



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine: science de la nature et de la vie

Filière: Sciences des aliments

Option: sécurité des aliments et assurance qualité

Thème:

**Activités biologiques d'une plante aromatique,
« *Juniperus phoenicea* L. »**

Présenté par:

LACHLAH Hatem

Devant le jury:

S. TALEB	MCA	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Président
N. ZOUAOUI	MAA	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Examineur
S. FERHI	MAA	Université Larbi Tébessi- Tébessa	Promotrice

Date de soutenance: 19/06/2019

Note : Mention :

2018/2019

Résumé

Ce travail est consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologique *in vitro* des extraits des feuilles et des baies de la plante *Juniperus phoenicea L.* de la famille Cupressacées cultivée dans la zone Tébessa.

Quatre solvants de polarités différentes, le méthanol, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le *n* butanol, ont été utilisés pour extraire les différents métabolites secondaires de *J. phoenicea L.*

Le rendement le plus élevé d'extraction, pour les feuilles et les baies, a été obtenu avec le méthanol (8,26% et 9,54%, respectivement).

Les feuilles de *J. phoenicea* étaient plus riches en polyphénols que les baies avec une valeur de $459,78 \pm 9,60$ µg EAG/mg d'extrait de plante. Pour les flavonoïdes, l'extrait acétate d'éthyle de feuilles était plus riche que celui des baies avec des valeurs de $47,34 \pm 2,45$ µgEQ/ mg d'extrait de plante.

Quatre méthodes ; la capacité des composés à piéger des radicaux libres (DPPH, ABTS, Galvinoxyl) et l'activité réductrice de l'ion cuprique ; CUPRAC, ont été utilisées afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles et des baies de la plante *J. phoenicea*.

Les meilleures valeurs de l'activité antioxydante ont été données par les extraits d'acétate d'éthyle des feuilles et des baies de *J. phoenicea*.

L'activité antioxydante de l'extrait acétate d'éthyle des feuilles était supérieure à celle de tous les extraits testés avec une valeur de CI_{50} de $4,39 \pm 0,12$ µg/ ml mesurée par la méthode Piégeage de l'ABTS.

L'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des baies de la plante *Juniperus phoenicea* a été évaluée selon la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode des micro-dilution, contre quatre souches pathogènes ; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Les extraits méthanoliques de feuilles et de baies ont montré la plus grande activité antimicrobienne par rapport à tous les extraits avec une zone d'inhibition de 10 et 13,5 mm, respectivement, contre les souches *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enteritidis*, respectivement.

Mots clés : *Juniperus phoenicea L.* ; composés phénoliques ; activités antioxydante ; activités antibactérienne.

Abstract

This work is devoted to the phytochemical study and the evaluation of some biological activities in vitro extracts of the leaves and berries of the *Juniperus phoenicea* L. plant of the Cupressaceae family grown in the zone of Tebessa.

Four solvents of different polarities, methanol, chloroform, ethyl acetate and n-butanol, were used to extract the different secondary metabolites of *J. phoenicea* L.

The highest extraction yield for leaves and berries was obtained with methanol (8.26% and 9.54%, respectively).

The leaves of *J. phoenicea* were richer in polyphenols than the berries with a value of 459.78 ± 9.60 μg EAG / mg of plant extract. For flavonoids, the leaf ethyl acetate extract was richer than that of berries with values of 47.34 ± 2.45 μgEQ / mg plant extract.

Four methods; the ability of the compounds to trap free radicals (DPPH, ABTS, Galvinoxyl) and the reducing activity of the cupric ion; CUPRAC, were used to evaluate the antioxidant activity of extracts of leaves and berries of the plant *J. phoenicea*.

The best values of the antioxidant activity were given by the ethyl acetate extracts of the leaves and berries of *J. phoenicea*.

The antioxidant activity of the ethyl acetate extract of the leaves was greater than that of all the extracts tested with an IC₅₀ value of 4.39 ± 0.12 μg / ml measured by the trapping method of ABTS.

The antibacterial activity of the leaf and berry extracts of the plant *Juniperus phoenicea* was evaluated according to the solid medium diffusion method and the micro-dilution method, against four pathogenic strains; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Bacillus cereus* ATCC 10876.

Methanolic extracts of leaves and berries showed the greatest antimicrobial activity with respect to all extracts with a 10 and 13.5 mm inhibition zone, respectively, against the *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* strains, respectively.

Key words: *Juniperus phoenicea* L.; phenolic compounds; antioxidant activities; antibacterial activities.

ملخص

يكرس هذا العمل للدراسة الكيميائية النباتية وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية المختبرية للزيوت الأساسية ومستخلصات متنوعة من أوراق و ثمار نبات العرعر الفينيقي *Juniperus phoenicea* L من عائلة السرويات المزروعة في منطقة تبسة.

تم استخدام أربعة مذيبات ذوات قطبية مختلفة ، الميثانول ، الكلوروفورم ، أسيتات الإيثيل واليوتانول ، لاستخلاص المستقلبات الثانوية المختلفة لـ *J. phoenicea*.

تم الحصول على أعلى مردود استخلاص للأوراق وثمار باستخدام الميثانول (8.26 % و 9.54 % ، على التوالي). كانت أوراق *J. phoenicea* أكثر ثراء في البوليفينول من الثمار بقيمة 459.78 ± 9.60 ميكروغرام EAG / ملغ من المستخلصات النباتية. بالنسبة للفلافونويدات ، كان مستخلص إيثيل الأسيتات للأوراق أكثر ثراء من مستخلص الثمار ، حيث كانت قيمته 47.34 ± 2.45 ميكروغرام EQ / ملغ من المستخلصات النباتية.

استخدمت أربع طرق لكشف قدرة المركبات على احتواء الجذور الحرة (DPPH ، ABTS ، Galvinoxyl) ونشاط ارجاع أيون النحاس ؛ CUPRAC لتقييم النشاط مضاد الأكسدة في مستخلصات الأوراق والثمار من نبات *J. phoenicea*.

ظهرت أفضل قيم للنشاط المضاد للأكسدة لدى مستخلصات أسيتات الإيثيل للأوراق والثمار لـ *J. phoenicea*. كان نشاط مضادات الأكسدة في الأوراق أكبر من كل العينات التي تم اختبارها بقيمة IC 50 تصل إلى 4.39 ± 0.12 ميكروغرام / مل.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من مختلف مستخلصات الأوراق والثمار من نبات العرعر الفينيقي وفقا لطريقة الانتشار في الأقراص وطريقة التخفيف ، ضد أربعة سلالات بكتيرية ممرضة ؛ *Escherichia coli* ATCC 25922 ، *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 ، *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Bacillus cereus* ATCC 10876. حيث أظهرت مستخلصات الميثانول من الأوراق والثمار أكبر نشاط.

الكلمات المفتاحية: *Juniperus phoenicea* L ؛ مركبات الفينول. الأنشطة المضادة للأكسدة. الأنشطة المضادة للجراثيم.

Remerciements

En préambule, je souhaite rendre grâce à Dieu, le Clément et Miséricordieux de m'avoir donné la force, le courage et la patience de mener à bien ce modeste travail.

*Je tiens à remercier sincèrement mon encadrant Mme **FERHI Selma**, enseignant MAA à l'Université Larbi Tebessi Tébessa, de m'avoir suivi et dirigé tout au long de la réalisation de ce mémoire. Je la remercie aussi pour la confiance qu'elle a placée en moi, pour sa disponibilité permanente, pour sa patience et ses conseils.*

*Je souhaite également remercier les membres du jury, Mme **TALEB Salima** enseignante MCB à l'Université Larbi Tebessi Tébessa qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être président de jury.*

*Je remercie également Mr. **ZOUAOUI Nassim**, enseignant MAA à l'Université Larbi Tebessi Tébessa, pour l'importance qu'il a accordé à mon travail en acceptant d'être membre de ce jury et pour le temps qu'il a consacré à l'examen de ce mémoire.*

Enfin, mes remerciements vont également à l'équipe du centre de recherche en biotechnologie C.R.Bt, Constantine, à mes chers collègues et amis de l'université de Tébessa, à tous ceux et celles qui, de près ou de loin, m'ont apporté aide et encouragements. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I : Matériels et méthodes		
I.1. Matériels		
I.1.1.	Matériel végétal	04
I.1.2.	Matériels du laboratoire et verreries	04
I.1.3.	Produits chimiques et souches	05
I.2. Extraction et Activités biologiques		
I.2.1.	Extraction	05
I.2.1.1.	Préparation des extraits à tester	05
I.2.2.	Composition phytochimique des extraits	08
I.2.2.1.	Dosages des polyphénols totaux	08
I.2.2.2.	Dosages des flavonoïdes totaux	08
I.2.3.	Activité antioxydante	09
I. 2. 3. 1.	Activité antiradicalaire au DPPH	09
I.2.3.2.	Activité du piégeage de l'ABTS	10
I.2.3.3.	Test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)	11
I.2.3.4.	Test de Test de piégeage du radical Galvinoxyl	11
I.2.3.5.	Etude de la proximité des différents tests de l'activité antioxydante	12
I.2.4.	Activité antibactérienne	13
I.2.4.1.	Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode diffusion en disque	13
I.2.4.2.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), par la méthode des micro-dilutions	14
I.2.5.	Analyses statistiques	15
Chapitre II: Résultats et discussion		
II.1.	Extraction	16

II.1.1.	Rendement d'extraction	16
II.2.	Composition phytochimique des extraits	17
II.3.	Activité antioxydante	19
II.3.1.	Activité antiradicalaire au DPPH	19
II.3.2.	Activité du piégeage de l'ABTS	22
II.3.3.	Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)	25
II.3.4.	Test de piégeage du radicale Galvinoxyl GOR	28
II. 3. 5.	Etude de la proximité des différents tests de l'activité antioxydante	33
II.4.	Activité antibactérienne	34
II.4.1.	Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode diffusion en disque	34
II.4.2.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), par la méthode des micro-dilutions.	39

Conclusion

Références Bibliographie

Annexes

Liste des tableaux

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	Concentrations des extraits à tester	06
2	Composition phytochimique des extraits de <i>Juniperus phoenicea L.</i>	17
3	Récapitulatif des extraits les plus antioxydants	33
4	Matrice de proximité entre des différents tests de l'activité antioxydante	34
5	Résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en disque	34
6	CMI correspondant aux dilutions moins turbides par la méthode de micro-dilutions	39

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	La plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.	01
2	Schéma d'extraction de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	04
3	Réduction du radical DPPH	07
4	Réduction de l'ABTS	07
5	Réaction de CUPRAC	08
6	Formule structurelle du galvinoxyl radical	08
7	Rendement des extraits de <i>J. phoenicea</i> L.	13
8	Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	17
9	CI 50 (DPPH) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	18
10	Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	18
11	CI 50 (DPPH) des extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	19
12	Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	20
13	CI 50 (ABTS) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	21
14	Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	21
15	CI 50 (ABTS) des extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	22
16	Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC par les extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	23
17	A 0.5 (CUPRAC) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	24
18	Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC par les extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	24
19	A 0.5 (CUPRAC) des extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	25
20	Test de la capacité antioxydante GOR par les extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	26
21	CI 50 (GOR) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	26
22	Test de la capacité antioxydante GOR par les extraits des baies de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	27

23	CI 50 (GOR) des extraits des feuilles de <i>Juniperus phoenicea L.</i>	28
24	Comparaison des IC 50 de chaque test.	29
25	Inhibition du <i>S. aureus</i> par l'extrait méthanolique des feuilles.	33
26	Inhibition du <i>S. aureus</i> par l'extrait méthanolique des baies.	33
27	Inhibition du <i>S. aureus</i> par l'extrait acétate d'éthyle des baies.	33
28	Inhibition du <i>S. aureus</i> par l'extrait chloroformique des baies.	33
29	Inhibition du <i>E. coli</i> par l'extrait acétate d'éthyle des baies.	34
30	Inhibition du <i>E. coli</i> par l'extrait chloroformique des baies.	34
31	Inhibition du <i>B. cereus</i> par l'extrait méthanolique des baies.	34
32	Inhibition du <i>B. cereus</i> par l'extrait chloroformique des baies.	34
33	Inhibition du <i>S. enteritidis</i> par l'extrait méthanolique des feuilles.	35
34	Inhibition du <i>S. enteritidis</i> par l'extrait acétate d'éthyle des feuilles.	35
35	Inhibition du <i>S. enteritidis</i> par l'extrait butanolique feuilles.	35
36	Inhibition du <i>S. enteritidis</i> par l'extrait méthanolique des baies.	35
37	Inhibition du <i>S. enteritidis</i> par l'extrait acétate d'éthyle des baies.	36
38	Inhibition du <i>S. enteritidis</i> par l'extrait chloroformique des baies.	36

Liste d'abréviations

ABTS: 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ATCC: American Type Culture Collection

BHA: ButylHydroxyAnisole

BHT: ButylHydroxyToluene.

CI50 : Concentration Inhibitrice à 50%

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CUPRAC: Cupric Reducing Antioxidant Capacity

DPPH: 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl

GOR: Galvinoxyl radical

Introduction générale

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (Bouzouita et al., 2008).

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Elles constituent une source importante de molécules bioactives qui font généralement partie des métabolites secondaires (Haddouchi et al., 2014). Face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives et à large spectre d'action est devenue une nécessité (Haddouchi et al., 2013).

L'Algérie, par sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques (Emberger L., 1971).

Le genre *Juniperus* est une composante importante des écosystèmes arides et semi-arides de l'hémisphère nord (Farjon, 1992 et Adams, 2008).

L'espèce de *Juniperus* est considérée comme une plante médicinale importante largement utilisée en médecine traditionnelle. La décoction de graines de *Juniperus* est utilisée comme médicament traditionnel pour les maladies du rein et comme diurétique et avorté en Ouzbékistan (Ramdani et al., 2013).

Juniperus phoenicea est un arbre à feuilles persistantes indigène de l'Afrique du Nord et appartient à la famille Cupressaceae. Les feuilles de l'espèce *Juniperus phoenicea* sont utilisées sous forme de décoction pour traiter la diarrhée, les rhumatismes (Bellakhder, 1997). Le mélange de feuilles et de baies de cette plante est utilisé comme agent hypoglycémiant oral (Amer et al., 1994), alors que les feuilles sont utilisées contre les maladies broncho-pulmonaires et comme diurétique (Bellakhder, 1997).

De nombreux composants polyphénoliques nutritionnels extraits de plantes sont des antioxydants hautement efficaces *in vitro* par rapport aux vitamines E et C, et pourraient donc contribuer considérablement à la propriété défensive *in vivo*. Les antioxydants sont normalement mélangés à plusieurs produits alimentaires afin d'empêcher les réactions radicalaires en chaîne de l'oxydation. Ils empêchent le processus de début et de

transmission qui stoppe la réaction et interrompre le processus d'oxydation. En raison de problèmes de sécurité liés aux composés chimiques artificiels, le secteur de la fabrication d'aliments s'est tourné vers les antioxydants à base de plantes. En outre, l'inclination des consommateurs pour les antioxydants naturels est de plus en plus à la mode, ce qui a incité davantage à explorer les sources naturelles d'antioxydants (Doughari, 2012).

le principal avantage des nouveaux agents naturels est qu'ils ne présentent pas la «résistance aux antibiotiques», un phénomène couramment rencontré lors de l'utilisation à long terme d'antibiotiques (Ennajjar et al., 2009).

Les phyto-composés utilisés par les plantes pour les défendre contre les phyto-pathogènes ont démontré leur pertinence dans les médicaments destinés à l'homme (Nascimento et al., 2000).

Les mécanismes d'oxydations des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire (Chavéron 1999).

Globalement, ce processus conduit à des hydrocarbures, des aldéhydes, des cétones, des acides, des esters, des peracides, des peroxydes, mais aussi à des produits de polymérisation. Sous son effet, l'aliment accuse une perte de qualité nutritionnelle ou organoleptique (rancissement, changement de couleur...). Pour limiter l'oxydation, l'industrie agroalimentaire peut baisser le taux d'oxygène (immersion, vide, atmosphère sous azote), ralentir les réactions par réfrigération ou congélation, détruire les enzymes d'oxydation (polyphénol oxydases) par blanchiment, et user d'antioxydants inhibant l'oxydation induite par l'oxygène moléculaire. En limitant les risques de radicaux libres, la présence d'antioxydants, combinée à d'autres techniques, est indispensable à la stabilité des produits. Si l'oxydation résulte uniquement d'une réaction avec l'oxygène, l'antioxydant est alors un antioxygène (Marc et al., 2004).

