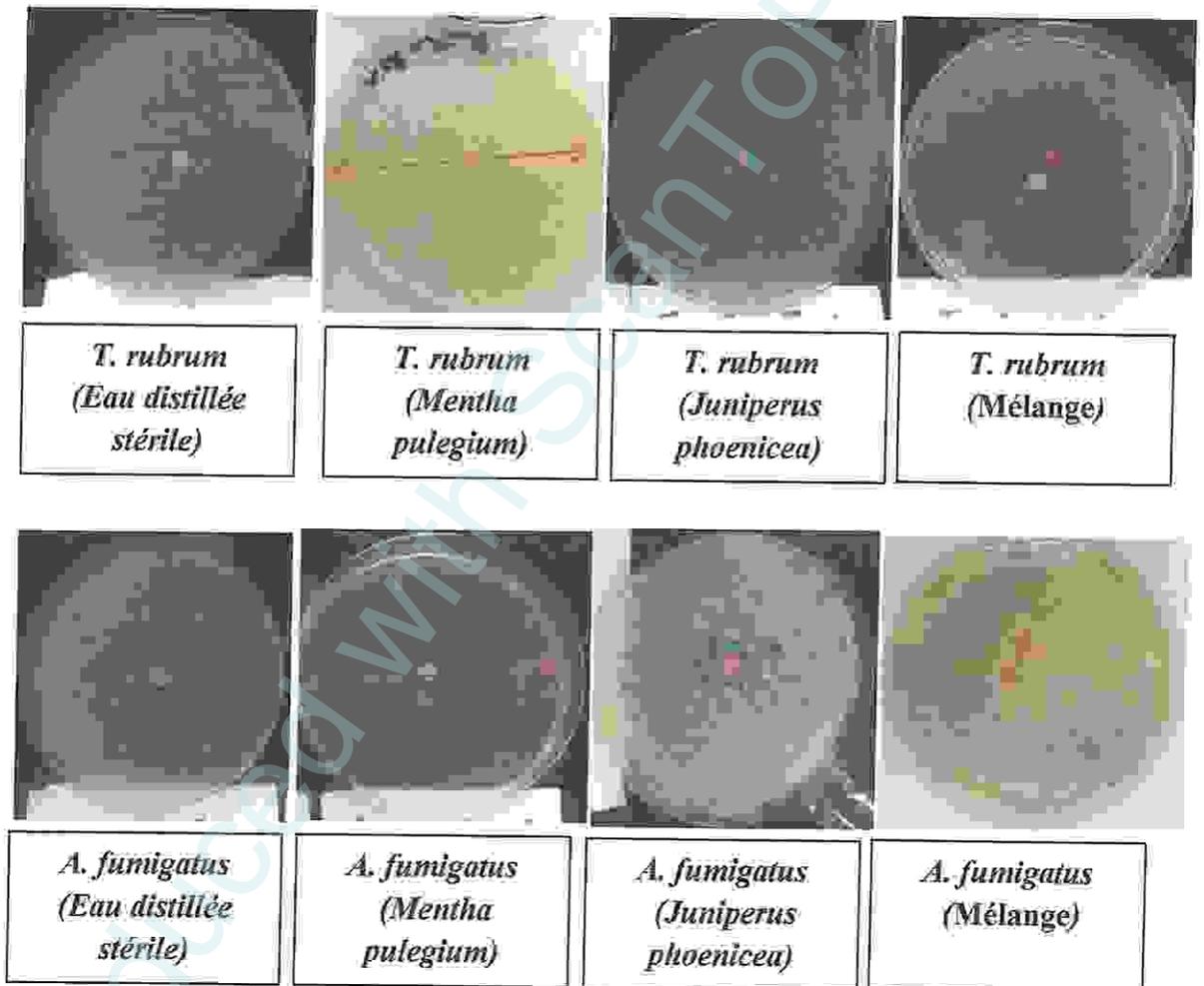


Figure 8. Activité antifongique des huiles essentielles extraite de *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* et de leur mélange vis-à-vis *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum* par la méthode de diffusion par disque.

