

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOUBAKER BELKAIED
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Option

CHIMIE BIOORGANIQUE ET TEREPEUTHIQUE

Présenté Par :

KEDDAR Miloud

Intitulé

Compositions chimique activité antibactériennes, antioxydants
des huiles essentielles de quelque *Daucus*

Devant le jury composé de:

Pr. Kajimamulengi	Président	Université de TLEMCEN
Pr. Allali H	Examineur	Université de TLEMCEN
Pr. Benabadji B	Examineur	Université de TLEMCEN
Dr. Atmani A	Examineur	Université de TLEMCEN
Dr. Arrar Z	Examineur	Université de TLEMCEN
Dr. DRISSI W	Examinatrice	Université de TLEMCEN
Mr Bendiabdellah D	Examineur	Université de TLEMCEN
Dr. Med El Amine Dib	Directeur de mémoire	Université de TLEMCEN

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs Encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse.

A mes frères : MOHAMED et sa femme FATIMA.ABDELKADER ET BEN ATHMAN

A mes sœurs : AICHA, KHAIRA, FATIHA, AMINA ainsi qu'à leur marie

A toute ma famille et à tous mes chers amis de TIARET

A tous mes amis et camarades au laboratoire de COSNA

Remerciements

*Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA) de la Faculté des Sciences, Département de Chimie, de l'Université de Tlemcen sous la direction de Monsieur **DIB MOHAMED EI AMINE**, à qui je lui adresse ma profonde gratitude pour les conseils éclairés et les encouragements qu'il n'a cessé de me prodiguer tout au long de ce travail.*

*J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur **J. KAJIMA MULENGI**, Professeur à L'université de Tlemcen et directeur du laboratoire COSNA, qui m'a fait l'honneur de présider le jury.*

*Mes chaleureux remerciements vont également à Monsieur **ATMANI** maître de conférences à L'université de Tlemcen pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.*

*J'exprime ma reconnaissance à Monsieur **N. BENABADJI**, Professeur à l'université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Mes vifs remerciements vont aussi à Monsieur **H ALLALI**, professeur à l'université de Tlemcen et à ses deux étudiantes pour leur aide.*

*A Messieurs, le professeur **GHALEM Saïd** vice doyen de la faculté des sciences et directeur du laboratoire LASNABIO et le professeur **TABTI BOUFELDJA** doyen de la faculté des sciences qui m'ont offert l'opportunité de travailler au sein du **Laboratoire des Substances Naturelles et BIOactives** et pour la confiance qu'ils m'ont accordée pour mener à bien ce sujet.*

Mes remerciements vont à tous les enseignants et étudiants en Laboratoire COSNA, pour leur encouragement et leur amitié, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Et finalement, mille mercis à ma famille et à mes amis qui m'ont particulièrement épaulée durant cette année 2012.

INTRODUCTION GENERALE

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines...) qui se présentent presque souvent comme des mélanges complexes dont il convient d'analyser la composition avant leur éventuelle valorisation.

La composition chimique des huiles essentielles est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentent les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone ...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques.

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre les maladies infectieuses. Mais la découverte des antioxydants synthétiques et des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire.

La première partie de ce modeste travail, commence par une revue bibliographique du point de vue botanique et chimique sur les espèces du genre *Daucus*. Ensuite, nous présentons le dépistage phytochimique de *Daucus crinitus* ainsi qu'une estimation quantitative des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés.

La deuxième partie, nous présentons, l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle à différents stades phénologiques par CPG/Ir et CPG/SM. Nous détaillons chacune des étapes de ce processus et nous décrivons, également, les différents groupes chimiques présents dans l'huile essentielle.

Enfin la troisième partie sera consacrée à l'étude des activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile et des extraits aqueux et méthanolique de cette plante aromatique.

I.1. Introduction

Les plantes synthétisent une gamme très vaste de composés organiques qui sont traditionnellement considérés comme métabolites primaires et secondaires, bien que les limites précises entre les deux groupes peuvent, dans certains cas, être un peu ambiguës [1].

Les métabolites primaires sont les composés qui ont des rôles essentiels liés à la photosynthèse, la respiration et la croissance et le développement. Il s'agit notamment des phytostérols, des lipides acylés, des nucléotides, des acides aminés et les acides organiques.

Les autres composés phytochimiques, dont beaucoup s'accumulent en concentrations étonnamment élevées chez certaines espèces (huiles essentielles polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes etc.), sont considérés comme des métabolites secondaires. Ceux-ci ont des structures diverses et nombreuses et sont répartis entre un nombre très limité d'espèces dans le règne végétal. Le nombre de structures décrites dépasse 100 000 et le nombre réel dans la nature est certainement beaucoup plus élevé parce que jusqu'à présent, seulement 20-30% des plantes ont été étudiées en phytochimie [2].

I.2. Métabolites végétaux secondaires dans la découverte de médicaments

I.2.1. Les polyphénols

Les polyphénols végétaux ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les organismes pathogènes, bactéries ou virus qui infectent la plante. Souvent présents en grande quantité dans les plantes consommées par les herbivores, ils limitent leur appétence et digestibilité. Ils ont donc été pendant longtemps considérés comme des facteurs antinutritionnels. C'est un regard tout à fait différent que nous leur portons aujourd'hui, après la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et de leurs effets présumés sur la santé.

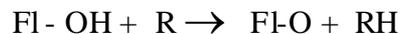
Les recherches sur les effets thérapeutiques des polyphénols ont cependant débuté beaucoup plus tardivement que pour les autres antioxydants. Ceci est largement expliqué par la très grande diversité de leurs structures chimiques. Plusieurs centaines de molécules ont été identifiées dans les aliments, réparties en plusieurs classes. Nous pouvons citer parmi les plus importantes les anthocyanes [3] responsables de la couleur des fruits rouges (cerise, cassis, fraise, etc.), les tanins [4] responsables de l'astringence de divers fruits (pellicule et pépins du raisin, chair du kaki, etc.), les flavanones responsables de l'amertume du pamplemousse et également abondantes dans l'orange. Pour les légumes, nous citons l'oignon riche en flavonols (quercétine).

I.2.2. Les propriétés biologiques des polyphénols

I.2.2.1. Propriété antioxydante

La capacité antiradicalaire des polyphénols, plus particulièrement les flavonoïdes fait sujet de nombreuses études récentes dans le domaine des thérapeutiques antioxydantes, pour compenser l'insuffisance des moyens naturels de protection dans certains désordres comme le vieillissement cellulaire, le cancer ...etc. L'activité antioxydante des flavonoïdes peut prendre plusieurs formes dans la régulation du stress oxydatif, vis-à-vis les effets délétères des radicaux libres. Ces composants peuvent intervenir en captant directement les radicaux libres, ou inhibant les enzymes responsables de la génération des ROS (**reactive oxygen species, RO[•] ; OH[•] ; ROO[•]**), ou en captant les cations métalliques.

La structure chimique des flavonoïdes leur confère la capacité de fixer directement les radicaux libres « effet antiradicalaire ». L'évaluation de ce pouvoir antiradicalaire s'effectue par l'analyse spectrophotométrique UV/visible en utilisant le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle). Les flavonoïdes peuvent piéger le radical superoxyde, hydroxyle, alkoxy et peroxy, par transfert d'hydrogène [5].



Fl : représente le flavonoïde.

R : représente le radical libre.

Le radical flavonoxy (FL-O) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable. La capacité antiradicalaire des flavonoïdes dépend principalement de leurs structures. Les ions métalliques présents dans notre organisme, comme le fer ou le cuivre, peuvent donner naissance à des radicaux hydroxyles très réactifs via la réaction de Fenton [5]. Les flavonoïdes sont connus par leur capacité à former des complexes stables avec les ions métalliques et sont alors capables d'inhiber la réaction de Fenton et ainsi empêcher la production des ROS, pour cette raison sont considérés comme de bons chélateurs [6].

On peut résumer les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques :

Un noyau catéchol sur le cycle B, Les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C. Les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C.

La quercétine est la plus active des flavonoïdes [6].

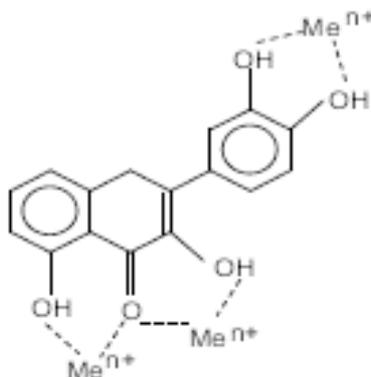


Figure I. sites de chélation des flavonoïdes OH O OH (quercétine)

I.2.2.2. Activité antimicrobiennes

Beaucoup d'études ont été faites pour l'évaluation des propriétés antibactériennes, et antifongiques des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Moroh, 2008 [7], ont démontré l'effet antibactérien des extraits acétiques riches en alcaloïdes et en flavonoïdes de *Morinda morindoides*, sur 8 souches d'*Escherichia coli*, germes bactériens rencontrés généralement dans la diarrhée des nourrissons, et des enfants jusqu'à l'âge de 5 ans.

Yango, 2004 [8], ont travaillé sur les extraits de mange contenant des polyphénols dont les huiles essentiels font les composés majeurs qui ont donnés des effets bienfaits chez des consommateurs volontaires (30 personnes), ayant des troubles gastro-intestinaux causés par des agents entéro-pathogènes : *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus*.