L'antioxydant alimentaire idéal, et facilement incorporable et efficace à faible dose, est non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable. Résistant aux processus technologiques, il est stable dans le produit fini. Les molécules à bas $E^{\circ}_{ox/red}$ aptes à ralentir, retarder ou prévenir les processus d'oxydation sont en fait des agents de prévention ou de terminaison capables d'éviter ou de piéger les radicaux libres (Marc et al., 2004).

L'action préventive bloque l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou en déviant de l'aliment des effets de lumière ou des rayonnements. En tant qu'agents de terminaison (piégeage de radicaux), les antioxydants transforment les radicaux en composés plus stables et bloquent la phase de propagation. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs de H• souvent aromatique, cas des dérivés du phénol (tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...). De nombreux polyphénols d'origine végétale : vitamine E (d-tocophérol), flavonoïdes et flavones, caroténoïdes et vitamine C (acide L-ascorbique) sont des antioxydants naturels disponibles (Moure et al., 2001).

Actuellement, de nombreux types d'antioxydants synthétiques, tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroquinone butylique tertiaire (TBHQ) et le gallate de propyle (PG), couramment utilisés dans les aliments transformés, ont des effets toxiques et des effets cancérigènes sur la santé humaine (Kutlu et al., 2014).

Récemment, il y a eu un intérêt considérable pour la recherche d'antioxydants naturels à partir de matériaux végétaux pour remplacer ceux synthétiques (Çakmak et al., 2012).

La Phytothérapie peut donc se définir comme étant une discipline allopathique destinée à prévenir et à traiter certains troubles fonctionnels et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes (Wichtl et Anton, 2003).

Dans la recherche de nouveaux antioxydants naturels, certaines plantes ont été étudiées ces dernières années pour leurs composants antioxydants et anti-radicalaires, mais il existe toujours une demande pour plus d'informations sur le potentiel antioxydant des espèces végétales (Chanda et al., 2010 et Raho Ghalemet al., 2016).

Dans la littérature, de nombreux articles font état de la composition chimique des extraits des feuilles et des baies de l'espèce *Juniperus*, mais peu d'études ont examiné leur activité antioxydante et antimicrobienne.

Par conséquent, l'objectif de cette étude était d'étudier les activités antioxydante, antimicrobienne des divers extraits des feuilles et baies de la plante *Juniperus phoenicea* L. et de comparer ces activités biologiques, dans le but de contribuer à leur utilisation comme produits alternatifs pour les antioxydants synthétiques, le contrôle microbien et la conservation des aliments.

Matériel & Méthodes

La partie expérimentale de ce projet de fin d'études a été effectuée au sein des laboratoires du centre de recherche en biotechnologie, C.R.Bt, Constantine.

I. 1. 1. Matériel végétal

La plante *Juniperus phoenicea* L. a été récoltée au début du mois de Novembre 2018, à *Djebel Doukkane* aux environs de la ville de Tébessa dans l'est algérien, à une altitude de 960 m (35° 22'47.2'' N, 8° 05'02.5''E). Les feuilles et les baies de la plante ont été triées et lavées pour éliminer les impuretés (sable et polluants) puis séchées à l'aide d'un lyophilisateur. Après le séchage, les feuilles et les baies ont été récupérées et broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine et homogène. Le stockage a eu lieu dans un endroit sec, frais et à l'abri des rayons solaires.



Figure 1. La plante *Juniperus phoenicea* L.

I. 1. 2. Matériels du laboratoire et verreries

Broyeur (Kinematica AG IP X1), balance à plateau (OHAUS Explorer), balance analytique, (OHAUS Discovery), micropipettes 1000 µl, 500 µl, 200 µl variable (Eppendorf), lecteur microplaques 96 puits (Perkin Elmer, Enspire), Rotavapor (Buchi R-215), lyophilisateur (Christ Alpha 1-2 LD plus).

Erlenmeyer 1000 ml, 500 ml, 250 ml, bécher 500 ml, ampoule à décantier 250 ml, papier filtre wattman G01.

I. 1. 3. Produits chimiques et souches

Acide 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), 2,2'-azinobis- (3 – éthylbenzothiazoline – 6 - sulfonique (ABTS), Hydroxyanisole butyle (BHA), Hydroxytoluène butyle (BHT), Persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$), Acétate d'ammonium ($ACNH_4$), Acide Gallique, $CuCl_2$, FCR (Folin-Ciocalteu réactif), Galvinoxyl, , Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Neocupronin, Nitrate d'aluminium ($Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$), Potassium acétate (CH_3COOK), Quercetin ont été commandés auprès de Sigma –Aldrich (Steinheim, Allemagne), Mueller-Hinton gélose (MHG) auprès de Fluka analytical, Mueller-Hinton bouillon (MHB) auprès de Scarlau microbiology, tous les autres solvants étaient de qualité analytique.

Les bactéries pathogènes gramme (-) : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 et les bactéries pathogènes de gramme (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 ont été commandées auprès de Kwik Stik (USA).

I. 2. 1. Extraction

Le matériel végétal (feuilles et baies) séché et broyé de masse 100 g a subi une macération dans un mélange hydro-alcoolique (MeOH/H₂O ; 80 :20 ; V/V) 3× 24 heures. Le résidu est récupéré après évaporation à sec à une température maximal de 40 °C. L'extrait brut obtenu est dilué avec de l'eau distillée puis laissé au repos pour décantation, cette dernière permet le dépôt de la chlorophylle. Après, on filtre pour obtenir une solution aqueuse qui subit des extractions liquide-liquide par des solvants de polarité croissante (Karakas et al., 2017) ; le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le *n*-butanol successivement. Trois fractions organiques concentrées sont récupérées (Figure 4).

Le rendement d'extraction correspond au pourcentage des principes actifs dissouts dans un solvant organique et/ou aqueux utilisé pour l'extraction. Il est déterminé à partir du poids de l'extrait sec par rapport au poids de la matière végétale sèche réduit en poudre. Le rendement est exprimé en pourcentage massique par rapport à la quantité de matière sèche selon la formule : $R (\%) = (M_1 / M_0) \times 100$. (R % : Rendement en extraits exprimée en g /100g de matière sèche, M₁ : quantité de l'extrait récupérée exprimée en g, M₀ : quantité de la poudre végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g).

I. 2. 1. 1. Préparation des extraits à tester

Une quantité de 4, 2 ou 0, 5 mg des extraits méthanolique, chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique a été dissoute, séparément, dans 1 ml du méthanol, donnant ainsi une concentration initiale de la solution mère (SM), c'est à partir de cette dernière qu'une série de dilution de ½ a été faite pour chaque extrait.

Les concentrations des solutions mères suscitées sont les concentrations avec lesquelles on a pu obtenir - après un traitement des résultats - des valeurs de pourcentage d'inhibition permettant la détermination de la CI₅₀.

La préparation de la S M et les dilutions des extraits est représentée dans le tableau 1.

Tableau 1. Concentrations des extraits à tester.

solution mère (mg/ml)	Dilutions (mg/ml)					
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625
2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,03125
0,5	0,25	0,125	0,0625	0,03125	0,15625	0,0078125

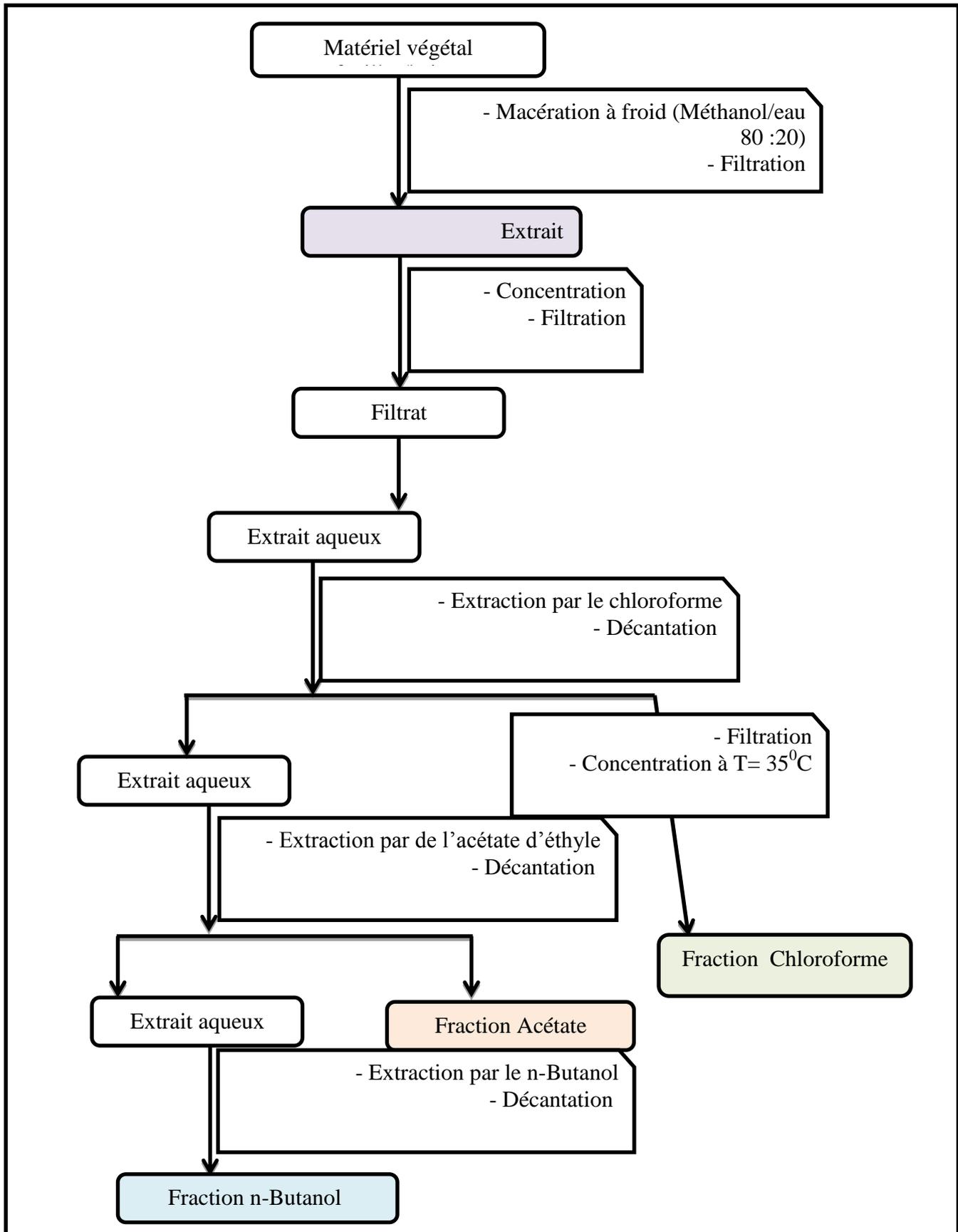


Figure 2. Schéma d'extraction de *Juniperus phoenicea* L.

I. 2. 2. Composition phytochimique des extraits

I. 2. 2. 1. Dosages des polyphénols totaux

I. 2. 2. 1. 1. Principe de la réaction

Le contenu en polyphénols totaux des extraits méthanoliques, d'acétate d'éthyle, chloroformiques et butanoliques des feuilles et des baies est déterminé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010).

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($(\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40})$) et d'acide phosphomolybdique ($(\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40})$) est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène ($(\text{W}_8\text{O}_{23})$) et de molybdène ($(\text{Mo}_8\text{O}_{23})$). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximal aux environs de 750 -765 nm.

I. 2. 2. 1. 2. Mode opératoire

20 μl d'extrait de feuilles/ baies du plante sont introduit dans les puits sur les quelle 100 μl de FCR diluée (1 :10) et 75 μl de carbonate de sodium (7.5%) sont ajouté. Le mélange est incubé dans l'obscurité pendant 2h. Un blanc est parallèlement préparer suivant le même protocole tout en remplaçant l'échantillon testé par le méthanol.

L'acide gallique (50-500 $\mu\text{g}/\text{ml}$) est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Le résultat est exprimé en μg d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

I. 2. 2. 2. Dosages des flavonoïdes totaux

I. 2. 2. 2. 1. Principe de la réaction

La teneur en composés flavonoïdes dans les extraits méthanoliques, d'acétate d'éthyle, chloroformiques et butanoliques des feuilles et des baies est basée sur la formation d'un complexe entre Al^{+3} et les flavonoïdes. La méthode de Topçu et al. (2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

I. 2. 2. 2. Mode opératoire

130 µl de méthanol ont été ajoutés à 50 µl d'extrait de feuilles/ baies de la plante, 10 µl de potassium d'acétate et 10 µl de nitrate d'aluminium ont été ajoutés au mélange précédent. Le mélange a été laissé pendant 40 min. la lecture a été faite à 415 nm. Les blancs ont été préparés en remplaçant les réactifs par le méthanol.

La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétin. Le résultat est exprimé en µg d'équivalents de quercétin par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

I. 2. 3. Activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante des différents extraits des feuilles et baies de la plante *Juniperus phoenicea* L. est testée selon quatre méthodes: la capacité des composés à piéger des radicaux libres (DPPH, ABTS, Galvinoxyl) et l'activité réductrice de l'ion cuprique ; CUPRAC.

I. 2. 3. 1. Activité antiradicalaire au DPPH

L'activité du DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Blois (1958), le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant, son absorption diminue. Brièvement, une solution de 0,4 mM de DPPH préparée dans le méthanol et 160 µl de cette solution ont été ajoutés à 40 µl d'échantillon dilué dans des solutions de méthanol à des concentrations différentes. Trente minutes plus tard, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le BHT a été utilisé comme norme anti-oxydante, pour la comparaison de l'activité avec les extraits utilisés. La faible valeur d'absorbance de la réaction du mélange indique une activité de piégeage des radicaux libres supérieure.

La capacité à piéger le radical DPPH a été calculée selon l'équation suivante

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Extrait}}}{A_{\text{Blanc}}} \times 100$$

A_{Blanc} est l'absorbance de la réaction contenant que les réactifs.

A_{Extrait} est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

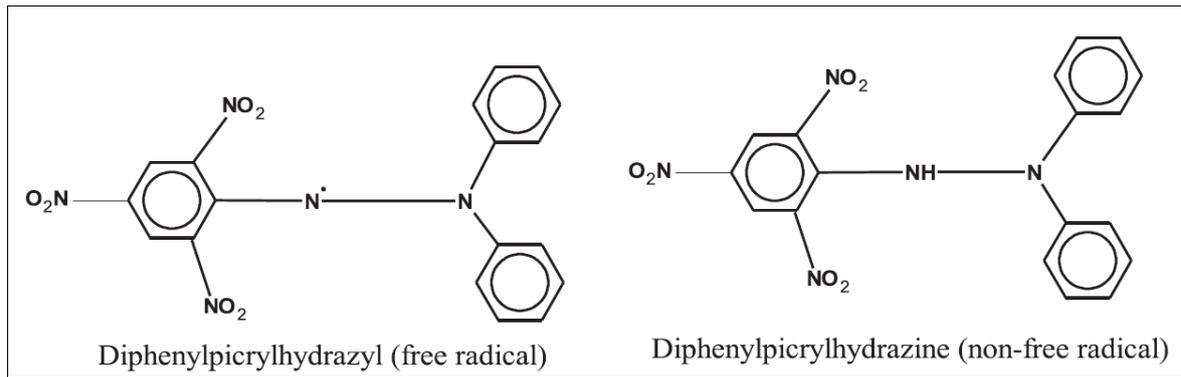


Figure 3. Réduction du radical DPPH (Sridhar et Charles, 2019).

I. 2. 3. 2. Activité du piégeage de l'ABTS

Ce test est déterminé selon la méthode de (Re et al, 1999). A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium K₂S₂O₈: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution, ainsi obtenue, est ajustée par (Ethanol ou H₂O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

160 µL de cette solution d'ABTS ont été ajoutée à 40 µL de différentes concentrations de l'extrait étudié, ainsi que les standards BHA et BHT. Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'extrait par le méthanol. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 734 nm en utilisant le lecteur de microplaque à 96 puits. Chaque analyse a été mesurée trois fois.

