

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.Mira- Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-Chimie

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option Biochimie Appliquée

*Thème :*

---

*Caractérisation biologique et biochimique du  
Genévrier (Juniperus phoenicea)  
au niveau du Parc National de Gouraya  
à Bejaïa*

---

*Réalisé par:*

✚ AMALOU Nabil  
✚ MOUHOUBI El yesse

M<sup>f</sup>BALLA. E.  
M<sup>f</sup>CHELLI. A.  
M<sup>me</sup> BOUCHEFFA. S.  
M<sup>f</sup>BOUADAM. S.

Président  
Examineur  
Examinatrice  
Promoteur

MCA Université de Bejaïa  
MAA Université de Bejaïa  
MAB Université de Bejaïa  
MAA Université de Bejaïa

Année Universitaire  
2013-2014

## Dédicace :

---

*Je dédie ce modeste travail à mes précieux parents qui m'ont tous donné, qui ont toujours été la pour moi et toute ma famille surtout ma Sœur Fariha et son mari Hakim et leurs enfants Meriem et Anas*

*A mes très chers frères :*

*Lyazid, sa femme, Brahim, khelaf , Larbi et sa famille.*

*A mes neveux adorés, Abdallâh et Abderrahmane une fois grands, ils comprendront ce travail.*

*A ma chère tante hayat qui a été toujours à mes cotés et à toute sa famille*

*A mes copains de chambre et à mes meilleurs amis en souvenir de toutes ces années passées ensemble*

*À mon binôme Nabil et sa famille.*

*Et à ceux qui me sont très chers et ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.*

**M, Lyes**

---

*Je dédie ce travail, qui est le couronnement de toutes les années d'étude et qui ne s'est achevé sans votre amour et encouragement:*

*Je remercie Dieu de tout puissant de m'avoir donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.*

*A ma mère pour son amour et son encouragement depuis toujours.*

*A mon père qui ma su encouragé et me soutenir sur tout les plans.*

*A mes sœurs et mes frères chaq'un par son nom.*

*A mes amis Abderrahim, Yaakoub, Mourad, Hani et surtout mon binôme Elyesse.*

*A l'ensemble des étudiants de ma promotion 2013 /2014.*

*Et à ceux qui me sont très chers et qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.*

**A, Nabil**

---

# Remerciements

---

*La première personne que nous tenons à remercier est Mr BOUADAM .S d'avoir accepté de nous encadrer et qui a su nous laisser la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre recherche, tout en y gardant un œil critique et avisé. Merci pour votre rigueur scientifique et vos conseils toujours judicieux et aussi d'avoir eu la patience de corriger notre mémoire et de nous avoir responsabilisés du début jusqu'à la fin de notre travail.*

*Nous aimerons remercier tout particulièrement M<sup>me</sup> BOUADAM .B pour nous avoir accueillis au sein du laboratoire et permis ainsi d'effectuer ce travail dans la liberté totale, Merci pour votre générosité et votre bonne humeur.*

*Nous remercions Mr BALLA pour l'honneur qu'il nous a fait pour assurer la présidence du jury.*

*Nous exprimons aussi notre reconnaissance à Mr CHELLI et M<sup>me</sup> BOUCHEFFA. S.d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous témoignons toute notre gratitude pour les techniciennes du laboratoire n° 17 pour leur gentillesse, leur aide et précieux conseils durant notre travail au laboratoire.*

*Un merci spécial pour nos camarades et amis (es) qui ont participé de près ou de loin pour accomplir notre recherche.*

---

---

# SOMMAIRE

---

**Liste des abréviations****Liste des figures****Liste des tableaux****Introduction** ..... 01**Partie bibliographiques****Chapitre I : les plantes médicinales**

I.1. Historique.....	03
I.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales.....	03
I.3. Généralités sur le genre de genévrier .....	04
I.4. Description du <i>Juniperus phoenicea</i> .....	04
I.5. Taxonomie .....	05
I.6. Caractères botaniques de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	05
I.7. La croissance du genévrier de Phénicie.....	06
I.8. Régénération.....	06
I.9. Phénologie de l'espèce.....	06
I.10. Répartition géographique de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	07

**Chapitre II : les Métabolites secondaire**

II. Les Métabolites secondaire.....	09
II.1. Les différents groupes de métabolites secondaires .....	09
II.2. Classification des composés phénoliques.....	11
II.2.1. Les acides phénols et les coumarines.....	13
II.2.1.1. Les acides benzoïques.....	13
II.2.1.2. Les acides cinnamiques.....	13
II.2.1.3. Les coumarines.....	14
II.2.2. Les flavonoïdes.....	14
II.2.2.1. Structure.....	14
II.2.2.2. Propriétés des flavonoïdes.....	15
II.2.2.2.1. Les flavonols.....	15
II.2.2.2.2. Les flavanone.....	16
II.2.2.2.3. Les anthocyanes.....	16
II.2.3. Les tanins.....	17
II.2.3.1. Les tanins condensés (flavan-3-ols).....	17
II.2.3.2. Les tanins hydrolysables.....	17
II.3. Intérêts des composés phénoliques.....	18
II.4. Les huiles essentielles.....	19
II.4.1. Définition.....	19
II.4.2. Composition chimique.....	19
II.4.2.1. Composés aromatiques dérivés de phényl propane.....	19

---

II.4.2.2. Composés terpéniques.....	20
II.5. métabolites secondaires de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	20
II.5.1. Composition en huiles essentielles.....	20
II.6. L'activité antioxydant des polyphénols.....	21
II.6.1. Définition de l'oxydation.....	22
II.6.2. Mécanisme de l'oxydation.....	22
II.6.3 Les antioxydants.....	23
II.6.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	23
II.6.5.Mesure au DPPH.....	24

### **Partie Expérimentale**

#### **Chapitre III : Matériel et Méthodes**

III. Matériel et Méthodes.....	25
III.1. Présentation de la région d'étude.....	25
III.2. Echantillonnage.....	25
III.3. Matériel végétal.....	26
III.3.1. Séchage, broyage et tamisage .....	27
III.4. Méthodes.....	27
III.4.1. Etude morphologique.....	27
III.4.2.Etude biochimique.....	27
III.4.2.1. Extraction des polyphénols.....	27
III.4.2.2. Dosage des polyphénols.....	28
III.4.2.2.1. Dosage des phénols totaux.....	28
III.4.2.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	30
III.4.2.2.3. Dosage des tanins condensés.....	32
III.4.2.3. Activités antioxydantes.....	34
III.4.2.3.1. pouvoir réducteur.....	34
III.4.2.3.2. Test de DPPH.....	34
III.4.2.4. Extraction de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	35

#### **Chapitre IV : Résultats et Discussion**

IV. Résultats et Discussion.....	36
IV.1. Résultats de l'analyse des paramètres morphologique.....	36
IV.1.1. Variabilité morphologique des baies (cônes femelles.....	36
IV.1.2. Variabilité morphologique des graines.....	37
IV.2.Résultats de l'analyse des paramètres biochimiques.....	39
IV.2.1.Dosage des composés phénoliques.....	39
IV.2.1.1.Dosage des polyphénols totaux.....	39

---

IV.2.1.2.Dosage des flavonoïdes.....	41
IV.2.1.3.Dosage des tannins.....	42
IV.2.2.Résultats de l'activité antioxydante.....	43
IV.2.2.1.Résultats du pouvoir réducteur.....	43
IV.2.2.2. Activité scavenger du radical DPPH.....	44
IV.2.3. Les huiles essentielles.....	45
IV.2.3.1. Rendement en huiles essentielles.....	45
<b>Conclusion.....</b>	<b>47</b>
<b>Références Bibliographiques</b>	
<b>Glossaire</b>	
<b>Annexes</b>	

---

# Liste des abréviations

---

ADN : Adénosine désoxyribonucléique.

AlCl<sub>3</sub> : trichlorure d'aluminium

CE50 : Concentration efficace de substrat pour produire 50% de réduction.

CG/FID : chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.

DPPH : Radical 1,1-diphényl 2-picrylhydrazyl

EAG : équivalent de l'acide gallique

EQ : équivalent de quercétine .

Fe<sup>3+</sup> : Ion ferrique.

Fe<sup>2+</sup> : Ion ferreux.

Fe SO<sub>4</sub> : Sulfate ferreux.

FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O : Chlorure ferrique.

GC/MS : Chromatographie phase gazeuse couplée à une spectrophotométrie.

H3PW12O40 : Acide phosphotungstique.

H3PMO12O40 : Acide phosphomolybdque.

HCl : Acide chlorhydrique.

HE : Huile essentielle.

HPLC : High performance liquide chromatographie.

K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub> : ferricyanure de potassium .

LDL : Low density Lipoprotéines.

ml : Millilitre.

nm : Nanomètre.

OH: Radical hydroxyle.

OMS: organisation mondiale de la santé.

μl : Microlitre.

---

---

# Liste des figures

---

<b>Figure N°01:</b> <i>Juniperus Phoenicea</i> (photo originale) .....	<b>07</b>
<b>Figure N°02 :</b> Localisation de <i>Juniperus phoenicea</i> dans la région méditerranéenne.....	<b>08</b>
<b>Figure N°03:</b> la voie shikimate de biosynthèse des composés phénoliques.....	<b>10</b>
<b>Figure N°04:</b> la voie polyacétate de biosynthèse des composés phénoliques.....	<b>11</b>
<b>Figure N° 05 :</b> Structures chimiques de l'acide benzoïque .....	<b>13</b>
<b>Figure N°06:</b> Structures chimiques de dérivés de l'ester hydroxycinnamiques.....	<b>13</b>
<b>Figure N°07:</b> Structure chimique de quelques coumarines.....	<b>14</b>
<b>Figure N°08:</b> Squelette de base des flavonoïdes.....	<b>14</b>
<b>Figure N°09:</b> Structures chimiques de quelques flavonols.....	<b>15</b>
<b>Figure N°10:</b> Structure de quelques anthocyanidine.....	<b>16</b>
<b>Figure N°11 :</b> Structure chimique des tanins condensés.....	<b>17</b>
<b>Figure N°12 :</b> Structures des composés aromatiques dérivés de phényl propane (C6-C3).....	<b>19</b>
<b>Figure N° 13 :</b> Structures des Composés terpéniques.....	<b>20</b>
<b>Figure N°14:</b> Structure du DPPH .....	<b>24</b>
<b>Figure N° 15 :</b> Situation géographique du Parc National de Gouraya.....	<b>25</b>
<b>Figure N° 16 :</b> Image satellitaire de la localisation des deux stations d'étude	<b>26</b>
<b>Figure N° 17:</b> Photo des rameaux de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	<b>26</b>
<b>Figure N° 18:</b> Protocole expérimentale de dosage des phénols totaux.....	<b>29</b>
<b>Figure N° 19:</b> Protocole expérimentale de dosage des flavonoïdes.....	<b>31</b>
<b>Figure N° 20:</b> Protocole expérimentale de dosage des tanins.....	<b>33</b>
<b>Figure N° 21:</b> Photographie de l'appareil utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles.....	<b>35</b>

---



<b>Figure N°22:</b> Longueur , largeur et poids des cônes de <i>Juniperus phoenicea</i> de deux stations analysées.....	<b>36</b>
<b>Figure N°23:</b> Longueur , largeur et poids des graines de <i>Juniperus phoenicea</i> de deux stations analysées.....	<b>38</b>
<b>Figure N°24 :</b> Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans les deux stations d'étude.....	<b>39</b>
<b>Figure N°25:</b> Teneurs en flavonoïdes des échantillons de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans les deux stations d'étude.....	<b>41</b>
<b>Figure N°26 :</b> Teneurs en tanins des échantillons de <i>Juniperus phoenicea</i> prélevés dans les deux stations d'étude.....	<b>42</b>
<b>Figure N° 27 :</b> Evaluation du pouvoir réducteur des extraits éthanoliques de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	<b>43</b>
<b>Figure N°28:</b> Rendement en huiles essentielles des échantillons de <i>Juniperus Phoenicea</i> prélevés dans les deux stations d'études.....	<b>45</b>

---

---

## Liste des Tableaux :

---

<b>Tableau n° I:</b> Classification botanique de <i>Juniperus phoenicea</i> .....	<b>05</b>
<b>Tableau n° II :</b> principales classes des composés phénoliques.....	<b>12</b>
<b>Tableau n° III:</b> Activités biologiques des composés polyphénoliques .....	<b>18</b>
<b>Tableau n° IV:</b> Rendements en huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> dans différents pays.....	<b>21</b>
<b>Tableau n° V:</b> Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres morphologiques.....	<b>38</b>
<b>Tableau n° VI :</b> le pourcentage d'inhibition du radical DPPH dans les deux stations .....	<b>44</b>
<b>Tableau n° VII :</b> Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres biochimiques (composés phénoliques et rendement en huiles essentielles.....	<b>46</b>

---

### **Introduction:**

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques **(Colette-Keller, 2004)**.

Les multiples atouts santé des plantes sont liés à leur richesse en micro constituants dits « phytomicronutriments », ces derniers ont été qualifiés de molécules actives car l'on pensait qu'ils n'étaient que des déchets du métabolisme des plantes. Ce sont notamment des pigments, des arômes et des tanins astringents, voire des composés sans couleur, sans odeur et sans saveur. On sait aujourd'hui qu'ils ne sont pas si secondaires que cela et qu'ils contribuent à protéger la plante contre champignons de pourritures, rayonnement UV... etc. Ces composés de structures chimiques extrêmement variées, sont souvent propres à une espèce ou à un groupement d'espèces et participent à l'identité chimique de la plante. Ce sont les polyphénols qui font partie des quatre principaux antioxydants végétaux à côté de la vitamine C et E ainsi que les caroténoïdes **(Djeridane et al, 2006)**.

Ces molécules que constitue le principe actif des plantes médicinales appartiennent majoritairement aux métabolites secondaires tels que les polyphénols, les huiles essentielles et les alcaloïdes **(Barrero et al, 2006)**. Dans le bagage chimique des plantes, les composés phénoliques, les huiles essentielles, et autres métabolites secondaires représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antioxydantes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux dans le monde **(Bouzouita et al, 2008)**.

La recherche sur ces substances naturelles est un thème porteur depuis quelques années et les laboratoires pharmaceutiques sont toujours prêts à l'élaboration de nouveaux composés actifs, à l'identification, à la caractérisation des molécules naturelles et à la mise au point des médicaments qui ont pour origine des substances naturelles. Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de plantes médicinales.**(Lansing et al, 2003)**.

*Juniperus phoenicea*, « Ara'ar » (Cupressaceae) est un arbuste de la région méditerranéenne (**Bonnier et Douin, 1990 ; Derwich et al., 2011**). Il appartient à la section Sabina du genre *Juniperus*, c'est une variable espèce caractérisée par une différence morphologique et biochimique, c'est la raison pour la quelle on distingue trois Sous-espèces (**Lebreton, 1989**).

Les rameaux, les feuilles et les fruits de genévrier de Phénicie ou genévrier rouge sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés chimiques sont incorporés dans des préparations antioxydants attribuées à la présence de composés phénoliques et des huiles essentielles (**Watt et al., 1962 ; Stassi et al., 1996 ; Medini et al., 2009**).

Aussi, le rendement en huile essentielle de *Juniperus phoenicea* est acceptable et peut être rentable à l'échelle industrielle, de plus les composés majoritaires de ces huiles présentent plusieurs activités biologiques intéressantes (**Akrout, 1999 ; Adams et al., 1996 ; Stassi et al., 1996**).

Dans cette optique, on s'intéresse à l'études des paramètres morphologiques du *Juniperus phoenicea* et évaluer les teneurs en métabolites secondaires, le rendement en huiles essentielles ainsi que les activités antioxydantes dans deux stations d'échantillonnage suivant deux approches.

- Une approche théorique visant à:
  - Présenter les polyphénols et les huiles essentielles de façon générale
  - Mettre en avant les activités anti oxydantes des polyphénols
  
- Une approche expérimentale consistant à :
  - Extraction des composés phénoliques par un solvant (l'éthanol pur) ;
  - Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation ;
  - Dosage colorimétrique des composés phénoliques ;
  - Tester l'activité antioxydant (pouvoir réducteur et test du DPPH) ;
  - Rendement des huiles essentielles.

## I. Les plantes médicinales

### I.1. Historique

La connaissance rationnelle des plantes médicinales date de l'Antiquité. C'est Hippocrate qui différencie l'usage interne et l'usage externe et qui définit la notion de dose qui permet de distinguer l'effet thérapeutique de l'effet toxique (**Colette-Keller, 2004**). Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées (**Carillon, 2000**). Ce savoir traditionnel ancestral qui se transmet de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'informations extrêmement précieuses pour les chercheurs d'industrie pharmaceutique (**Fouché et al., 2000**).

Après des années de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, ce qui est le cas de toutes les plantes. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Mais leurs usages traditionnels n'ont jamais disparus, bien au contraire. (**Pierangeli et al., 2009**).

Aujourd'hui la pharmacologie s'oriente de plus en plus vers des traitements à base de plantes, car l'efficacité de la synthèse chimique a largement atteint ses limites et n'arrive plus à être créative. L'exemple de l'antibiorésistance microbienne, à l'origine de la recrudescence des maladies nosocomiales se passe de tout commentaire (**Iserin, 2001**).

### I.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales:

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin, 2001**). La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (**Bruneton, 2009**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmacologique actifs (**Decaux, 2002**). Les plantes aromatiques constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles, odorantes, caractéristiques appelées *huiles essentielles* (**Iserin, 2001**).