L'action inhibitrice des flavonoïdes sur la croissance bactérienne était étudiée par Katarzyna, et ses collaborateurs, 2007 [9]. Ils ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempférol et d'autres) possèdent un effet remarquable sur différentes souches bactériennes à gram négatif (*Escherichia coli*...) et gram positif (*Staphylococcus aureus*...).

D'autres études basées sur la recherche des propriétés inédites des flavonoïdes, ont pu confirmer l'effet de ces composés vis-à-vis la maladie de parkinson qui se caractérise par une dégénérescence (dénaturation) des neurones, dont l'inflammation joue un rôle dans

l'apparition de cette maladie. Les chercheurs ont observé que la luteoline inhibait de manière dose-dépendante la perte de neurones [10].

I.2.2. Les huiles essentielles

I.2.2.1 Introduction

Les H.E appelées encore 'essences' ou 'essences aromatiques végétales' sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes. Elles sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules sécrétrices situées, le plus souvent, dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré [11].

L'analyse chimique a permis de mettre en évidence la présence dans ces huiles de composés volatils en C_{10} ou C_{15} qu'on a appelés terpènes à cause de leur origine historique qui est l'essence de térébenthine [12]. Le point commun à la majorité des terpènes est la présence dans leur squelette de l'unité de base isoprène, qui peut se retrouver plusieurs fois, conduisant à une formule brute multiple de C_5H_8 pour les hydrocarbures. Guignard, 2000[12] classe les terpènes d'après le nombre d'unités en C_{10} qu'ils comportent. Ainsi, pour les hydrocarbures terpéniques, la classification est la suivante : $C_{10}H_{16}$: monoterpènes ; $C_{15}H_{24}$: sesquiterpènes ; $C_{20}H_{32}$: diterpènes ; $C_{30}H_{48}$: triterpènes, etc.

I.2.2.2. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Depuis l'Antiquité, les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie [13]. Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes. Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction des huiles essentielles contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances [14]. Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire. Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la

durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains", ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne. Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [14]. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines.

I.2.2.3. Les méthodes d'analyses des huiles essentielles

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire aux industriels pour en contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation. En effet, ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les développements constants des méthodes de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques [15]. Leur analyse comporte plusieurs séquences :

- la première séquence consiste à les analyser, tout d'abord, par Chromatographie en Phase gazeuse (CPG) ; cette technique permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir), puis à les analyser par le couplage « en ligne » d'une technique chromatographique, généralement la CPG, avec une technique d'identification spectrale, couramment la spectrométrie de masse (SM). L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention Ir et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.

Cette étape est habituellement suffisante dans les cas d'analyse de routine d'huiles essentielles [15].

- une deuxième séquence est mise en œuvre lorsque l'huile essentielle est complexe ou qu'elle contient des composés pouvant coéluer ou encore lorsque l'analyse est réalisée dans une optique de recherche. Un fractionnement de l'huile essentielle est alors effectué, le plus souvent par chromatographie liquide sur colonne ouverte de silice ou d'alumine. Les fractions obtenues sont ensuite analysées de la façon décrite dans la première séquence. Cette étape est à privilégier lorsque l'on veut étudier les différentes familles de composés (esters, alcools, cétones...).

- enfin, une troisième séquence peut être mise en œuvre lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle sont inconnus des bibliothèques de comparaison et qu'ils ne sont pas décrits dans la littérature. Il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatives telles la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie liquide sur Colonne ouverte (CC), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en phase gazeuse préparative (CGP). L'objectif est d'aboutir à leur identification structurale par les techniques spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN-¹H) et du carbone-13 (RMN-¹³C), SM, IRTF, etc (figure II) [15].

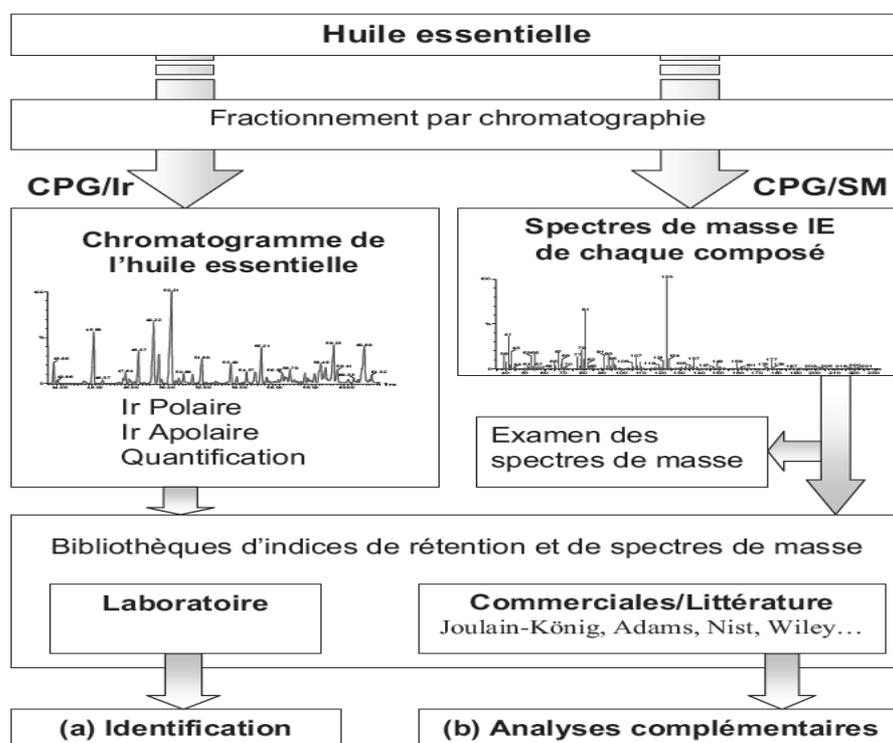


Figure II. Identification des constituants d'une huile essentielle par combinaison des techniques de CPG et de CPG/SM

I.3. Famille des Apiacées : morphologie, date d'introduction et distribution

La famille des Apiacées (Apiaceae), appelée anciennement Ombellifère (Umbelliferae). Elle comprend près de 3000 espèces réparties en 420 genres qui sont surtout présentes dans les régions tempérées du monde. C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle. C'est une vaste famille complexe regroupant des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou vivaces, et parfois des arbustes. Les feuilles sont alternes, souvent grandes et pennatifides (découpées en lobes profonds) mais aussi simples. Leur base est souvent engainante et élargie [16]. La forme des fleurs a valu à cette famille son ancien nom; ce sont des ombelles composées le plus souvent d'une ombelle primaire, avec ou sans bractées, dont chaque branche ou rayon porte une ombelle secondaire (ombellule) avec ou sans bractées secondaires (bractéoles).

Les fleurs sont souvent petites, à cinq parties; les pétales toutes de même taille ou nettement irrégulières, les fleurs externes d'une ombelle pouvant avoir des pétales externes nettement plus grands que les autres. Les fruits sont souvent déterminants pour identifier genres et espèces se ressemblants. Du fait de leurs groupes de petites fleurs en ombelles qui offrent un abondant nectar et une bonne plate-forme d'atterrissage, les ombellifères sont particulièrement appréciées par les insectes pollinisateurs.

Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économiques et médicaux, comportant des coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques, ainsi qu'une grande richesse en huile essentielle. Cette famille de plantes est bien connue pour avoir une quantité importante d'huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques. A nos jours, 760 constituants d'huiles essentielles ont été isolés des apiacées [16].

I.4. Distribution

La famille est répartie sur la majeure partie du globe (figure III), essentiellement dans les régions montagneuses tempérées et relativement rare en zone tropicale.

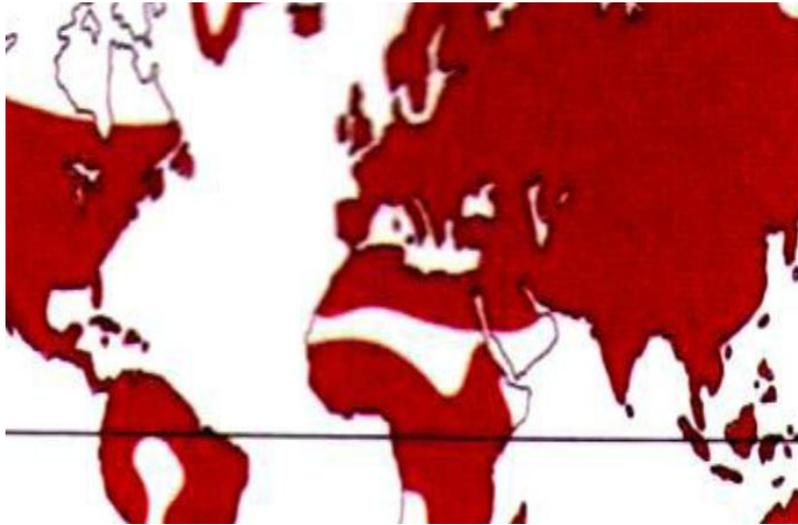


Figure III. Répartition géographique mondiale des Apiaceae

I.5. La classification du genre de *Daucus*

Le genre *Daucus* comprend environ 30 espèces, annuelles, bisannuelles et vivaces. Le *Daucus* est considéré comme étant l'ombellifère le plus difficile à définir, parmi les quelques 3000 espèces de cette famille. Il est un genre de plantes herbacées de la famille des Apiacées (Ombellifères) dont l'espèce la plus connue est la carotte cultivée. Il est largement distribué à travers le monde. Il semble avoir son centre de dispersion dans la Région de la Méditerranée, en particulier en Afrique du Nord. *D. carota* (carotte) est la principale espèce du genre *Daucus*, les racines des carottes ont été signalés être dotée de propriétés médicinales, c'est à dire, des propriétés hypotensives, diurétiques, carminative, stomachique, et hypolipémiant. En Algérie, le genre *Daucus* est représenté par des espèces vivant dans les zones arides et incultes (figure IV) très répandus le long de la côte ouest algérienne [17].