La capacité de piégeage de l'ABTS^{•+} a été calculée en utilisant l'équation suivante:

$$ABTS \text{ inhibition } (\%) = \frac{A_{Control} - A_{Extrait}}{A_{Control}} \times 100$$

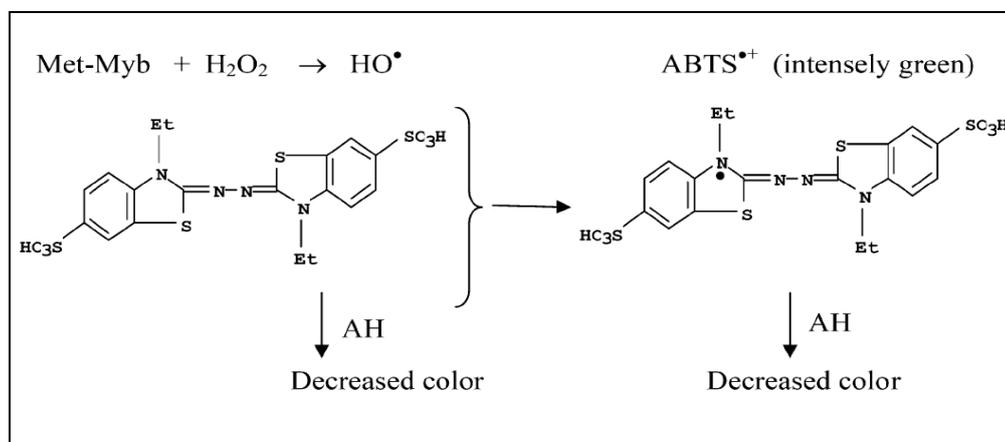


Figure 4. Réduction de l'ABTS (Schaich et al., 2015).

I. 2. 3.3. Test de la capacité antioxydante par réduction de l'ion cuprique (CUPRAC)

Le Cupric reducing antioxidant capacity est déterminé par la méthode CUPRAC (Apak et al., 2004). Pour effectuer cette activité 3 solutions ont été ajoutés au 40 μ l d'extrait, 60 μ l solution d'acétate d'ammonium, 50 μ l de néocuproïne et 50 μ l de la solution de CuCl_2 . Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur de microplaque et incubé pendant une heure. L'absorbance est mesurée à 450 nm.

Les résultats ont été calculés à titre de $A_{0,5}$ ($\mu\text{g} / \text{ml}$) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

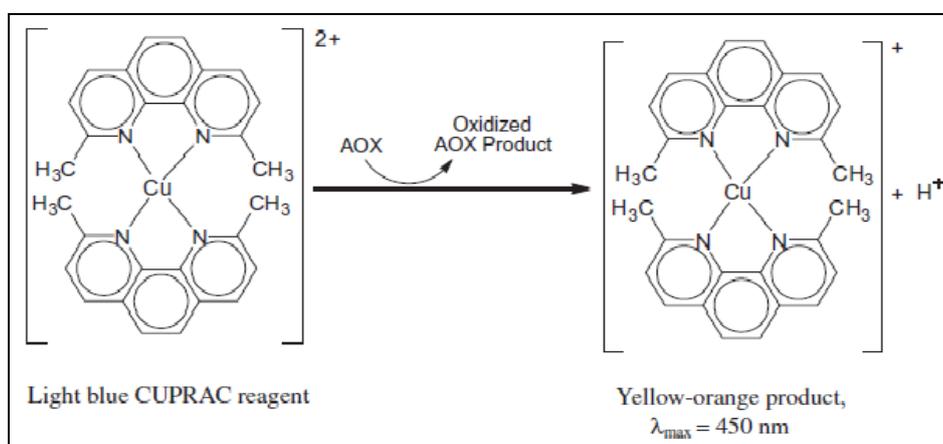


Figure 5. Réaction de CUPRAC (Ozyurek et al., 2011).

I. 2. 3. 4. Test de Test de piégeage du radical Galvinoxyl

L'activité Galvinoxyl radical (GOR) scavenging assay est déterminée par la méthode décrite par Shi H et al. (2001).

40 μ l d'extrait est ajouté à 160 μ l de solution de Galvinoxyl, ce mélange est incubé pendant 120 min. Le témoin négatif contenant 160 μ l de solution de Galvinoxyl avec 40 μ l de méthanol. La lecture est effectuée à une longueur d'onde de 428 nm.

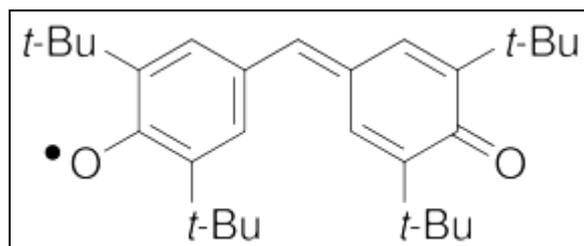


Figure 6. Formule structurale du galvinoxyl radical (Wu et al., 2007).

I. 2. 3. 5. Etude de la proximité des différents tests de l'activité antioxydante

A la marge de notre étude, par calcul du coefficient de corrélation de Pearson, nous avons pu conclure une matrice de proximité entre des différents tests de l'activité antioxydante. La forte corrélation explique la proximité d'une valeur IC_{50} d'un test donné par rapport à chaque autre test effectué, un seuil de 0,7 limite la dissimilarité entre les tests du pouvoir antioxydant.

Zarrouk (2011) explique le coefficient de corrélation de Bravais-Pearson comme étant l'indice statistique qui exprime l'intensité et le sens (positif ou négatif) de la relation linéaire entre deux variables quantitatives. C'est une mesure de la liaison linéaire, c'est à dire de la capacité de prédire une variable x par une autre y à l'aide d'un modèle linéaire.

Il permet de mesurer l'intensité de la liaison entre deux caractères quantitatifs. C'est donc un paramètre important dans l'analyse des régressions linéaires (simples ou multiples). En revanche, ce coefficient est nul ($r = 0$) lorsqu'il n'y a pas de relation linéaire entre les variables (ce qui n'exclut pas l'existence d'une relation autre que linéaire). Par ailleurs, le coefficient est de signe positif si la relation est positive (directe, croissante) et de signe négatif si la relation est négative (inverse, décroissante).

Ce coefficient varie entre -1 et +1 ; l'intensité de la relation linéaire sera donc d'autant plus forte que la valeur du coefficient est proche de +1 ou de - 1, et d'autant plus faible qu'elle est proche de 0.

Une valeur proche de +1 montre une forte liaison entre les deux caractères. La relation linéaire est ici croissante (c'est-à-dire que les variables varient dans le même sens).

Une valeur proche de -1 montre également une forte liaison mais la relation linéaire entre les deux caractères est décroissante (les variables varient dans le sens contraire).

Une valeur proche de 0 montre une absence de relation linéaire entre les deux caractères.

L'existence d'une corrélation élevée entre deux variables x et y ne conduit pas à l'existence d'une relation cause - effet.

On utilise la connaissance de x pour prédire des valeurs de y ; cela n'implique pas qu'un changement de x cause un changement de y .

I. 2. 4. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques, acétate d'éthyle, chloroformiques, butanoliques des feuilles et des baies a été examinée.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles et des baies de la plante *Juniperus phoenicea* L. sur quatre souches bactériennes ; deux bactéries pathogènes de gramme (-) : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 et deux bactéries pathogènes de gramme (+) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876, toutes fournies par le laboratoire de microbiologie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine et ce par deux méthodes ; qualitativement par la méthode de diffusion en disque qui vise à déterminer les zones d'inhibition, et quantitativement par la méthode micro-dilution en bouillon qui vise à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), des différents extraits de la plante.

I. 2. 4. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode diffusion en disque

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en de Pétri ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24h.

Quant à la préparation de la suspension bactérienne, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées dans de l'eau physiologique stérile, après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la standardisation à 10^6 UFC/ml a été réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. La *Do* obtenu doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml selon Mc Ferland.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, méthode décrite par Vincent (1991). Le principe consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte à Pétri. L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact des extraits sur les souches bactériennes.

Les diamètres des zones d'inhibition lorsqu'elles existent ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

I. 2. 4. 1. 2. Mode opératoire

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé Mueller Hinton en surfusion a été coulé aseptiquement à raison de 15ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne et étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum.

Les disques stériles imprégnés de différents extraits à raison de 20µl par disque (Ngameni et al., 2009) ; ont été déposés à l'aide d'une pince sur la surface de la gélose. Des témoins imbibés seulement par le DMSO ont été réalisés. Les boîtes ont été incubées 24 h à 37 °C.

Les résultats seront symbolisés par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits testés : (-) : résistant ($\varnothing < 08$ mm), (+) : Sensible ($09 < \varnothing < 14$ mm), (++) : Très sensible ($15 < \varnothing < 19$ mm) et (+++) : Extrêmement sensible ($\varnothing > 20$ mm) (Fertout-Mouri et al., 2016). Chaque expérience est répétée en duplicate, en même temps et au même endroit.

I. 2. 4. 2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), par la méthode des micro-dilutions

La CMI a été déterminée par la méthode de micro-dilution en bouillon; citée par Haddouchi et al. (2016). 20 mg des extraits ont été dissous dans 1 ml diméthyl sulfoxyde (DMSO). Le test a été effectué dans le milieu Mueller Hinton en bouillon (MHB), contenant 10^6 UFC/ml de souche à tester (100 µl), sur lequel on a effectué des dilutions en série des extraits, allant de la solution mère (20 mg/ml) à la dilution 1/256 (0,39%) dans une microplaque de 96 puits. Des témoins ; négatif (100 µl SM + 100 µl MHB), témoin positif (100 µl souche + 100 µl MHB) et un témoin stérile (200 µl MHB stérile) sont fait pour chaque extrait. Les microplaques ont été incubées à 37 °C, pendant 18 - 24 h. La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'extrait à laquelle le micro-organisme ne montre pas une croissance visible.

La croissance des microorganismes a été indiquée par une turbidité du milieu avec une lecture de l'absorbance à 620 nm (Souza et al., 2015).

I. 2. 5. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI_{50} (Concentration d'inhibition à 50%) et de $A_{0,5}$ (la concentration indiquant 0,50 d'absorbance) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir des deux courbes : [% inhibition = f (concentrations)] pour la CI_{50} et [Absorbance= f (concentrations)] pour la $A_{0,50}$.

Résultats & Discussion

II. 1. Extraction

II. 1. 1. Rendement d'extraction

Quatre solvants de polarités différentes, le méthanol, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le butanol, ont été utilisés pour extraire les différents métabolites secondaires des feuilles et des baies de *Juniperus phoenicea* L. Les rendements de différents extraits obtenus à partir de feuilles et de baies sont présentés dans la figure 7. Le rendement le plus élevé, pour les feuilles et les baies, a été obtenu avec le méthanol (8,26% et 9,54%, respectivement), pour le chloroforme le rendement était de 0,11% et 1,40%, respectivement. Cependant le rendement était 0,53% et 0,22% respectivement. Pour l'acétate d'éthyle, le butanol le rendement a donné 2,60% et 0,28% respectivement. La variation dans les rendements de divers extraits a été attribuée aux polarités de différents composés dans les feuilles et les baies, de telles différences ont été rapportées dans la littérature, cas de Jayaprakasha et al. (2001), qui ont étudié la composition phénolique de vins et d'extraits de certaines variétés de raisin cultivées en Turquie ou la teneur totale en composés phénoliques variait de 522,49 à 546,50 mgGAE/g dans les extraits de semences; de 22,73 à 43,75 mgGAE/ g dans les extraits de peau et de 217,06 à 1336,21 GAEmg/ l dans les vins.

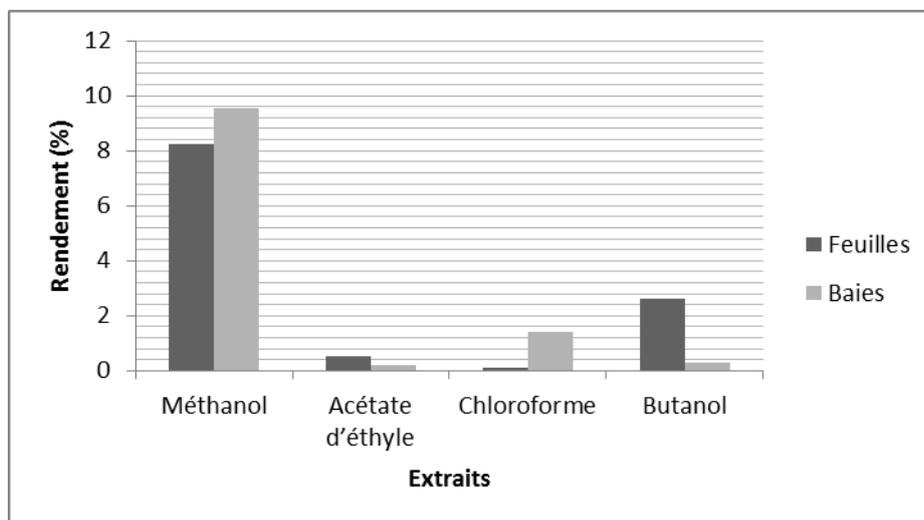


Figure 7. Rendement des extraits de *J. phoenicea* L.

Dane et al. (2015) indiquent que le pourcentage de rendement d'extraction dépend principalement de la procédure d'extraction, en particulier de la température utilisée pour l'extraction, la polarité des composés extraits et le ratio d'extraction des solvants et des échantillons.

II. 2. Composition phytochimique des extraits

Les composés phénoliques sont des molécules bioactif très recherchées, car ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques.

L'objectif était de doser les phénols totaux et les flavonoïdes totaux contenus dans nos extraits par une analyse quantitative par spectrophotomètre (Perkin Elmer, Enspire).

En outre, les flavonoïdes totaux sont un groupe important de métabolites secondaires qui peuvent posséder une activité biologique et avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine. La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée par une méthode colorimétrique.

Les résultats des dosages sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Composition phytochimique des extraits de *Juniperus phoenicea* L.

Extraits		Total phénolique ($\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ d'extrait)	Total Flavonoïdes ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$ d'extrait)
Feuilles	Méthanol	214,44 \pm 16,01	9,47 \pm 0,56
	Acétate d'éthyle	459,78 \pm 9,60	47,34 \pm 2,45
	Chloroforme	94,39 \pm 5,07	ND
	Butanol	263,02 \pm 6,75	5,21 \pm 0,21
Baies	Méthanol	34,78 \pm 4,01	2,80 \pm 0,49
	Acétate d'éthyle	199,49 \pm 7,65	40,25 \pm 5,84
	Chloroforme	5,27 \pm 0,61	0,18 \pm 1,17
	Butanol	184,88 \pm 10,49	8,69 \pm 0,68

La quantité totale des phénols totaux dans les feuilles et les baies varie entre les différents extraits et varie de 5,27 \pm 0,61 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ pour l'extrait chloroformique des baies à 459,78 \pm 9,60 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$ d'extrait de plante pour l'extrait acétate d'éthyle des feuilles, suivi par l'extrait butanolique des feuilles avec une valeur de 214,44 \pm 16,01 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$, puis l'extrait méthanolique avec une valeur de 214,44 \pm 16,01 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$, le chloroforme avait montré la plus faible valeur chez les feuilles (94,39 \pm 5,07 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$). Pour les baies, la plus haute valeur a été enregistrée auprès de l'extrait acétate (199,49 \pm 7,65 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$), suivi par l'extrait butanolique avec une valeur de 184,88 \pm 10,49 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$. L'extrait méthanolique avait enregistré la plus petite valeur (34,78 \pm 4,01 $\mu\text{gEAG}/\text{mg}$).

Par conséquent, Les feuilles de *J. phoenicea* étaient plus riches en polyphénols que les baies. La plus grande quantité de polyphénols se trouvait dans l'extrait d'acétate d'éthyle de feuilles. Cela s'expliquerait par le fait que les rendements d'extraction en polyphénols sont plus élevés avec les solvants de polarité inférieure à celle de l'eau (Ouedraogo et al., 2015).