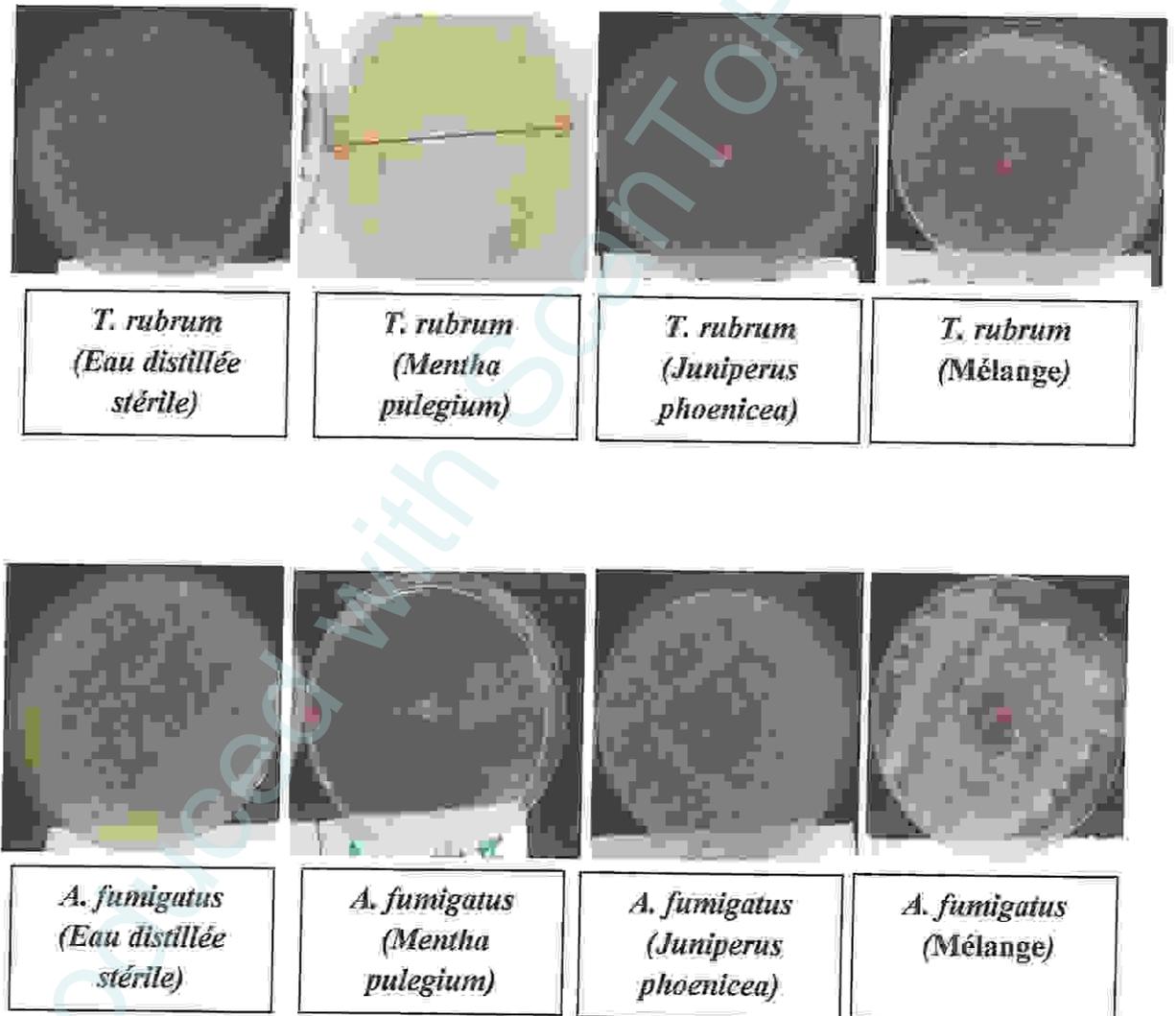


Figure 9. Activité antifongique des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* et de leur mélange vis-à-vis *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum* par la méthode de diffusion par puits.