### I.3. Généralités sur le genre genévrier

Le genévrier (*Juniperus*) appartient à la famille des cupressacées où il avoisine le *Cupressus* (**Seigue, 1985**). Il comprend approximativement 60 espèces réparties dans l'hémisphère Nord (**Rezzi et al., 1999**). Le genre *Juniperus* est divisé en trois sections: *Caryocedrus* (une espèce : *J. drupacea* Labille) ; *Oxycedrus* (neuf ou dix espèces) ; et *Sabina* (environs 50 espèces) (**Adams, 1998**). C'est un arbre ou arbrisseau qui peut avoir cinq à dix mètre de hauteur (**Huguette, 2008**) à feuilles persistantes, étroites, linéaires, épineuses ressemblant à des aiguilles. Ses fleurs donnent des fruits improprement qualifiés de baies, globuleux et charnus (**Bruneton, 2009 ; Huguette, 2008**).

Le genévrier croit à l'état sauvage sur les terres arides, pierreuses exposées à la sécheresse, très rustiques. Il se trouve en Asie, en Amérique septentrionale, en Europe et sur le pourtour méditerranéen. (**Huguett, 2008**).

Les feuilles et les fruits de plusieurs espèces du genre *Juniperus* sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés chimiques sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques d'usage particulièrement antiseptique est attribué à la présence d'huiles essentielles (**Medini et al., 2007**).

### I.4. Description du *Juniperus phoenicea*

*Juniperus phoenicea*, « Ara'ar » (Cupressaceae) est un arbuste indigène de la région méditerranéenne (**Bonnier et Douin, 1990 ; Derwich et al., 2011**). C'est une espèce qui appartient à la section Sabina, du genre *Juniperus*. Elle est très variable, caractérisée par la présence de variations morphologiques, biochimiques et moléculaires, dont on distingue trois sous espèces : *J. phoenicea subsp phoenicea*, *J. phoenicea subsp eu-mediterranea* et *J. phoenicea var. turbinata*. (**Mazur et al., 2003 ; Adams et al., 2002 ; Mélanie et al., 2006**)

Cette espèce est considérée comme une importante plante médicinale, largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans de nombreux pays. (Dawidar et al., 1991 ; Adams et al., 1996). Elle est utilisée à l'état vapeur pour la bronchite et le contrôle de l'arthrite. Son huile est irritante pour les microbes (Derwich et al., 2010). Ses feuilles sont utilisées pour traiter les diarrhées, les rhumatismes et le diabète (Bellakhder, 1997 ; Allali et al., 2008). Le mélange de feuilles et de baies de cette plante est utilisé comme agent hypoglycémiant (Amer et al., 1994). Les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Akrouf, 1999). En Algérie elle est surtout reconnue pour son activité anti-diarrhéique (Dob et al., 2008 ; Mazari et al., 2010).

### I.5. Taxonomie

**Tableau n° I:** Classification botanique de *Juniperus phoenicea* (Small et al., 2001).

Règne :	Plantae
Sous règne :	Tracheobionta
Embranchement :	Spermatophytes
Sous Embranchement:	Gymnospermes
Classe :	Pinopsida
Ordre :	Pinales
Famille :	Cupessaceae
Genre :	Juniperus L
Espèce :	<i>Juniperus phoenicea</i>

### I.6. Caractères botaniques de *Juniperus phoenicea*

**Autres noms :** genévrier rouge - genévrier de Phénicie. genévrier de Lycie. appelé également « zimba » (en chaoui) ou "ara'ar" en Algérie. Les provençaux l'appellent « mourven » ou genévrier à fruits rouges. Ces fausses baies comme celles des autres genévriers sont en fait des cônes globuleux à écailles charnues appelés galbules, elles sont bien rondes, marquées de petits blafards et prennent la deuxième année une couleur brun mordorée attrayante. L'étiquette phoenicea viendrait plus de la couleur que du pays lui-même ; le «rouge phénicien » étant un brun rouge puissant. (Seigue, 1985; Varlet, 2008).

**Plante :** Dioïque, rarement monoïque.

**Fleurs** : Cônes mâles et cônes femelles habituellement sur le même pied, mais pouvant être aussi sur des pieds distincts. Ils apparaissent pendant la période Mars-Avril.

**Le tronc** : est droit, l'écorce brun rougeâtre le système racinaire est profond. Gris brun, étalé et dressé.

**Longévité** : Jusqu'à 1000 ans. (Croissance très lente)

**Habitat**: Régions méditerranéennes, littorales, collines et basses montagnes sèches et ensoleillées (espèce héliophile). Peu exigeant, elle s'accroche parfois aux roches et abrupte. Elle peut se développer dans les fissures des roches (**Rameau et al., 2008**).

Cette espèce est caractérisée par sa grande résistance au vent, elle est indifférente au sol, supporte l'argile, les sables, les sols calcaires ou dolomitiques, les marnes et les sols volcaniques. En Afrique du nord, elle peut vivre avec 250 mm d'eau par an, à la limite du Sahara et de la végétation de l'Alfa. En Espagne, dans la « Sierra Del Cabo de Gata », station la plus aride, en Europe elle se contente de 200mm de précipitation compensés, par une grande humidité de l'atmosphère. (**Seigue, 1985 ; Adams, 2004**).

### 1.7. La croissance du genévrier de Phénicie

Le peuplement de genévrier de Phénicie peut atteindre des âges importants malgré une taille modeste, des individus de 1.5 m de haut, avec un tronc de 8 cm de diamètre sont âgés de 1150ans (**Mandai, 2005**).

### 1.8. Régénération

D'après **Body, (1950)**, sa régénération s'effectue partiellement par rejets, mais surtout par semis naturels. Les graines germent difficilement et restent dans le sol. Pour assurer la régénération par semis, il faudra donc une longue période de 20 à 25 ans au moins. Comme toutes les espèces du genre genévrier, le phoenicea a une croissance lente, la dissémination des graines se fait par les oiseaux (**Seigue, 1985**).

### 1.9. Phénologie de l'espèce

Floraison en avril- mai, puis pollinisation par le vent; le fruit se forme. En juillet, la maturation des fruits est presque totale, ils proviennent des fleurs de l'année précédente (figure 01) (**Ageste, 1960**).



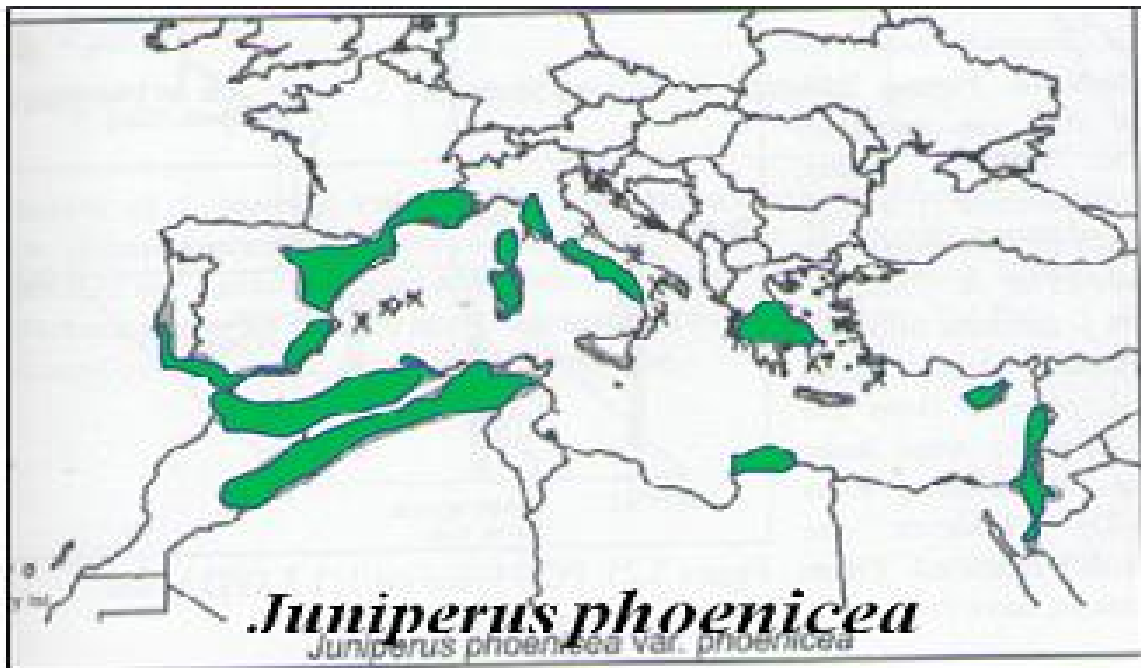


**Figure n° 01:** *Juniperus phoenicea* (Photo originale).

#### **I.10. Répartition géographique de *Juniperus phoenicea***

*Juniperus phoenicea* est une espèce qui se trouve dans les différentes régions du monde, mais il est plus fréquent dans la partie Ouest des régions méditerranéennes au Sud de l'Europe (également dans l'Est de Portugal jusqu'en Turquie) (Adams et al., 1996), Ouest d'Asie (notamment dans les montagnes de l'Ouest de l'Arabie Saoudite) (El-Sawi et Motawe, 2008). En Afrique du Nord, il pousse en Algérie, au Maroc, en Tunisie ainsi que en l'Egypte (Maatooq et al., 1998 ; Derwich et al., 2010).

En Algérie, l'espèce est présente depuis les dunes littorales jusqu'aux limites sahariennes (Cet arbre constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès) (figure n°02) (Quezel et Santa, 1962).



 Localisation de genévrier

**Figure n° 02:** Localisation de *Juniperus phoenicea* dans la région méditerranéenne (Adams, 2011).

## II. Métabolites secondaires

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

### II.1. Les différents groupes de métabolites secondaires

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (**Lebham, 2005**). Ils résultent de deux voies synthétiques principales: la voie shikimate et acétate (figure 3 et 4) (**Lugasi et al., 2003**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et les tanins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton, 1993**).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham, 2005**).

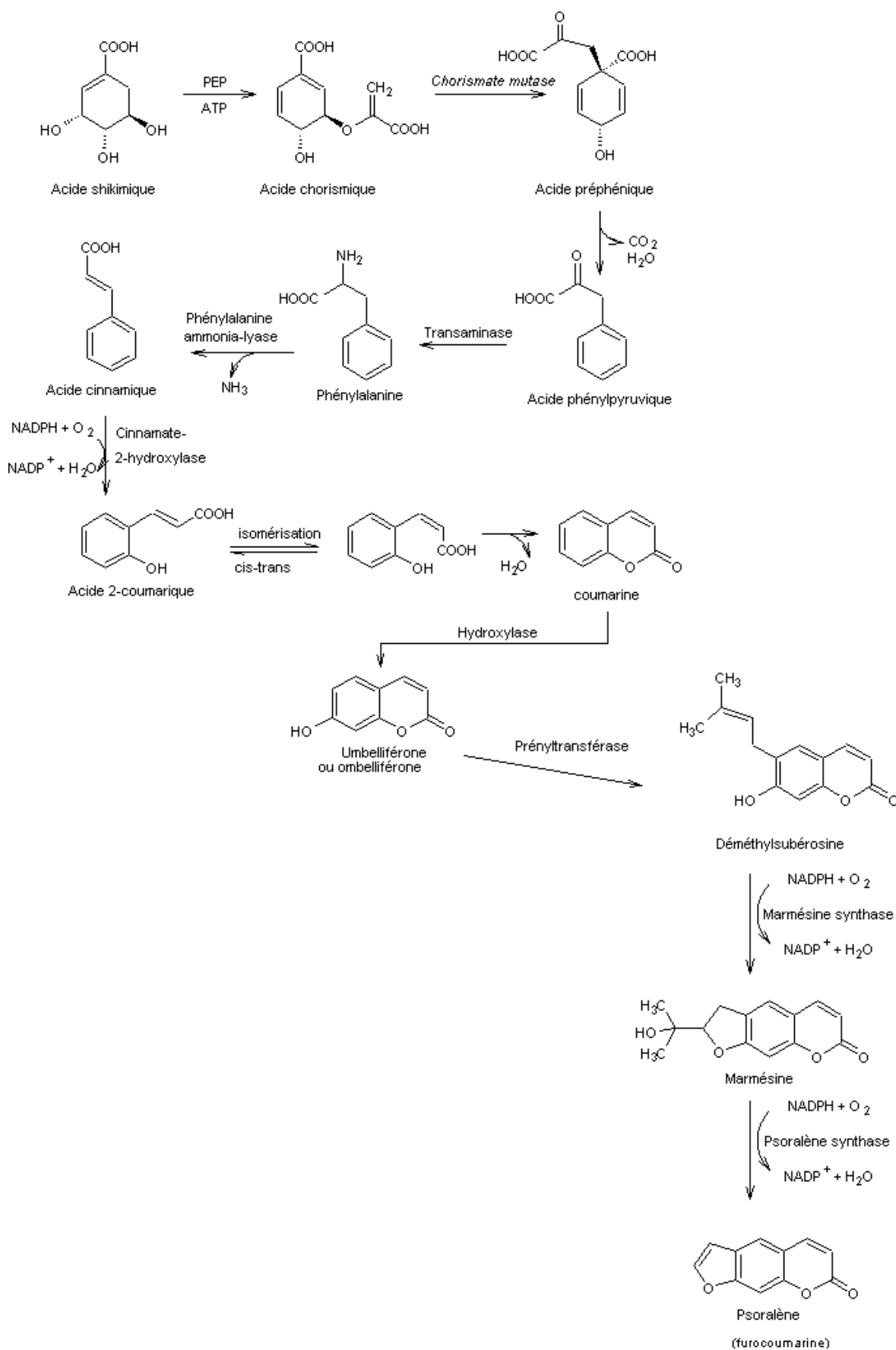
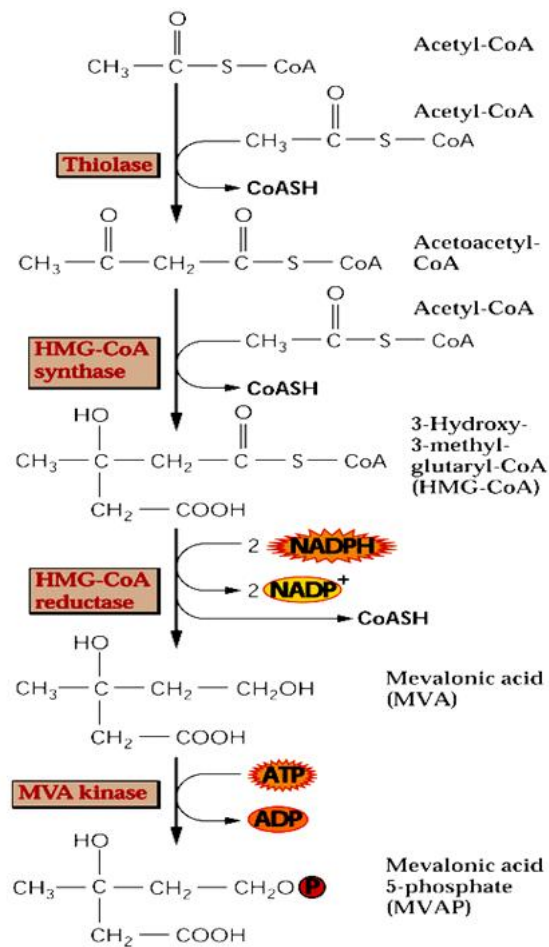


Figure n°03: Voie shikimate de biosynthèse des composés phénoliques (Saule, 2002).



**Figure n°04:** Voie polyacétate de biosynthèse des composés phénoliques (Saule, 2002).


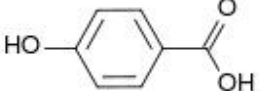
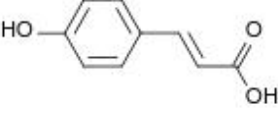
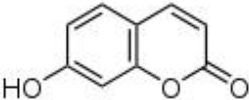
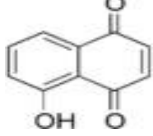
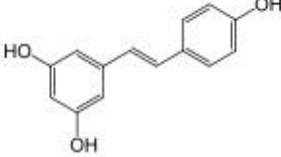
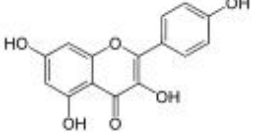
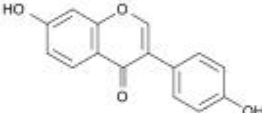
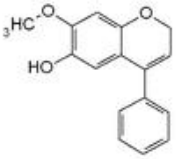
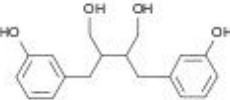
## II.2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants (Salunkhe, 1990). Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

Il existe différentes classes de polyphénols, les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.

En se basant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de composés phénoliques suivantes:

Tableau n° II: principales classes des composés phénoliques (Macheix *et al.*, 2005)

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	Phénols simples	hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	acide parahydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	acide p-coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Naphtoquinones	Juglon		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	Flavonoïdes <i>lato sensu</i>	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de soja
	anthocyanes	Dalphinol		<i>Dalbergia sissoo</i>
(C6-C3) <sub>2</sub>	Lignanes	Entérodiol		Flore intestinale

### II.2.1. Les acides phénols et les coumarines

Les acides phénoliques sont contenus dans un certains nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotova et al., 2005). Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone. Ils sont principalement représentés dans la variété des plantes par la présence de l'acide gallique, qui est généralement lié par une liaison ester à l'épicatéchine (Singleton et Timbreuse, 1978).

#### II.2.1.1. Les acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides protocatéchiques et galliques ont probablement une origine et des fonctions différentes dans la plante. Le premier est très largement répandu, le second est plus rare, on le rencontre dans la nature surtout sous forme de dimère (Ribereau, 1968).

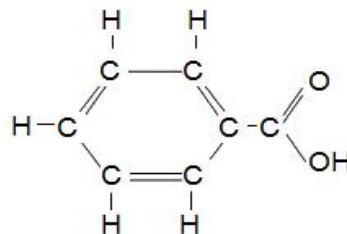


Figure n° 05: Structures de l'acide benzoïque (Ribereau, 1968).