De plus, pour les flavonoïdes totaux, l'extrait acétate d'éthyle de feuilles était plus riche que celui des baies, avec des valeurs de $47,34 \pm 2,45$ et $40,25 \pm 5,84$ $\mu\text{gEQ/mg}$ d'extrait de plante respectivement. La plus faible teneur en flavonoïdes, avec une valeur de $0,18 \pm 1,17$ $\mu\text{gEQ/mg}$ était enregistrée par l'extrait chloroformique des baies. Des valeurs de l'ordre de $9,47 \pm 0,56$ et $5,21 \pm 0,21$ $\mu\text{gEQ/mg}$ et $2,80 \pm 0,49$ et $8,69 \pm 0,68$ $\mu\text{gEQ/mg}$ ont été enregistrées par les extrait méthanolique et butanolique des feuilles et des baies respectivement.

Fadel et al. (2016) dans l'étude des propriétés antioxydantes de quelques plantes médicinales et aromatiques collectées de la région de Batna (Nord Est algérien), dont *Juniperus phoenicea* L. ont estimé les flavonoïdes pour une teneur de $13,949 \pm 2,180$ $\mu\text{gEQ/mg}$ pour un extrait éthanolique de la partie aérienne de cette plante.

La plus grande quantité des polyphénols totaux estimée par Ennajar et al. (2009) était de 217 ± 2 g GAE/kg pour l'extrait méthanolique des feuilles de *J. phoenicea* et ce, dans leurs étude des activités antioxydante et antibactérienne des divers extraits de la plante *J. phoenicea*, alors que Soltani et al. (2017), en étudiant les activités antioxydantes des extraits de trois organes de *J. phoenicea* L. de l'Ouest algérien, les a estimées à des valeurs maximales de $273,16 \pm 9,3$ et $229,63 \pm 7,5$ mgEAG/g par les extraits éthanolique et méthanolique des rameaux respectivement. Quant aux flavonoïdes l'extrait acétate d'éthyle a exprimé la plus grande teneur ($208,81 \pm 6,8$ mg CE/g).

Ces études ont tous admis que la plus haute quantité des phénols et flavonoïdes était notée dans les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea*. Cette comparaison des quantités de polyphénols et de flavonoïdes en ($\mu\text{g/mg}$) pourrait être utilisée comme un descripteur important pour caractériser les extraits des feuilles et des baies de *Juniperus phoenicea* et par conséquent de cette espèce elle-même.

II. 3. Activité antioxydante

Les plantes sont des sources potentielles des composants chimiques naturels responsables d'activité antioxydante (Balasundram et al., 2006). C'est dans ce contexte que nous avons évalué l'activité antioxydante de nos extraits des feuilles et des baies de la plante *Juniperus phoenicea* par quatre méthodes différentes en l'occurrence la capacité des composés à piéger des radicaux libres (DPPH, ABTS, Galvinoxyl) et l'activité réductrice de l'ion cuprique ; CUPRAC.

Ces tests ont montré visiblement un changement de couleur qui a été analysé par spectrophotométrie à des longueurs d'onde spécifiques.

BHA et/ou BHT sont connus pour leurs propriétés antioxydants et sont utilisés comme contrôles positifs.

II. 3. 1. Activité antiradicalaire au DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie à 517 nm, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune.

Dans ce test les résultats ont été comparés aux standards de référence BHA. Les résultats sont présentés dans les courbes illustrées dans les figures.

Les résultats des CI_{50} , inversement proportionnelles à l'activité antiradicalaire, sont compatibles avec les pourcentages d'inhibition. À partir des résultats obtenus nous remarquons que tous les extraits possèdent un pouvoir anti oxydant plus ou moins important à celui du standard BHA.

II. 3. 1. 1. Les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

La figure 8 révèle que les extraits testés ont plus ou moins une activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH. Les courbes se caractérisent par une inhibition presque totale des radicaux DPPH, $87,09 \pm 0,23\%$, $86,94 \pm 0,32\%$ et $86,73 \pm 0,66\%$ par les extraits butanolique, acétate d'éthyle et méthanolique respectivement et une inhibition partielle $33,10 \pm 0,75\%$ par l'extrait chloroformique.

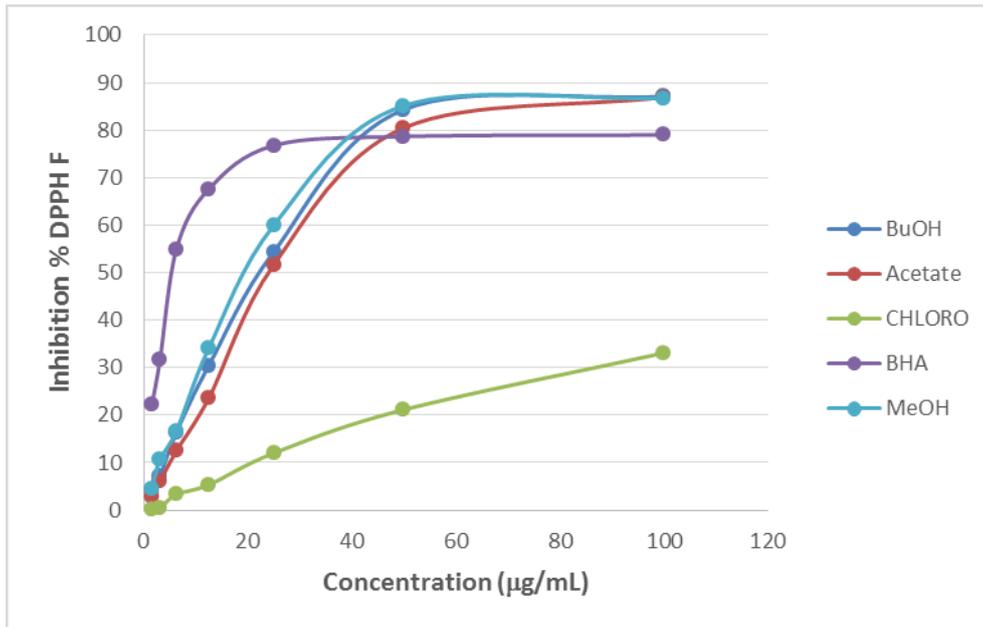


Figure 8. Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

Cette activité est exprimée en CI_{50} , plus la valeur de CI_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Les valeurs des CI_{50} exprimées en $\mu\text{g/ml}$, calculées graphiquement à partir des droites de régression obtenues, représentant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait testé.

Les résultats des CI_{50} , inversement proportionnelles à l'activité antiradicalaire, sont compatibles avec les pourcentages d'inhibition. À partir des résultats obtenues nous remarquons que tous les extraits possèdent un pouvoir anti oxydant modéré par rapport à celui du standard BHA qui est de $CI_{50} = 5,73 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$, c'est le cas de l'extrait méthanolique avec une concentration d'inhibition de l'ordre de $20,38 \pm 1,33 \mu\text{g/ml}$. Concernant l'extrait acétate d'éthyle, son potentiel antioxydant était presque 1/5 de celui de BHA avec une valeur $CI_{50} = 24,41 \pm 0,53 \mu\text{g/ml}$, valeur presque égale de $24,59 \pm 1,53$ pour l'extrait butanolique. L'extrait chloroformique était le moins actif par rapport aux autres extraits et au BHA avec une CI_{50} supérieur à $100 \mu\text{g/ml}$.

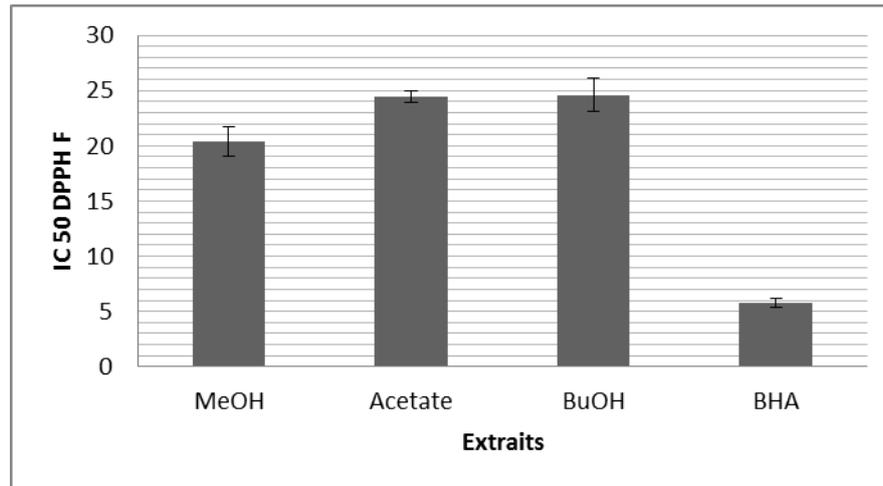


Figure 9. CI 50 (DPPH) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

II. 3. 1. 1. Les extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

La figure 10 révèle que les extraits des baies ont une faible activité antiradicalaire vis-à-vis du radical DPPH. L'extrait chloroformique et méthanolique ont montré les moindres inhibitions avec des valeurs de $4,17 \pm 0,11\%$ et $36,35 \pm 0,90\%$ respectivement. Une inhibition presque totale des radicaux DPPH, $87,52 \pm 0,11\%$ et $78,52 \pm 1,49\%$ par les extraits acétate d'éthyle et butanolique respectivement, a été enregistrée.

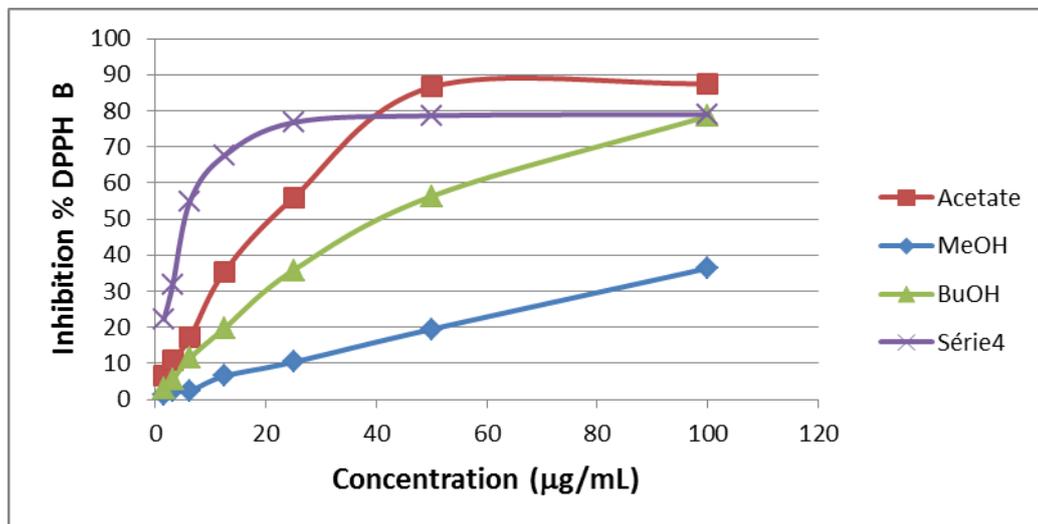


Figure 10. Activité antiradicalaire (DPPH) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

Les résultats de la figure 11 montrent clairement des concentration d'inhibition élevées (supérieures à 100 µg/ml) pour les extraits méthanolique et chloroformique, l'extrait acétate d'éthyle avait la plus petite CI₅₀ avec une valeur de $22,19 \pm 1,37$ µg/ml, 4 fois

supérieure à celle du standard BHA ($5,73 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$), classé ainsi comme étant l'extrait des baies le plus anti oxydant, suivi par l'extrait butanolique avec une CI_{50} modérée de $45,86 \pm 1,52 \mu\text{g/ml}$.

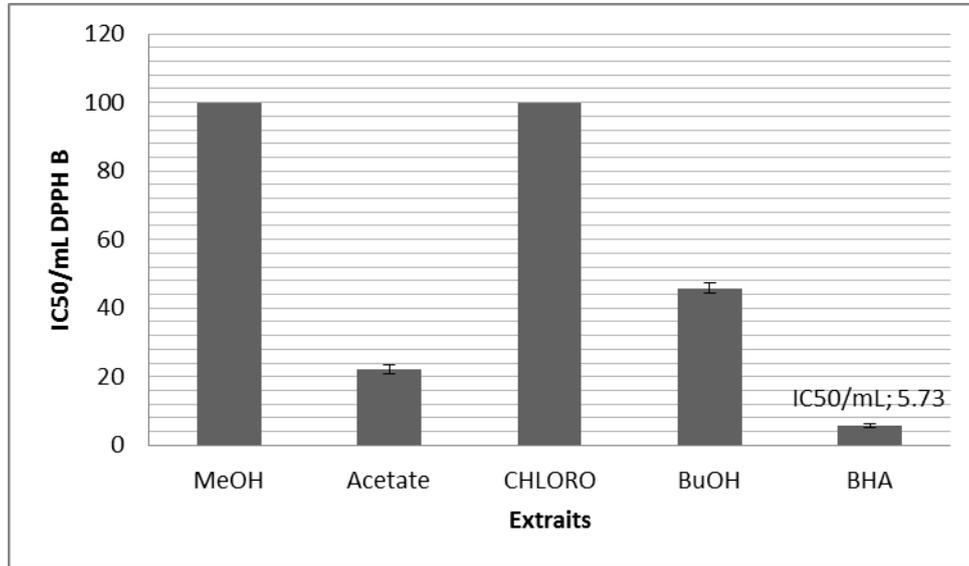


Figure 11. CI_{50} (DPPH) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

II. 3. 2. Activité du piégeage de l'ABTS

Dans cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante des différents extraits en utilisant la méthode basée sur la capacité d'une substance à piéger le radical $ABTS^{\bullet+}$ par rapport à l'antioxydant standard (BHA et BHT). Les résultats sont présentés dans les figures.

II. 3. 2. 1. Les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea L.*

Dans cette méthode nous avons estimé l'activité antioxydante des différents extraits en exploitant la capacité d'une substance à piéger le radical $ABTS^{\bullet+}$ par rapport à l'antioxydant standard (BHA, BHT). Les résultats sont présentés à la figure 14.

Les pourcentages d'inhibition des radicaux libre de l'ABTS par les extraits des feuilles, représentés par les courbes, varient de $79,18 \pm 0,87\%$ à $91,35 \pm 0,13\%$.

Les résultats révèlent que les extraits testés ont plus ou moins une activité antiradicalaire vis-à-vis du radical ABTS. Les courbes se caractérisent par une inhibition presque totale des radicaux ABTS, $91,35 \pm 0,13\%$, $91,12 \pm 0,13\%$ et $91,04 \pm 0,00\%$ par les extraits

butanolique, méthanolique et acétate d'éthyle respectivement et une inhibition moindre $79,18 \pm 0,87\%$ par l'extrait chloroformique.

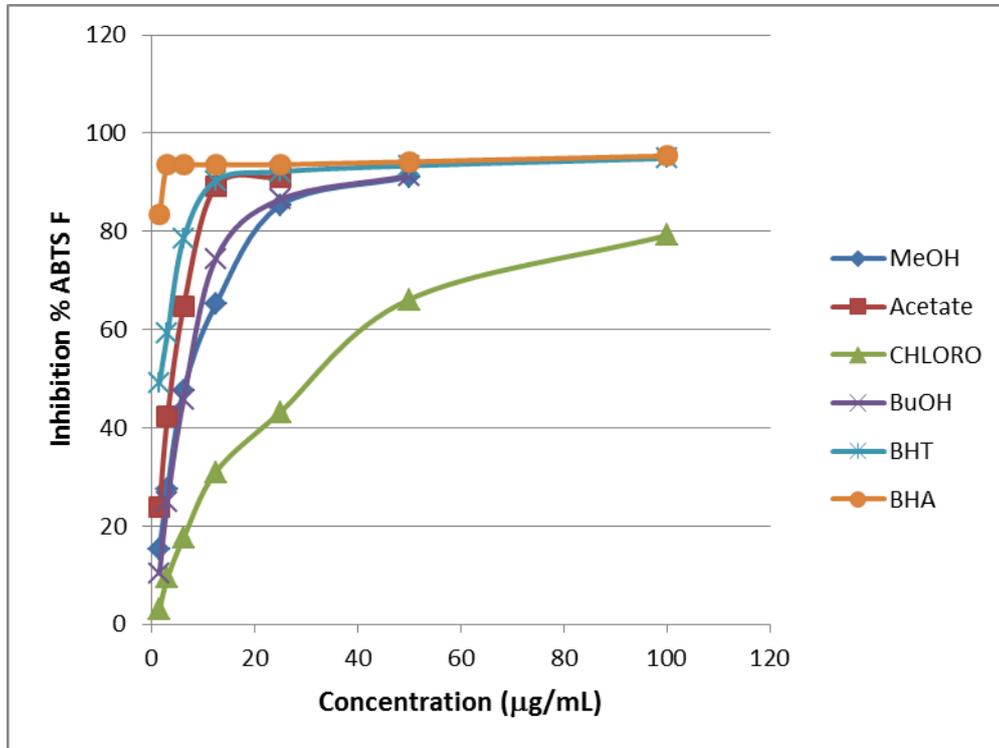


Figure 12. Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

Les extraits acétate d'éthyle, méthanolique et butanolique présentent la plus forte activité de piégeage avec les valeurs CI_{50} $4,39 \pm 0,12$ µg/ml, $6,35 \pm 0,30$ µg/ml et $7,61 \pm 0,36$ µg/ml respectivement possédants ainsi une activité importante et comparable à celle du BHA et BHT ($1,03 \pm 0,00$ et $1,59 \pm 0,03$ µg/ml respectivement).