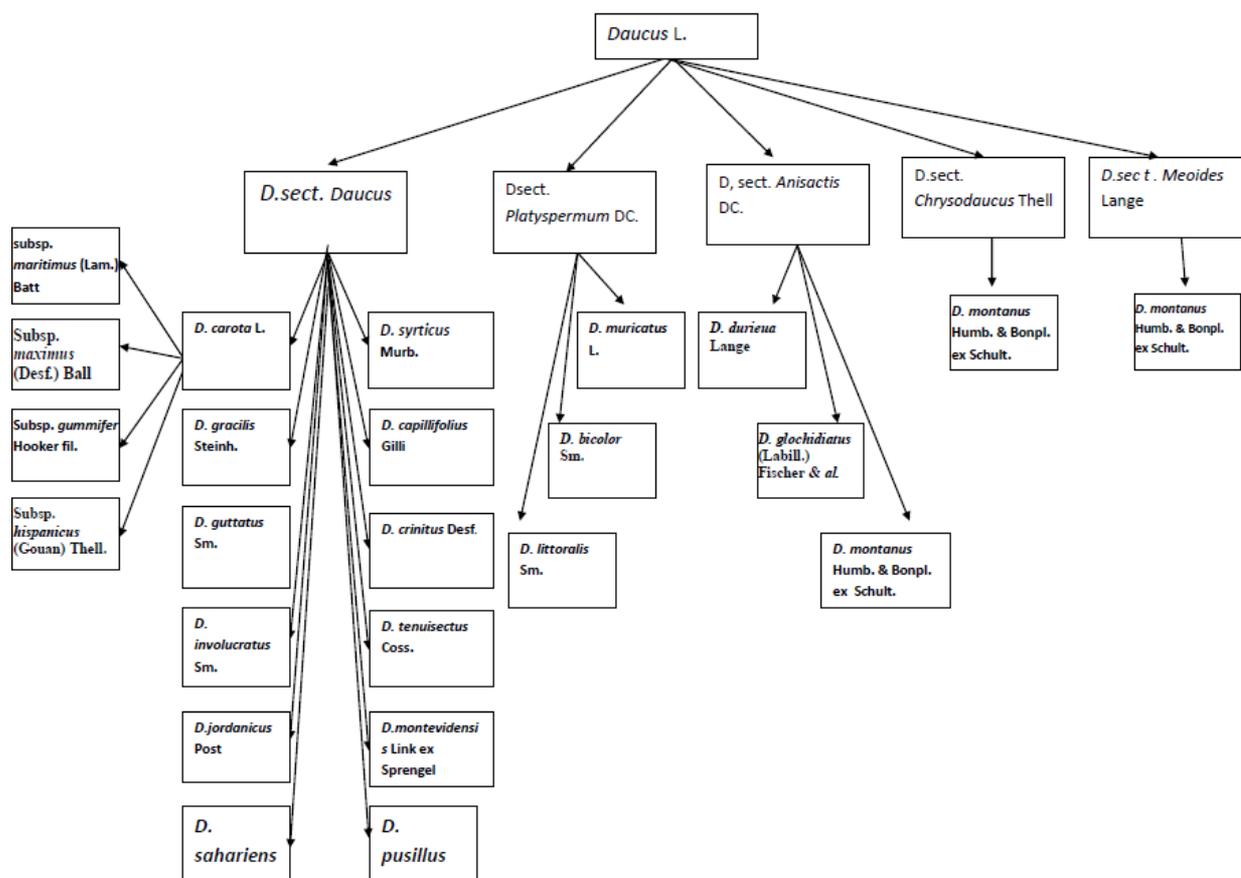


Figure IV. Liste de la classification du genre *Daucus*

I.6. Liste des *Daucus* recensées en Algérie

Tableau 1. *Daucus* d'Algérie

Espèces	Nom vernaculaire	Synonyme(s)	Études
<i>Daucus carota</i> L. (sensu lato)	Carotte sauvage		Extraction de H.E et étude de l'activité antibactérienne [17]
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>carota</i>	Carotte sauvage		Composition de H.E des ombelles du <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>Carota</i>) [18].
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>dentatus</i>	Carotte sauvage	<i>D. alatus</i> Poiret <i>D. bocconeii</i>	Pas d'étude

<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>hispanicus</i>	Carotte sauvage	<i>D. gingidium</i> <i>D. gummifer</i> <i>D. hispidus</i>	Composition de H.E du <i>Daucus gingidium carota</i> L. ssp. <i>gingidium</i> [19].
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>mauritanicus</i>	Carotte sauvage	<i>D. commutatus</i>	Pas d'étude
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>maximus</i>	Carotte sauvage	<i>D. mauritanicus</i>	H.E de <i>Daucus carota</i> ssp. <i>Maximus</i> [20].
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>parviflorus</i>	Carotte sauvage	<i>D. glaberrimus</i> <i>D. micranthus</i> <i>Pomel</i>	Pas d'étude
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>sativus</i>	Carotte sauvage		Composition chimique des huiles des ombelleS du <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>sativus</i> cultivées en Pologne [21].
<i>Daucus crinitus</i>		<i>D. meifolius</i>	Les phenylpropanoids bio active du <i>Daucus crinitus</i> Desf. D'Algérie [22, 23]
<i>Daucus durieua</i> <i>Lange</i>		<i>Durieua hispanica</i>	Pas d'étude
<i>Daucus gracilis</i>			Pas d'étude
<i>Daucus muricatus</i>			Pas d'étude
<i>Daucus reboudii</i>			Composition de H.E de l'espèce du <i>Daucus reboudii</i> Coss. [24]
<i>Daucus sahariensis</i>		<i>D. pubescens</i>	Pas detude
<i>Daucus setifolius</i>		<i>D. brachylobus</i> <i>D. setulosus</i>	Pas d'étude
<i>Daucus virgatus</i>		<i>D. laserpitioides</i> <i>D. =tenopterus</i>	Pas d'étude

		<i>Laserpitium daucoides</i>	
<i>Daucus aureus</i>			Pas d'étude
<i>Daucus biseriatus</i>			Pas d'étude
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>maritimus</i>	Carotte sauvage		Analyse de l'Huiles des Fleurs et des racines de <i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>Maritimus</i> (Tunisie) [25]

I.7. Propriétés physicochimiques et biologiques des *Daucus*

Ces dernières années, le genre *Daucus* à fait l'objet de plusieurs études. *D. carota* L., est l'un d'entre eux, et il est divisé en trois sous-espèces: *carota*, *maximus*, et *maritimus*.

I.7.1. *Daucus carota* ssp *carota*

Plusieurs enquêtes sur la composition chimique de l'huile essentielle de *D. carota*, ont été réalisées. En particulier, la composition de l'huile de graine de la carotte, qui a diverses applications dans la formulation de certaines boissons alcoolisées, et les parfums [26]. Diverses compositions ont été signalées, caractérisé par un élément principal, α -pinène (jusqu'à 55%), sabinène (jusqu'à 60%), géraniol (jusqu'à 50%) ou de ses esters (jusqu'à 81%), et carotol (jusqu'à 77%). la recherche bibliographique a également révélé quelques compositions inhabituelles pour l'huile de la carotte, contenant principalement du γ -bisabolène (jusqu'à 87%) ou le β -caryophyllène (jusqu'à 29%) comme composant principal [27, 28].

L'huile des ombelles en fleure de *D. carota* ssp. *carota* de Pologne était composée principalement de monoterpènes hydrocarbonés (84%), et les principales composantes se sont avérées α -pinène (41%) et sabinène (18%) [18]. La composition de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes, comparé à trois stades de développement, (stade végétatif, en pleine floraison, et ombelles mûrs) montre que toutes les huiles ont été dominées par des monoterpènes hydrocarbonés avec α -pinène (16-43%), sabinène (21-45%) et le mycènes (4-13%) comme les principaux composants [29]. Cependant les huiles essentielles des feuille, tige, et ombelle de *D. carota* de Corse recueillies avant la floraison et au stade de pleine

floraison contenait essentiellement des monoterpènes, à savoir α -pinène (28-39%) et le sabinène (7-20%). Inversement, l'échantillon d'huile isolé des ombelles au stade de floraison a été largement dominé par (E)-méthylisoeugenol (41%) suivi par α -pinène (19%) et le sabinène (10%) [30].

Seules quelques études ont été réalisées sur l'activité biologique des huiles essentielles de l'espèce de *Daucus*. Les huiles essentielles des fruits de *D. carota* ssp *carota* (sauvages), présentent une activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus b-hemolyticus* avec des valeurs de CMI (concentration minimale inhibitrice) de 0.12 à 0.90 mg/mL [31]. Cependant l'huile des ombelles en floraison et les ombelles mures de *D. carota* ssp. *carota* (collectées dans leur habitat naturel près de Lodz en Pologne) dominés par α -pinène (17-42%) et le sabinène (19-40%) présentés des activités antibactériennes et antifongiques modérées contre les souches de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* *Bacillus*, et les *Candida albicans* avec des CMI de 3-5 mg/mL [18].