#### II.2.1.2. Les acides cinnamiques

Les acides cinnamiques possèdent une structure du type C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide sinapique (figure n° 06) (Ribereau, 1968)

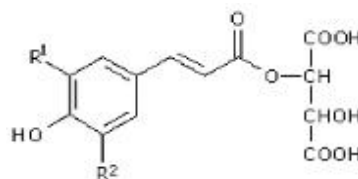


Figure n°06: Structures chimiques de dérivés de l'ester hydroxycinnamiques (Ribereau, 1968).

On rencontre au moins un de ces quatre acides dans pratiquement tous les végétaux supérieurs. Ces acides existent dans les tissus sous formes de différentes combinaisons (Ribereau, 1968).

### II.2.1.3. Les coumarines

On peut considérer que les différentes coumarines dérivent des acides cinnamiques ortho-hydroxylés, de même que la coumarine elle-même dérive de l'acide o-coumarique. Les coumarines les plus fréquentes sont l'umbelliférone ou ombelliférone, l'aesculétine, la scopolétine, dont les substitutions correspondent, respectivement, aux acides: p-coumarique, caféique et férulique. Signalons également la fraxétine et la daphnéline (voir figure N°07) (Dean, 1963).



Figure n°07: Structure chimique de quelques coumarines (Dean, 1963).

### II.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin *flavus*, jaune) sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux; on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guigniard, 1996).

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaïnes), même si leur présence est parfois masquée par leur présence sous forme "leuco", ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire (Gabor, 1988).

#### II.2.2.1. Structure

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C<sub>6</sub> (A et B), reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (figure n° 08) (Bruneton, 1999).

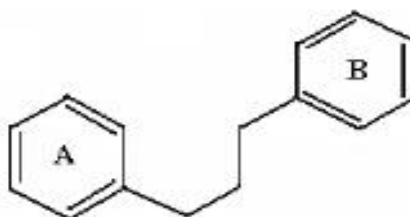


Figure n° 08: Squelette de base des flavonoïdes (Dean, 1963).



### II.2.2.2. Propriétés des flavonoïdes

Certains flavonoïdes, sont plus spécifiques de certains tissus, comme par exemple les anthocyanes sont plutôt localisés dans les parties externes des fruits, fleurs et feuilles. Les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs. Se sont des pigments naturels au même titre que les chlorophylles (couleur verte) et les caroténoïdes (nuance jaunes et orangées). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses (**Middleton et Kardasnam, 1993**).

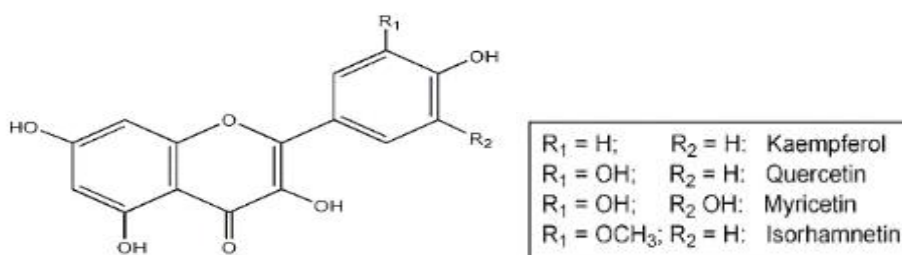
La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (**Medic et al., 2004**).

Parmi les nombreux pigments dérivants de cette structure, il convient de citer notamment:

#### III.2.2.3.1. Les flavonols

Les flavonols (hydroxy-3 flavone) sont largement répandus et incolores, ils sont caractérisés par la présence d'un carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs à la jaune primevère (**Guignard, 1996; Alais et Linden, 1997**).

Parmi les flavonols les plus répandus, on trouve le kaempférol (OH en 4', 5, 7), le quercétol (OH en 3', 4', 5, 7) ces deux flavonols sont incolores; le myricétol est l'isorhamétol (figure n° 09).



**Figure n°09:** Structures chimiques de quelques flavonols (**GNU, 2007**).

### II.2.2.3.2. Les flavanones

Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3, et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie, il faut classer les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certaines pamplemousses, citrons, orange: la naringine (naringénol lié à du glucose et du rhamnose), l'hespéridine. (Alais et Linden, 1997).

### II.2.2.3.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés (Guignard, 1996). Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange (Harborne, 1967; Brouillard, 1986).

Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. Si la coloration des fleurs et des fruits est leur rôle le plus connu, on trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle. (Harborne et Grayer, 1988; Merlin et al., 1985).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C<sub>3</sub>. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (figure n° 10). (Ribereau, 1968).

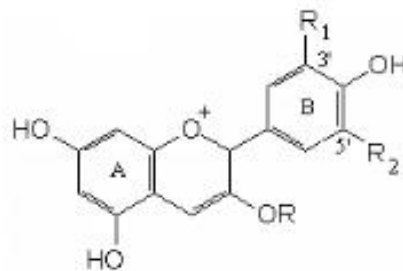


Figure n°10: Structure de quelques anthocyanidine (Ribereau, 1968).

### II.2.3. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**). Ils sont divisés en deux groupes:

- \*\*Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères).
- \*\*Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

#### II.2.3.1. Les tanins condensés (flavan-3-ols)

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (**Porter et al., 1986**). Ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués mais forment à l'ébullition des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouge de tanins (**Guignard, 1996**).

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (figure n° 11). (**Hemingway, 1992**).

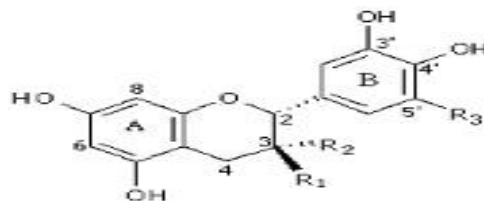


Figure n°11 : Structure chimique des tanins condensés (**Guignard, 1996**).

#### III.2.3.2. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides (**Ribereau, 1968**). Ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones; on le rencontre notamment chez les rosidae dans tous les organes: racines, tiges, feuilles ou fruits avant la maturité. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (**Guignard, 1996**).

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbonées à carbone entre noyaux (liaisons biphenyle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques. (**Guignard, 1996**).

### II.3. Intérêts des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont dotés de certaines activités (Tableau n° III):

**Tableau n° III:** Activités biologiques des composés phénoliques (**Frankel et al., 1995**).

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>	<b>Auteurs</b>
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	Antibactériens Antifongiques Antioxydants	( <b>Didry et al., 1982</b> ) ( <b>Ravn et al., 1984</b> ) ( <b>Hayase et Kato, 1984</b> )
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses	( <b>Mabry et Ulubelen, 1980</b> )
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants	( <b>Stavric et Matula, 1992</b> ) ( <b>Das et al., 1994</b> ) ( <b>Bidet et al., 1987</b> ) ( <b>Bruneton, 1993</b> ) ( <b>Aruoma et al., 1995</b> )
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	( <b>Bruneton, 1993</b> )
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	( <b>Masquelier et al., 1979</b> ) ( <b>Bahorun et al., 1996</b> ) ( <b>Oliveira et al., 1972</b> ) ( <b>Brownlee et al., 1992</b> ) ( <b>Kreofsky et al., 1992</b> )
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants	( <b>Okuda et al., 1983</b> )

## II.2. Les huiles essentielles

### II.2.1. Définition

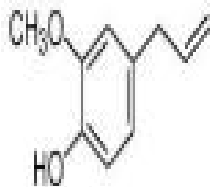
Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (**Bruneton, 2009**). Les végétaux riches en essences se trouvent surtout chez les Conifères, Myrtacées, Labiées, Ombellifères, Rutacées et dans les différents organes de la plante (**Mautrait et Raoult, 2009**).

### II.2.2. Composition chimique

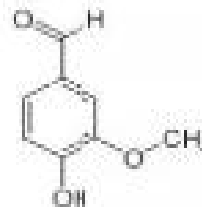
De nombreux travaux scientifiques ont contribué à mettre en évidence la composition chimique des huiles essentielles. En générale chacune comporte un nombre important de composants (jusqu'à une centaine), tous ne sont pas encore identifiés malgré les progrès de la chimie analytique au cours des dernières années (**Roquebert, 2002**). On trouve généralement de nombreux constituants dans une huile essentielle appartenant principalement à deux grands groupes chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phényl-propane (C6-C3).

#### II.2.2.1. Composés aromatiques dérivés de phénylpropane

Ils sont moins répandus que les précédents ; ce sont souvent des allylphenols, quelques fois des aldéhydes tel que l'Eugénol. La Vanilline est assez fréquente parmi les composés aromatiques. (**Ribereau, 1968**). (Figure n° 12).



**Eugénol**



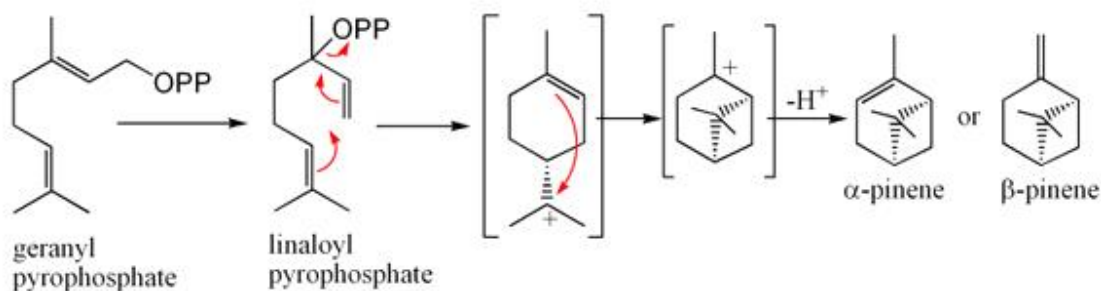
**Vanilline**

**Figure n° 12** : Structures des composés aromatiques dérivés de phenyl propane (C6-C3) (**Ribereau, 1968**).

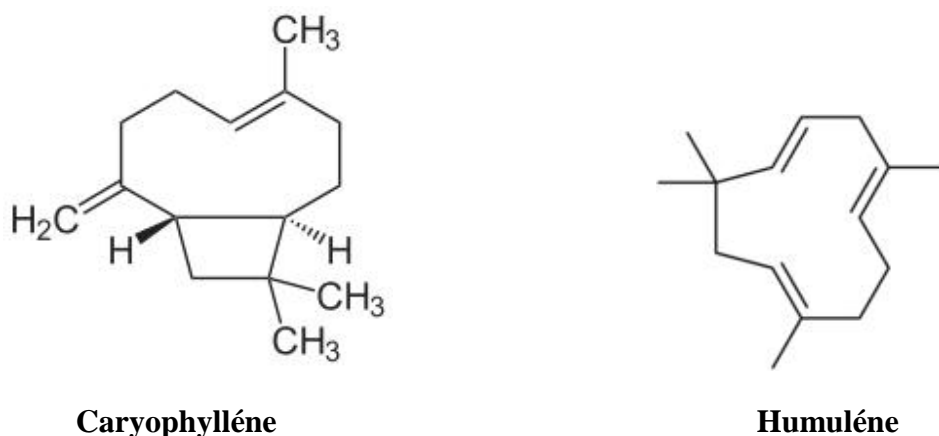
### II.2.2.2. Composés terpéniques

On trouve surtout des monoterpènes (C10) et des sesquiterpènes (C 15) (les carbures peuvent être acycliques, monocycliques ou bi cycliques et porteurs de groupements fonctionnels variés (Alcools, Cétones et Esters) (**Ribereau, 1968**). (Figure n°13)

**A**



**B**



**Figure n° 13 :** Structures des Composés terpéniques (A : monoterpènes, B : sesquiterpènes) (**Bruneton, 1999**).

## II.3. Métabolites secondaires de *Juniperus phoenicea*

### II.3.1. Composition des huiles essentielles

Divers études ont été portées sur la composition chimique des huiles essentielles des feuilles et des baies de *Juniperus phoenicea* : en Portugal (**Cavaleiro et al., 2001**), aux Iles de Canaries et Madère (**Adams et al., 2009**), en Egypte (**El-Sawi et al., 2007**), au Maroc (**Derwich et al., 2011**), en Tunisie (**Bouzouita et al., 2008.**), En Algérie (**Dob et al., 2008 ; Bouzabata et Hadeb, 2009 ; Mazari et al., 2010**).

Les rendements en huiles essentielles obtenus par l'hydrodistillation évalués par les auteurs dans différentes régions du monde sont rapportés dans le tableau n° IV

**Tableau n° IV:** Rendements en huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* dans différents pays.

Pays	Rendement	Auteurs
Portugal	0,41%	(Cavaleiro et al., 2001 ; Adams et al., 1996)
Espagne	0,66%	
Grèce	0,58%	
Egypte	0,36 %	(El-Sawi et al., 2007)
Maroc	1,62 %	(Derwich et al., 2011)
Tunisie	0,5 %	(Bouzouita et al., 2008)
Algérie (Djelfa)	0,8 %	(Dob et al., 2008)
Algérie (Souk Ahras)	1,27%	(Bouzabata et Hadeif, 2009)
Algérie (Batna)	1,11%	
Algérie (Tlemcen)	NM	( Mazari et al., 2010)

NM : Non Mentionné

#### II.4. L'activité antioxydant des polyphénols

L'activité des composés phytochimiques attire notre attention du fait leur rôle potentiel dans la prévention des maladies humaines. Les composés phénoliques sont considérés comme étant le groupe majeur de métabolites secondaires, qui contribue à l'activité antioxydante des plantes. (Rolland, 2004).

En fait, les polyphénols, les flavonoïdes particulièrement, qui sont largement distribués dans le règne végétal et sont présents en des quantités considérables de fruits, des légumes, des épices, des herbes médicinales, et des boissons, ont été utilisés pour éviter de nombreuses maladies humaines telles que le diabète, des cancers et maladies coronariennes (**Broadhurst et al., 2000**). En outre, les flavonoïdes ont été montré pour présenter antioxydantes, antivirales, antibactériennes et activités antitoxiques (**Middleton et Kandaswami, 1993**). Les activités biologiques de ces polyphénols dans les différents systèmes sont censés être en raison de leurs propriétés redox, qui peuvent jouer un rôle important dans l'absorption et la neutralisation des radicaux libres, trempes singlet et triplet oxygènes, ou décomposition des peroxydes (**Oswa, 1994**).

#### **II.4.1. Définition de l'oxydation**

Sur le plan chimique l'oxydation est générée par des radicaux libres; espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état stable, très rapide et se propage en cascade. Ils ciblent tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires mais aussi les protéines. Dans le cas des enzymes, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule ce qui provoque des désorganisations cellulaires par fois irréversibles entraînant la mort cellulaire. Il en est de même quand l'oxydation touche l'ADN (**Rolland, 2004**).

#### **II.4.2. Mécanisme de l'oxydation**

On décrit l'oxydation en trois phases distinctes, mais pratiquement simultanées:

- L'initiation : Formation d'hydroperoxydes, initiée par la chaleur et l'UV ou les ions métalliques et aboutit à la formation des espèces très réactives : ROOH et R\*.
- Propagation : Destruction des hydroperoxydes et apparition des composés responsables des goûts et odeur de rance par rupture des liaisons O-O.
- Terminaison : Apparition de nouvelles espèces moléculaires anarchiques (formation des polymères ou au contact avec un autre radical), les molécules créées n'ont plus de fonctions biologiques.

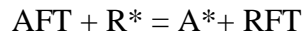
Les espèces radicalaires produites par les premières réactions sont hautement réactives et vont à leur tour arracher un hydrogène à une autre molécule (**Rolland, 2004**).



### II.4.3 Les antioxydants

Ce sont des molécules qui fixent les radicaux libres et protègent les protéines essentielles et qui diminuent ou empêchent l'oxydation d'autres substances chimiques **(Weber, 2009)**. Il existe deux types d'anti oxydants :

Les antioxydants primaires ou vrais : Ils permettent l'interruption de la chaîne auto catalytique



La molécule AFT est antioxydante, si le radical A\* peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires  $A^* + A^{\circ} = A-A$  ou  $A^* + R^{\circ} = AR$ .

Les antioxydants secondaires ou préventifs; qui assurent l'inhibition des la production des radicaux libres. Ce sont des substances décomposant les hyperoxydes en alcool, des thiols (glutathion, acide aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, des chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et la lécithine) ou en fin des séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique. **(Rolland, 2004)**.

Lorsque les mécanismes de défense sont insuffisants et/ou lorsque un excès est gêner et/ou l'apport d'antioxydants est réduits suite à une alimentation déséquilibrée, le stress oxydatif peut induire des dégâts cellulaires, des troubles métaboliques et générer une réaction inflammatoire.une prédisposition génétique également être la cause d'une capacité de décence anti oxydative diminuée. **(Weber, 2009)**.

Le stresse oxydatif est donc le résultat d'un équilibre entre la balance des pro-oxydants et les systèmes de défense (antioxydants) **(Weber, 2009)**.

### II.4.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Toutes les méthodes de mesure du pouvoir antioxydant d'un principe actif reposent sur le même principe également provoquer une oxydation sur une matrice sensible, et mesurer le ralentissement de dégradation de la matrice protégée par l'antioxydant par rapport à un témoin sans protection. **(Rolland, 2004)**

### II.4.5. Mesure au DPPH

Le DPPH (1,1 Diphényl 2 Picryl Hydrazil) est un radical libre stable de couleur violette intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) (**Rolland, 2004**). En particulier l'utilisation du paramètre CE50 (Concentration efficace de substrat pour produire 50% de réduction du DPPH) (**Rolland, 2004**), elle se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, à 515nm-517nm, due à une recombinaison des radicaux DPPH.

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangé avec une substance qui peut donner un hydrogène, alors cette réaction donne lieu à la forme réduite avec perte de la couleur violette (avec une couleur jaune pale résiduelle du groupement picryl encore présent).

Représentons le radical DPPH par Z\*, et le donateur de proton par AH.

La réaction primaire est :



Où : ZH est la forme réduite du DPPH.

A\* est le radical produit par cette première étape.