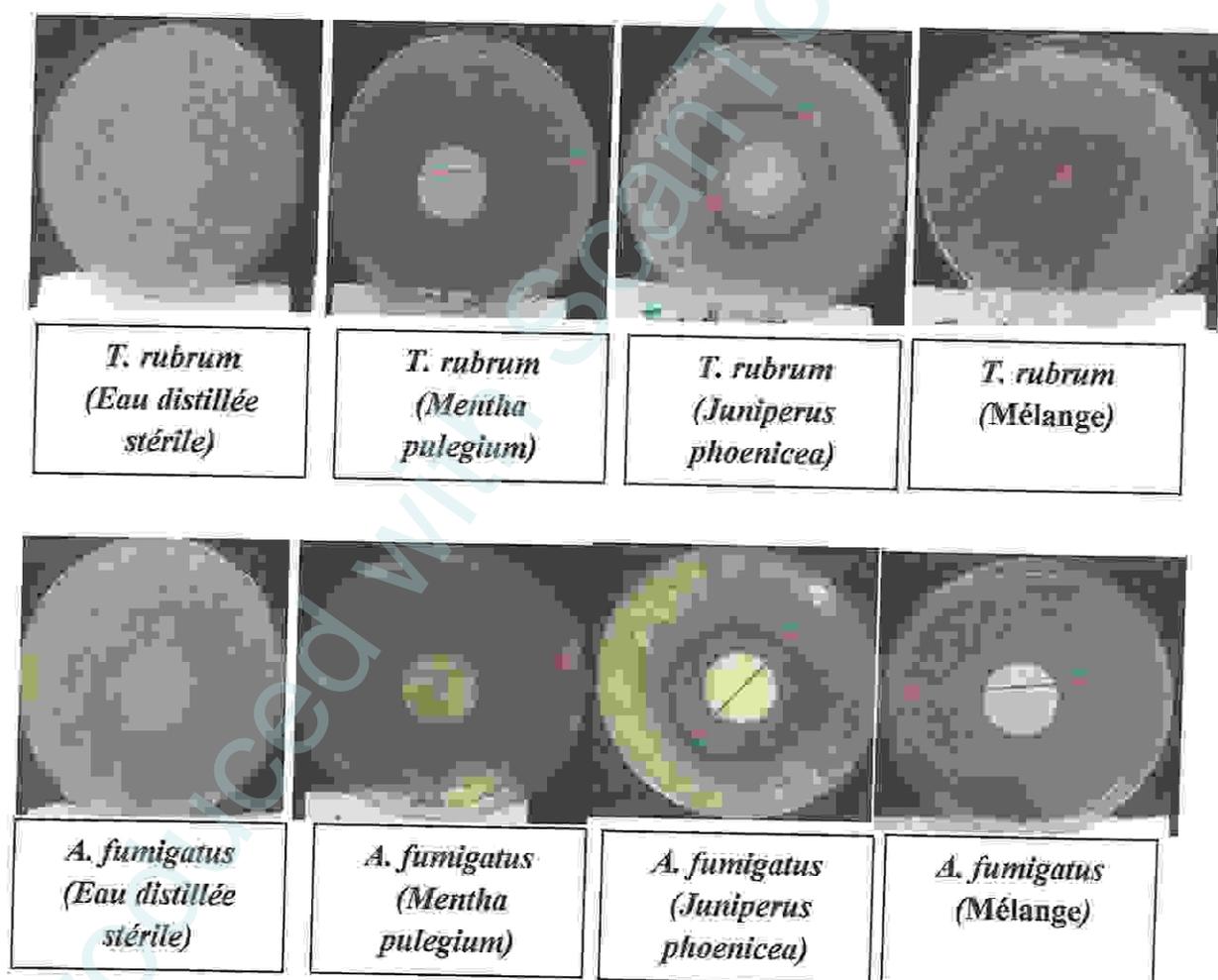


Figure 10. Activité antifongique des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* et de leur mélange vis-à-vis *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum* par la méthode de micro-atmosphère.

Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des extraits étudiés vis-à-vis *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum* sont mentionnées dans le tableau 5.

Selon ces résultats, une différence significative entre l'effet des extraits étudiés a été observée ($P < 5\%$) ainsi que entre les deux espèces fongiques. L'action fongistatique des HE de *Mentha pulegium* a été révélée à une dose de 8 $\mu\text{l/ml}$ contre *Aspergillus fumigatus* et à une concentration plus faible contre *Trichophyton rubrum* (1,6 $\mu\text{l/ml}$). L'extrait de *Juniperus phoenicea* a une action inhibitrice plus faible que celle de l'extrait de *Mentha pulegium* contre *Aspergillus fumigatus*. Une dose de 40 $\mu\text{l/ml}$ du mélange des deux HE a été suffisante pour inhiber la croissance des deux espèces fongiques. L'action fongistatique du mélange des deux extraits a été commencée à 40 $\mu\text{l/ml}$.

Une absence totale de croissance des espèces fongiques étudiées a été observée à 40 $\mu\text{l/ml}$ contre *Aspergillus fumigatus* et à 8 $\mu\text{l/ml}$ vis-à-vis *Trichophyton rubrum*, cependant, avec les HES de *Juniperus phoenicea* et le mélange des deux extraits, la CMF a été supérieure à la concentration la plus élevée (40 $\mu\text{l/ml}$).

Tableau 5. Les concentrations minimales inhibitrices et fongicides des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* et de leur mélange vis-à-vis des deux espèces fongiques.

	<i>Aspergillus fumigatus</i>			<i>Trichophyton rubrum</i>			P
	<i>Mentha</i> ($\mu\text{l/ml}$)	<i>Juniperus</i> ($\mu\text{l/ml}$)	Mélange ($\mu\text{l/ml}$)	<i>Mentha</i> ($\mu\text{l/ml}$)	<i>Juniperus</i> ($\mu\text{l/ml}$)	Mélange ($\mu\text{l/ml}$)	
CMI*	8b	40a	40a	1,6c	1,6c	40a	0,0468
CMF	40	>40	>40	8	>40	>40	-

* : a, b, c, Moyennes dans une même colonne affectées d'exposants différents sont statistiquement distincts ($P < 5\%$).

Globalement les HE extraites de *Mentha pulegium* ont une activité inhibitrice et fongicide plus importante que celles extraites de *Juniperus phoenicea*, du même, le mélange des deux extraits a donné aussi une activité antifongique plus importante que celle de l'extrait de *Juniperus phoenicea*.

La différence d'activité entre les extraits peut être attribuée à leur composition chimique, où selon les résultats obtenus les composants des HE extraites de *Mentha pulegium* sont plus actifs que ceux trouvés dans l'extrait de *Juniperus phoenicea*. Selon la littérature, les HE représente un mélange complexe de composants chimiques où trois ou quatre constituants sont majoritaires et plus de 60 autres constituants sont minoritaires et se trouvent sous forme de trace. Des études réalisées sur la composition des HE ont montré que les HE de *Mentha pulegium* contiennent principalement le menthol, pulégone, menthone et piperitone [11], celles de *Juniperus phoenicea* sont composées de α -Pinène, linalool, piperitone et γ -terpinène.

Plusieurs travaux ont montré que l'HE de *Mentha pulegium* est dominé par la pulégone qui est une cétone. El Arch. M *et al.* [34] ont montré que les cétones sont plus actives contre les agents microbiens que les oxydes terpéniques, l'équipe de Chebli *et al.* [35] ont montré que la pulégone pure provoque une inhibition de la croissance mycélienne.

A partir des résultats de la CMI et CMF, il apparaît que *Trichophyton rubrum* est plus sensible à l'action des HE qu'*Aspergillus fumigatus*. En effet, la différence d'effet est liée principalement à deux facteurs, la composition chimique des extraits ainsi que la nature du microorganisme cible, en revanche, la composition de ces extraits complique la définition du mécanisme d'action des différents composants des HE.