1.7.2. *Daucus carota* ssp *maximus*

En 1995 Saad et al, ont étudié par GC-MS la composition des huiles essentielles des fruits, feuilles et des tiges de cette plante. L'huile essentielle des fruits se compose principalement des phénylpropanoïdes (56,84%) avec le trans-méthylisoeugenol comme constituant majeur (37,22%), accompagnée d'une quantité notable de β -asarone (17,65%) et une quantité beaucoup plus faible de méthyleugénol (1,97%). Les sesquiterpéniques hydrocarbonés (40,79%) ont été nettement dominés par le β -bisabolène (34,70%) tandis que β -caryophyllène et bisabolène ont été détectés dans des quantités beaucoup plus faibles (1,48% et 3,00%, respectivement). Cependant les sesquiterpènes oxygénés n'étaient représentés que par le shyobunone (0,65%) et preisocalamendiol (0,39%).

L'huile essentielle des feuilles est composée principalement de sesquiterpènes oxygénés et de sesquiterpéniques hydrocarbonés représentant environ 51,20% et 25,25% de la composition de l'huile, ainsi que des quantités relativement petites de monoterpènes hydrocarbonés (0,31%), des n-alcane (4,55%), des alcools monoterpènes (4,19 %) et un aldéhyde à chaîne droite (3,22%) [20].

Néanmoins, les deux huiles étaient caractérisées par l'absence totale de phénylpropanoïdes. La fraction des sesquiterpènes oxygénés, était dominée par les cétones monocycliques comme le

shyobunones et preisocalamendiol (respectivement feuilles : 20,61 et 17,95% ; les tiges : 31,95 et 32,69%). Ces cétones ont été détectées dans l'huile de fruits, mais en quantités très faible (0,65% et 0,39%). Les alcools sesquiterpéniques, carotol et daucol, comme l'huile de fruits, sont totalement absents. Cependant, les tricycliques sesquiterpène alcools, aristol-9-ène-3-01 (feuilles, 0,82% ; tiges, 1,09%) et aristolenol isomère (tige, 0,97%), bien que présents en quantités mineures, n'ont jamais été signalés dans aucune huile essentielle de *Daucus*. Le β -Cubebene constitué environ 50% de la fraction sesquiterpéniques hydrocarbonés des deux huiles. Il été accompagné de quantités notables de trans- β -farnésène (feuilles, 2,49% ; tige, 1,30%), β -caryophyllène (2,15%, 0,63%) et le β -bisabolène. Ces cétones monocycliques ainsi que le β -bourbonene, l'aristol-9-ène-3-01 et l'aristolenol n'ont jamais été signalés comme composants de l'huile des autres *Daucus*. Contrairement à la plupart des variétés étudiées, le carotol, daucol et l'acétate de géranyle été totalement absents. Cependant aucune activité biologique de cette espèce n'a été signalée [20].

I.7.3. *Daucus carota* ssp *maritimus*

Les huiles essentielles des fleurs et des racines de *Daucus carota* L. ssp. *maritimus* obtenues par hydrodistillation analysées par GC, GC-MS et RMN C¹³ ont été étudiées. Trente-deux composés dans les feuilles et six dans les racines ont été identifiés. La composition chimique de l'huile essentielle des fleurs a été caractérisée par une forte proportion de monoterpènes hydrocarbonés (68,4%), le composé majoritaire de cette fraction été le sabinène avec un pourcentage de 51,6%. Les monoterpènes oxygénés représenté la deuxième fraction importante de cette huile dont le terpinène-4-ol (11,0%) était le composé prédominant. L'huile de racine présentait une composition étonnamment différente. Les dérivés phénoliques (6,3%), myristicine (29,7%), et dillapiole (46,6%) ont constitué la fraction principale [25].

L'activité antibactérienne des huiles de fleurs et des racines de *D. carota* L. ssp. *maritimus* testé contre plusieurs micro-organismes a été déterminée par l'évaluation des valeurs des CMI.

Les valeurs de CMI pour toutes les souches bactériennes ont été dans la gamme de 1,25 à 5 mg/mL. Les deux huiles exposées une activité contre les souches de référence de *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *S. typhimurium*. L'huile de fleur a été plus efficace que l'huile de racine contre *E. coli*. A l'inverse, l'huile de racine a été trouvé à être

plus actifs que l'huile de fleur contre les *S. aureus*, *S. pneumonie*, *Shigella* spp., et *E. faecalis* (valeurs de CMI de 1,25 à 2,5 mg/mL) [25].

I.7.4. *Daucus reboudii* Coss

L'hydrodistillation de l'huile essentielle des parties aériennes de *Daucus reboudii* Coss., a été analysée par GC et GC-MS. Vingt-quatre composés ont été identifiés, correspondant à 87,2% de l'huile, représentés principalement par les monoterpènes. Les principaux constituants étaient α -pinène (39,7%) et le sabinène (21,2%). Ces résultats sont similaires avec ceux trouvés pour les huiles essentielles des parties aériennes de *D. carota* ssp. *carota* avec la présence exclusive des terpènes, montrant toujours un pourcentage élevé de monoterpènes (84,3% pour *D. reboudii* et 88,5% pour *D. carota* ssp. *carota*). Aucune activité biologique a été reporté [24].

I.7.5. *Daucus gingidium* L. ssp. *gingidium*

Au cours de ce travail les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles et des fruits de *Daucus gingidium* ssp. *gingidium* ont été analysés. Les principaux constituants identifiés de l'huile essentielle des feuilles ont été le sabinène (26,8%), α -pinène (10,8%), le germacrène-D (6,9%) et le limonène (5,7%). Le sabinène (60,6%) était le principal composé identifié dans l'huile essentielle des fruits, suivie par α -pinène (12,2%) et le 4-terpinéol (5,4%). Par ailleurs, la composition de l'huile essentielle des fruits de *D. gingidium* ssp. *gingidium* était très différente de toutes les données rapportées pour les *D. carota*: ou aucun échantillon d'huile ne contenait des pourcentages élevés de sabinène (60,6%); en outre, dans le *D. gingidium* ssp. *gingidium*, l'acétate de géranyle, le carotol, le daucol, et l'acétate de terpinyle n'ont pas été identifiés. Aucune activité biologique n'a été effectuée [19].

I.7.6. *Daucus carota* L. ssp. *sativus*

La composition chimique des huiles essentielles des ombelles de *Daucus carota* L. ssp. *sativus* dans 3 stations différentes obtenus par hydrodistillation ont été étudiés par GC et GC-MS. Quarante composantes ont été identifiées. Les huiles ont été dominées par des monoterpènes hydrocarbonés (66-85%) principalement représenté par α -pinène (40-46%) et le myrcène (12-24%). Les constituants les plus abondants des sesquiterpène été le β -caryophyllène (4,6 à 13,2%) et le carotol (1.2 à 6.1%) [21].

En ce qui concerne les activités biologiques aucune étude n'a été menée.

I.7.7. *Daucus crinitus* Desf.

D. crinitus est caractérisée par la présence de nombreuses sous-espèces qui colonisent les sables et les falaises. Une enquête menée par les herboristes a montré que, dans la médecine populaire, une boisson faite à partir des racines en décoction de *D. crinitus* est utilisée pour expulser le placenta après l'accouchement, et comme tonique (figure V).



Figure V. *Daucus crinitus* en pleine maturité (plante récoltée à Bensekrane en Mai 2009).

L'analyse par GC-IR et GC-MS de l'huile essentielle des racines et dans la partie aérienne obtenue par hydrodistillation et par SPME a montré la présence respectivement de 72 et 79 composés. Deux types d'huiles essentielles ont été produits par la plante: l'huile de la racine avait les composés aliphatiques (87,0%-90,1%) comme constituants élémentaires : dodécyl acétate (30.3%-48.2%), le undécane (14.4%-34.1%) et le dodécanal (16.7%-26.3%). Cependant l'huile de la partie aérienne été dominées principalement par les phénylpropanoïdes (43,1%-88,6%) à s'avoir l'isochavicol isobutyrate (39,0%), l'acétate d'octyle (12,3%) et l'isochavicol (29,6 à 34,7%) [22, 23].

II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel végétal

Les échantillons (tiges et feuilles) de *D. crinitus* ont été recueillis dans la région forestière de Chelaida à environ 8 km au Nord Est de Tlemcen-Algérie. Les échantillons d'huiles essentielles, distillées à partir des tiges et feuilles utilisées pour cette étude comparative, ont été obtenus à partir de plantes récoltées à la fin de mois de Mars (state végétative), à la mi-Mai (stade de floraison) et à la fin du mois de Juillet (en plein floraison).

II.2. Préparation de l'extrait aqueux et éthanolique

II.2.1. Principe d'extraction par soxhlet

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction continue par solvant d'un solide. Il se compose d'un corps en verre dans lequel est placé une cartouche en papier filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Les résidus à extraire sont placés dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de ce premier, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Celui-ci, condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. La taille du corps en verre étant limitée, il saurait nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extraits. 10 g du matériel végétal a été extrait par 200 ml de solvant pendant 4 heures. L'extrait obtenu est filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait séché a été stocké à -20 ° C jusqu'au moment du test.

II.3. Screening phytochimique

Une fois le matériel végétal prétraité, les différentes parties de la plante (racines, feuilles/tiges) sont soumises à des tests pour détecter de façon qualitative les principales familles de produits naturels qui peuvent se trouver dans l'échantillon : La détection de ces

familles constitue le screening ou criblage phytochimique. Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexation avec formation de complexes insolubles et colorés. La coloration observée et provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié, est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une insaturation dans une molécule. Les essais phytochimiques ont été menés suivant les méthodes phytochimiques usuelles et décrites pour la plupart par Harborne, 1998 [34].