L'extrait chloroformique a montré la plus faible activité antioxydante moins importante que celui de tous les extraits avec une valeur de $CI_{50} = 32,66 \pm 0,86$ µg/ml.

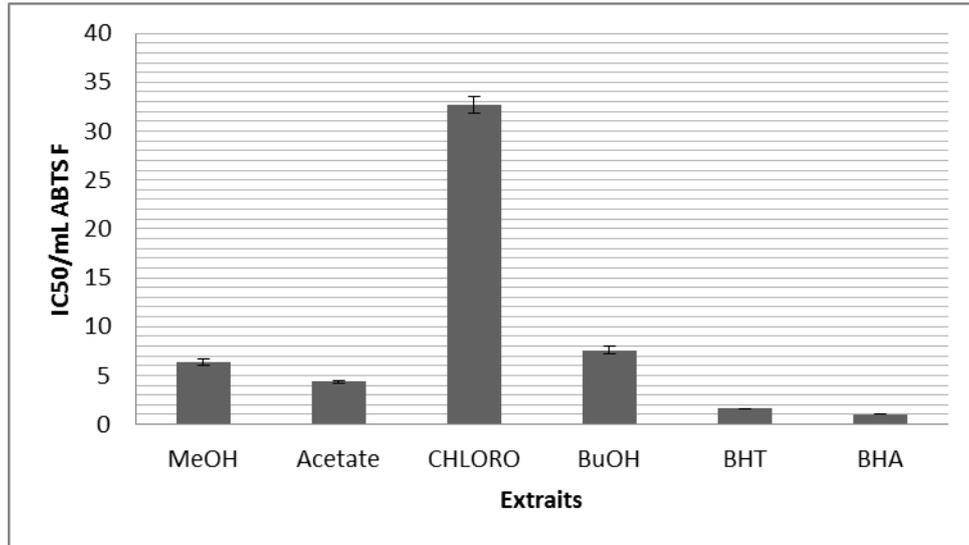


Figure 13. CI 50 (ABTS) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea L.*

II. 3. 2. 2. Les extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

Les courbes montrent des pourcentages élevés d'inhibition des radicaux libre de l'ABTS par l'extrait acétate d'éthyle et butanolique des baies ($90,67 \pm 0,00$ et $91,24 \pm 0,00\%$ respectivement).

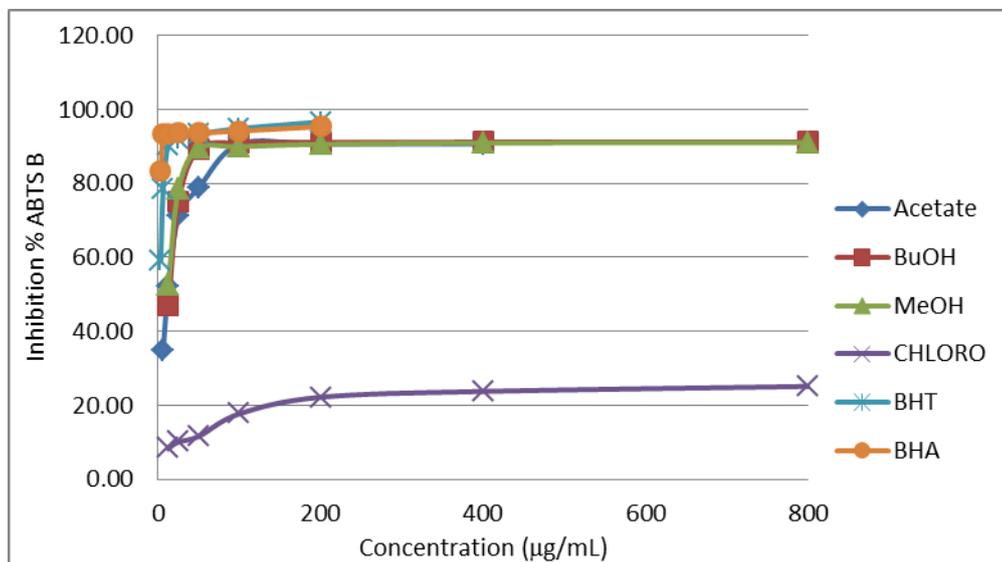


Figure 14. Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

Les CI_{50} étaient plus moins faibles par rapport au standards (plus de 10 fois que les CI_{50} du BHA = 1.81 ± 0.10 et BHT = 1.29 ± 0.30 µg/ml respectivement), avec une valeur de $11,75 \pm 0,10$ µg/ml pour l'extrait acétate d'éthyle et de $13,85 \pm 0,75$ µg/ml pour l'extrait butanolique.

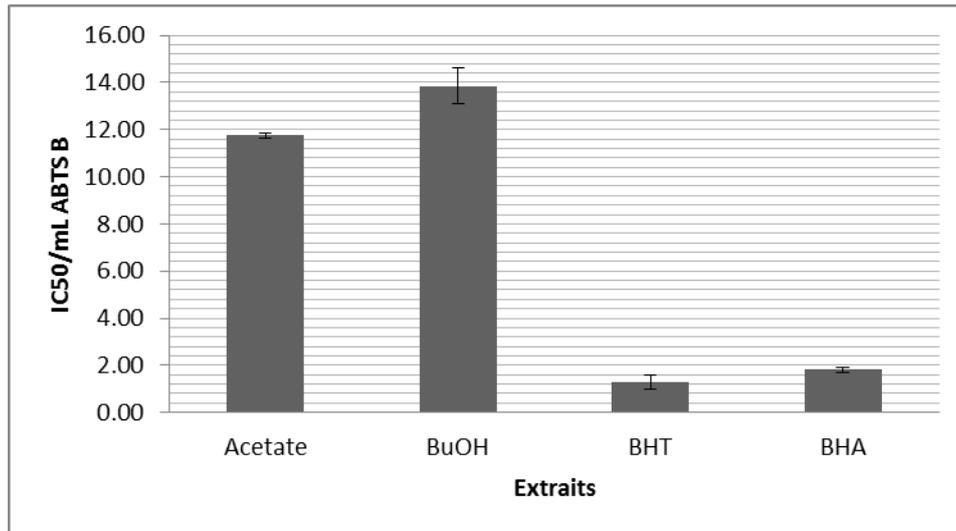


Figure 15. CI 50 (ABTS) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

Les extraits méthanolique et chloroformique n'ont atteint des pourcentages d'inhibition suffisants, du coup, l'évaluation de la CI₅₀ n'a pas eu lieu.

II. 3. 3. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

Dans cette étude nous avons estimé l'activité antioxydante de différents extraits en utilisant la méthode CUPRAC qui est basée sur l'absorbance du chélate du Cu⁺ elle permet de mesurer la réduction des ions cuivrique Cu²⁺ en ions cuivreux Cu⁺. Ce test est colorimétrique et le réactif passant du bleu vert au jaune dans la présence d'antioxydant.

Les résultats ont été comparés à un antioxydant standard (BHA et BHT).

II. 3. 3. 1. Les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

La figure 16 montre que les extraits acétate d'éthyle, butanolique et méthanolique testés ont des pourcentages d'inhibition voisins aux ceux des standards (3,76±0,03 et 2,04±0,14% par le BHA et le BHT respectivement), avec des valeurs de 2,96±0,17%, 1,74±0,11% et 1,25±0,08% respectivement, une inhibition modérée de 0,46±0,02% par l'extrait chloroformique a été constatée.

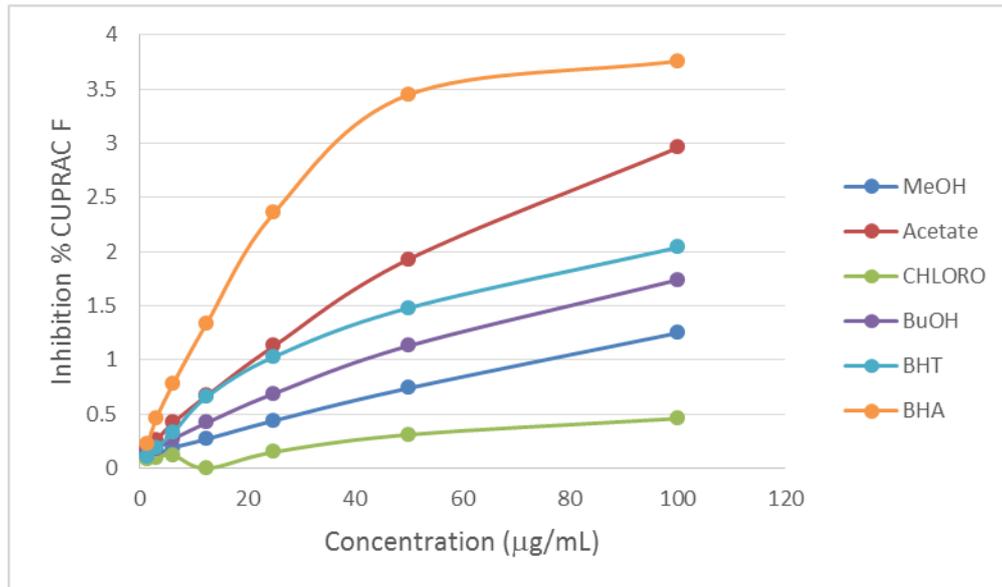


Figure 16. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC par les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

A partir de résultats représentés dans la figure 17 on peut déduire que l'extrait acétate d'éthyle a un pouvoir réducteur de cuivre plus important que celui des autres extraits et supérieur à celui du standard BHT ($8,17 \pm 0,62$ et 9.62 ± 0.87 µg/ml respectivement) et comparable à celui du standard BHA (3.64 ± 0.19 µg/ml).

Les extraits butanolique et méthanolique ont montré une activité réductrice inférieure à ceux de l'extrait acétate d'éthyle et au standard avec des valeurs $A_{0,5} = 16,00 \pm 1,37$ µg/ml et $28,88 \pm 2,65$ µg/ml respectivement. Tandis que l'extrait chloroformique s'est montré incapable de réduire les ions cuivrique Cu^{2+} en ions cuivreux Cu^{+} .

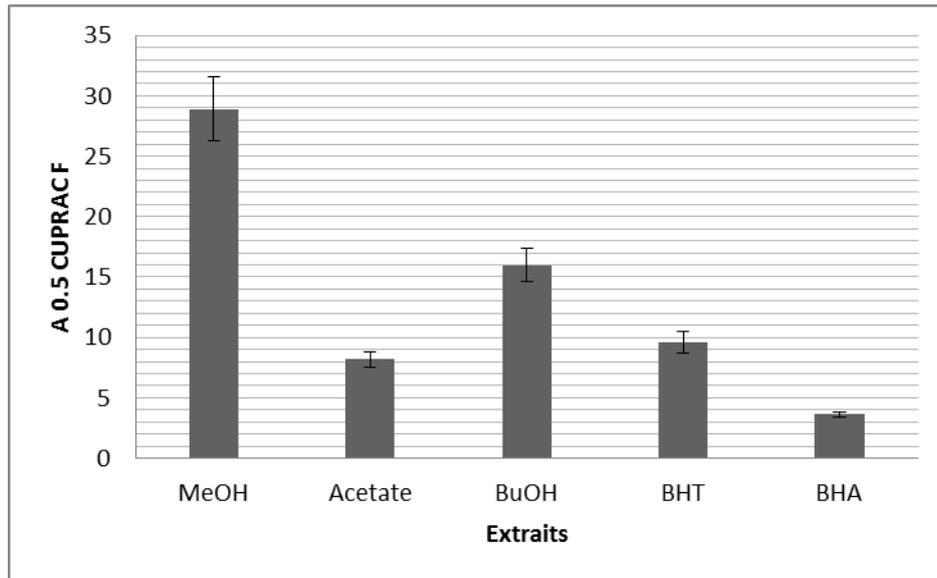


Figure 17. A 0.5 (CUPRAC) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea L.*

II. 3. 3. 2. Les extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

D'après la figure 18, les extraits des baies testés ont enregistré des activités réductrices acceptables voir faibles. Les courbes se caractérisent par des pourcentages d'inhibition faibles, $0,56 \pm 0,02\%$, $1,06 \pm 0,07\%$ par les extraits chloroformique et méthanolique respectivement et des pourcentages acceptables obtenus par l'acétate d'éthyle et butanolique avec des valeurs $3,15 \pm 0,20$ et $2,60 \pm 0,14\%$ de respectivement.

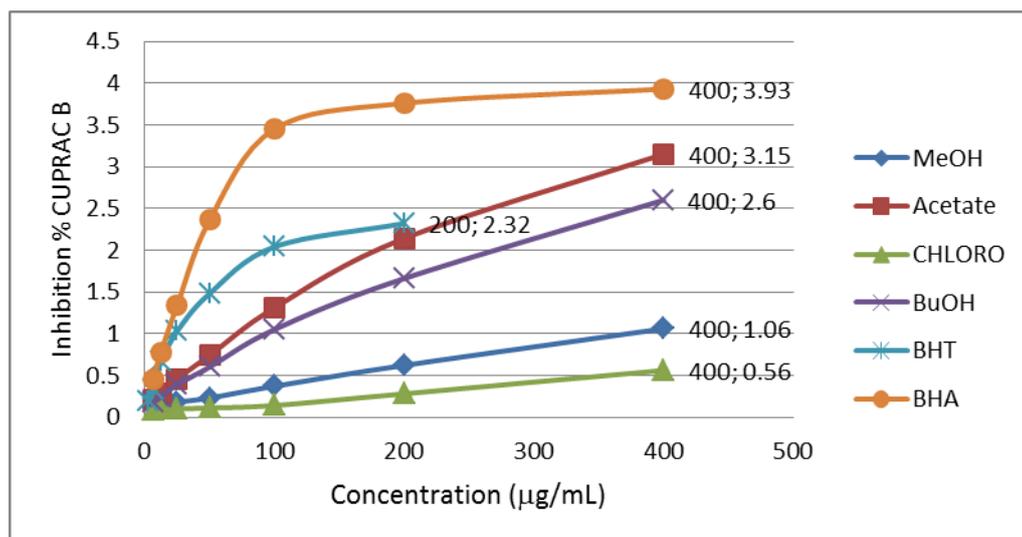


Figure 18. Test de la capacité antioxydante par réduction du cuivre CUPRAC par les extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

Les extraits des baies ont montré des $A_{0,5}$ modérées ($29,74 \pm 3,06$ et $38,31 \pm 0,46$ $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait acétate d'éthyle et l'extrait butanolique respectivement) voir faibles dans le cas des extraits méthanolique et chloroformique avec des valeurs de $153,11 \pm 5,83$ et $358,28 \pm 9,36$ $\mu\text{g/ml}$ respectivement.