La comparaison de l'efficacité des HE à travers d'autres études reste difficile à réaliser, cette difficulté réside au niveau des différents paramètres externes incontrôlables : comme par exemple la composition chimique des HE qui varie selon les conditions environnementales des plantes, ces changements de la composition vont affecter l'impact des extraits issus de la même espèce.

Des HE extraites de *Mentha pulegium* ont une CMI de 0,25 μ l/ml et une CMF de 8 μ l/ml contre *Aspergillus niger* [36]. Une étude de Sunita Bansod [37] portée sur l'HE de *Mentha spicata* et *Mentha pulegium* a montré que les extraits de *Mentha pulegium* possède une activité plus importante que celle des extraits de *Mentha spicata*. Dans une autre étude, les HE de *Mentha pulegium* inhibent totalement la croissance des *Aspergillus. alternata* et *Penicillium expansum* à volume 10 μ l [38]. Un travail réalisé sur les HE de *Juniperus communis* a révélé une résistance de *Trichophyton rubrum* par rapport à cet extrait [3].

2. Inhibition de la peroxydation lipidique par les huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* et de leur mélange

L'inhibition de la peroxydation lipidique a été étudiée par la technique de TBA, où les aldéhydes et autres composants actifs (TBA-sr) agir avec le TBA, ce qui donne une couleur rose avec une intensité proportionnelle à la concentration du complexe coloré formé (figure 11).



Figure 11. Révélation de l'inhibition de la peroxydation lipidique par la technique de TBA.

L'impact des HE et de leur mélange sur la peroxydation lipidique est présenté dans la figure 12.

La réduction de la peroxydation lipidique a été observée juste avec les HE de *Mentha pulegium* et le mélange des deux extraits. L'impact de l'HE de *Mentha pulegium* est dose dépendant où l'inhibition a augmentée avec l'augmentation de la concentration des HE. Cependant pour le mélange des HE, la réduction la plus importante est enregistrée pour la dose la plus faible. L'impact de ces extraits dépend de leur richesse en composants peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques comme les lipides.

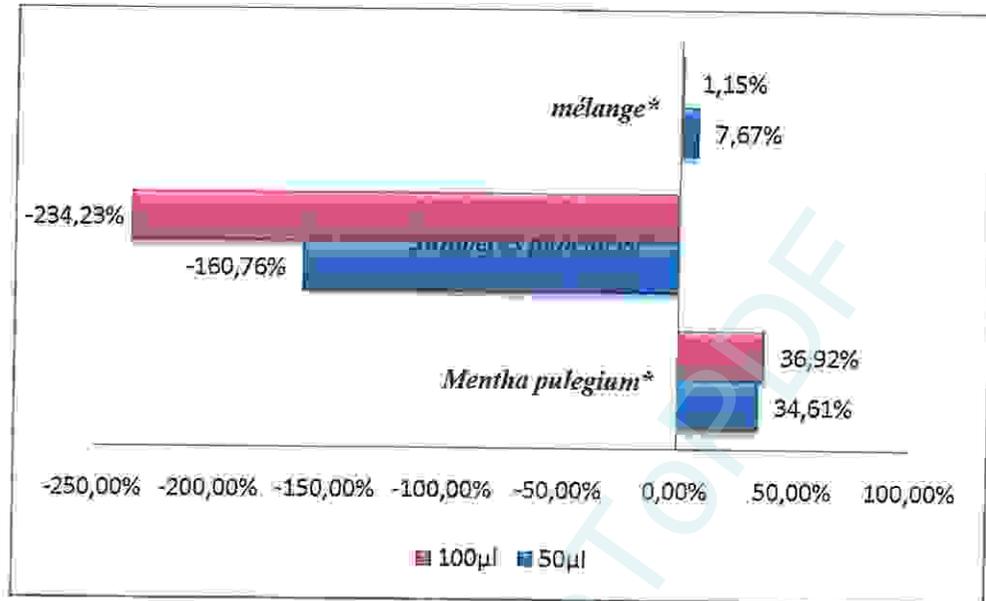


Figure 12. Les pourcentages d'inhibitions de la peroxydation lipidique par les HE de *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea* et de leur mélange.

*P < 5%

Les concentrations étudiées en HE de *Juniperus phoenicea* ont provoqué une augmentation de la peroxydation lipidique révélée par des pourcentages négatifs, où l'absorbance de l'échantillon en présence des HE a été supérieur à celle du contrôle.

L'impact des HE sur la peroxydation lipidique est lié principalement à leur composition chimique et à la dose appliquée.

L'inhibition de la peroxydation lipidique a été observée aussi avec d'autres HE à titre d'exemple les HE extraites de *Lindera pulcherrima*, *Dodecadenia grandiflora*, *Persea dutchiei*, *Persea odoratissima*, *Persea gamblei* [33].

Conclusion

Produced with ScanTOPDF

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives telles que les HE, ces substances naturelles ont un grand intérêt dans la recherche pharmacologique pour trouver des alternatives aux antibiotiques.

Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude des activités antifongiques et antioxydantes des HE de deux plantes *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea*.