Ce dernier subira d'avantages de réactions et réagira avec une autre molécule de la même espèce, produite par une réaction parallèle avec inhibition du radical. Ainsi le DPPH visa à représenter un radical libre dont l'activité doit être supprimée par la substance antioxydante (polyphénol).



a: Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre) b: Diphenyl picryl hydrazine (non radicalaire)

**Figure n° 14:** Structure du DPPH (**Rolland, 2004**).

### III. Matériel et méthodes

#### III.1. Présentation de la région d'étude

Notre étude est réalisée au niveau du Parc National de Gouraya (PNG) à Bejaia.



**Figure n° 15 :** Situation géographique du Parc National de Gouraya (**Rebbas, 2002**).

(Coordonnées géographiques : N 36°50'-36°45' et E 04°44'-05°10').

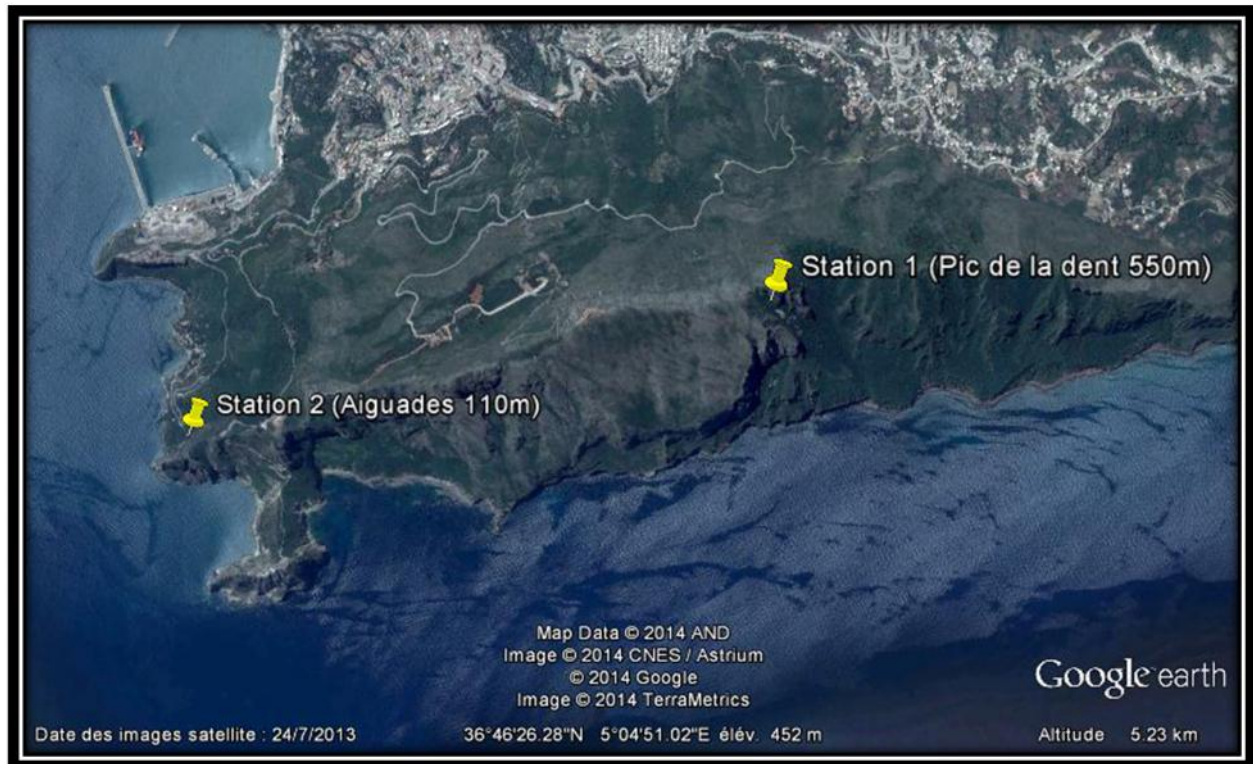
Le PNG part du bord de la mer et il s'étend sur toute l'arête rocheuse du Djebel Gouraya dont le point culminant marqué par le Fort de Gouraya est à 672 m d'altitude. Le sol au niveau du PNG est constituée de calcaire liasique, grès et argiles de Numidie, de calcaire plus ou moins dolomitisés, conglomérats, marnes gréseuses (**Rebbas, 2002**).

Selon la carte pluviométrique de l'Algérie du Nord (**ANRH, 1993**), la zone du parc reçoit entre 700 et 800 mm de pluie par année. La moyenne des températures minimales du mois le plus froid (m) est de 7,5°C et celle des températures maximales du mois le plus chaud (M) s'élève à 29,7°C. Selon le système d'Emberger (**Emberger, 1955**), le PNG se situe dans un étage bioclimatique sub-humide (**Office National Météorologique Algérien, 2005**).

#### III.2. Échantillonnage :

L'échantillonnage a été réalisé au niveau du parc national de Gouraya (pic de la dent et les Aiguades) durant le mois de février 2014 et Mars 2014 respectivement. Suivant un échantillonnage aléatoire. Dans ces deux stations des rameaux de cinq individus ont été prélevés au hasard.

Les échantillons ont été transportés dans des sacs en plastique étiquetés.



**Figure n° 16 :** Image satellitaire de la localisation des deux stations d'étude (Google earth).

### III.3. Matériel végétal

Notre étude a porté uniquement sur les parties aériennes (rameaux et cônes).



**A**

**B**

**Figure n° 17:** Photo des rameaux de *Juniperus phoenicea*.

A : Rameaux de la station de Pic de la dent

B : Rameaux de la station des Aiguades

### III.3.1. Séchage, broyage et tamisage

Les échantillons sont mis à sécher à l'air libre pendant 25 jours, à l'abri de la lumière, dans un endroit bien aéré.

Le matériel végétal séché est divisé en deux parties, la partie consacrée pour l'extraction des polyphénols est passée dans un broyeur électrique, le broyat est tamisé à l'aide d'un tamis de 250 $\mu$ m de diamètre, la poudre obtenue est conservée dans un flacon opaque. Le reste est découpé en petits morceaux pour l'extraction des huiles essentielles.

## III.4. Méthodes

### III.4.1. Etude morphologique

Les individus provenant des deux stations d'étude sont soumis à l'analyse morphologique qui a porté sur les cônes femelles et les graines qu'ils contiennent.

La longueur, la largeur des cônes et des graines ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse, et le poids des cônes et des graines est estimé à l'aide d'une balance de précision. Afin d'avoir une moyenne représentative, cinq répétitions (cinq mesures) ont été effectuées pour chaque échantillon.

### III.4.2. Etude biochimique

Nous avons analysé la teneur en composés phénoliques ainsi que le rendement des huiles essentielles de 10 individus de *Juniperus phoenicea* à raison cinq individus par station.

#### III.4.2.1. Extraction des polyphénols

La méthode d'extraction utilisée dans ce travail est celle d'Oomah (2010), qui consiste à dissoudre 0,8 g du broyat végétal (feuillage et cônes) dans 32 ml d'éthanol à 96%. Le mélange est agité pendant deux heures à température ambiante suivi d'une centrifugation pendant 10 mn à 5000 tours/mn. Le surnageant est récupéré dans des tubes à essai puis conservé au frais.

### III.4.2.2. Dosage des polyphénols

#### III.4.2.2.1. Dosage des phénols totaux

##### III.4.2.2.1.1. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et molybdène (MO<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux **(Boizot et Charpentier, 2006)**.

##### III.4.2.2.1.2. Protocole

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **(Skerget et al., 2005)** selon le protocole suivant:

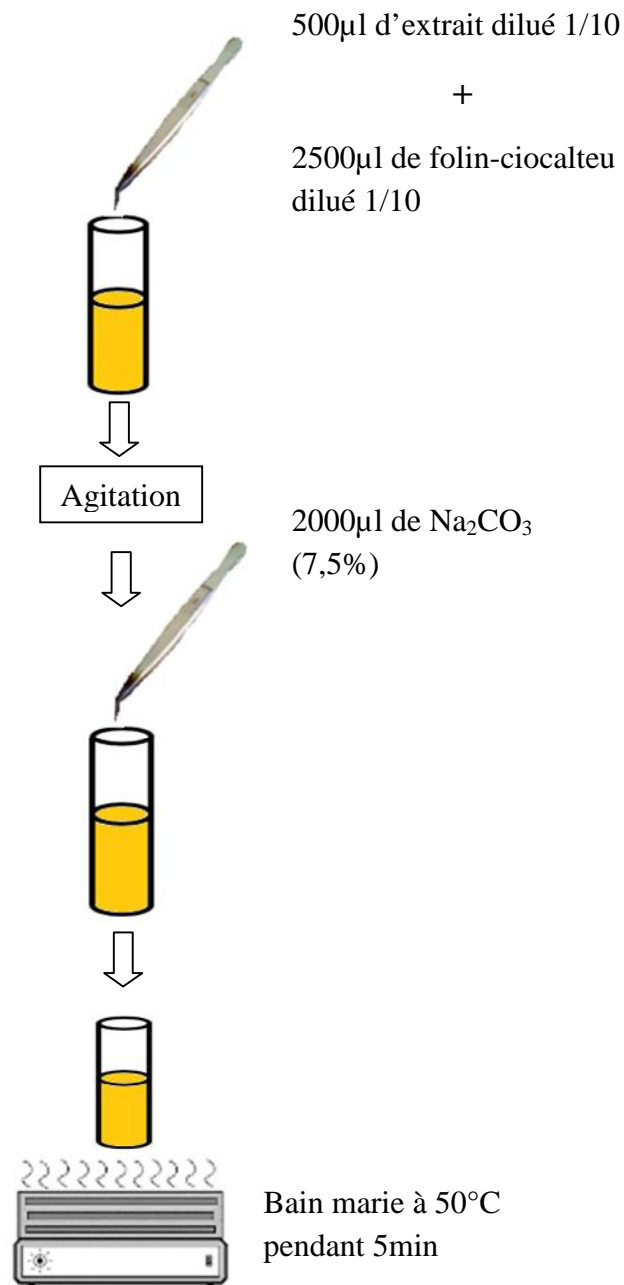
Dans des tubes à essais, on mélange 500µl de l'extrait dilué avec 2500 µl de folin-ciocalteu dilué (1/10). Après agitation, le mélange est incubé pendant 3mn à température ambiante, ensuite, on ajoute 2000 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%).

Les tubes sont ensuite passés dans un bain marie à 50°C pendant 5mn. Une fois refroidis, l'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 760 nm.

Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 500µl d'éthanol.

##### III.4.2.2.1.3. Expression des résultats

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-Ciocalteu **(Maisuthisakul et al., 2008)**. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, cette dernière est établie avec le standard étalon d'acide gallique (0,01-0,1 mg/ml), les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g).



L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 760nm

NB : le témoin a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol

**Figure n° 18:** Protocole expérimentale de dosage des phénols totaux

### III.4.2.2.2. Dosage des flavonoïdes

#### III.4.2.2.2.1. Principe

La formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions  $Al^{3+}$  sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La quantité des flavonoïdes dans un extrait devrait être déterminée selon le flavonoïde prédominant, cependant la quercétine est largement utilisée comme standard pour la détermination de la teneur des flavonoïdes dans un échantillon (**Bahorun et al., 1996**).

#### III.4.2.2.2.2. Protocole

La méthode de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) cité par (**Quettier-Deleu et al., 2000 ; Chang et al., 2002 et Djeridane et al., 2006**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. Le protocole de dosage est le suivant:

Dans des tubes à essai, on mélange 1000 $\mu$ l d'extrait dilué avec 1000  $\mu$ l de solution d' $AlCl_3$  (2%).

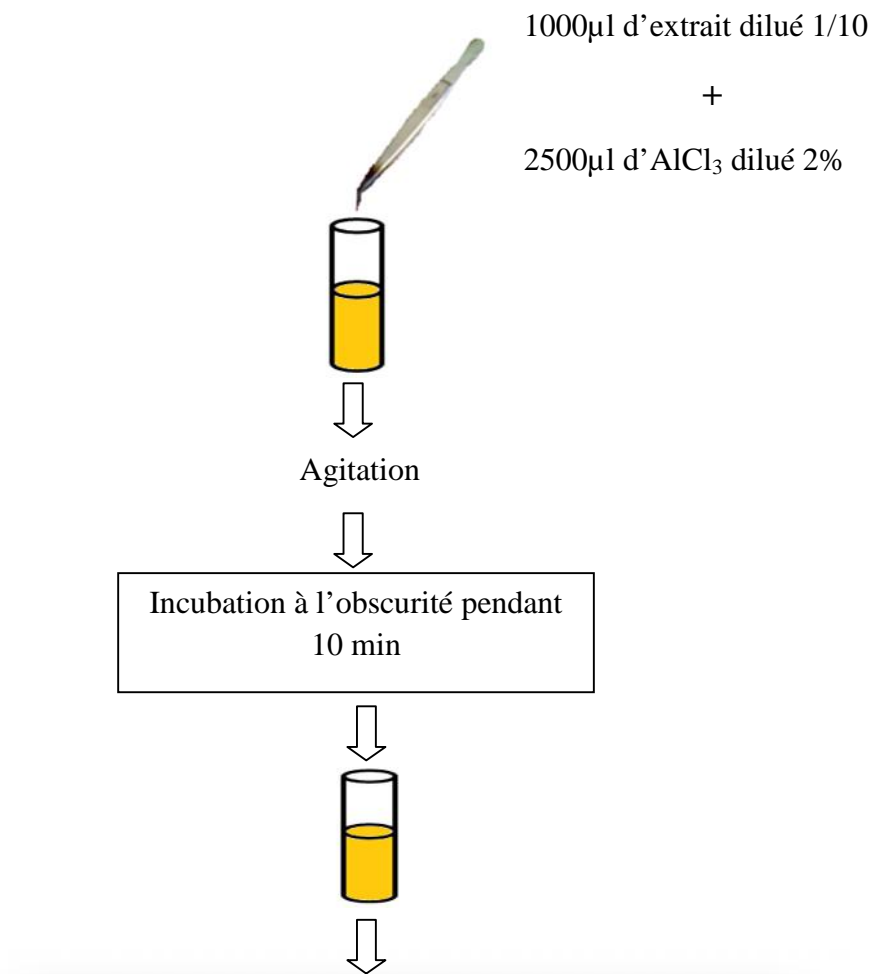
Après 10 mn d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, la lecture des absorbance est faite à 430 nm.

Le témoin est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par 1000  $\mu$ l d'éthanol.

#### III.4.2.2.2.3. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la Quercétine à différentes concentrations (0,001-0,01mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g).





L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 430 nm

NB : le témoin a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol

**Figure N°19:** Protocole expérimentale de dosage des flavonoïdes.

### III.4.2.2.3. Dosage des tanins condensés

#### III.4.2.2.3.1. Principe

Les tanins sont des polymères caractérisés par la présence d'un nombre suffisant de groupe hydroxyphénoliques permettant des combinaisons plus stables avec les protéines et alcaloïdes. Ces composés sont généralement amorphes, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Quettier-Deleu *et al.*, 2000).

#### III.4.2.2.3.2. Protocole

La méthode de n- butanol est utilisée pour le dosage des tanins condensés (Quettier-Deleu *et al.*, 2000 ; Dohou *et al.*, 2004; Skerget *et al.*, 2005), selon les étapes suivantes:

On mélange 3000 µl de n-butanol avec 500 µl d'extrait dilué, le mélange est agité pendant une minute, puis on ajoute 100 µl de 2 % de la solution  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  préparée dans du HCl 2N. Après agitation, l'ensemble est mis au bain marie à 90°C pendant 20 min.

Les absorbances sont lues à 550 nm.

Le témoin est préparé de la même façon en remplaçant l'extrait par 500 µl d'éthanol

#### III.4.2.2.3.3. Expression des résultats

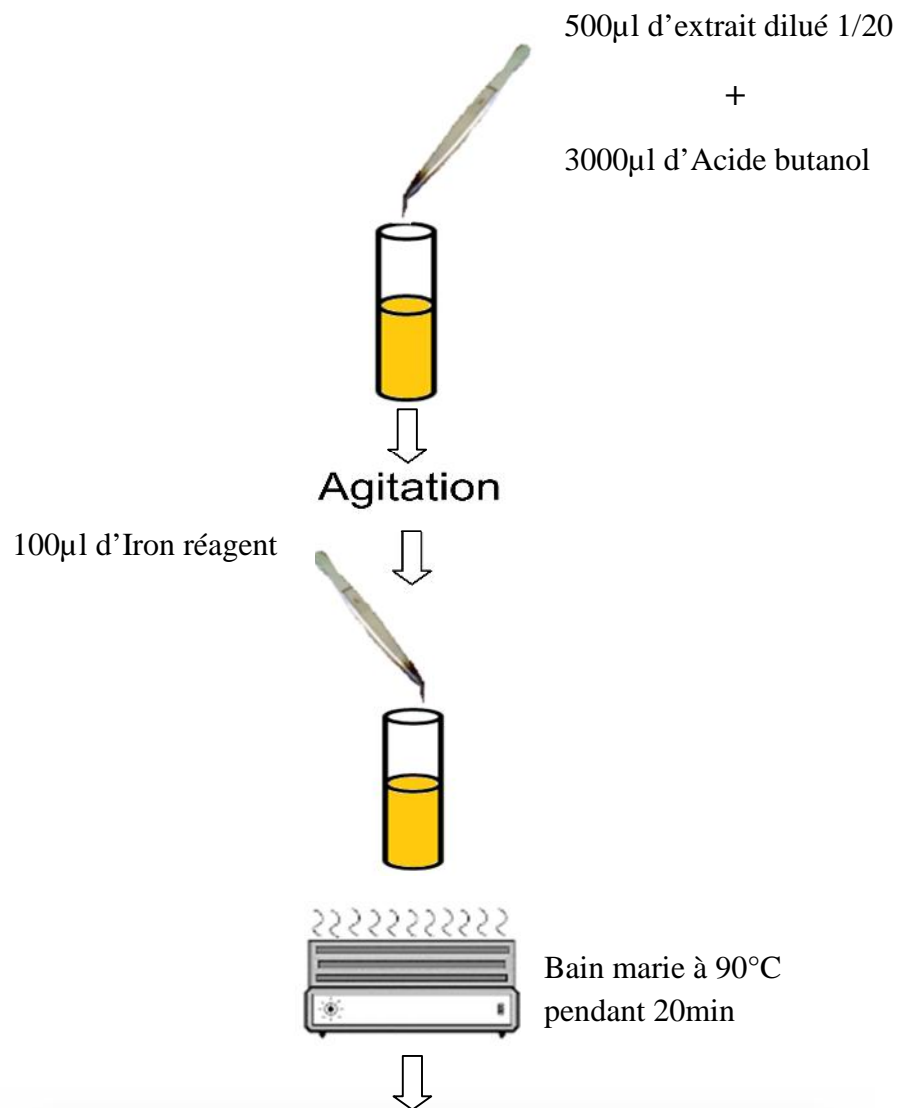
Selon Vermerris et Nicholson (2006), la concentration de proanthocyanidines est exprimée en équivalent de la cyanidine. Le coefficient d'extinction molaire « » qui est utilisé pour convertir les valeurs d'absorption en concentrations est égal à 34700 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

La loi de Beer-lambert:  $A = \epsilon \cdot l \cdot c$  est employée pour déterminer les concentrations en tanins condensés

Avec:

$$\frac{c}{C} = \frac{A \cdot M_n}{\epsilon \cdot l} \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)$$

- **C**: la concentration de proanthocyanidines en mg/ml ;
- **ε**: coefficient d'extinction molaire de la cyanidine en L mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>;
- **M<sub>n</sub>** : masse molaire de la cyanidine (égale à 287,24g/mol) ;
- **l**: largeur de la cuve en cm (égale à 1 cm).
- **A**: l'absorbance de l'échantillon.