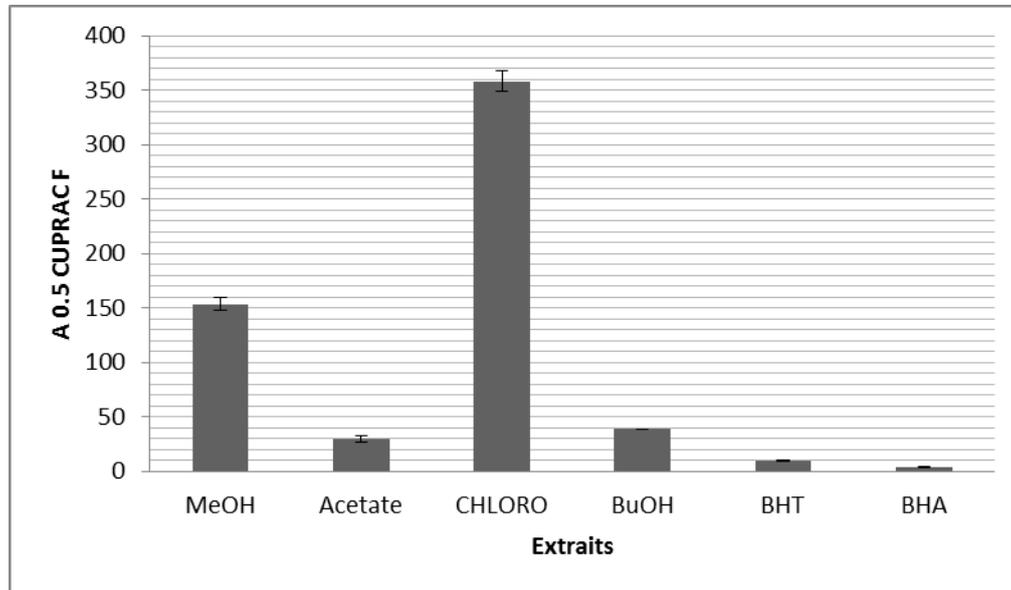


Figure 19. $A_{0,5}$ (CUPRAC) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

II. 3. 4. Test de piégeage du radical Galvinoxyl GOR

La capacité des extraits à donner un atome d'hydrogène a été testée en utilisant le radical libre galvinoxyl. Elle a été mesurée à 428 nm. Les résultats obtenus du test nous ont permis de tracer les graphes de variation de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque extrait.

II. 3. 4. 1. Les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

D'après le graphe (figure 20) on constate que l'extrait acétate d'éthyle a un pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une valeur de $75,40 \pm 0,09\%$ par rapport au standard BHA ($70,60 \pm 0,10\%$). Des valeurs voisines du pourcentage d'inhibition du BHA ont été enregistrées auprès des extraits butanolique et méthanolique ($72,31 \pm 0,22$ et $71,71 \pm 1,53\%$ respectivement). Quant à l'extrait chloroformique, il a montré la plus faible inhibition avec un pourcentage de $11,93 \pm 0,46$.

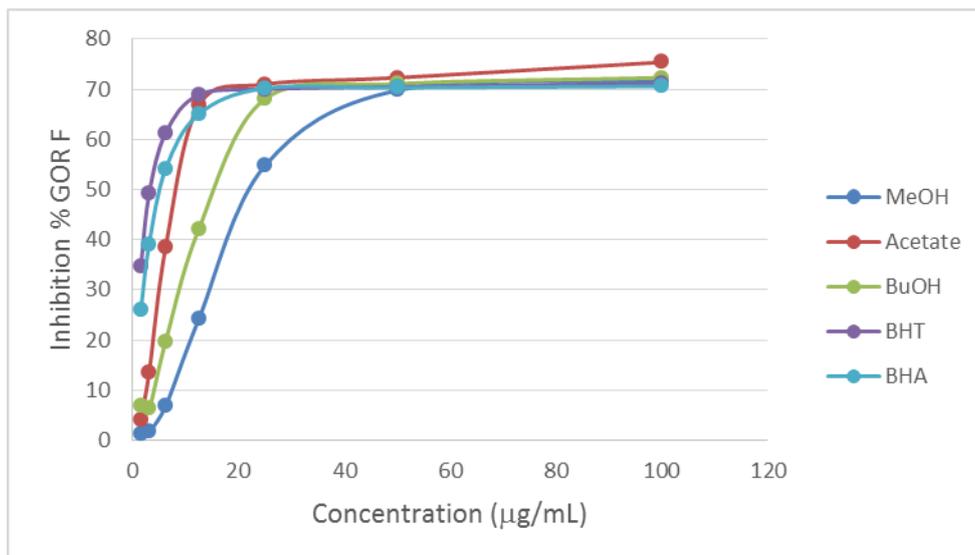


Figure 20. Test de la capacité antioxydante GOR par les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

D'après les valeurs IC_{50} (figure 21) nous constatons que l'extrait acétate d'éthyle a un pouvoir antioxydant le plus élevé avec une $CI_{50} = 9,19 \pm 0,29 \mu\text{g/ml}$ par rapport au standard BHA qui présente une CI_{50} de l'ordre de $5,38 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$.

Des valeurs modérées des concentrations inhibitrices ont été enregistrées auprès des extraits butanolique et méthanolique ($17,25 \pm 0,77$ et $23,08 \pm 1,43 \mu\text{g/ml}$ respectivement). Quant à l'extrait chloroformique, il était incapable de réduire le Galvinoxyl.

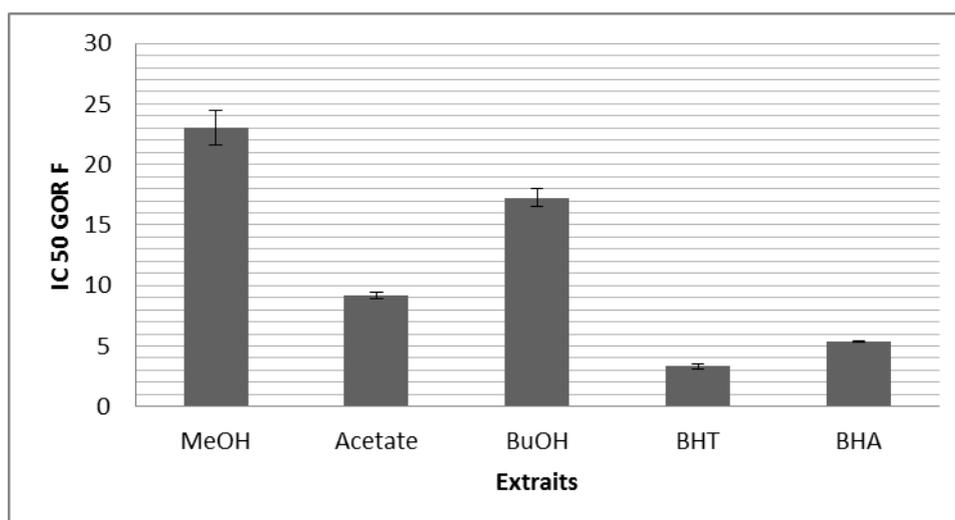


Figure 21. CI_{50} (GOR) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

II. 3. 4. 2. Les extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

La figure 22 montre que l'extrait acétate d'éthyle a un pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une valeur de $88,24 \pm 0,28\%$ par rapport au standard BHA ($70,60 \pm 0,10\%$). Des valeurs supérieures à ceux du pourcentage d'inhibition du BHA ont été enregistrées auprès des extraits butanolique et méthanolique ($76,83 \pm 0,22$ et $75,28 \pm 2,23\%$ respectivement). Quant à l'extrait chloroformique, il a montré la plus faible inhibition ($10,79 \pm 1,16\%$).

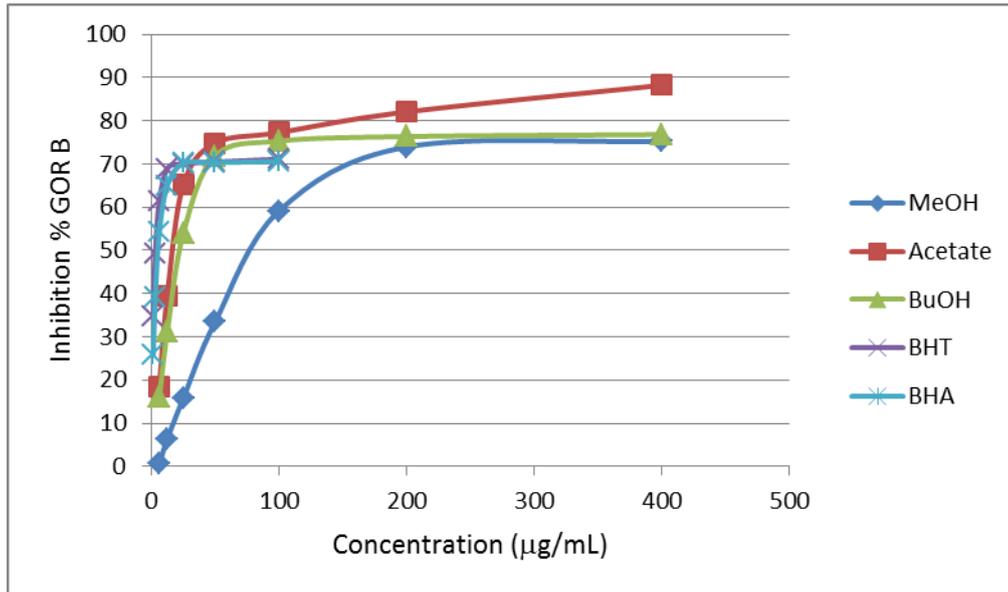


Figure 22. Test de la capacité antioxydante GOR par les extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

Comme pour les feuilles, l'extrait chloroformique des baies n'a pas pu réduire le Galvinoxyl. Quant aux extraits acétate d'éthyles et butanolique, des CI_{50} modérées ($18,27 \pm 0,40$ et $22,79 \pm 0,38$ µg/ml respectivement) par rapport au standard BHA, ont été constatées. L'extrait méthanolique a présenté une CI_{50} très faible avec une valeur de $82,81 \pm 3,16$ µg/ml.

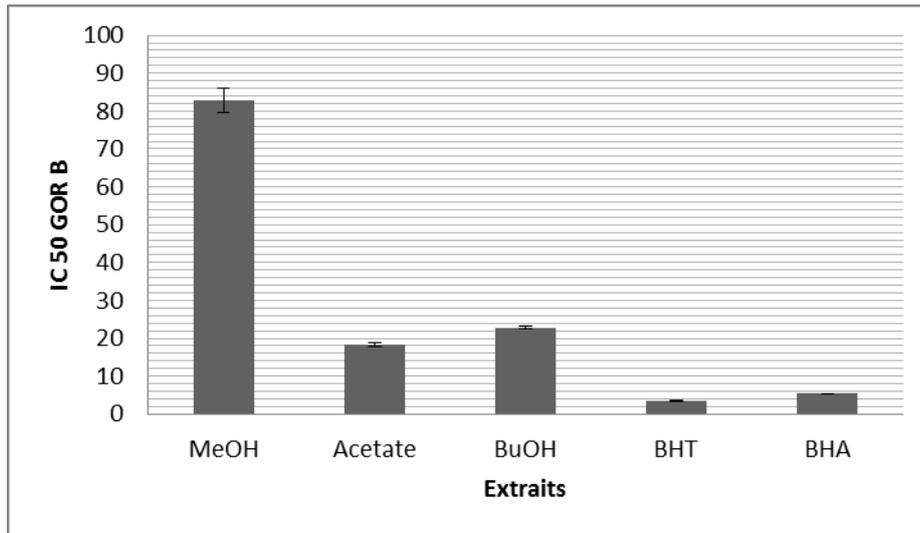


Figure 23. CI₅₀ (GOR) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

En général, les meilleures valeurs de l'activité antioxydante ont été données par les extraits d'acétate d'éthyle des feuilles et des baies de *J. phoenicea* avec une valeur de $4,39 \pm 0,12$ $\mu\text{g}/\text{ml}$.

L'activité antioxydante des feuilles était supérieure à celle de tous les échantillons testés avec une valeur de CI₅₀ de $4,39 \pm 0,12$ $\mu\text{g}/\text{ml}$. Pour les baies, l'activité principale était de $11,75 \pm 0,10$ $\mu\text{g}/\text{ml}$. Nous pouvons en déduire que l'activité antioxydante des feuilles de *J. phoenicea* était meilleure que celle des baies. L'extrait de feuilles d'acétate d'éthyle a montré une activité comparable à la BHA ($1,03 \pm 0,00$ $\mu\text{g}/\text{ml}$).

En comparaison avec la valeur du standard BHA ($1,87$ $\mu\text{g}/\text{ml}$), Fadel et al. (2016), en étudiant les propriétés antioxydantes de quelques plantes médicinales et aromatiques collectées de la région de Batna (Nord Est algérien), en l'occurrence *Juniperus phoenicea*.L. a estimé la CI₅₀ de l'extrait éthanolique de la partie aérienne de la plante obtenue par la méthode du piégeage du DPPH pour une valeur de 403.89 ± 30.87 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Suite à l'étude des activités antioxydante et antibactérienne des divers extraits de la plante *J. phoenicea*, une meilleure activité a été enregistrée par Ennajar et al. (2009), ($8,5 \pm 0,3$ mg/l) via la méthode DPPH avec l'extrait méthanolique des feuilles par rapport une valeur standard (vit C) de $1,9 \pm 0,1$ mg/l.

Le potentiel antioxydant de *Juniperus phoenicea* tunisien, évalué par Keskes et al. (2016) avait enregistré une valeur de CI₅₀ de 28.0 ± 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ avec l'extrait méthanolique par le test DPPH, tandis que l'extrait d'hexane n'a montré aucune activité par cette méthode.

Les extraits éthanolique et aqueux avaient une activité de antioxydante par le test DPPH de valeur de 12 ± 1 et $22,4 \pm 0,6 \mu\text{g/ml}$ respectivement, présentant ainsi un potentiel antioxydant élevé et ce, suite à l'étude du profil phénolique et du potentiel bioactif *in vitro* des espèces sahariennes de *Juniperus phoenicea* L. et de *Cotula cinerea* (Del) en Algérie menée par Ghouti et al. (2018).

El Jemli et al. (2016), cité par Ghouti et al. (2018), ont évalué la capacité de l'extrait aqueux de *Juniperus phoenicea* marocain par la méthode de piégeage de la DPPH ($\text{CI}_{50} = 30,7 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$).

D'après la figure 24 les extraits préparés par différents solvants ont présenté des degrés variables d'activité antioxydante; ce changement de polarité du solvant modifie sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et influence l'estimation de l'activité (Hayouni et al., 2007).

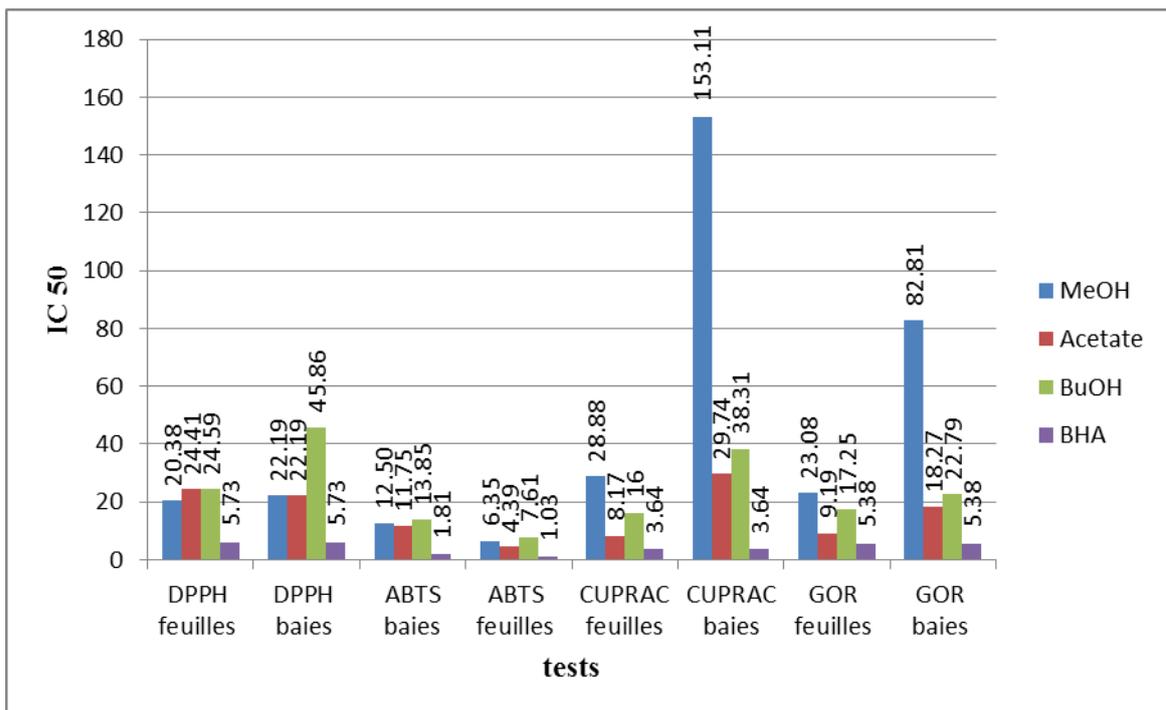


Figure 24. Comparaison des IC 50 de chaque test.