L'HE de *Mentha pulegium* a exercé une activité antifongique importante par rapport à l'HE de *Juniperus phoenicea*. Nous avons constaté que la sensibilité de *Trichophyton rubrum* et *Aspergillus fumigatus* est plus accentuée avec l'HE de *Mentha pulegium* et avec le mélange des deux extraits qu'avec l'HE de *Juniperus phoenicea*, de même, les résultats de test antioxydant par la méthode de TBA ont montré que l'HE de *Mentha pulegium* et le mélange des deux extraits sont plus actifs par rapport aux HE de *Juniperus phoenicea*.

Après ces résultats, nous pouvons conclure que l'HE de *Mentha pulegium* semble être plus approprié comme une substance naturelle antifongique et antioxydatif.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussée de l'activité antifongique et antioxydante non seulement sur les HE utilisées seules et leurs composants majoritaires, mais également en mélange, permettant ainsi l'étude quantitative de la synergie entre les deux extraits. Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres espèces fongiques, comme il semble utile d'étudier ces activités biologiques dans d'autres concentrations en HE.

Référence bibliographique

Produced with ScanTOPDF

- [1]. **S. Dramane, K. M. Witabouna, K. Kagoyire.** 2010. Evaluation des Activités Antimicrobiennes et Anti-Radicaux libres de Quelques Taxons Bioactifs de Côte D'ivoire. *European Journal of Scientific Research*, Vol.40, N°2. 317 p.
- [2]. **I. Laib.** 2011. Étude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. *Technologie alimentaire*, 94 p.
- [3]. **S. Bansod, M. Rai.** 2008. Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *Biotechnologie*, 88 p.
- [4]. **N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Ben Halima et M. M. Chaabouni.** 2008. Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, N°10, 119-125 p.
- [5]. **N. Zeghad.** 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antimicrobienne. *Biotechnologie végétal*, 84 p.
- [6]. **Z. Mohammedi.** 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant d'huile essentielle et flavonoïdes de quelque plantes de la région de Tlemcen. *Produits Naturels, Activités biologiques et Synthèse*, 140 p.
- [7]. **A. Beloued.** 2001. *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaires Ben aknoun, 200 p.
- [8]. **I. Delille.** 2007. *Les plantes médicinales d'Algérie*. BERTI EDITION, Alger, 240.
- [9]. **M. PIERRE, M. Lys.** 2007. *Secrets des plantes pour se soigner naturellement*. Édition Artémis, France, 463.

- [10]. **T. Botanica.** 2012. *Mentha pulegium* L. Tela Botanica. Vol.4, N02, 02. « https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:kU2EZjKNrAgJ:www.telabotanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nm/75245/export/pdf+mentha+pulegium+pdf&hl=fr&pid=bl&srcid=ADGEESHganQpQakejxfVYcTY4B5aGEVsfcYT8EZms1WfUaV69XTtEp6P9ThcCUtGiyhEpBJ8eDoC6beWzBwQwp_4RXEINJmhVBbB9SCGaHXb ». Consulté le : 29/02/2012.
- [11]. **A. Ait-Ouazzou, S. Lorán, A. Arakrak, A. Laglaoui, C. Rota, A. Herrera, et al.** 2011. Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. Food Research International, 07 p.
- [12]. **T. Botanica.** 2012. *Juniperus phoenicea* L. Tela Botanica, Vol.4, N02, 02. https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:HGXxQlbCJTtoJ:www.telabotanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nm/36807/export/pdf+juniperus+phoenicea+pdf&hl=fr&gl=f&pid=bl&srcid=ADGEESg1OFdOxM3r4X6OcR4f_03AM4iXKxBflxG8E0ne4sOhEYIsAfzAOaIBvHZ9LgheX26N8cua7BMf7I4ZcO8PAgKtz-lqJLgIKfhq2b2T2nlb3I3gFcpvIBioub737i74mS_X9_X&sig=AHIEtbQ-PHO_RX_JG_EJmwI1PjDO-mQQNg. Consulté le : 16/02/2012.
- [13]. **N. Mansouri, B. Satrani, M. Ghanmi, L. Elghadraoui, A. Aafi.** 2011. Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp. *lycia* et *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata* du Maroc. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, Vol 15 n°3 415-424 p.
- [14]. **K. KHENAKA.** 2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogènes ruminale chez l'ovin. Biotechnologies Microbiennes, 61 p.
- [15]. **P. Jacquiet.** 2008. Effet larvicide des huiles essentielles sur stomoxys calcitrans à la réunion. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse, 25- 26 p.
- [16]. **J. Smadja.** 2009. Les huiles essentielles. Colloque GP3A - Tananarive 2-3 juillet 2009, 50 p.
- [17]. **N. Benayad.** 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair, 19 p.

- [18]. **L. Himed.** 2011. Huiles essentielles de *Citrus limon*. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon* : application à lamargarine. Technologie Alimentaire, 55 p.
- [19]. **N. Mebarki.** 2010. Extraction de l'huiles essentielles de thymus fontanesitii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Génie des procédés chimique et pharmaceutique, 124 p.
- [20]. **Z. Hellal.** 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine. Biochimie appliqué et biotechnologie, 78 p.
- [21]. **M. Piochon.** 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmaceutiques et Héli-synthèse. Exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables, 135 p.
- [22]. **C. Besombes.** 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques, application généralé. Génie de procédés industriels, 289 p.
- [23]. **M. Malecky.** 2007. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie), 201 p.
- [24]. **N. Kurita, M. Miyaji, R. Kurane, Y. Takahara et K. Ichimura.** 1979. Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. Agricultural Biology and Chemistry, 43 : 2365-2371 p.
- [25]. **P. Franchomme.** 1981. L'aromatologie à visée anti-infectueuse. Phytomedicine, 47 p.
- [26]. **C. Boochird et M.W. Flegel.** 1982. In vitro antifungal activity of Eugenol and Vanillin