L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre à 550nm

NB : le témoin a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par l'éthanol

**Figure N° 20:** Protocole expérimentale de dosage des tanins.

### III.4.2.3. Activités antioxydantes

#### III.4.2.3.1. pouvoir réducteur

Dans cet essai, la couleur jaune de la solution vire au vert ou au bleu par la conversion du complexe  $\text{Fe}^{3+}$ /ferricyanure au fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$  (Deore *et al.*, 2008), cela dépend de la présence de réducteurs qui exposent un pouvoir antioxydant (Senevirathne *et al.*, 2006). Le pouvoir réducteur est étudié en utilisant la méthode décrite par (Zubia *et al.*, 2007)

1ml d'extrait est mélangé avec 2,5 ml du tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) à 1%. Le mélange est incubé dans un bain marie pendant 20min à 50°C. 2,5 ml de cette solution sont mélangés avec 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10%, puis centrifugés pendant 10 min. dans un tube à essais, une fraction de 2,5 ml à partir du surnageant est mélangée avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) à 0,1%. L'absorbance du mélange ainsi obtenu est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à température ambiante.

L'acide ascorbique est utilisé pour la préparation de la courbe standard pour quantifier l'activité réductrice (annexe III)

Le pouvoir réducteur des extraits éthanoliques est exprimé en équivalent mg d'acide ascorbique par 100g d'échantillon.

#### III.4.2.3.2. Test de DPPH

L'effet scavenger des extraits éthanoliques de *Juniperus phoenicea* vis-à-vis du radical DPPH est évalué selon la méthode décrite par (Shon *et al.*, 2003). Un volume de 1900µl de la solution de DPPH (0.24mM) est mélangé avec 100 µl des solutions d'extraits. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage de l'activité anti-radicalaire est calculé selon l'équation suivante :

$$(\mathbf{I\%}) = \left( \frac{\mathbf{A_b - A_E}}{\mathbf{A_b}} \right) \times \mathbf{100}$$

Avec

$\mathbf{A_b}$  : Absorbance du témoin

$\mathbf{A_E}$  : Absorbance de l'échantillon

**III.4.2.2. Extraction de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea***

L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* est extraite par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger, l'extraction a duré 3h30'. Dans un ballon, une quantité de 200 g d'un mélange des rameaux et des cônes secs est macérée avec de 700 ml l'eau distillée pendant 24 heures. Le ballon est porté à ébullition, les vapeurs d'eau contenant des gouttelettes d'huile sont condensées dans un réfrigérant puis récupérés dans une ampoule à décantation, après une nuit de décantation, les huiles se séparent de l'eau par différence de densité. (Fig.21).

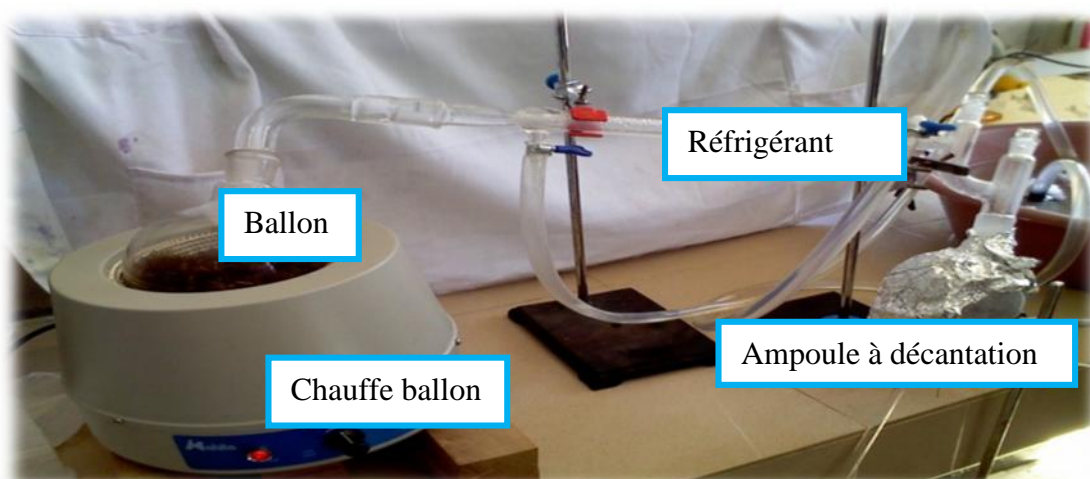
Calcul du rendement : le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse de matière végétale à traiter (**Belyagoubi ,2006**)

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_S) . 100$$

**R** : Rendement en extrait fixe en g/100g

**MHE** : Quantité d'extrait récupéré en g

**Ms** : Quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.



**Figure N°21:** Photographie de l'appareil utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles (Photo originale).

## IV. Résultats et discussion

### IV.1. Résultats de l'analyse des paramètres morphologique

Nous avons étudié la variabilité morphologique à l'intérieur de différents échantillons de l'espèce *Juniperus phoenicea*. Nous nous sommes inspirés de méthodologie de (Gaugelin et al., 1988) en utilisant les caractères morphométrique comme la taille des cônes et le nombre de graines par cône. Pour notre étude, nous avons choisi de mesurer :

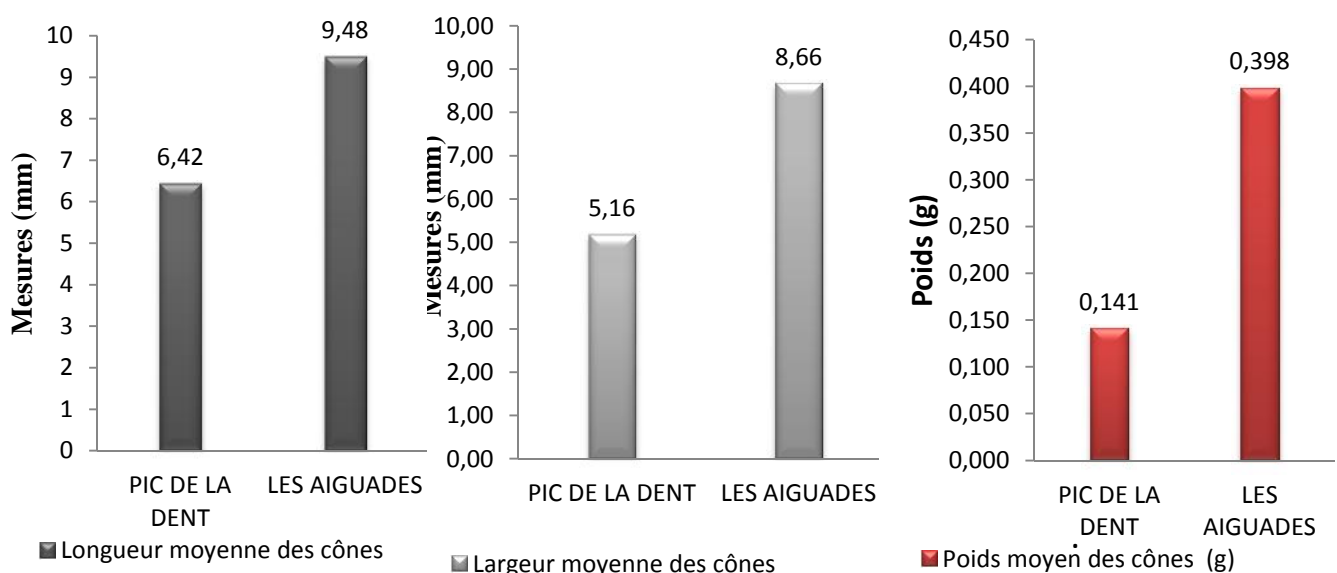
- Le poids et les diamètres des cônes.
- Le poids et Les diamètres des graines.
- Le nombre de graines par cône.

Les résultats des ces mesures sont consignés dans les figures n°23 et 24.

#### IV.1.1. Variabilité morphologique des baies (cônes femelles)

Nous avons pris cinq baies de chaque échantillon, et nous avons mesurés leur poids et comme les baies ne sont pas complètement sphériques, elles sont plutôt ovoïdes, donc elles présentent deux diamètres que nous avons mesurés.

Les moyennes calculées pour la longueur, la largeur et le poids des 50 cônes sont rapportées dans la figure suivante :



**Figure n° 22 :** Longueur, largeur et poids des cônes de *Juniperus phoenicea* de deux stations analysées

La figure 22 montre que les cônes des individus de *Juniperus phoenicea* de la station des Aiguades présentent, en moyenne, une longueur de 9,48 mm, une largeur de 8,66 mm et un poids de 0,398 mg. Ces valeurs sont relativement plus élevées à celles trouvées pour la station de Pic de la dent qui présente respectivement les valeurs de 6,42 mm, 5,16 mm et de 0,141 mg.

Les résultats obtenus pour le poids des cônes étudiés sont plus élevé au niveau des échantillons de la station des Aiguades par rapport aux poids des cônes de la station de pic de la dent.

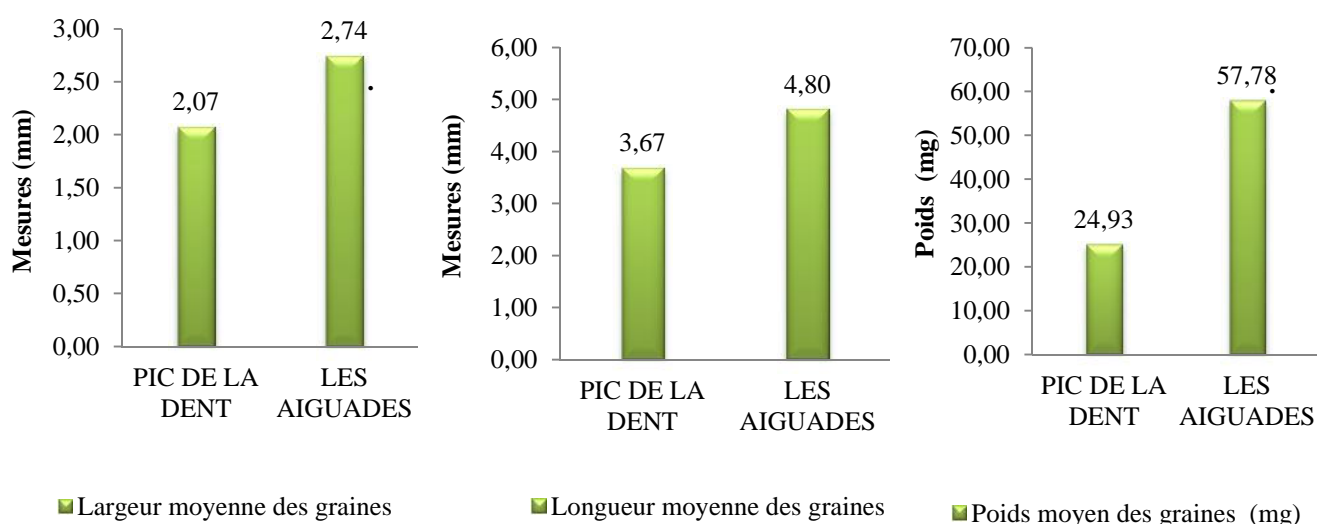
Les différences observées entre les échantillons des deux stations peuvent être expliquées par l'effet de l'altitude. En effet, la diminution généralement observée en taille des cônes pourrait être causée par les faibles températures en haute altitude qui freinerait l'extension cellulaire (**Friend et al., 1989; Kao and Chang, 2001; Meinzer et al., 1985**).

Les valeurs trouvées pour la longueur et la largeur des cônes analysés pour la station des Aiguades concordent avec celle des cônes de *Juniperus phoenicea* de l'Espagne analysés par (**Mazur et al., 2003**) qui montrent une longueur de 9,04 mm et une largeur de 9,29 mm. Cependant, nos valeurs trouvées dans la station de pic de la dent sont relativement inférieures aux résultats précédents.

Cette différence pourrait être expliquée par la période d'étude, les auteurs ont mesuré les cônes de leur étude en mois de Septembre. Selon (**Adams, 2011**), les cônes de genévrier de Phénicie atteignent leur maturité en mois de Septembre et Octobre. Les cônes matures sont plus longs et plus larges par rapport aux cônes immatures.

#### **IV.1.2. Variabilité morphologique des graines**

Après dessiccation des cônes, nous avons trouvés que les nombres de graines varient de 2 à 8 graines par cône, et nous avons mesurés leur poids et les deux diamètres (longueur et la largeur), Les moyennes calculées sont rapportées dans la figure 23.



**Figure n°23 :** Longueur , largeur et poids des graines de *Juniperus phoenicea* de deux stations analysées

La figure 23 montre que les graines des individus de *Juniperus phoenicea* de la station des Aiguades sont les plus longues (4,80 mm), les plus larges (2,74 mm) par rapport à celles des individus de la station de Pic de la dent. Nos résultats pour la longueur des graines sont proches de ceux rapportés par (Mazur et al, 2003) pour *Juniperus phoenicea* dont la longueur varie de 4 à 5 mm. En ce qui concerne le poids des graines, la même figure indique que les individus de la station des Aiguades ont des graines avec un poids plus important (57,78 mg) par rapport à celui des graines des individus échantillonnés au niveau de la station de Pic de la dent (24,93mg).

L'analyse de la variance réalisée pour les paramètres morphologiques indique que les stations du Pic de la dent et des Aiguades présentent une différence significative au niveau des paramètres mesurés (Tableau n° V).

**Tableau n°V :** Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres morphologiques.

Paramètres	P
Longueur moyenne des cônes	0.00002***
Largeur moyenne des cônes	0.00052***
Poids moyen des cônes	0.00009***
Longueur moyenne des graines	0.0012***
Largeur moyenne des graines	0.0038***
Poids moyen des graines	0.0004***

Les valeurs représentent la moyenne de 5 répétitions  $\pm$  Ecart type; (\*): différence significative; (\*\*):différence hautement significative ;(\*\*\*) différence très hautement significative.



## IV.2. Résultats de l'analyse des paramètres biochimiques

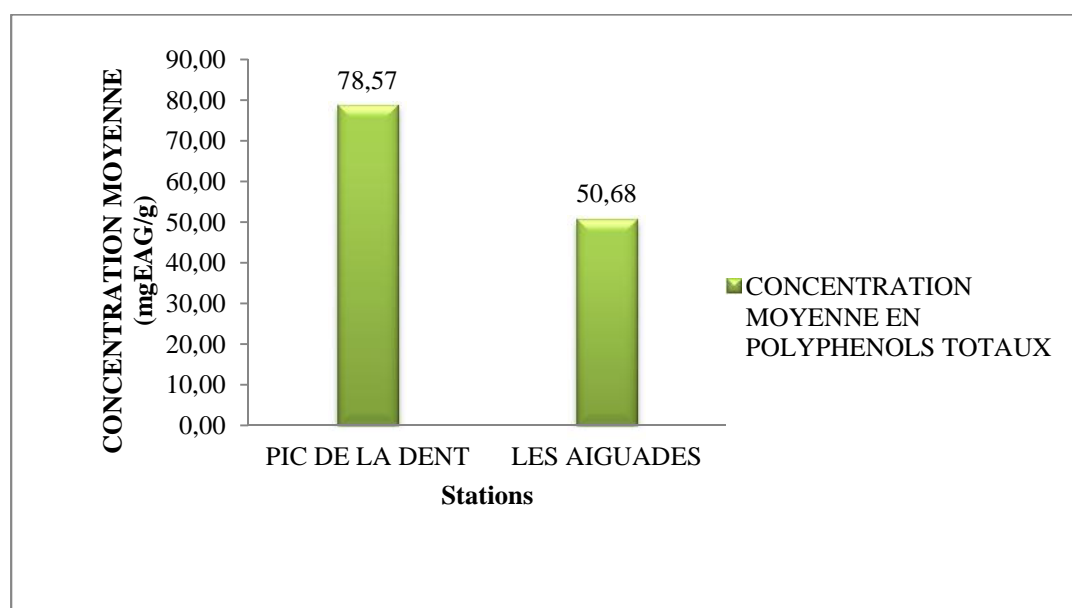
### IV.2. 1. Dosage des composés phénoliques

#### IV.2. 1.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique au Folin-ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus ancienne conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et des aliments (Abdel-Hameed,2009).L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans la méthode au Folin-ciocalteu (Maisuthisakulet al.,2008).