- Les composés appartenant au groupe des flavonoïdes ont été mis en évidence par la réaction à la cyanidine.
- La caractérisation des tanins a été faite par la réaction au chlorure ferrique.
- La recherche des alcaloïdes a été faite à l'aide des réactifs généraux de caractérisation des alcaloïdes. Deux réactifs voire trois ont été utilisés à savoir le réactif de Dragendorff, le réactif de Mayer et le réactif de Wagner.
- La recherche des saponosides est basée sur la propriété qu'ont les solutions aqueuses contenant des saponosides de mousser après agitation.
- La recherche des stérols et des terpènes s'est faite grâce à la réaction de Liebermann - Buchard.
- La détection des composés réducteurs a été faite à l'aide de la liqueur de Fehling.

II.4. Dosage des phénols totaux :

II.4.1. Principe :

Les métabolites secondaires constituent une large gamme de molécules végétales, dont leur nature chimique et teneurs sont extrêmement variables d'une espèce à autre. Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des phénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin Ciocalteu est la plus utilisée.

Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lors de l'oxydation, il est réduit en un mélange d'oxyde bleu. La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait analysé [35].

II.4.2. Protocole :

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué par Miliauskas, 2004 [36]. 1 ml de l'extrait éthanolique de la plante est mélangé avec 5 ml de

folin ciocalteu (2M) dilué 10 fois et 4ml de carbonate de sodium ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$) à concentration de 75g/l. L'absorbance est mesurée à 765 nm, après incubation pendant 1 heure à température ambiante. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique, en suivant les mêmes étapes du dosage. Toutes les mesures sont répétées 3 fois.

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$C = c.V/m$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

v : volume de l'extrait (ml).

m : masse de l'extrait pur de plante (g).

II.5. Dosage des flavonoïdes :

La quantification du contenu flavonoïque est estimée par la méthode d' AlCl_3 , selon le protocole modifié de: Kumaran et Karunakaran, 2005 [37]. 1ml de l'extrait de la plante est mélangé avec 1 ml de la solution trichloride d'aluminium (10%), 0.2 ml d'acétate de potassium 1 M et 5.6 ml de H_2O . L'absorbance est mesurée à 420 nm, après incubation à température ambiante pendant 40 min. Dans les mêmes conditions, la solution standard d'acide gallique est préparée avec une concentration égale à 0,1 mg/ml. Toutes les manipulations sont répétées au-moins 2 fois. Le taux des flavonoïdes contenés dans l'extrait de la plante est calculé selon l'équation suivante :

$$X = (A.m_0)/(A_0.m)$$

X : la quantité des flavonoïdes (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

A : l'absorption de l'extrait.

A_0 : l'absorption de la solution acide gallique.

m : masse de l'extrait de plante (mg).

m_0 : masse de l'acide gallique dans la solution.

Tableau 2. Données expérimentales pour le dosage des flavonoïdes

Extraits	A	A₀	m (mg)	m₀ (mg)
Extrait aqueux racines	0.149	0.044	0.5	0.005
Extrait aqueux P.A	0.263	0.044	0.5	0.005
Extrait méthanolique racines	0.168	0.044	0.5	0.005
Extrait méthanolique P.A	0.395	0.044	0.5	0.005

P.A : partie aérienne

II.6. Extraction des huiles essentielle

Les huiles utilisées dans cette étude ont été isolés par hydrodistillation (250 g) pendant 5 h en utilisant un appareil de type Clevenger [38] selon la pharmacopée européenne.

Dans un ballon de six(6) litres, une quantité du matériel végétal est mise en contact direct avec quatre(4) litres d'eau. La mise en marche du chauffage se fait à douce ébullition. Le réfrigérant est mis en fonction en réglant le débit d'eau. La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau aromatique par décantation. La récupération de cette huile (pour l'analyse chromatographique) est effectuée du haut de l'essencier, à l'aide d'une pipette pasteur en introduisant de l'éther diéthylique surtout quand le rendement est faible. Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'être retenue dans la phase organique, on fait agir un déshydratant (sulfate de magnésium anhydre) : C'est l'opération de séchage. On filtre ensuite pour ne recueillir que la phase organique exempte d'eau. L'huile essentielle ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré et conservée au congélateur jusqu'à analyse.

Les rendements en huiles essentielles ont été calculés par rapport à la matière végétale sèche.

II.7. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles

II.7.1. Chromatographie en phase gazeuse

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem GC, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) permettant la détection des composants, d'un injecteur diviseur et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. épaisseur du film : 0,25 µm) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane). Le gaz vecteur est l'hélium (1ml/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 45 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50. La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,2 µl. Pour chacun des composants, les indices de rétention polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

II.7.2. Couplage CPG/Spectrométrie de masse

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i.; épaisseur du film : 0,25 µm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass. Le gaz vecteur est l'hélium (1ml/min) avec une pression en tête de colonne de 25psi. La température de l'injecteur est de 250°C. La programmation de la température se fait en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 35 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80.

II.7.3. Identification des composants:

L'identification de la plupart des molécules est confirmée par la comparaison de leurs indices de rétention avec ceux connus dans la littérature [39-45].

II.8. Tests biologiques

II.8.1. L'activité antimicrobienne

Les micro-organismes d'essai: *Bacillus cereus* (ATCC 11778, gram-positif), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25925, gram-positif), *Escherichia coli* (ATCC 9847, à Gram négatif) et *Candida albicans* (IPP 444) sont utilisés pour la détermination de l'activité antimicrobienne. Les souches bactériennes conservées dans de la gélose nutritive à 4 °C, ont été revivifiées dans une solution nutritive et incubées à 37 ± 1 °C pendant 18 à 24 h. 0,1 ml de chaque culture a été ajouté à 10 ml de BHIB (bouillon infusion, Pronadisa Hispanalab). *C. albicans* conservé à 4 °C dans la gélose Sabouraud chloramphénicol a été revivifié dans une solution nutritive et incubé à 30 ± 1 °C pendant 24 à 48 h. 0,1 ml de chaque culture a été ajouté à 10 ml d'eau physiologique stérile. Pour le dosage des antimicrobiens, souches bactériennes ont été cultivées sur gélose Mueller-Hinton (MHA, Pronadisa Hispanalab), tandis que *C. albicans* a été cultivé sur Sabouraud Dextrose Agar + chloramphénicol (SDA, Merck).

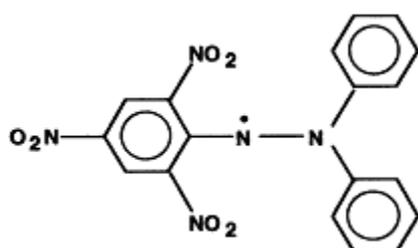
II.8.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne

L'huile essentielle (5 µl) a été appliquée sur les disques de papier (le diamètre du disque était de 6 mm). Puis placés dans des boîtes de Pétri inoculées. Après 24 h d'incubation à 37 °C, le diamètre des zones d'inhibition de croissance ont été mesurés. Les résultats indiqués dans le tableau 9 représentent la zone nette de l'inhibition y compris le diamètre (6 mm) du disque de papier.

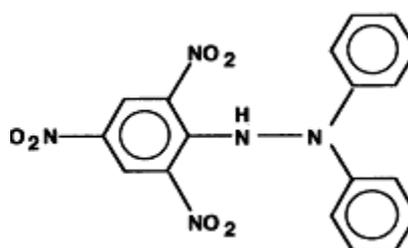
II.8.3. Test d'activité antioxydante (DPPH):

a- Principe :

L'activité antiradicalaire des composants isolés à partir des trois plantes est évaluée en mesurant leurs capacités de piéger le radical libre DPPH (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl) sa couleur violette foncée se transforme en jaune lors de sa réduction (capté par les produits testés).



DPPH (radical libre)



DPPH (radical capté)

Figure VI. Forme libre et réduite du DPPH.

II.8.3.1. Protocole

Préparation de la solution du DPPH : la concentration de cette solution est de 0,037mg/ml préparée à partir de 9,25 mg solubilisé dans 250ml du méthanol absolu. 100 µl d'extrait à concentration de 5mg/ml (choisie après des essais préliminaires), ajouté à 3ml de la solution du DPPH préparée. Laisser 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre le blanc. Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon équation suivante [46]:

$$\frac{A1 - A2}{A1} \times 100$$

A1 : absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

A2 : absorbance en présence d'extrait.

III.1. Criblage phytochimique

Les résultats du criblage phytochimique réalisé sur les extraits des racines et de la partie aérienne (feuilles/tiges) sont consignés dans le Tableau 3.

Tableau 3. Prospection phytochimique de l'extrait méthanolique et aqueux de

D. crinitus

Metabolites						
Extraits	1	2	3	4	5	6
Méthanolique						
Racines	+	+	-	-	+	+
Feuilles/tiges	+	+	-	-	+	+
Aqueux						
Racines	+	+	-	+	+	+
Feuilles/tiges	+	+	-	+	+	+

1: tannins; 2: flavonoïdes; 3: alcaloïdes; 4: saponosides; 5: stérols et stéroïdes; 6: composés réducteurs ; +: présence; -: absence.

D'après le tableau 3, on a observé que l'extrait aqueux et méthanolique ont montré une inférence positive pour le test des tanins, des flavonoïdes, stérols/stéroïdes et les composés réducteurs. Pour les saponosides, la couche de mousse a été montrée que dans l'extrait aqueux. Cependant le test des alcaloïdes produit une inférence négative.