Dans les tests ABTS, CUPRAC et GOR, les extraits d'acétate d'éthyle des feuilles et des baies ont présenté une bonne valeur d'activité antioxydante. Cependant, comparés aux valeurs de l'activité DPPH, ce sont les extraits du méthanol qui ont montré plus d'activité antioxydante. Cela confirme que les valeurs élevées des composés phénoliques dans les

extraits d'acétate d'éthyle contribuent à l'activité d'élimination des radicaux, ces tests prouvent ainsi la capacité de donner de l'hydrogène ou de l'électron à un radical libre (Ferhi et al., 2019). Les résultats ont indiqué que les extraits acétate d'éthyle étaient des antioxydants efficaces dans différents essais *in vitro*, notamment le piégeage des radicaux par l'activité ABTS.

Le tableau 3 présente l'ensemble des CI₅₀ les plus élevées dans chaque test.

Tableau 3. Récapitulatif des extraits les plus antioxydants

Extrait le plus actif	DPPH CI ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	ABTS CI ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	CUPRAC CI ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	GOR A _{0.5} (µg.mL ⁻¹)
feuilles	Méthanol 20,38	Acétate d'éthyle 4,39	Acétate d'éthyle 8,17	Acétate d'éthyle 9,19
baies	Méthanol 22,19	Acétate d'éthyle 11,75	Acétate d'éthyle 29,74	Acétate d'éthyle 18,27

II. 3. 5. Etude de la proximité des différents tests de l'activité antioxydante

La valeur la plus haute du coefficient ($r = 0.998$) entre CI₅₀ (GOR baies/ CUPRAC baies), donne la possibilité de prédiction des résultats, si un des deux tests n'est pas effectués.

Du ce fait, une intra-substitution des résultats pourrait avoir lieu, surtout, dans des travaux d'optimisation et dans l'exécution des plans d'expérience, où on a intérêt à réduire, le nombre et la nature des expériences.

Les résultats sont présentés dans le tableau 4 sont les corrélations entre les CI₅₀ les plus élevées des extraits des feuilles et des baies dans chaque test.

Tableau 4. Matrice de proximité entre des différents tests de l'activité antioxydante.

Matrice de proximité (Coefficient de corrélation de Pearson)								
	ABTS baies	CUPRAC baies	DPPH baies	GOR baies	ABTS feuilles	CUPRAC feuilles	DPPH feuilles	GOR feuilles
ABTS baies	1	0.586	0.870	0.608	0.952	0.627	0.981	0.828
CUPRAC baies		1	0.279	0.998	0.612	0.952	0.455	0.881
DPPH baies			1	0.299	0.927	0.439	0.852	0.680
GOR baies				1	0.625	0.941	0.477	0.895
ABTS feuilles					1	0.727	0.895	0.886
CUPRAC feuilles						1	0.489	0.912
DPPH feuilles							1	0.706
GOR feuilles								1

II. 4. Activité antibactérienne

II. 4. 1. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode diffusion en disque

Afin d'enrichir notre étude, nous avons jugé toute souche ayant une inhibition de diamètre supérieure à celui de disque comme étant sensible, De ce fait, nous avons constaté que les souches bactériennes se comportent différemment vis-à-vis des extraits.

Le tableau 5 résume l'activité antibactérienne, zones d'inhibition des extraits des feuilles et des baies de la plante *Juniperus phoenicea* L., contre bactéries testées.

La zone d'inhibition, mesurée en millimètres, à l'aide d'un pied à coulisse, incluant le diamètre du disque, a été utilisée comme critère de mesure de l'activité antimicrobienne d'extraits de *Juniperus phoenicea*. Le tableau 5 montre que les extraits testés pourraient être classés en fonction de leur activité. Le diamètre des zones d'inhibition était compris entre 6,5 et 13,5 mm.

Tableau 5. Résultats de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en disque.

Échantillon		Microorganisme							
		<i>G (+) : S. aureus</i>		<i>G (-): E. coli</i>		<i>G (+) : B. cereus</i>		<i>G (-): S. enteritidis</i>	
		D	S	D	S	D	S	D	S
Feuilles	Méthanol	10 ±1,41	+	< 06	-	< 06	-	9,5 ±0,71	+
	Acétate d'éthyle	< 06	-	< 06	-	< 06	-	9,5 ±2,12	+
	Chloroforme	< 06	-	< 06	-	< 06	-	< 06	-
	Butanol	< 06	-	< 06	-	< 06	-	9,5 ±0,71	+
Baies	Méthanol	11,5 ±0,71	+	< 06	-	8 ±1,41	-	13,5 ±0,71	+
	Acétate d'éthyle	7,5 ±0,71	-	8 ±1,41	-	< 06	-	8,5 ±2,12	-
	Chloroforme	10,5 ±0,71	+	6,5 ±0,71	-	7,5 ±0,71	-	12±2,83	+
	Butanol	< 06	-	< 06	-	< 06	-	< 06	-

N.B : Diamètre des zones d'inhibition (mm) incluant le disque 6 mm, **D** : diamètre de la zone d'inhibition ; **S** : Sensibilité ; - : Résistante ; + : Sensible ; ++ : Très sensible.

La souche *E. coli* s'est montrée résistante aux extraits méthanoliques des feuilles et baies, tandis que les souches *E. coli*, *S. aureus* et *B. cereus* se sont montrées résistantes aux extraits acétate d'éthyle, chloroformique et butanolique des feuilles. Les quatre souches ont montré une résistance vis-à-vis des extraits chloroformique des feuilles et butanolique des baies. *B. cereus* était résistante vis-à-vis les extraits méthanolique des feuilles et acétate d'éthyle des baies.

Quant aux zones d'inhibition, la souche *S. aureus* vis-à-vis des extraits méthanolique des feuilles avec un diamètre de 10 ±1,41 mm (figure 25), l'extrait méthanolique des baies avec un diamètre de 11,5 ±0,71 mm (figure 26), l'extrait acétate d'éthyle des baies avec un diamètre de 7,5 ±0,71 mm (figure 27), l'extrait chloroformique des baies avec un diamètre de 10,5 ±0,71 mm (figure 28).



Figure 25. Inhibition du *S. aureus* par l'extrait méthanolique des feuilles.



Figure 26. Inhibition du *S. aureus* par l'extrait méthanolique des baies.



Figure 27. Inhibition du *S. aureus* par l'extrait acétate d'éthyle des baies.



Figure 28. Inhibition du *S. aureus* par l'extrait chloroformique des baies.

La souche *E. coli* vis-à-vis des extraits acétate d'éthyle des baies avec un diamètre de $8 \pm 1,41$ mm (figure 29) et l'extrait chloroformique des baies avec un diamètre de $6,5 \pm 0,71$ mm (figure 30).

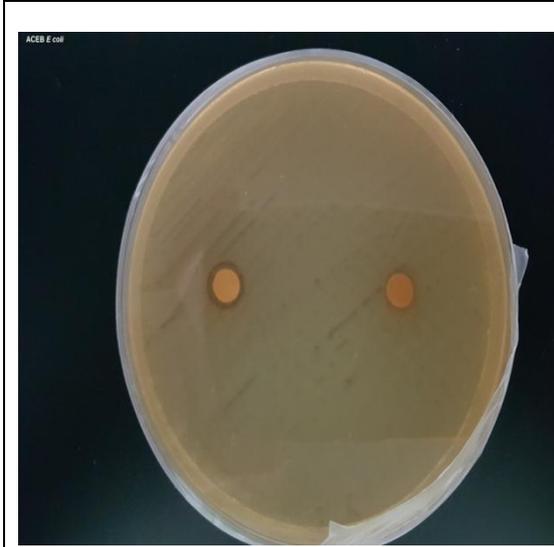


Figure 29. Inhibition du *E. coli* par l'extrait acétate d'éthyle des baies.



Figure 30. Inhibition du *E. coli* par l'extrait chloroformique des baies.

La souche *B. cereus* vis-à-vis des extraits méthanolique des baies avec un diamètre de $8 \pm 1,41$ mm (figure 31) et l'extrait chloroformique des baies avec un diamètre de $7,5 \pm 0,71$ mm (figure 32).

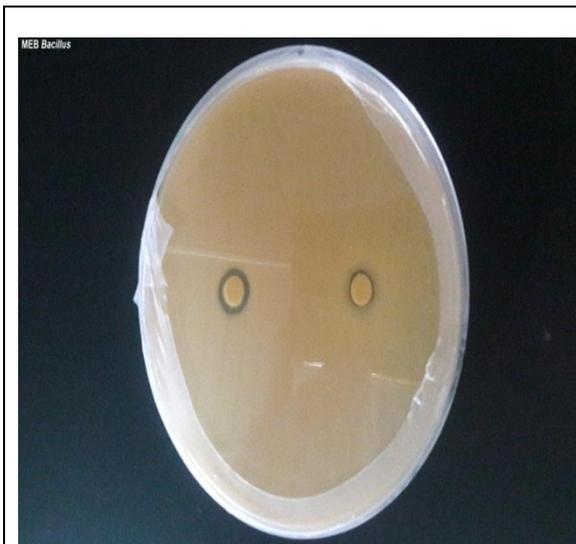


Figure 31. Inhibition du *B. cereus* par l'extrait méthanolique des baies.

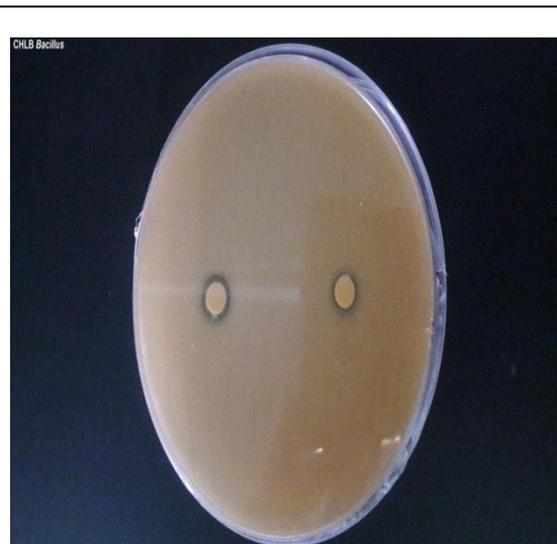


Figure 32. Inhibition du *B. cereus* par l'extrait chloroformique des baies.

La souche *S. enteritidis* vis-à-vis des extraits méthanolique des feuilles avec un diamètre de $9,5 \pm 0,71$ mm (figure 33), l'extrait acétate d'éthyle des feuilles avec un diamètre de $9,5 \pm 2,12$ mm (figure 34), l'extrait butanolique des feuilles avec un diamètre de $9,5 \pm 0,71$ mm (figure 35), l'extrait méthanolique des baies avec un diamètre de $13,5 \pm 0,71$ mm (figure 36), l'extrait acétate d'éthyle des baies avec un diamètre de $8,5 \pm 2,12$ mm (figure 37) et l'extrait chloroformique des baies ($12 \pm 2,83$ mm : figure 38).



Figure 33. Inhibition du *S. enteritidis* par l'extrait méthanolique des feuilles.

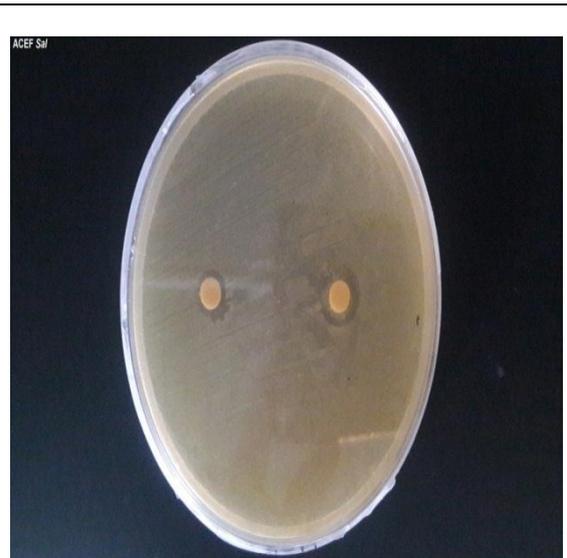


Figure 34. Inhibition du *S. enteritidis* par l'extrait acétate d'éthyle des feuilles.



Figure 35. Inhibition du *S. enteritidis* par l'extrait butanolique feuilles.



Figure 36. Inhibition du *S. enteritidis* par l'extrait méthanolique des baies.

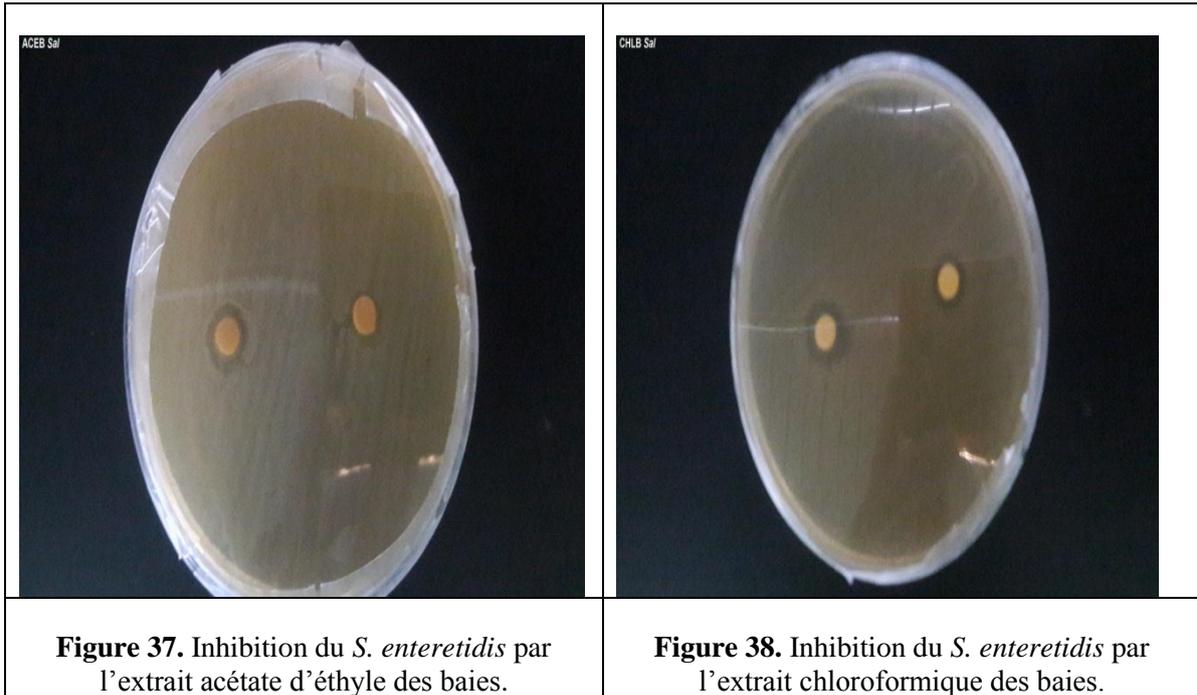


Figure 37. Inhibition du *S. enteritidis* par l'extrait acétate d'éthyle des baies.

Figure 38. Inhibition du *S. enteritidis* par l'extrait chloroformique des baies.

II. 4. 2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), par la méthode des micro-dilutions.

Nous avons déterminé les CMI pour les souches qui ont montré une certaine sensibilité ($\emptyset > 09$), mais aussi, pour les diamètres d'inhibition supérieurs à ceux des disques ($06 < \emptyset < 09$ mm). Les résultats sont représentés dans le tableau.