Les résultats des analyses quantitatives des extraits de nos échantillons du *juniperus phoenicea* sont reportés dans la (figure 24).

Nos résultats sont exprimés en g équivalent d'acide gallique par g de matière sèche, la courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,933$  (annexe III).



**Figure n°24 :** Teneurs en polyphénols totaux des échantillons de *Juniperus phoenicea* prélevés dans les deux stations d'étude.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux présentés dans la figure 24 indiquent que la concentration moyenne (78,57 mg EAG/g) enregistrée au niveau des extraits éthanoliques des rameux de *Juniperus phoenicea* de la station de Pic de la dent est plus élevée que celle de station des Aiguades avec une concentration moyenne (50,68 mg EAG/g).

La teneur la plus élevée en polyphénols observée au niveau des échantillons de la station de Pic de la dent par rapport aux extraits de la station des Aiguades s'expliquerait par l'effet d'altitude qui influence sur la concentration en polyphénols.

De plus, on peut déduire que le genévrier synthétise ces molécules en grandes quantité dans les grandes altitudes pour s'adapter aux conditions du milieu, ces molécules actives interviennent dans le cas du stress et améliorent l'efficacité de reproduction de la plante

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés dans l'étude de **(Hayouni et al., 2007)** qui ont analysé la teneur en composés phénoliques des feuilles et des cônes du genévrier de Phénicie provenant de Tunisie, indique que les teneurs obtenues dans les extraits des individus de la station de Pic de la dent (78,57 mg EAG /g) et celle obtenus de la station des Aiguade (50,68 mg EAG /g) sont inférieurs de ceux obtenus par les auteurs dans les extraits des feuilles et des cônes (89,60 et 66,1mg EAG /g)

D'après les études qui ont été faites par **(Hayouni et al., 2007)**, La différence en teneur peut être expliquée par la nature du solvant d'extractions utilisées et la région ainsi que la période d'échantillonnage.

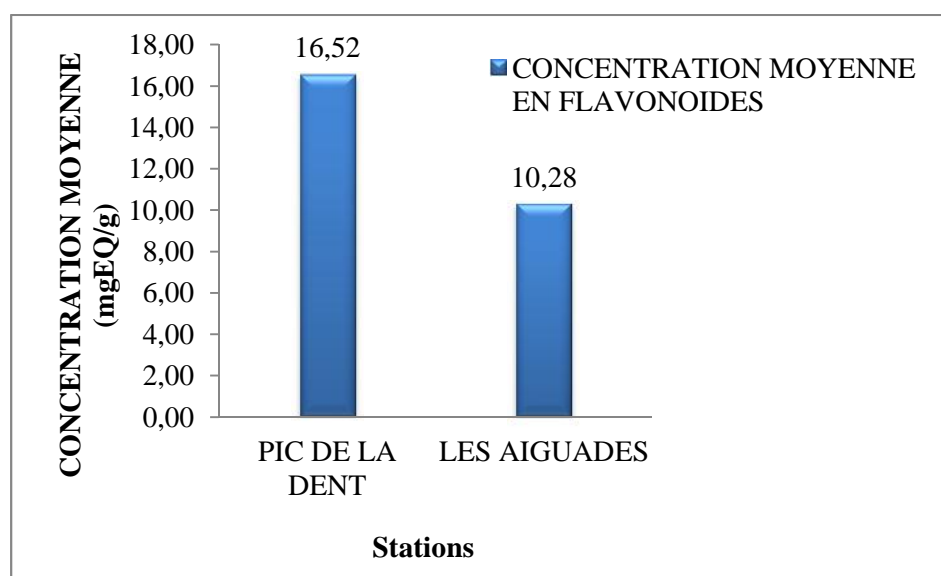
La nature des composés extraits est influencée par les conditions de l'extraction, à savoir le type du solvant, la taille des particules, l'état du matériel végétal et les conditions thermiques de l'extraction. Le temps de macération et le volume du solvant sont aussi des paramètres qui influencent l'extraction **(Hayouni et al., 2007)**

Cependant, ces résultats sont très élevées par rapport aux résultats trouvés par **(Djeridane et al., 2006)** qui est de l'ordre de 12,7 mg EAG /g pour *Juniperus oxycedrus*. Cette différence s'explique par le solvant d'extraction et l'espèce végétale utilisée.

### IV.2. 1.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique de chlorure d'Aluminium décrite par (Chang et al., 2002). La Quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,975$  (Annexe III), d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différentes parties de *Juniperus phoenicea* qui est exprimé en mg EQ/g de matière végétale sèche.

Les résultats du dosage des flavonoïdes du genévrier de Phénicie sont présentés dans la figure suivante :



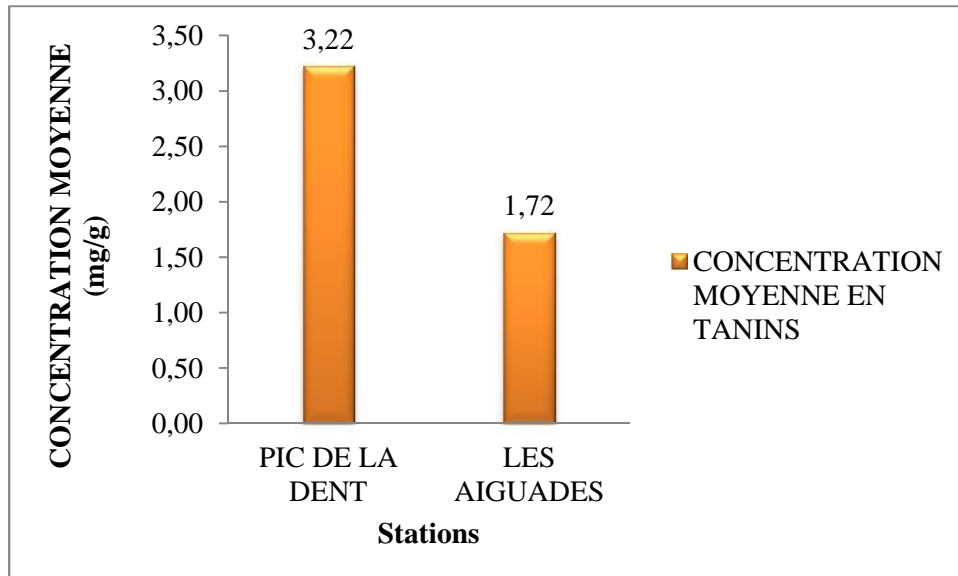
**Figure n°25:** Teneurs en flavonoïdes des échantillons de *Juniperus phoenicea* prélevés dans les deux stations d'étude.

Nos résultats indiquent que la station de Pic de la dent est plus riche en flavonoïdes (16,52 mg EQ/g) que la station des Aiguades (10,28mg EQ/g). Dans ce cas il semble que l'altitude influence aussi sur la teneur en flavonoïdes, alors ce résultat confirme celui des polyphénols totaux.

Les résultats obtenus montre que la teneur en flavonoïdes dans les deux stations est différentes et si on compare nos résultats à ceux trouvés par Bounif et Dahmani (2011) on trouve que la teneur en flavonoïdes est élevée à Pic de la dent (16,52 mg EQ/g), suivie de ceux de station de Toudja (14,05 mg EQ/g), la faible concentration en flavonoïdes (10,28mg EQ/g) est évaluée dans les extraits de la station des Aiguades. On constate que la concentration des flavonoïdes est liée directement à l'altitude ou se trouve la plante.

### IV.2. 1.3. Dosage des tannins

Les concentrations en tannins des extraits des feuilles et des baies sèches sont illustrées dans la figure suivante :



**Figure n°26 :** Teneurs en tanins des échantillons de *Juniperus phoenicea* prélevés dans les deux stations d'étude.

La figure indique que les concentrations les plus élevées en tanins condensés sont observées dans les extraits des individus récoltés dans la station de Pic de la dent avec une moyenne de 3,22 mg/g, par rapport à la station des Aiguades avec une concentration moyenne de 1,72 mg/g.

On comparant nos résultats aux travaux qui ont été faits par **(Bounif et Dahmani, 2011)** qui ont trouvé une moyenne de 0,068 mg/g largement inférieure à nos résultats et ne sont pas concordants avec les travaux de **(Hayouni et al., 2007)**, cela peut être expliqué par :

- Les modifications apportées dans le protocole (solvant d'extraction).
- L'emplacement géographique de la plante.
- La période de la récolte.

## IV.2.2. Résultats de l'activité antioxydante

### IV.2. 2.1. Résultats du pouvoir réducteur

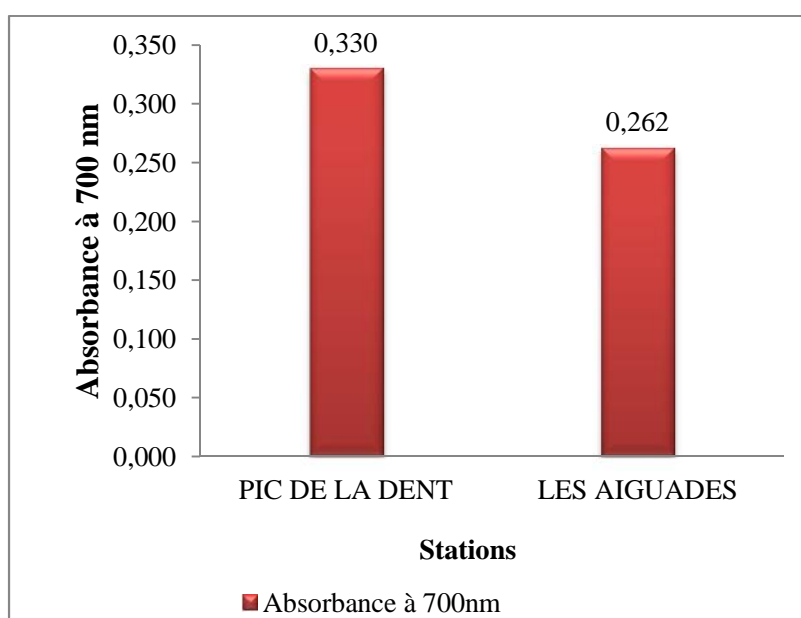
La capacité de donation d'électrons dans une réaction d'oxydoréduction peut être aussi utilisée dans la mesure de l'activité antioxydante d'un composé. Cette capacité de donation d'électrons est appelée pouvoir réducteur.

Le pouvoir réducteur des extraits de *Juniperus phoenicea* est mesuré dans cette étude par la réduction directe de  $\text{Fe}^{3+}(\text{CN})_6$  en une forme ferreuse  $\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6$  qui est déterminée par la détection spectrophotométrique du complexe  $(\text{Fe}^{3+})_4[\text{Fe}^{2+}(\text{CN})_6]_3$  ayant une forte absorption à 700 nm (Le *et al.*, 2007). La couleur jaune du milieu réactionnel change en vert dont l'intensité est en fonction du pouvoir réducteur de l'échantillon étudié (Zou *et al.*, 2004).

Nos résultats sont exprimés en g équivalent acide ascorbique par 100 g de matière sèche, la courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2= 0,9309$  (Annexe III)

Dans notre travail, nous avons testé l'activité réductrice des différents extraits éthanoliques des échantillons par la méthode de ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ )

Les valeurs obtenues sont indiquées dans la figure 27



**Figure n°27 :** Evaluation du pouvoir réducteur des extraits éthanoliques de *Juniperus phoenicea*

Les résultats montrent que les extraits éthanoliques de la station de Pic de la dent exercent une meilleure activité réductrice avec une moyenne d'absorbance de 0,330 suivie des extraits éthanoliques de la station des Aiguades avec une valeur de 0,262.

Cette différence d'absorbance s'expliquerait par la teneur élevée des extraits éthanoliques en composés phénoliques de la station de Pic de la dent par rapport à la station des Aiguades. Des études qui ont été faites par **Le et al., (2007)** et **Ozen et al., (2009)** montrent que les composés phénoliques, principalement les flavonoïdes sont des principaux donateurs d'électrons et par conséquent leur capacité de neutraliser les radicaux libres est élevée.

#### IV.2. 2.2. Activité scavenger du radical DPPH

En général, les antioxydants réagissent avec le radical libre 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl qui est coloré en violet. Ce dernier se transforme en 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazine qui se colore en jaune. Le degré de décoloration indique la capacité de l'extrait à réduire le radical DPPH (**Rolland, Y. 2004**).

L'activité de piégeage du radical DPPH par les extraits éthanoliques de *Juniperus phoenicea* sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau n° VI:** le pourcentage d'inhibition du radical DPPH dans les deux stations :

	Station de PIC DE LA DENT	Station des AIGUADES
I(%)	36,299	34,524

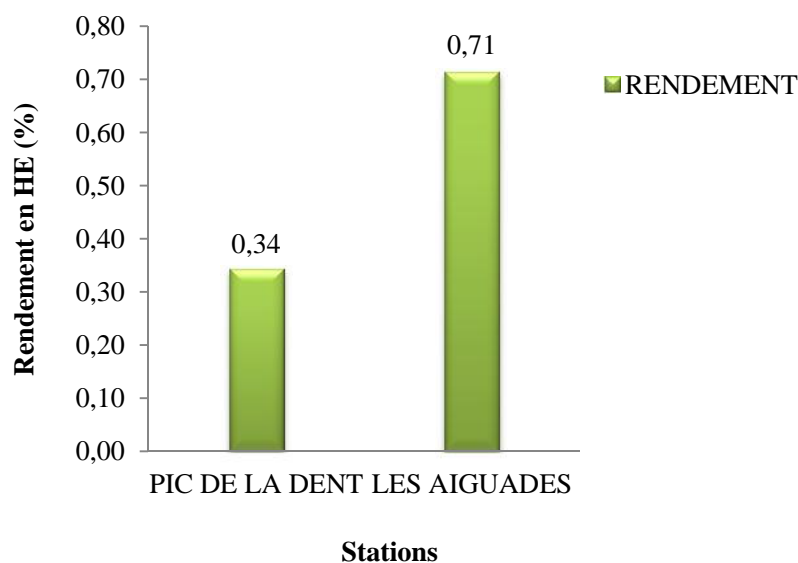
Les extraits de la station de Pic de la dent ont une activité antioxydante presque similaire à celle de la station des Aiguades contre le radical DPPH.

Les résultats obtenus par **Medini et al., (2013)** sur le genévrier de Phénicie récolté en Tunisie, ont une activité antioxydante des extraits méthanoliques plus importante par rapport à la notre, leur activité varie de 72.15 à 95.89 %. La différence peut être expliquée par le fait que les auteurs ont utilisé des méthodes différentes pour l'évaluation de l'activité antioxydante et aussi le solvant d'extraction utilisé.

## IV.2.2. Les huiles essentielles

### IV.2.2.1. Rendement en huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par hydrodistillation (*European Pharmacopoeia*, 2011), l'huile est un liquide visqueux, limpide d'une coloration jaunâtre et à odeur forte caractéristique du genévrier. Le pourcentage du rapport poids de l'huile sur poids de la matière végétale sèche nous a permis de calculer le rendement des échantillons de *Juniperus phoenicea* en huiles essentielles. Les résultats obtenus sont indiqués dans la figure suivante :



**Figure n°28 :** Rendement en huiles essentielles des échantillons de *Juniperus phoenicea* prélevés dans les deux stations d'études.

Dans cette figure, nous constatons que les individus de *Juniperus phoenicea* issus de la station des Aiguades ont un rendement plus élevé avec une moyenne de 0,71% par rapport à ceux provenant de la station de Pic de la dent (0,34%).

Les rendements en huiles essentielles obtenus à partir des échantillons des feuilles et des cônes du genévrier des deux stations ont respectivement 0,34 %  $\pm$  0,14 et 0,71 %  $\pm$  0,11. Le rendement de la station des Aiguades est supérieur à celui de la station du Pic de la dent.

Toutefois, ces taux restent intermédiaires par rapport à ceux des genévriers rouges de la Grèce (0,58 % pour les rameaux) (Adams et al., 1996), de la sous-espèce *turbinata* d'Espagne (0,66 % pour les rameaux) (Adams et al., 1996) et de la sous-espèce *eu-mediterranea* du Portugal (0,41 % pour les rameaux) (Adams et al., 1996) mais inférieure à ceux d'Égypte (0,96 % pour les fruits) (El-Sawi et al., 2007).

Ces résultats pourraient être expliqués par la période de récolte, selon (**Kelen et Tepe, 2008**), le choix de la période de récolte ainsi que la partie de la plante utilisée sont primordiaux en termes de rendement et de qualité de l'huile essentielle.

L'analyse de la variance réalisée des paramètres biochimiques (composés phénoliques et rendement en huiles essentielles) pour les stations du pic de la dent et des Aiguades, a montré que les deux stations présentent des différences significatives au niveau des tanins condensés, hautement significatives au niveau des polyphénols totaux et flavonoïdes, très hautement significatives au niveau du rendement en huiles essentielles (Tableau n°VII).

**Tableau n° VII :** Analyse de la Variance (ANOVA) des paramètres biochimiques (composés phénoliques et rendement en huiles essentielles)

<b>Paramètres</b>	<b><i>P</i></b>
Polyphénols totaux	0,00977**
Flavonoïdes	0,03156*
Tanins condensés	0,00913**
Rendements en huiles essentielles	0,00165***

**Les valeurs représentent la moyenne de 5 répétitions  $\pm$  Ecart type; (\*): différence significative; (\*\*): différence hautement significative; (\*\*\*) : différence très hautement significative.**



### Conclusion

Les plantes sont de véritables usines chimiques, elles ne cessent de nous épater encore et encore par la richesse des constituants qu'elles synthétisent, elles représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs.