III.2. Estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

Les quantités de composés phénoliques totaux dans les extraits ont été déterminées par spectrométrie selon la procédure de Folin-Ciocalteu et calculée en équivalent acide gallique.

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (Figure VII).

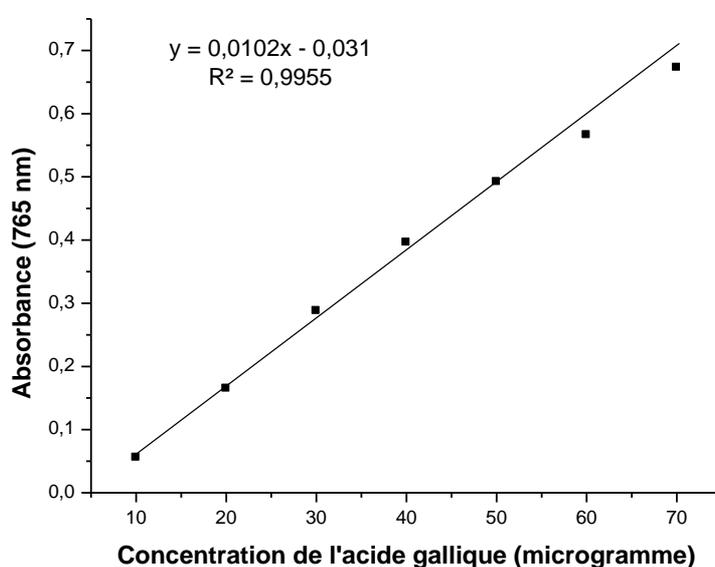


Figure VII. Courbe d'étalonnage des phénols totaux

La valeur la plus élevée a été obtenue dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne (110.19 $\mu\text{g}/\text{mg}$) et la plus basse dans l'extrait aqueux des racines (38.43 $\mu\text{g}/\text{mg}$). Cependant, Le contenu des polyphénols totaux trouvés dans l'extrait aqueux de la partie aérienne et l'extrait méthanolique des racines étaient respectivement de 99.80 $\mu\text{g}/\text{mg}$ et 83.13 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (Tableau 4).

Tableau 4 : Résultats du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits de *D. crinitus*

Extraits	Polyphénols totaux (a)	Flavonoïdes (b)
Extrait aqueux racines	38.43	33.86
Extrait aqueux P.A	99.80	59.77
Extrait méthanolique racines	83.13	38.18
Extrait méthanolique P.A	110.19	89.72

P.A : partie aérienne

(a) μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

(b) μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

De même, l'extrait méthanolique et aqueux de la partie aérienne a été trouvé à être plus riches en flavonoïdes (respectivement, 89.72 et 59.77 $\mu\text{g}/\text{mg}$) que l'extrait méthanolique et aqueux des racines (respectivement, 38.18 et 33.86 $\mu\text{g}/\text{mg}$).

III.3. Composition de l'huile essentielle

La variation du rendement de l'huile essentielle des feuilles et tiges de *D. crinitus* avec les trois stades de croissance sont présentés dans le tableau 1. Un changement significatif dans le rendement a été observé au cours des différents stades de croissance.

Tableau 5. Étude de la composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *D. crinitus* au cours des trois stades de développement

N°	Composés	RI _a ^a	RI _a ^b	I	II	III
					%	
	Hydrocarbonés terpeniques					
1	α-pinène	936	931	-	0.6	0.5
2	Sabinène	973	966	-	0.1	tr
3	β-Pinène	978	971	-	0.1	tr
4	Myrcène	987	981	-	1.4	1.9
5	p-Cymène	1015	1012	-	0.1	0.1
6	Limonène	1025	1020	-	0.6	1.5
7	(E)-β-ocimène	1041	1037	-	0.1	0.1
8	γ-Terpinène	1051	1049	tr	0.1	0.1
9	α-Terpinolène	1080	1078	0.2	tr	0.1
10	α-Copaène	1379	1376	0.1	0.1	tr
11	β-Bourbonène	1386	1376	-	0.1	0.1
12	Longifolène	1411	1409	0.1	0.1	tr
13	α-Santalène	1422	1415	0.1	0.4	0.4
14	β-Caryophyllène	1420	1424	0.1	tr	tr
15	Dauca-3,8-diène	1428	1426	0.1	tr	tr
16	trans-α-Bergamotène	1432	1431	0.2	tr	tr
17	(E)-β-Farnesène	1448	1449	-	tr	tr
18	α-Humulène	1456	1451	1.9	0.5	tr
19	Zizaène	1456	1463	-	2.3	3.1
20	α-Curcumène	1473	1474	0.1	0.4	0.4
21	Germacrène-D	1479	1478	0.2	tr	tr
22	β-Selinène	1486	1480	0.1	tr	tr
23	Zingiberène	1489	1483	tr	tr	0.1
24	γ-Cadinène	1516	1513	0.1	0.1	tr
25	Lactarazulène	1796	1792	tr	0.5	0.1
26	Neophytadiène	1807	1807	0.1	0.5	0.1
	Total			3.4	8.1	8.6
	Composés phénoliques					
27	Benzyl 2-méthyl butyrate	1360	1352	0.6	0.2	tr
28	Isochavicol isobutyrate	1546	1541	26.4	41.4	76.1
29	(Z)-3-Hexenyl benzoate	1545	1557	0.8	0.3	tr
30	Isochavicol 2-méthyl butyrate	1651	1648	7.9	11.3	5.4
31	Benzyl benzoate	1730	1723	0.7	0.8	0.6
	Total			36.4	54.0	82.1
Tableau 5		Suite				
	Alcools					
32	1-Octanol	1061	1056	0.1	tr	tr
33	Linalool	1086	1085	0.2	tr	0.1

34	Terpinen-4-ol	1164	1161	0.1	0.1	0.1
35	Décanol	1263	1259	10.4	2.1	0.7
36	Undécanol	1363	1367	0.8	0.4	0.1
37	Dodécanol	1472	1470	2.7	0.5	0.4
38	α -Cédrol	1603	1596	1.2	5.0	0.1
39	α -Bisabolol	1672	1667	0.1	0.9	0.2
40	Isophytol	1946	1944	-	tr	0.1
41	(E)-Phytol	2114	2102	0.4	0.5	tr
	Total			16.0	9.5	1.8
	Aldéhydes					
42	Nonanal	1076	1074	0.2	0.1	tr
43	Décanal	1188	1187	2.7	0.5	0.2
44	Undécanal	1290	1280	0.4	0.2	tr
45	Dodécanal	1389	1390	6.3	7.3	0.2
46	Hexadécanal	1782	1787	1.1	0.5	0.1
	Total			10.7	8.6	0.5
	Esters					
47	2-Ethyl hexyl acetate	1144	1149	0.2	0.4	0.1
48	Octyl acetate	1188	1187	tr	tr	0.2
49	Bornyl acetate	1270	1269	0.1	2.1	0.7
50	n-octyl isobutyrate	1329	1325	tr	tr	0.2
51	Neryl acetate	1342	1336	-	0.1	tr
52	Geranyl butyrate	1534	1530	1.2	2.1	0.5
53	Dodecyl acetate	1585	1580	-	0.4	0.1
54	Dodecyl pentanoate	1843	1840	0.2	0.1	1.3
	Total			1.7	5.2	3.1
	Acides					
55	Nonanoic acid	1263	1263	0.1	tr	tr
56	Decanoic acid	1347	1348	0.6	0.2	tr
57	Dodecanoic acid	1554	1560	0.6	0.4	tr
58	Tetradecanoic acid	1761	1756	0.1	0.3	0.1
59	Hexadecanoic acid	1951	1949	1.5	0.1	tr
	Total			2.9	1.0	0.1
	Cétones					

60	Phytone	1833	1835	0.2	0.1	0.2
	Éther					
61	1,8 Cineol	1024	1020	-	0.6	0.5
	Epoxides					
62	Caryophyllene oxyde	1576	1572	0.6	2.1	0.1
	Alcanes					
63	Nonane	906	902	tr	-	-
64	Decane	993	998	tr	0.1	0.1
65	2-Methyl-decane	1068	1065	-	tr	0.1
66	Undecane	1100	1098	4.0	0.1	tr
67	Dodecane	1200	1198	0.2	tr	tr
68	Tridecane	1300	1292	0.4	tr	tr
69	Tetradecane	1400	1403	0.3	tr	tr
70	Pentadecane	1500	1497	5.4	1.1	0.1
71	Hexadecane	1600	1599	1.8	1.9	0.2
72	Heptadecane	1700	1703	9.8	2.9	0.1
	Total			21.9	6.1	0.6
% d'identification				93.8	95.3	97.6
Rendement en huile (%)				0.02	0.05	0.15

Au cours de la première phase végétative, le rendement en huile essentielle était de 0,02%. Au stade du début de floraison, il a atteint 0,05%. Cependant à la pleine floraison, le rendement a augmenté de manière significative pour atteindre 0,15%.

L'analyse de l'huile essentielle des tiges et feuilles de *D. crinitus* par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier 72 composés. 26 composés terpéniques hydrocarbonés, 10 alcools, 5 composés phénoliques, 5 aldéhydes, 8 esters, 5 acides, 1 cétone, 1 éther, 1 époxyde et 10 alcanes. Toutefois, dans le stade précoce-végétative, 57 composés ont été identifiés représentent. Les groupes chimiques les plus abondants de cette huile sont des composés phénoliques (36,4%), les alcanes (21,9%), alcools (16,0%), les aldéhydes (10,7%), les hydrocarbures terpéniques (3,4%), des acides (2,9%) et des esters (1,7 %). L'isochavicol isobutyrate était le constituant principal des composés phénoliques (26,4%), suivie par l'isochavicol 2-méthyl-butyrates (7,9%).