- against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. Canadian Journal of Microbiology, 28 : 1235-1241.
- [27]. A. Ultée, E.P.W. Kets et E.J. Smid. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Journal of Applied Microbiology, 65(10) : 4606-4610 p.
- [28]. F. Belkhiri. 2009. Activité antimicrobienne et antioxydantes des extraits du *tamus communis* L. et *carthamus caeruleus*L. Microbiologie appliquée, 108 p.
- [29]. B. Garait. 2006. Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie). Biotechnologie, 159 p.
- [30]. A. Meziti. 2009. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude *in vitro* et *in vivo*. Molécules Bioactives, 74 p.
- [31]. P. I. Penchev. 2010. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Institut National Polytechnique de Toulouse, 218 p.
- [32]. G. Yakhlef. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Myrtus vulgaris* L. et *Laurus nobilis*. Biotechnologie, 69 p.
- [33]. C. S. Joshi, R. Arti, N. Verma, S. C. Mathel. 2010. Antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oils of Himalayan Lauraceae species. Food and Chemical Toxicology, 40 p.
- [34]. M. El Arch, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, D. Boriky, M. Fechtal *et al.* 2003. Composition chimique et activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. Acta Botanica Gallica, 150 (3) :267-274 p
- [35]. B. Chebili, M. Achouri, L.M. Idrissi Hassani et M. Hmamouchi. 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Journal Ethnopharmacol., 89 : 165-169 p.

- [36]. G. A. Helal, M. M. Sarhan, N. K. Abu Shahla et E. K. Abou El-Khair. 2006. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils Against Microorganisms Deteriorating Fruit Juices. *Mycobiology*, 34 (4): 219-229 p.
- [37]. S. Bansod et M. Rai. 2008. Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *Biotechnologie*, 3 (2) : 81-88 p.
- [38]. S. Hmiri, M. Rahouti, Z. Habib, B. Satrani, M. Ghanmi, M. El Adjouri. 2011. Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, vol. 80, 824-836 p.
- [39]. M. Mahboubi, G. Haghi. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology* 119, 325–327 p.
- [40]. S. A El-Sawi, H. M. Motawae and A. M. Ali. 2007. Chemical Composition, Cytotoxic Activity and Antimicrobial Activity of Essential Oils of Leaves and Berries of *Juniperus Phoenicea* L. Grown in Egypt. *Complementary and Alternative Medicines*, 4(4): 417–426 p.
- [41]. E. Derwich, Z. Benziane and A. Boukir. 2010. Chemical of Leaf essential Oil of *Juniperus phoenicea* and Evolution of its Antibacterial Activity. *International journal of Agriculture and Biology*, 12(2): 199-204 p.
- [42]. N. Achak, A. Romane, M. Alifriqui, R. P. Adams. 2000. Chemical Studies of Leaf Essential Oils of Three Species of *Juniperus* From Tensift Al Haouz-Marrakech Region (Morocco). *Journal of Essential Oil Research*, vol. 21, 337-341 p.
- [43]. A. Akrouf. 1999. Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). *Institut des Régions Arides*, 4119 Medenine, vol. 12, 289-292 p.

- [44]. I. Pavlovic, S. Petrovic, M. Radenkovi, M. Milenkovic, M. Couladis, S. Brankovic, M. Pavlovic Drobac, M. Niketic. 2012. Composition, antimicrobial, antiradical and spasmolytic activity of *Ferula heuffeltii* Griseb. Ex Heuffel (*Apiaceae*) essential oil. Food Chemistry. 130 : 310-315.
- [45]. K. LOUCIF. 2011. Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Microbiologie appliquée et Biotechnologie microbienne. Université Mentouri Constantine. 115p.