Les résultats obtenus pour les différentes analyses effectuées sur les feuilles et les cônes de *Juniperus phoenicea* indiquent qu'elles contiennent des substances actives à différentes teneurs, comme les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les huiles essentielles.

Les résultats des différents dosages ont montré que les échantillons provenant de la station de Pic de la dent sont plus riches que ceux issus de la station des Aiguades en polyphénols totaux (78,57 mg EAG/g par rapport à 50,68 mg EAG/g) ; en flavonoïdes (16,52 mg EAG/g par rapport à 10,28 mg EAG/g) et en tanins condensés.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est réalisée par deux méthodes complémentaires, à savoir le pouvoir réducteur et le piégeage de radical DPPH. Les extraits éthanoliques des feuilles et des cônes du genévrier de pic de la dent exercent des pouvoirs réducteurs presque similaires à ceux des extraits de la station des Aiguades, avec des absorbances de (0,330 ±0,30 et 0,295±0,017) respectivement. En ce qui concerne l'activité scavenger du radical DPPH les résultats indiquent qu'il n'existe pas une différence assez importante entre les extraits éthanoliques des feuilles et des cônes des deux stations.

L'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation, a montré que les échantillons récoltés dans la station des Aiguades ont fournis le rendement le plus élevé (0,71%) par rapport à ceux provenant de la station de pic de la dent (0,34%).

Ce travail n'est qu'une première étape d'étude biométrique et phytochimique de *Juniperus phoenicea*. Il est souhaitable de compléter ces premiers résultats par:

- L'étude des paramètres analysés sur toute l'année, afin de mettre en évidence une éventuelle fluctuation entre les deux stations en fonction des saisons;
- L'étude qualitative des extraits éthanoliques par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ainsi que la caractérisation des huiles essentielles par GC/MS, afin de pousser les résultats phytochimiques au niveau moléculaire ;
- En fin, l'étude des activités biologiques notamment l'activité antibactérienne pour les extraits éthanoliques et les huiles essentielles.

## Références bibliographique

---

**Abdel-hameed, ES. (2009).** Total phenolic contents and free radical scavenging activity of certain Egyptian *Ficus* species leaf samples. *Food Chem.* **114**: 1271-1277

**Adams, R.P., Barrero, A.F., Lara, A. (1996):** Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. *eu-mediterranea* Lebr.et Thiv. and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res.* **8**: 367-371.

**Adams, RP. (1998).** the Leaf Essential Oils And Chemotaxonomy Of *Juniperus* Sect. *Juniperus*. . *Biochemical systematics and Ecology.* **26** : 637- 645

**Adams, RP. (2004).** Junipers of the World: The genus *Juniperus*. Trafford Publishing, Vancouver, BC, Canada

**Adams, RP. (2011).** Species Descriptions, Distribution Map and Plant Photo. In *juniperus of the word: the genus juniperus*, 3<sup>rd</sup> edition Trafford rev, USA . p 436.

**Adams, RP., Pandey, N., Rezzi, S. and Casanova, J. (2002).** Geographic variation in the Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) of *Juniperus phoenicea*, *J. p.* var. *canariensis*, *J. p.* subsp. *eumediterranea*, and *J. p.* var. *turbinata*. *Biochemical Systematic Ecology* **30**: 223-229

**Adams, RP., Rumeu, B., Nogales, M. and Fontinha, SS. (2009 )** . Geographic variation and systematics of *Juniperus phoenicea* L. from Madeira and the Canary Islands : Analyses of leaf volatile oils. *Phytologia* .**91(1)** :40-53.

**Ageste, M. (1960).** La flore forestière "les végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importants de l'Algérie. IIème édition ancienne maison Griblot et Cie, N, Grosjean, Successeur. 353p.

**Akrout, A. (1999).** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). Institut des régions arides, 4119 Médenine- Tunisie

**Alais, C. et Linden, G. (1997).** Biochimie alimentaire. Masson, Paris, 120-125 p.

**Allali, H., Benmehdi, H., Dib, MA., Tabti, B., Ghalem, S. and Benabadji, N. (2008).** Phytothérapie of diabète in west Algeria . *Asian J. Chem.* **20** : 2701- 2710

**Amer, MMA., Wasif, MM., Abo Aytta, AM. (1994).** Chimiical and evaluation of *Juniperus phoenicea* as a hypoglycaemic agent. *J. Agric. Res.* **21** : 1077-1091.

**ANRH (Agence National des Ressources Hydrauliques) (1993).** Carte pluviométrique de l'Algérie du Nord au 1/500 000. Notice explicative. Alger.

---

**Aruoma, OI., Spencer, JPE., Butler, J et Hlliwel,l B. (1995).** commùentary reaction of plant derived and syntitic antioxidants whith tricoloromethylperopxyl radicals. Free rad. Res. **22**, 187-190 p.

**Bahorun, T. (1996).** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and agricultural rsearch council. Reduit. Mauritius.

**Barrero, A F., Herrador, M M., Arteaga, P., Quílez Del Moral, J F. (2006).** Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. *J. of Essential Oil Research.* **18 (2)**: 168- 169

**Bellakhder, J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed :lbis press Paris , P 272

**Belyagoubi, L-M. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration de céréales. Thèse magistère. Université de Tlemcen.

**Beta, T., Nam, S., Dexter, J E et Sapirstein, H D. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chem.* p 390-393.

**Bidet, D., Gaignault, J., Girard, P et Trotin. F. (1987).** Inflammation, allergie douleurs et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: les flavonoides. *L'actualité chimique.* p 89-97.

**Boizot, N. et Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, *Laboratoire d'Analyses Biochimiques.***18**: 79-82.

**Bonnier, G., Douin, R. (1990).** *La grande flore.* Ed : Belin, Paris.

**Boudy, P. (1950).** guide du forestier en Afrique du nord. Tome IV, Paris ,274-278.

**Bounif, S., Dahmani, K. (2011).** Contribution à l'étude de la variabilité biochimique et morphologique du genre *juniperus* en Kabylie. Mémoire fin d'études. Université de Bejaia.

**Bouzabata, A., HadeF, Y. (2009)** .Variability of the Yield and the Chemical Composition of Essential Oils of *Juniperus Phoenicea* L. coming from two regions of Algeria . *TJMPNP.* **2**: 1-9.

**Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., Chaabouni, MM. (2008).** Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Société Chimique de Tunisie.* **10** : 119 - 125.

**Broadhurst, CL., Polansky, MM., Anderson, RA. (2000).** Insulin-like activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts in vitro. *Journal of agriculture and foodchemistry* **48**: 849-852.

---

## Références Bibliographique

---

**Brouillard, R. (1986).** The flavonoids Advances. In: research since 1993. Harborne J B, Chapman and Hall, London. p 525-538.

**Brownlee, H., Hedjer, J et Scott, I. (1992).** Effects of a rangs of procianidins on the cocoa pathogen *Crinipallis perniciosa*. Phys. Mol. Plant pathol. **40** : 227-232.

**Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. p 278-279.

**Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. 3<sup>e</sup> Ed : Lavoisier ; Paris. P.1120 .

**Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. 4<sup>e</sup> Ed : Lavoisier ; Paris. P.1269

**Carillon, E. (2000).** *La phytothérapie face à l'évolution médicale*. Ed :Phyto . 10-15.

**Cavaleiro, C., Pinto, E., Goncalves, M.J. and Salgueiro, L. (2001).** Antifungal activity of Juniperus essential oils against dermatophyte, Aspergillus and Candida strains, *Journal of Applied Microbiology ISSN*, **100**:1333-133.

**Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. **10**:178–182.

**Colette-Keller, D. (2004).** Les plantes médicinales. ALS (séance du 25 Avril 2004). P 58.

**Das, H., Wong, J et Lien, E. (1994).** Carcinogenicity and cancer prévening acntivitis of flavonoides: A structure-system-activity-relationship (SSAR) analysis.

**Dawidar, A. M., Ezmirly, S. T. and Abdel-Mogib, M. (1991).** Sesquiterpenes and diterpenes from *Juniperus phoenicea* L. *Pharmazie.*, **46** :472-473.

**Dean, F M. (1963).** Naturall occuring Oxygen Ring Compounds, Buttrworths. Londres.

**Decaux, I. (2002).** *Phytothérapie : Mode d'emploie*. Ed : Le bien public. Pp 6

**Deore, S., Koli, US., Daga, NP., Gadbail, PA. and Jain, PA. (2008).** In vitro antioxidant activity and phenolic content of *Croton caudatum*. *International Journal of Chemistry Technology Research*, **1**(2): 174-176

**Derwich, E., Benziane Z. and Chabir, R. (2011).** Aromatic And Medicinal Plants Of Morocco: Chemical Composition of Essential Oils of *Rosmarinus Officinalis* And *Juniperus phoenicea*. *IJABPT*. **2**(1):145-153.

---

**Derwich, E., Benziane, Z., Taouil, R., Senhadji, O. and Touzani, M. (2010).** A Comparative Study of The Chemical Composition of The Leaves Volatil Oil of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus* . *Middl-East J.Res* . **5(5): 416-424**

**Didry, N., Pinkas, M. et Torck, M. (1982).** La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *gaindelia*. *PI med. Phytother.* XVI. p 7-15.

**Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.*, **97**: 654-660.

**Dob, T., Dahmane, D., Chelghoum, C. ( 2008).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria. *Journal of essential oil.* **20 (1): 15-20**

**Dohou, N., Yamni, K., Gmira, N. and Idrissi Hassani, L. M. (2004).** Étude de polyphénols des feuilles d'une endémique Ibéro Marocaine, *Thymelaea lythroides* . *Acta Botanica Malacitana.* **29**: 233-239.

**El- Sawi, S.A. et Motawe, H.M. (2008)** .Labdane, Pimarane And Abietane Diterpenes From The Fruits Of *Juniperus Phoenicea* L. Grown In Egypt And Their Activities Against Human liver Carcinoma. *Canadian Journal Of Pure And Applied Sciences* .**2(1) :** 115-122,

**El-Sawi, Hemaia M. Motawae and Amal M. Ali. (2007):** chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* l. grown in egypt. *Afr. J. Traditional, Complementary and Alternative Medicines.* **4**: 417 – 426.

**Emberger, I. (1955).** Une classification biogéographique des climats. *Nat. Monspl., Série Bot.,7 :* 3-42

**European Pharmacopoeia, (2011).** 7th edition, Council of Europe, Strasbourg, 1160-1161.

**Fouché, GP., Marquet, A. et Hambuckers, A. (2000).** Les plantes medicinale : de la plante au médicament. Exposition temporaire de 19.09 au 30.09.2000.

**Frankel, E N., Water house, A L., Teissedre, P L. (1995).** *Agric. Food. Chem.,* **43:221-235**

**Friend AD, Woodward FI, Switsur VR (1989).** Field measurements of photosynthesis, stomatal conductance, leaf nitrogen and delta 13C along altitudinal gradients in Scotland. *Functional Ecology.* **3**: 117-122.

**Gàbor M., Cody, V., Middleton, E J., Harborne, J B., Beretz, A., Liss, A R. (1988).** *Plants Flavonoids in biology and Medecine II; Biochemical, Cellular and Medecinal properties.* New York, p 1-15.

---

**Gauquelin, Th., Idrissi Hassani, M. et Lebreton, Ph. (1988).** Le Genévrier thurifère *Juniperus thurifera* L. (Cupressacées): analyse biométrique et biochimique; propositions systématiques. *Ecol. Medit., Marseille*. **34**: 31-42.

GNU Free Documentation License., 19 April 2007.

**Guignard, J. (1996).** Botanique systématique moléculaire, 2<sup>ème</sup> édition, Paris, p 122.

**Guignard, J. (1996).** Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, p 175-192.

**Harbone, J B. (1967).** Comparative biochemistry of the flavonoides. Academic press. New York, p 1-130.

**Harbone, J B., Grayer, R J. (1988).** The flavonoids, Advances. In: research since 1980. Harborne J B, Chapman and Hall, London, p 1-20.

**Hayase, F. et Kato, M. (1984).** Antioxydant compounds of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. vitaminol.* **30**: 37-46.

**Hayouni, EA., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts . *Food Chemistry*, **10** :10-16

**Hemingway, R. W. (1992).** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In : Lpant polyphenols: synthesis, properties, significance. Hemingway R W, Laks P. E. New York.

**Huguet, M. (2008).** *La route des épices, aromats, condiments et mélange d'épices.* Ed : sang de la terre, Paris. p 190.

**Iserin, P. (2001).** *Encyclopedie des plantes medicinales.* Ed : Larousse Bourdasse .Paris . p.335

**Kao WY, Chang KW (2001).** Altitudinal trends in photosynthetic rate and leaf characteristics of *Miscanthus* populations from central Taiwan. *Australian Journal of Botany* . **49**:509- 514.

**Kelen, M. and Tepe, B. (2008).** Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*. **99**: 4096-4104.

**Kreofsky, T., Scalager, G., Vuk-Pavlovic, Z., Abraham, R et Rohrabach, M. (1992).** Condensed tannins promotes the release of arachidonic acid from rabbit residents alveolar macrophages. *Am J. Resir. Cell. Mol. Boil.* **7** :172-181.

---

## Références Bibliographique

---

**Lansing, M., Prescott, J., Harley, P., Klein, DA. (2003)** .*Microbiologie*. 2eme Edition française : De boeck .1164 pages

**Le, K., Chiu, F. and Ng, K. (2007)**. Identification and quantification of antioxidants in Junipers . *Food Chemistry*, **102** : 371-376

**Lebham. (2005)**. Thèse au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)- Université de Bretagne Occidentale (UBO).

**Lebreton, P. (1989)**. Nouvelles données sur la distribution au Portugal et en Espagne de sous-espèces du genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*). *Agronomia Lusi.*, **42**: 55–62

**Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V. and Biro, L. (2003)**. The Role of Antioxidant of the Flavonoids Luteolin. *Mini-Reviews In Medicinal Chemistry*. **9** : 31-59

**Maatooq, G.T., El-Sharkawy, S.H., Afifi, M.S., Risazza, J.Pn. (1998)**. Flavonoid From Cupressaceae Plants. *Natural Product Sciences*. **4(2)** : 9-14

**Mabry, T. and Ulubelen, A. (1980)**. Chemistry and utilization of phenylpropanoïdes including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* **28**, 188-196 p.

**Macheix, JJ., Fleuriet, A. and Jay. (2005)**. Un exemple de métabolismes secondaires d'importance économique. In : les composés phénoliques des végétaux. Presse Polytechnique Universitaire Romandes.

**Maisuthisakul, P., Pasuk, S. and Ritthiruangdej, P. (2008)**. Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *J Food Composition and Analysis*. **21**: 229-240.

**Mandai, J.P. (2005)**. Découverte de très vieux genévriers de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) dans les gorges de l'Ardèche (France). *J.Bot.Soc.Bot.France* **29**: 53-62.

**Masquelier, J., Dumon, M. et Dumas, J. (1979)**. Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. *Acta thérapeutique*. **1** :101-104.

**Maurice, N. (1997)**. *De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle*. Ed : Lavoisier, Paris.; 12- 14

**Mautrait, C. et Raoult, R. ( 2009)** . la préparation : mode d'emploi (officine, sous-traitance et BP). 2eme édition. Porphyre France . P. 468.

**Mazari, K., Bendinerad, N., Benkhechi, Ch. and Fernandez, X. (2010)**. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens* . *Medicinal Plants Research*. **4(10)** : 959-964

**Mazur, M., Boratynska, K., Marcysiak, K., Gomez D., Tomaszewski, D., Didukh, J., and Boratynski, A. (2003)**. Morphological variability of *Juniperus phoenicea* from three distant localities on Iberian peninsula . *Acta Asocietatis Botanicorum Poloniae*. **72 (1)**: 71-78

---



**Medic, Sanic, M., jasprica, I., Smolcic Bubalo, A. and Mornar, A. (2004).** Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids. *Croatica chemica acta.* 361-366.

**Medini, H., Elaissi, A., Chraief, I., Bannour, F., Farhat, F., Ben Salah, M., Khoudja, M. and Chemli, R. (2007).** Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. *Revue des region arides.* **1**: 185-189

**Medini, H., Elaissi, A., Khouja, M. and Chemli, R. (2013).** Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *Phoenicea* L. Extracts from two tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences.* **1** (2): 78-82.

**Medini, H., Elaissi, A., Khoujad, F.M.L., Chemli, R. and Harzallah-Skhiri, F. (2009).** Seasonal and Geographical Influences on the Chemical Composition of *Juniperus phoenicea* L. Essential Oil Leaves from the Northern Tunisia. *Chemistry & Biodiversity.* **6** :1378–1387.

**Meinzer FC, Goldstein GH, Rundel PW (1985).** Morphological changes along an altitude gradient and their consequences for an andean giant rosette plant. *Oecologia.* **65**:278-283.

**Melanie, M., Perini, D., Filegheddu, R. and Binelli, G. (2006).** Genetic Variation in Five Mediterranean Populations of *Juniperus phoenicea* as Revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers . *Annals of Botany.* **97**: 299-304,

**Merlin, J.C., Statoua, A. and Brouillard, R. (1985).** *Phytochemistry.* **24**: 1575-1581.

**Middleton, E. and Kandaswami, C. (1993)** The Flavonoids Advances in Research (1986) In: Harborne JB (Ed.). Chapman and Hall, London, p. 643.

**Office National Météorologique Algérien. (2005).** Données climatiques de la station météorologique de Béjaïa (documents interne).

**Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H. and Arichi, S. (1983).** Studies on the activitis of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inhibitory effects of lipid peroxydation in mitochondria and microsome of lever. *Chem. Pharm. Bull.* **31**:1625-1631.

**Oliveira, M., Sampaio, M., Simon, F., Gibert, B. and Mors, W. (1972).** Antitumor activity of condensed flavenols. *An.Acad. Brazil.* 41-44.