Cependant, les principaux composés du groupe des alcanes étaient heptadécane (9,8%), pentadécane (5,4%), undécane (4,0%) et l'hexadécane (1,8%).

En ce qui concerne le stade précoce de la floraison, la composition de l'huile essentielle est similaire qualitativement que celle observée dans le stade précoce-végétatif, caractérisé par un pourcentage élevé de composés phénoliques (54,0%) mais avec une légère différence dans la composition d'huile. Nous avons noté la présence de zizaène (2,3%), caryophyllène oxyde (2,1%), acétate de bornyle (2,1%) et le myrcène (1,4%). En revanche, l'huile produite en plein stade de la floraison a été caractérisée par l'isochavicol isobutyrate (76,1%), isochavicol 2-méthyl-butyrate (5,4%), myrcène (1,9%), zizaène (3,1%), limonène (1,5%) et dodécyle pentanoate (1,3%).

La comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle de *D. crinitus* au cours des trois stades de développement montre qu'il existe des différences significatives dans la composition et des composantes principales. Selon nos résultats, il semble que la composition chimique de l'huile essentielle varié significativement avec le stade physiologique de la plante. De cette façon, l'huile essentielle de *D. crinitus* pourrait être divisée en trois groupes selon les quantités des constituants principaux:

Groupe A (début végétatif)

- Composés phénoliques> alcanes> alcools> aldéhydes> hydrocarbures terpéniques> Acides> esters.

Groupe B (début de floraison)

- Les composés phénoliques> alcools> aldéhydes> hydrocarbures terpéniques> alcanes> esters époxydes>acides.

Groupe C (pleine floraison)

- Les composés phénoliques> hydrocarbures terpéniques> esters> alcools.

Ainsi, le pourcentage en phénylpropanoïdes et partiellement l'isochavicol isobutyrate augmente au cours du cycle phénologique, cependant, les alcools, les acides et les alcanes diminuent durant l'ontogénèse, en particulier au stade plein floraison.

III.4. Évaluation des activités biologiques

III.4.1. Évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et des extraits

La surproduction des radicaux libres dans l'organisme et le déficit du système de défense endogène peuvent engendrer de diverses pathologies ; cancer, vieillissement....etc. Actuellement, La recherche vise à renforcer ces défenses endogènes par des substances naturelles issues des plantes, qui sont douées des propriétés antiradicalaires.

Le radical libre DPPH a permis l'estimation de l'activité antioxydante des composés isolés et identifiés. C'est un radical synthétique de couleur violette qui vire vers le jaune quand il est capté par les extraits testés. L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité antiradicalaire de l'extrait, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cet extrait.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle et des extraits a été déterminée par le système de test DPPH. Le tableau 6 montre l'activité DPPH balayage, exprimée en pourcentage, causée par différentes concentrations d'huiles essentielles et extraits de *D. crinitus*. La plus faible activité radicalaire (60.26 et 53.12%) a été exposée par l'huile essentielle des racines et de la partie aérienne à une concentration respectivement de 24 et 36 mg/ml, tandis que la plus forte activité (69.82 et 62.89%) a été exposée par l'extrait méthanolique à une concentration respectivement de 0.1 et 0.7 mg/ml. D'autre part l'extrait aqueux des racines et de la partie aérienne présente une activité radicalaire moyenne (77.51 et 80.56%) à une concentration de 1.4 mg/ml (Tableaux 6 et 7).

D'après les tableaux 6 et 7, l'activité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle augmente avec une augmentation de leurs concentrations. À des concentrations plus

élevées, l'activité antioxydante des extraits était plus proche de l'effet de balayage de l'acide ascorbique.

Tableau 6. Capacité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle des racines de *D. crinitus*.

SOURCE	Concentrations (mg/mL)	Inhibition (%)	IC₅₀ values (mg/mL)
Extrait méthanolique	0.14	19.54	$y = 72,789x + 14,147$ $R^2 = 0,9436$ 0.492
	0.23	32.84	
	0.35	44.68	
	0.70	62.89	
Extrait Aqueux	0.20	27.96	$y = 40,602x + 21,02$ $R^2 = 0,9972$ 0.710
	0.28	32.25	
	0.46	41.37	
	1.40	77.51	
Huile essentielle	6.0	17.46	$y = 2,4483x + 1,7633$ $R^2 = 0,9925$ 19.71
	8.0	19.05	
	12	32.7	
	24	60.26	

Par conséquent, l'activité DPPH balayage est généralement présentée par la valeur IC₅₀ (Concentration de l'inhibiteur causant 50% d'inhibition). Les résultats (Tableaux 6 et 7), révèlent que tous les extraits testés ainsi que l'acide ascorbique (Tableau 8) pris comme

référence sont des antiradicalaires. Cependant l'extrait méthanolique de la partie aérienne et des racines a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée, respectivement avec des IC₅₀ de 0.068 et 0.492, suivie par l'extrait aqueux (IC₅₀: 0.644 pour la partie aérienne et 0.710 pour les racines) et en dernier l'huile essentielle (19.71 et 34.02 respectivement pour les racines et la partie aérienne).

Tableau 7. Capacité antioxydante des extraits et de l'huile essentielle des parties aérienne de *D. crinitus*.

SOURCE	Concentrations (mg/mL)	Inhibition (%)	IC₅₀ values (mg/mL)
Extrait méthanolique	0.04	35.08	$y = 564,8x + 11,874$ $R^2 = 0,9877$ 0.068
	0.06	46.00	
	0.08	54.74	
	0.1	69.82	
Extrait Aqueux	0.01	20.54	$y = 41,48x + 23,254$ $R^2 = 0,992$ 0.644
	0.02	26.47	
	0.70	53.80	
	1.40	80.56	
Huile essentielle	6	10.24	$y = 1,4451x + 0,8279$ $R^2 = 0,9989$ 34.02
	12	17.49	
	18	26.51	
	36	53.12	

Tableau 8. Capacité antioxydante de l'acide ascorbique

	Inhibition (%)			IC₅₀ values (mg/mL)
Concentrations	0.04	0.08	0.1	0.048
Acide Ascorbique	38.32	96.16	98.02	

En fonction de ces résultats, il existe une relation entre la teneur totale en phénol et de l'activité antioxydante. En effet, il est extrêmement important de souligner qu'il existe une corrélation positive entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composés phénoliques dans les extraits. En outre, comme indiqué dans les données de la littérature [48], l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique peut être attribué à sa teneur relativement élevée (110.19 mg/ml). Toutefois, les composants responsables des activités antioxydantes des extraits n'ont pas été identifiés et des travaux supplémentaires devraient être menés pour identifier et isoler ces composés bioactifs.

III.4.2. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle

Dans ce travail, trois souches microbiennes et une espèce de champignons ont été utilisées pour tester les activités antibactériennes des huiles essentielles. Les huiles essentielles ont montré une forte activité (zone d'inhibition > 15 mm), une activité modérée (zone d'inhibition <15-12 mm) et faible inhibition (zone <12 mm) (Tableau 9) [49].

Tableau 9. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des racines et de la partie aérienne du *D. crinitus*

Microorganisms	zones d'inhibitions (mm) pour 5 µl d'huile essentielle	
	Racines	Partie aérienne
Gram-positif		
<i>Bacillus cereus</i>	14	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	21
Gram-négatif		
<i>Echerichia coli</i>	6	8
Levure		
<i>Candida albicans</i>	30	30

La zone d'inhibition, mesurée en millimètres, y compris le diamètre du disque de papier, a été utilisée comme critère pour mesurer l'activité antibactérienne de l'huile de *D. crinitus*. D'après le tableau 9, l'huile de la partie aérienne a exposée une forte activité contre les *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres de zone d'inhibition respectivement de 30 et 21 mm. Cependant l'huile des racines a montré une forte activité contre les *Candida albicans* et une activité modérée contre *Bacillus cereus* avec un diamètre de zone d'inhibition respectivement de 30 et 21 mm. Par-contre la souche bactérienne

Echerichia coli n'a montré aucune activité (diamètres de zones d'inhibition allant de 6 à 8 mm).

Ces observations peuvent être attribuées à la nature de composantes biologiques actives. En effet, divers composés chimiques ont une activité directe contre de nombreuses espèces de bactéries, tels que les terpènes et une variété d'hydrocarbures aliphatiques (alcools, aldéhydes et cétones). Par conséquent, un rang de l'activité a été

proposée comme suit: phénols> aldéhydes> cétones> alcools> esters> hydrocarbures [50]. Par exemple, certaines huiles essentielles contenant des structures phénoliques sont très actives contre un large spectre de micro-organismes [50,51].

Les aldéhydes sont connus pour avoir des activités antimicrobiennes puissantes [22]. Les alcools aliphatiques ont été signalés à posséder une activité forte à modérée contre plusieurs bactéries [52].

Les terpènes ont également montré des propriétés antimicrobiennes qui semblent avoir de forte à modérée activité antibactérienne contre les bactéries Gram positives et contre les champignons pathogènes, mais en général, une faible activité a été observée contre les bactéries Gram négatif [53].

Conclusion

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante très utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ces vertus thérapeutiques en établissant une relation entre sa composition chimique et ses activités biologiques.