Produced with ScanTopDF

Annexes

Produced with ScantOPDF

Annexe I**Préparation de sabouraud solide**

Composition en g/l

Glucose	20,0g
Agar	15,0g
Peptone	10,0g

PH 6,8–7,0 à 25°C

Annexe II**Préparation de sabouraud liquide**

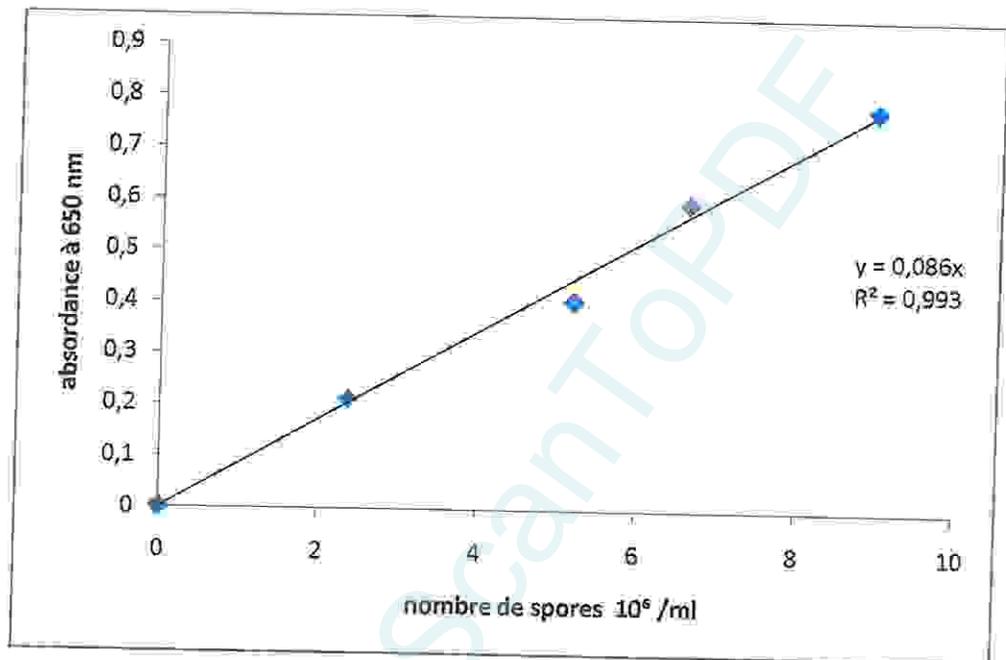
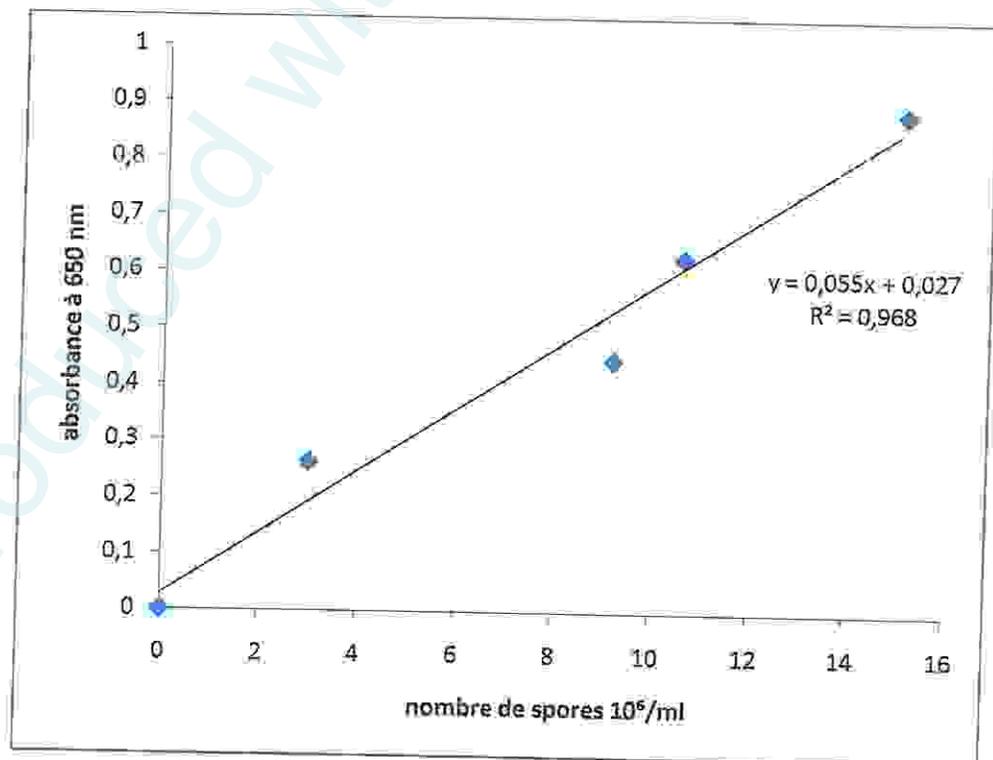
Composition en g/l

Agar	20,0g
Glucose	4,0g
KH ₂ PO ₄	1,5g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,0g
NaNO ₃	1,0g
Peptone	1,0g

PH 6,8 ± 0,2 à 25°C

Annexe III

Courbes d'étalonnage

La courbe d'étalonnage des spores d'*Aspergillus fumigatus*La courbe d'étalonnage des spores de *Trichophyton rubrum*

Annexe VI

Le tampon phosphate salin à pH=7,4

Eau distillée.....	800 ml
NaCl.....	.08 g
KCl	0,2 g
Na ₂ HPO ₄	1, 44 g
KH ₂ PO ₄	0,25 g

Produced with ScanTOPDF

Résumé

Produced with ScanTOPDF

Résumé

La présente étude est consacrée à évaluer *in vitro* les propriétés antioxydantes et antifongiques des huiles essentielles des deux plantes médicinales d'Algérie, *Mentha pulegium* L et *Juniperus phoenicea* L, les huiles essentielles de ces deux plantes sont obtenues par hydrodistillation.

L'activité antifongique des HE de *Mentha pulegium* et *Juniperus phoenicea* et de leur mélange a été étudiée vis-à-vis *Aspergillus fumigatus* CIP 1082.74 et *Trichophyton rubrum* CIP 2043.92. Cette activité est révélée par la méthode de diffusion par disque, diffusion par puits et la méthode des micro-atmosphères. L'action fongistatique est quantifiée par la méthode de dilution en bouillon Sabouraud, qui est suivie par un ensemencement sur gélose Sabouraud pour déterminer la concentration minimale fongicide. La capacité des extraits à inhiber la peroxydation lipidique est étudiée par la méthode de l'acide thiobarbiturique.