**Oomah, B.D., Corbé, A. and Balasubramanian, P. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean hulls. *Journal of agricultural and food chemistry,* **58**: 8225-8230.

**Oswa, T. (1994)** Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In: Uritany I, Garcia VV, Mendoza EM (Eds.), *Post Harvest Biochemistry of Plant Food Materials in the Tropics.* Japan Science Society Press, Tokyo, pp. 241–251.

---

## Références Bibliographique

---

**Ozen, T. (2009).** Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, **66** (2), 187-193.

**Pierangeli, G., Vital, G. and Windell, R. (2009).** Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. *J. Medicinal Plants Res.* **3(7)** : 511-518

**Porter, L.J., Hirtstich, L.N. and Change, B.J. (1986).** The conversion of procyanidins and prodlephinidins to cyanidines and delphenidins, phytochemistry. **25**: 223-230

**Psotova, J., Lasovsky, J. et Vicar, J. (2005).** Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. *Biomed. Papers* 174-153 p.

**Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F. and Trotin, F. (2000).** Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology.* **72** : 35-42.

**Quezel, P. et Santa, S. (1962).** *Nouvelle flore de l'Algérie*, Paris, Ed.CNRS, 1, p. 565.

**Rameau, J-C., Mansion, D. et Dumé, G. (2008)** .Flore forestière française: Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier. P 2426.

**Ravn, H., Andary, C., Kovacs, G. et Molgaard, P. (1984).** cafféic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochimie. Syst. Ecol.* **17**: 175-184 .

**Rebbas, k. (2002).** Contribution à l'étude de la végétation du parc national Gouraya (Béjaïa, Algérie) étude phy-tosociologique. Mémoire de Magistère, Université de Sétif, Algérie.

**Requebert, M-F. (2002).** Les contaminants biologiques des biens culturels. Edition Elsevier. Paris. p 419.

**Rezzi, S., cavaleiro, C., Salgueiro, L., Bighelli, A., Casanova, J., and Proença da Cuncha A. (1999).** Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea subs . turbinata* from Corsica. *Biochemical systematics and Ecology* .**29**: 179- 188

**Ribereau, G. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Paris : Dunod p254

**Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels des végétaux. Review. **11**:1-6.

**Salunkhe, D.K. (1990).** Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton, Florida: CRC press.

**Saule, M. (2002).** la grande flore illustrée des pyrenées. Ed RANDO / MILAN. P 730

---

**Seigue, A. (1985).** La foret circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed : G.P Maisonneuve et Larose. P 216.

**Senevirathne, M., Kim, SH., Siriwardhana, N., Ha, J., Lee, K.W. and Jeon, Y. (2006).** Antioxidant potential of *Ecklonia Cava* on reactive oxygen species scavenging, metal helating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food science and Technology International*, **12**(1): 27-38

**Singleton, V. L., Timberlake, C. F. and Lea, A. G. H. (1978).** The phenolic cinnamates of grapes and wine, *Journal of Sciences and Food Agriculture*. **29**: 403-410 .

**Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Rizner-Hras, A., Simonic, M., Knez, Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **89** : 191–198.

**Small, E., Dentsch, G. (2001).** Nos jardins de pays froids. Ed : CNRC. Pp 90.

**Stassi, V., E. Verykokidou, A. Loukis, C. Harvala and S. Philianos. (1996).**The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece. *Flav. Fragr. J.*, **11**: 71–74

**Stavric, B. et Matula, T, (1992).** Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. 274-294.

**Varlet, E. (2008).** Description des espèces. In *découvrez les fruits sauvages*. Ed : Elleboresang de la terre. Paris .p 254.

**Vermerris, W. and nicholson, R. (2006).** Phenolic compound biochemistry. Ed: Springer. P154.

**Watt, O.M and M.G. Breyer-Brandwijk. ( 1962).** *The Medicinal and Poisonus Plants of Southern and Eastern Africa*, p: 841. E and S Livingstone LTD., Edinburgh, London

**Weber, B. (2009).**Capacité antioxydante totale, antioxydants et marqueurs du stress oxydatif. La boratoire de Junglinster, Luxembourg.

**Zou, Y. P., Lu, Y. H. and Wei, D.Z. (2004).** Antioxidant activity of flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in vitro. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, **52**: 5032-5039

**Zubia, M., RObledo, D. and Freile-Pelegrrin, Y. (2007).** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology* **19**:449-458

# Annexe I

---

## **Appareillage :**

Les appareils utilisés lors des différentes manipulations sont :

- Agitateur Vortex (VELP Scientifica)
  - Spectrophotomètre (UNICO)
  - Bain-marré (BUNSEN)
  - Etuve (MMM-groupe)
  - Balance de précision (RADWAG)
  - Tamiseur (RETSCH)
  - Micropipette de 200  $\mu$ l et 1000  $\mu$ l
  - Centrifugeuse (5000tr/10min)
  - Pied à coulisse
  - Broyeur électrique
-

## Annexe II

### Rendement des huiles essentielles :

Station De GOURAYA					
Echantillon	Flacon Vide	Flacon + Huile	Poids De L'huile	Poids De L'ech	Rendement
1	4,8041	5,0103	0,2062	115,6	0,1783737
2	4,8896	5,176	0,2864	124,1	0,23078163
3	4,7118	5,484	0,7722	196	0,39397959
4	4,7113	5,4306	0,7193	205,7	0,34968401
5	4,8854	6,4568	1,5714	284,85	0,55165877

Station Des AIGUADES					
Echantillon	Flacon Vide	Flacon + Huile	Poids De L'huile	Poids De L'ech	Rendement
1	4,92905	6,03765	1,1086	138,55	0,80014435
2	4,969	5,9218	0,9528	153	0,6227451
3	4,8744	6,1733	1,2989	157,25	0,82600954
4	4,9383	5,8801	0,9418	118,85	0,79242743
5	4,9345	6,1754	1,2409	202,35	0,61324438

## Annexe III

Courbes d'étalonnage :

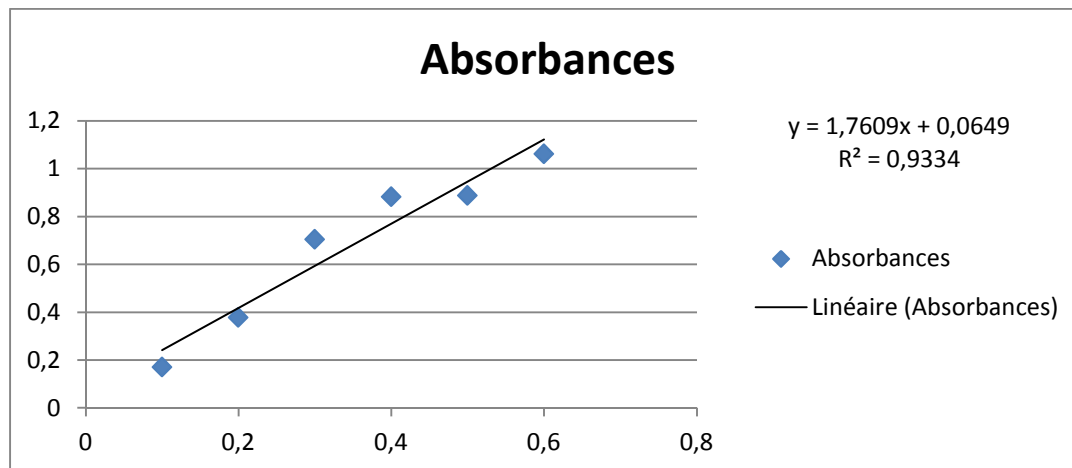


Figure 01 : Courbe d'étalonnage des polyphénols (A. gallique)

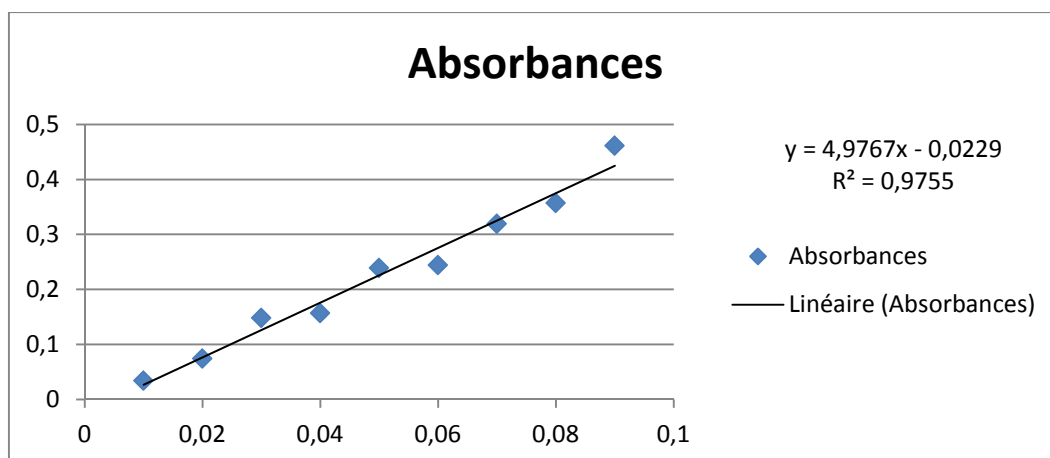


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes (Quercétine)

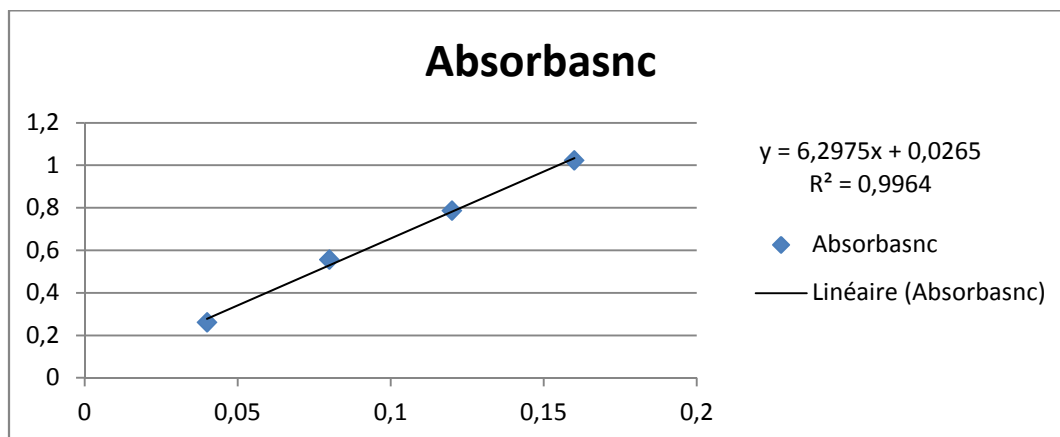


Figure 03 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur (A. ascorbique)

# Glossaire

---

**Abcès :** C'est une accumulation locale de pus après nécrose dans une cavité néoformée. Un abcès superficiel peut présenter des symptômes comme rougeur, douleur et chaleur.

**ANRH (Agence National des Ressources Hydrauliques).** Carte pluviométrique de l'Algérie du Nord au 1/500 000. Notice explicative. Alger.

**Antibiorésistance :** La résistance aux antibiotiques est la capacité d'un micro-organisme à résister aux effets des antibiotiques

**Anticarcinogène :** Des agents ayant trait à prévenir ou à retarder le développement du cancer.

**Antifongique :** se dit d'un médicament qui agit contre les infections provoqués par les champignons ou les levures parasites.

**Anti-inflammatoire :** Se dit d'un agent, d'un médicament qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. La plus part des anti-inflammatoire sont aussi des antidouleurs.

**Antioedémateuses :** Médicament qui s'oppose à la formation d'œdèmes (gonflements).

**Antioxydant :** un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques

**Antiseptique :** Se dit d'un agent, d'un médicament propre à prévenir les infections.

**Arthrite :** (du grec arthron : articulation) est une inflammation aiguë ou chronique des articulations dont l'origine est rhumatismale ou infectieuse. Elle ne désigne pas la pathologie répertoriée sous le nom d'arthrose, mais un signe clinique d'une des nombreuses maladies articulaires.

**Biotiques :** En écologie, les facteurs biotiques représentent l'ensemble des interactions du vivant sur le vivant dans un écosystème. Opposables aux facteurs abiotiques, ils constituent une partie des facteurs écologiques de cet écosystème.

**Bronchite :** C'est une inflammation des bronches, des poumons, qui entraîne l'arrêt du fonctionnement des cils des cellules épithéliales.

---

**Cytotoxique** : Se dit d'un agent ou d'un produit qui a un effet nocif sur les cellules.

**Dicotylédone** : Plante dont la graine contient un embryon à deux cotylédons.

**Dioïque** : Dont les individus ne portent que des fleurs du même sexe.

**Diurétique** : Effet qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes, l'hypertension.

**Dolomitiques** : Sont un massif des Préalpes orientales méridionales. Elles s'élèvent en Italie. Depuis le 26 juin 2009, les Dolomites sont inscrites au Patrimoine mondial de l'UNESCO. Au sens large, elles sont également un ensemble des Alpes composé des Alpes de Fiemme et des Préalpes vicentines

**Effet d'écran** : Il s'agit d'un comportement essentiel des fluides porteurs de charge, comme les gaz ionisés, les porteurs de charge électrique.

**Epicatéchine** : C'est un composé de la famille des flavonoïdes de la sous-classe des flavanols. Elle est aussi connue sous le nom de catéchol.

**Gymnospermes** : Sous-embranchement des spermaphytes, dont les graines nues sont portées sur les écailles ouvertes.

**Héliophile** : Sont ceux qui ne poussent de manière optimale qu'en pleine lumière. Par extension, on peut aussi parler de formations végétales héliophile.

**Hypotenseurs** : Sont une classe de médicaments qui sont administrés pour réduire l'hypertension artérielle.

**Lécithine** : Désigne uniquement les phosphatidylcholines 2 et 3, c'est-à-dire un lipide formé à partir d'une choline, d'un phosphate, d'un glycérol et de deux acides gras.

**Maladie coronarienne** : C'est une maladie des artères qui vascularisent le cœur (artères coronaires) ayant pour conséquence une ischémie myocardique, c'est-à-dire un apport en sang insuffisant (ischémie) au muscle cardiaque (myocarde).

**Monoïque** : Se dit d'une espèce végétale dont les individus portent des fleurs mâles et des fleurs femelles.

---



**Monoterpène** : Sont une classe de terpènes constitués de deux molécules d'isoprène  $C_5H_8$  et ont pour formule de base  $(C_5H_8)_2$ . Ils peuvent être linéaire ou contenir des cycles.

**Nosocomiale** : Une infection nosocomiale est une infection contractée dans un établissement de santé. Le terme nosocomial vient du grec nosos, maladie et de komein soigner, qui forment le mot nosokomeion,

**Phlobaphène** : Tanin de composition, voisine de celle de la lignine.

**Phytothérapie** : Désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.

**Sesquiterpène** : Sont une classe de terpène formée de 3 unités isoprènes et a comme formule moléculaire  $C_{15}H_{24}$ . Sont présents dans les essences végétales aromatiques ou huiles essentielles,

**Spermatophytes** : Sont les plantes qui produisent des graines.

**Stéréochimie** : C'est une sous-discipline de la chimie ; elle implique l'étude de l'arrangement spatial relatif des atomes au sein des molécules. Une branche importante de la stéréochimie est l'étude des molécules chirales.

**Xénobiotique** : C'est une substance présente dans un organisme vivant mais qui lui est étrangère: il n'est ni produit par l'organisme lui-même, ni par son alimentation naturelle.

---

# Résumé

---

Cette étude a été conçue pour caractériser le genévrier de Phénicie par le dosage des micro-constituants ( polyphénols , flavonoïdes , tanins ) , ainsi que par l'évaluation de leur activité anti oxydante (pouvoir réducteur et le radical libre DPPH ) des extraits éthanoliques obtenus par macération , le rendement en huiles essentielles obtenu par hydrodistillation du feuillage et des cônes de *Juniperus phoenicea* et l'étude de la variabilité morphologique au niveau des cônes et des graines.

Les dosages montrent que les feuilles et les cônes du genévrier récoltés dans la station pic de la dent sont riches en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins (78,57 mg EAG/g, 16,52 mg EQ/g, 3,22 mg/g) par rapport aux extraits de la station des Aiguades qui représentent les valeurs des teneurs suivantes (50,68 mg EAG/g, 10,28 mg EQ/g, 1,72 mg/g).

Les extraits éthanoliques de la plante étudiée, montrent que les feuilles et les cônes de genévrier récoltés dans les deux stations ont une capacité assez similaire à réduire les ions  $Fe^{3+}$ . Même cas pour l'inhibition du radical libre DPPH.

Le rendement en huiles essentielles est plus important pour les échantillons de la station des Aiguades par rapport à ceux de la station de pic de la dent.

**Mots clés:** *Juniperus phoenicea*, polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, huiles essentielles.

# Abstract

---

This study was designed to characterize the Phoenician juniper by the determination of micro- components ( polyphenols, flavonoids, tannins ) and evaluation of their anti-oxidant activity ( reducing power and free radical DPPH ) of ethanol extracts obtained by maceration, the yield of essential oil obtained by steam distillation of the leaves and berries of *Juniperus phoenicea* and the study of morphological variation in cones and seeds.

The assays show that the leaves and cones juniper harvested pic de la dent are rich in total phenols , flavonoids and tannins ( EAG 78.57 mg / g , 16.52 mg EQ / g 3.22 mg / g ) compared to extracts station Aiguades that represent the values of the following levels ( 50.68 mg EAG / g, 10.28 mg EQ / g, 1.72 mg / g).

The ethanol extracts of the plant studied, show that the leaves and cones juniper collected two stations have fairly similar to reduce  $Fe^{3+}$  ions. Same case for the inhibition of free radical DPPH capacity.

The yield of essential oils is more important at the ethanol extracts of the resort Aiguades the station Pic de la dent.

**Keywords:** *Juniperus phoenicea*, total phenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity, essential oils.