Le criblage phytochimique réalisé sur le *D. crinitus* basée sur des tests spécifiques a permis de montrer que la plante est riche en métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les tanins et les composés réducteurs. Le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux, calculée en équivalent acide gallique a confirmé la présence en grandes quantités de composés polyphénoliques. La valeur la plus élevée a été obtenue dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne (110.19 µg/mg) et la plus basse dans l'extrait aqueux des racines (38.43 µg/mg).

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des tiges et feuilles du *D. crinitus* à différents stades de la croissance de la plante a permis d'identifier 72 composés. Les groupes chimiques les plus abondants de cette huile sont les composés phénoliques (36,4%), alcanes (21,9%), alcools (16,0%) et aldéhydes (10,7%). Cependant, les hydrocarbures terpéniques (3,4%), acides (2,9%) et esters (1,7 %) sont présent en faible quantité.

L'activité antioxydante via la méthode DPPH des extraits et de l'huile essentielle augmente avec une augmentation de leurs concentrations. Nous avons remarqué que l'activité de l'extrait méthanolique de la partie aérienne a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée, avec un IC₅₀ de 0.068 proche de l'acide ascorbique (0.048).

Enfin, les résultats préliminaires du test antibactérien a révélé que l'huile essentielle possède un pouvoir antibactérien, sur les souches *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*.

Références bibliographiques

- [1] Alan C, Michael N, Clifford, Hiroshi Ashihara (2006): Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet by Blackwell Publishing Ltd.
- [2] Michael Wink (2010): Functions and Biotechnology: of Plant Secondary Metabolites. Second edition Blackwell Publishing Ltd by Michael Wink A John Wiley & Sons, Ltd, Publication United Kingdom.
- [3] Scalbert A, Williamson G (2000): Dietary intake and bioavailability of polyphenols, *Nutr J*, 130: 2073-2085.
- [4] Didry N, Pinkas M, Torck M (1982): Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverse espèce de *Grindelia*, *Planta Med. Phytother*, 16: 7-15.
- [5] Fuorucci S (2006) : Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes ; Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat de l'université de Nice Sophia Antipolis.
- [6] Marfak A. (2003) : Radiolyse gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de dépsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- [7] Moroh J. Bahi C, Dje K, Loukou Y.G, Guede-Guina F (2008) : Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 77: 44 –61.
- [8] Yango K, Oumar K, Abdoul K.L, Vesa H (2004) : Etude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée. *Comptes Rendus Chimie*, 7 (10-11): 1095-1100.
- [9] Katarzyna U, Anna M, Marta M, Joanna J.B, Grzegorz W (2007): Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62 (2): 132-135.
- [10] Chen H.Q, Jin Z.Y, Wang X.J, Xu X.M, Deng L, Zhao J.W (2008): Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation. *Neuroscience letters*, 448 (2): 175- 179.
- [11] Balz R (1986) : Les huiles essentielles, Ed. Crest.
- [12] Guignard J.L (2000): Biochimie végétale, Masson Ed, Paris, p.166-201-215-230.
- [13] Essawi T, Srour M (2000): Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal Of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.

Références bibliographiques

- [14] Sipailiene A, Venskutonis P.R, Baranauskiene R, Sarkinas A (2006): Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18: 698-703.
- [15] Julien P (2005) : caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux *asteraceae* endémiques de corse: *eupatorium cannabinum* subsp . *corsicum* et *doronicum corsicum* . Docteur de l'université de corse.
- [16] Moreau F (1960): Botanique: Procaryotes (cyanophites et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs). La plante dans ses rapports avec le milieu." Ed.Paris, Gallimard.
- [17] Mazzoni V, Tomi F, Casanova J (1999): A daucane-type sesquiterpene from *Daucus carota* seed oil. *Flavour Fragrance Journal*, 14: 268–272.
- [18] Staniszevska M and Kula J (2001): Composition of the essential oil from wild *carrot*. L. ssp. *carota*) growing in Poland. *Journal Essential Oil Research*, 13: 439-441.
- [19] Flamini G, Cioni PL, Maccioni S, Baldini R (2003): Composition of the essential oil of *Daucus gingidium* L. ssp. *Gingidium*. *Food Chemistry*, 103: 1237–1240.
- [20] Saad HEA, ElSharkawy SH, Halim AF (1995): Essential oils of *Daucus carota* ssp. *maximus*. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 70: 79–84.
- [21] Kula J, Izydorczyk K, Czajkowska A, Bonikowski R (2006): Chemical composition of carrot umbells oils from *Daucus carota* ssp. *sativus* cultivated in Poland. *Flavour Fragrance Journal*, 21: 667– 669.
- [22] Brands S. J. (1989-2005). *Systema Naturae 2000*. Amsterdam: The Netherlands.
- [23] Lamarck M, Poiret J. L. M (1811): *Encyclopédie méthodique botanique* ; Tome II. *Agasse*, Paris.
- [24] Quézel P, Santa S (1963) : *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* ; Tome II. *Centre National de la Recherche Scientifique*, Paris.
- [25] Dib MA, Djabou N, Desjobert JM, Allali H, Tabti B, Muselli A, Costa J (2010): Characterization of volatile compounds of *Daucus crinitus* Desf. Headspace Solid Phase Microextraction as alternative technique to Hydrodistillation. *Chemistry Central Journal*, 4:16.

Références bibliographiques

- [26] Lanfranchi DA, Laouer H, El Kolli M, Prado S, Maulay-Bailly C, Baldovini N (2010): Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58: 2174–2179.
- [27] Djarri L, Medjroubi K, Akkal S, Elomri A, Seguin E, Vérité P (2006): Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. *Flavour and Fragrance journal*, 21: 647–649.
- [28] Jabrane A, Ben Jannet H, Harzallah-Skhiri F, Mastouri M, Casanova J, Mighri Z (2009): Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *Maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and ¹³C-NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial Activity. *Chemistry & Biodiversity*, 6: 881-889.
- [29] Bauer K, Garbe D, Surburg H (1990): in *Common Fragrance and Flavor Materials, Preparation, Properties and Uses*, 2nd edn., VCH, Weinheim, p. 142.
- [30] Lawrence B. M (1992–1994): in *Essential Oils*, Allured Publishing Corp. Carol Stream, IL, p. 28.
- [31] Lawrence B. M, *Perfum* (1999): Flavor. 1999, 24, 52; *Perfum. Flavor*. 2003, 28, 76; *Perfum. Flavor*. 2006, 31,39.
- [32] Gora J, Lis A, Kula J, Staniszevska M, Wołoszyn A (2002): *Flavour Fragrance J*, 17: 445.
- [33] Gonny M, Bradesi P, Casanova J (2004): Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour Fragrance J*, 19: 424-433.
- [34] Kilibarda V, Nanusevic N, Dogovic N, Ivanic R and Savin K (1996): Content of the essential oil of the carrot and its antibacterial activity. *Pharmazie*, 51(10): 777-778.
- [35] [Harborne JB. (1998): *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*, Chapman & Hall, London.
- [36] Kessemi N (2006) : Relation entre un insecte phytophage et sa principale plante hôte : cas de la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*), (*Coleoptera Bruchidae*). Thèse de Magistère de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.
- [37] Miliauskas G, Venskutonis P.R et Van Beek T.A (2004): Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*, 85: 231-237.
- [38] Kumaran A et karunakaran R.J (2005) : Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*, 97: 109-114.

Références bibliographiques

- [39] Conseil de l'Europe. (1996) : Pharmacopée Européenne, Maisonneuve S.A: Sainte Ruffine.
- [40] National Institute of Standards and Technology. (2005) NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database. (<http://webbook.nist.gov/chemistry>). Gaithersburg, MD.
- [41] König WA, Hochmuth DH, Joulain D (2001): Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, Library of MassFinder 2.1. University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry, Hamburg.
- [42] Jennings W, Shibamoto T (1980): Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glass-capillary gas chromatography. Jovanovitch HB. (Ed.), Academic Press, New-York.
- [43] Mc Lafferty FW, Stauffer DB (1994): Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th ed., Mass Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM version 3.10d. Palisade, Newfield.
- [44] Mc Lafferty FW, Stauffer DB (1988): The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data, 4th ed. Wiley-Interscience, New York.
- [45] Adams RP. (2001): Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream.
- [46] Hochmuth D (2006): Mass Spectral Library "Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils". Library of MassFinder 3.0 Hamburg, Germany.
- [47] Loo A.Y, Jain K, Darah I (2008): Antioxydant activity of compound isolated from the pyroligneous acid, *Rhizophora apiculata*. *Food chemistry*, 107: 1151-1160.
- [48] Bellakhdar J (1997) : La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis press.
- [49] Barros L, Calhelha RC, Vaz JA, Ferreira ICFR, Baptista P, Estevinho LM (2007a): Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur. Food Res. Technol*, 225(2): 151-156.
- [50] Kalemba D, Kunicka A (2003): Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 813-829.
- [51] Güllüce M, Sökmen M, Daferera D, Agar G, Özkan H, Kartal N, Polissiou M, Sökmen A, Sahin F (2003): In-vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(14): 3958-3965.

[52] Kabelitz N, Santos PM, Heipieper HJ (2003): Effect of aliphatic alcohols on growth and degree of saturation of membrane lipids in *Acinetobacter calcoaceticus*. *FEMS Microbiology Letters*, 220: 223-227.

[53] Hada T, Shiraishi A, Furuse S, Inoue Y, Hamashima H, Masuda K, Shiojima K, Shimada J (2003): Inhibitory effects of terpene on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Nature Medicine*, 57: 464-467.