Les espèces fongiques révèlent sensibles à l'action des deux HE étudiée ainsi que à leur mélange. Une différence significative entre l'effet des extraits étudiés a été observée ($P < 5\%$) ainsi que entre les deux espèces fongiques, alors que globalement les HE de *Mentha pulegium* possèdent l'impact antifongique le plus important. Une absence totale de croissance des espèces fongiques étudiées est observée à 40 $\mu\text{l/ml}$ contre *Aspergillus fumigatus* et à 8 $\mu\text{l/ml}$ vis-à-vis *Trichophyton rubrum* avec les HE de *Mentha pulegium*, cependant, l'activité fongicide est absente avec les deux autres extraits.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de TBA a montré l'existence d'une activité antioxydante plus importante avec les HE de *Mentha pulegium* avec un pourcentage d'inhibition de 36,92% à une dose de 100 $\mu\text{l/ml}$, ainsi que le mélange en HE des deux plantes inhibe la peroxydation avec un pourcentage de 7,67% à concentration de 50 μl par contre l'HE de *Juniperus phoenicea* n'a pas une activité antioxydante.

Mots clés : huiles essentielles, *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, activité antifongique, activité antioxydante, peroxydation lipidique.

Abstract

The present study is devoted to evaluate the *in vitro* antioxidant and antifungal activities of essential oils extracted from two Algerian plants; *Mentha pulegium* L and *Juniperus phoenicea* L, these extracts are obtained by steam distillation.

The antifungal activity of essential oils of *Mentha pulegium* and *Juniperus phoenicea* and their mixture was studied against *Aspergillus fumigatus* CIP... and *Trichophyton rubrum* CIP.... This activity is revealed by the disc diffusion method, well diffusion and method of micro-atmospheres. The fungistatic action is quantified by the dilution method in Sabouraud broth, which is followed by plating on Sabouraud agar to determine the minimal fungicidal concentration. The ability of extracts to inhibit lipid peroxidation is studied by the method of thiobarbituric acid.

Fungal species reveal sensitive to the action of both essential oils and to their mixture. A significant difference between the effect of the extracts is observed ($P < 5\%$). Essential oils of *Mentha pulegium* have the important action against fungal species. A complete lack of growth of the fungal species is observed at 40 $\mu\text{l/ml}$ against *Aspergillus fumigatus* and 8 $\mu\text{l/ml}$ against *Trichophyton rubrum* with essential oils of *Mentha pulegium*, however, fungicidal activity is absent with both other extracts.

The study of antioxidant capacity by the thiobarbituric acid method show the existence of a higher antioxidant activity with essential oils of *Mentha pulegium* with inhibition of 36.92% at 100 $\mu\text{l/ml}$, also, the mixture of the two extracts reduce peroxidation with 7.67% at concentration of 50 $\mu\text{l/ml}$, however, an increase of lipid peroxidation is observed with essential oils of *Juniperus phoenicea*.

Key words: essential oils, *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, antifungal activity, antioxidant activity, lipid peroxidation.

الملخص

تهدف هذه الدراسة المخبرية لتقييم خصائص الزيوت الطيارة كمضادات الاكسدة و الفطريات. هذه المستخلصات استخرجت من نبتتين طبيئتين هما: عرعر و فليبو، تم الحصول على هذه الزيوت الطيارة عن طريق التقطير بالبخار. تمت دراسة فعالية هذه الزيوت الطيارة و خلطتهما كمضادات فطرية على الفطرين *Aspergillus fumigatus* و *Trichophyton rubrum* هذه الفعالية اختبرت بثلاثة طرق □ انتشار بالقرص ، الانتشار بالأبار. النشاط الكابح للفطريات تم الكشف عنه بطريقة التخفيف في محلول السابورود و المتبوعة بالمسح على آجار السابورود من اجل معرفة التركيز الاثني لكبح الفطريات ، قدرة هذه المستخلصات لمنع اكسدة الدهون درست بطريقة الحمض الثيو باربيتيور.

ظهرت الفطريات حساسة لعمل الزيوت الطيارة و خلطتهما، اختلاف ملحوظ شوهد بين تأثير المستخلصات المنروسة و بين الفطرين ايضا. اجمالا الزيوت الطيارة ل فليبو اظهرت التأثير الأكبر على الفطريات ، شوهد عدم التكاثر الكلي ل *Aspergillus fumigatus* في تركيز 40 ميكرو لتر/ملل من الزيت الطيارة ل فليبو و عند 8 ميكرو لتر/ملل ل *Trichophyton rubrum* ، بينما لم يظهر اي نشاط كابح لبقيّة الزيوت.

اظهرت الدراسة لمضادات الاكسدة بطريقة الحمض الثيو باربيتيور وجود نشاط مهم لمضاد الاكسدة الزيوت الطيارة فليبو بنسبة منع 36،92 % عند وضع جرعة 100 ميكرو لتر/ملل كذلك بالنسبة للزيوت الطيارة النبتتين فقد منعت التاكسد بنسبة 7،67 % مع جرعة 50 ميكرو لتر/ملل ، بعكس الزيوت الطيارة للعرعر التي لم تظهر اي نشاط مضاد للاكسدة.

الكلمات المفتاحية □ الزيوت الطيارة، مضاد للاكسدة، مضاد الفطريات، عرعر، فليبو