Le tableau 6 rassemble les CMI des extraits testés.

Tableau 6. CMI correspondant aux dilutions moins turbides par la méthode de micro-dilutions.

Echantillon		Microorganisme			
		<i>G (+) : S. aureus</i>	<i>G (-): E. coli</i>	<i>G (+) : B. cereus</i>	<i>G (-): S. enteritidis</i>
		CMI (%)			
Feuilles	Méthanol	6,25	NT	NT	3,125
	Acétate d'éthyle	NT	NT	NT	100
	Chloroforme	NT	NT	NT	NT
	Butanol	NT	NT	NT	100
Baies	Méthanol	25	NT	1,5625	0,78125
	Acétate d'éthyle	100	100	NT	100
	Chloroforme	3,125	3,125	1,5625	0,78125
	Butanol	NT	NT	NT	NT

Selon le tableau 6, les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 0,78 à 100% d'extrait en solution correspondant respectivement à 0.156 et 20 mg/ml d'extrait de plante.

Les extraits le plus actifs, avec les CMI les plus faibles (0,78%) et sont l'extrait méthanolique et chloroformique des baies contre *S. enteritidis*.

Alors que les extraits acétate des baies et méthanolique des feuilles ont enregistré une grande CMI de 100% contre *S. aureus*, *E. coli* et *S. enteritidis* respectivement et considérée comme la plus faible activité antibactérienne.

B. cereus était inhibée à une CMI de 1,5625% par les extraits butanolique et chloroformique des baies.

Une valeur de 3,125 % de la concentration initiale des extraits était considérée comme une CMI pour *S. aureus*, *E. coli* et *S. enteritidis* par les extraits chloroformique des baies et méthanolique des feuilles respectivement.

Pour les micro-organismes à Gram positif, le micro-organisme le plus sensible était *S. aureus* suivi de *B. cereus*. Par ailleurs, la bactérie la plus sensible chez les bactéries à Gram négatif était *S. enteritidis* avec une inhibition de 13,5 mm obtenue avec des baies à l'extrait du méthanol. *E. coli* a présenté une très faible sensibilité.

Ennajar et al. (2009) ont rapporté des diamètres de zone d'inhibition allant de 11 à 34 mm où les extraits méthanoliques des feuilles et des baies de la plante *J. phoenicea* ont montré la plus grande activité et le microorganisme le plus sensible était *Bacillus subtilis* pour les Gram positives.

Beddou (2015) dans son étude phytochimique et activités biologiques de plantes médicinales du Sahara Algérien en l'occurrence *Anvillea radiata* et *Rumex vesicarius* L., des extraits de ces dernières ont été soumis un criblage pour leur possible activité antimicrobienne in vitro contre six souches de bactéries pathogènes en employant la méthode de diffusion sur disque et la méthode de microdilution en milieu liquide.

L'étude a enregistré des diamètres d'inhibition variant entre 8 et 13 mm vis-à-vis de *B. cereus* obtenus avec les extraits hydro-acétonique et hydro-méthanolique des feuilles d'*A. radiata* respectivement. Cependant, contre la même souche, nous avons enregistré des

diamètres de $8 \pm 1,41$ mm obtenu par l'extrait méthanolique des baies et $7,5 \pm 0,71$ mm par l'extrait chloroformique des baies.

Kahlouche-Riachi (2014) dans son étude portant sur l'évaluation chimique et l'activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie et dans le but de mettre en évidence in vitro les propriétés antibactériennes des extraits hydroalcooliques et les phases acétate d'éthyle, étherdiéthyle et 1 butanol des écorces de *Pinus pinaster*, des sommités fleuries de *Marubium vulgare* et de la partie aérienne d'*Artemisia herba alba* à 25 mg/ml (20 mg/ml dans notre étude), toutes les plantes se sont révélées actives sur une ou plusieurs bactéries par la méthode de diffusion en milieu solide (disque), et la méthode de diffusion en milieu liquide (CMI), les deux extraits *Pinus pinaster* et *Marubium vulgare* ont montré une activité antibactérienne plus élevée sur *Escherichia coli* que l'extrait *Artemisia herba alba*, les zones d'inhibition ont été de 14.33 ± 3.51 et 15.33 ± 2.08 mm respectivement. Cette importante activité a été manifestée sur *Escherichia coli* avec une CMI de 0.195 mg/ml. Dans notre étude des valeurs inférieures à celles suscitées ont été enregistrées, il s'agit de $8 \pm 1,41$ mm obtenu par l'extrait acétate d'éthyle des baies et de $6,5 \pm 0,71$ mm par l'extrait chloroformique des baies, avec une CMI de 3,125 % correspondant à 0.625 mg/ml d'extrait chloroformique des baies.

Les extraits méthanoliques de feuilles et de baies ont montré la plus grande activité antibactérienne. Ces résultats confirment les preuves d'études précédentes selon lesquelles le méthanol est un meilleur solvant pour l'extraction plus cohérente des substances antimicrobiennes à partir de plantes médicinales par rapport à d'autres solvants, tels que l'eau, l'éthanol et l'hexane (Karaman et al., 2003).

Nos données n'ont pas montré de réponse uniforme entre les types de souches bactériennes testées et les résultats de sensibilité aux composés antimicrobiens dans les divers extraits testés. Karaman et al. (2003) a expliqué ces différences de sensibilité entre les microorganismes vis-à-vis des substances antimicrobiennes contenues dans des extraits de plantes par le fait qu'il y a des différences de composition de la paroi cellulaire et / ou de gènes héréditaires sur des plasmides qui peuvent facilement être transférés entre des souches bactériennes.

Dans d'autres études où les résultats indiquent que les bactéries à Gram positif sont les souches testées les plus sensibles aux différents extraits, Burt (2004) rapporte que la tendance des polyphénols et des flavonoïdes pourrait s'expliquer par le fait que les

structures de l'enveloppe cellulaire, y compris la membrane cytoplasmique et le composant de la paroi cellulaire, sont différentes entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe entourant la paroi cellulaire, ce qui limite la diffusion de composés hydrophobes par le biais de son revêtement lipopolysaccharidique. Sans membrane externe, la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif peut être pénétrée plus facilement et peut perturber la membrane cytoplasmique, perturber la force motrice des protons, le flux d'électrons, le transport actif et la coagulation du contenu cellulaire.

Quant à la composition phytochimique des extraits et son effet sur l'action antibactérienne, Kahlouche-Riachi (2014) rapporte que les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries, *Staphylococcus aureus* (Babayi et al. 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska et al. 2006).

Les composés phénoliques de faibles poids moléculaires agissent pratiquement avec la même intensité que ceux ayant un poids moléculaire important. La structure et le degré de polymérisation n'ont donc pas une grande influence sur cette action, comme le signale (Sivakumaran 2004).

Conclusion générale

Notre objectif derrière cette étude était d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne des divers extraits des feuilles et baies de la plante *Juniperus phoenicea* L.

Les rendements des extraits réalisés sur les deux parties de la plante étaient relativement importants. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait méthanolique 9,54%.

Les feuilles de *J. phoenicea* avaient la plus grande proportion en polyphénols par rapport à celle des baies avec une valeur de $459,78 \pm 9,60$ µg EAG/mg d'extrait de plante. Quant aux flavonoïdes, l'extrait acétate d'éthyle de feuilles était plus riche à celui des baies, avec des valeurs de $47,34 \pm 2,45$ µgEQ/ mg d'extrait de plante.

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des extraits des feuilles et des baies de la plante *J. phoenicea*, nous avons pu les tester par le biais de quatre méthodes, et comparer vers la fin les résultats de chaque test par rapport à l'autre.

La meilleure valeur de l'activité antioxydante a été observée auprès de l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles, évalué par la méthode du piégeage de l'ABTS avec une valeur de CI_{50} de $4,39 \pm 0,12$ µg/ ml.

L'activité antibactérienne a été évaluée selon deux méthodes ; diffusion en disque et CMI, pour cela quatre souches pathogènes ; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 ont été testées envers les extraits des feuilles et des baies de la plante *J. phoenicea* L.

La souche *E. coli* s'est montrée résistante aux extraits méthanoliques des feuilles et des baies, tandis que les souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* se sont montrées résistantes aux extraits acétate d'éthyle, chloroformique et butanolique des feuilles. Les quatre souches ont montré une résistance vis-à-vis des extraits chloroformique des feuilles et butanolique des baies. *Bacillus cereus* était résistante vis-à-vis les extraits méthanolique des feuilles et acétate d'éthyle des baies.

Les extraits méthanoliques des feuilles et de baies ont montré la plus grande antimicrobienne par rapport à tous les autres extraits.

A partir des résultats susmentionnés, nous pouvons conclure que les extraits d'acétate d'éthyle dérivés des feuilles et des baies de *J. phoenicea* L. pourraient être considérés comme des alternatives potentielles aux bactéricides synthétiques et des antioxydants naturels destinés à être utilisés dans l'industrie alimentaire, ainsi qu'à leurs applications possibles dans l'industrie pharmaceutique pour la prévention ou le traitement des microorganismes et des radicaux libres. Des recherches supplémentaires sur la bioactivité *in vivo* d'extraits de *J. phoenicea* méritent d'être menées à l'avenir pour mieux exploiter la fonction de ces substances. Ces résultats prouvent la présence possible des composés biologiquement actifs dans les feuilles qui pourraient être utilisés pour la formulation de suppléments et / ou d'ingrédients pour l'industrie alimentaire.

Nos perspectives :

Purifier et tester des molécules des huiles et différents extraits de la plante,

Evaluer le potentiel anti-enzymatique (notamment l'activité antidiabétique) et anti-inflammatoire des différentes parties de la plante.

Références bibliographiques

A

Adams, R. P. (2008). *Junipers of the World. The genus Juniperus*. 402 pp.

Amer, M. M. A., Wasif, M. M., Abo-Aytta, A. M., & Gabr, F. A. A. (1994). Chemical and biological evaluation of *Juniperus phoenicea* as a hypoglycaemic agent. *Zagazig Journal of Agricultural Research (Egypt)*.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

B

Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J. I., & Ijah, U. J. J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri*, 16(2).

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.

Beddou, F. (2015). *Etude phytochimique et activités biologiques de plantes médicinales du Sahara Algérien (Doctoral dissertation, Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid)*, p 125.

Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*, 189.

Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199.

Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la société chimique de Tunisie*, 10, 119-125.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

C

Çakmak, Y. S., Aktumsek, A., & Duran, A. (2012). Studies on antioxidant activity, volatile compound and fatty acid composition of different parts of *Glycyrrhiza echinata* L. *EXCLI journal*, 11, 178.

Chanda, S., Parekh, J., & Baravalia, Y. (2010). Antimicrobial and antioxidant efficacy of various solvent extracts of seeds and fruits rind of *Caesalpinia pulcherrima* Swartz. *Archives of clinical microbiology*, 1(4).

Chavéron, H. (1999). *Introduction à la toxicologie nutritionnelle*. Editions Tec & Doc, 175–83.

D

Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., & Delpino-Rius, A. (2016). Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(6), 2147-2158.

Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D. (2005). *Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques)* (broché). Lavoisier, 547 pages.

Doughari, J. H. (2012). *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents, Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*, Dr Venketeshwer Rao (Ed.), ISBN: 978-953-51-0296-0, InTech, page 13.

E

Emberger, L. (1971). Considérations complémentaires au sujet des recherches bioclimatologiques et phytogéographiques-écologiques. *Travaux de Botanique et d'Ecologie*, 291-301.

Ennajar, M., Bouajila, J., Lebrihi, A., Mathieu, F., Abderraba, M., Raies, A., & Romdhane, M. (2009). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L.(Cupressaceae). *Journal of food science*, 74(7), M364-M371.

F

Fadel, H., Benayache, F., & Benayache, S. (2016). Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants. *Juniperus oxycedrus*, 72-79.

Farjon, A. (1992). The taxonomy of multiseed junipers (*Juniperus* Sect. *Sabina*) in southwest Asia and east Africa (Taxonomic notes on Cupressaceae I). *Edinburgh Journal of Botany*, 49(3), 251-283.

Ferhi, S., Santaniello, S., Zerizer, S., Cruciani, S., Fadda, A., Sanna, D., Dore, A., Maioli, M. & D'hallewin, G. (2019). Total Phenols from Grape Leaves Counteract Cell Proliferation and Modulate Apoptosis-Related Gene Expression in MCF-7 and HepG2 Human Cancer Cell Lines. *Molecules*, 24(3), 612.

Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z., & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*, 85, 253-262.

G

Ghalem, B. R., Malika, O., & Fatiha, S. (2016). Antioxidant Capacity of Essential Oils of Two *Juniperus* Species from Northwest of Algeria. *American Journal of Applied and Industrial Chemistry*, 2(6), 33-36.

Ghouti, D., Rached, W., Abdallah, M., Pires, T. C., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Lazouni, H. A., Barros, L. & Ferreira, I. C. (2018). Phenolic profile and in vitro bioactive potential of Saharan *Juniperus phoenicea* L. and *Cotula cinerea* (Del) growing in Algeria. *Food & function*, 9(9), 4664-4672.

H

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Ksouri, R., Medini, F., Sekkal, F. Z., & Benmansour, A. (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese journal of natural medicines*, 12(6), 415-422.

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Zaouali, Y., Ksouri, R., Attou, A., & Benmansour, A. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry*, 141(1), 253-258.

Haddouchi, F., Zerhouni, K., Sidi-Yekhelef, A., & Chaouche, T. M. Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* Evaluation of antimicrobial activity of different extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.

Hare, J. (2004). Nitroso-redox balance in the cardiovascular system. *New England Journal of Medicine*, 351(20), 2112-2114.

Hayouni, E. A., 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*, 105(3), 1126-1134.

J

Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*, 73(3), 285-290.

K

Kahlouche-Riachi, F. (2014). *évaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie* (Doctoral dissertation, Université de Constantine 1), p 96-résumé.

Karakas, F. P., Turker, A. U., Karakas, A., Mshvildadze, V., Pichette, A., & Legault, J. (2017). In vitro cytotoxic, antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant activities and phenolic content in wild-grown flowers of common daisy—A medicinal plant. *Journal of herbal medicine*, 8, 31-39.

Karaman, I., Şahin, F., Güllüce, M., Ögütçü, H., Şengül, M., & Adıgüzel, A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of ethnopharmacology*, 85(2-3), 231-235.

Keskes, H., Belhadj, S., Jlail, L., El Feki, A., Damak, M., Sayadi, S., & Allouche, N. (2016). LC-MS–MS and GC-MS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian *Juniperus phoenicea* leaves. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 88-95.

Kutlu, T., Takim, K., Çeken, B., & Kizil, M. (2014). DNA damage protecting activity and in vitro antioxidant potential of the methanol extract of Cherry (*Prunus avium* L). *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(19), 715-726.

M

Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecine/sciences*, 20(4), 458-463.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.

Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.

N

Nakajima, K., Nakano, T., & Tanaka, A. (2006). The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: the comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*, 367(1-2), 36-47.

Nascimento, G. G., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian journal of microbiology*, 31(4), 247-256.

Ngameni, B., Kuete, V., Simo, I. K., Mbaveng, A. T., Awoussong, P. K., Patnam, R., Roy, R., Ngadjui, B.T. & Ngadjui, B. T. (2009). Antibacterial and antifungal activities of the crude extract and compounds from *Dorstenia turbinata* (Moraceae). *South African Journal of Botany*, 75(2), 256-261.

O

Ouedraogo, R. A., Koala, M., Dabire, C., Hema, A., Bazie, V. B. E. J. T., Outtara, L. P., Gnoula C., Pale, E. & Nebie, R. H. (2015). Teneur en phénols totaux et activité antioxydante des extraits des trois principales variétés d'oignons (*Allium cepa* L.) cultivées dans la région du Centre-Nord du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(1), 281-291.

Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652-664.

R

Ramdani, M., Lograda, T., Silini, H., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, G., ... & Zerrar, S. (2013). Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(11), 22.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

S

Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Reprint of “Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays”. *Journal of functional foods*, 18, 782-796.

Shi, H., Noguchi, N., & Niki, E. (2001). Galvinoxyl method for standardizing electron and proton donation activity. In *Methods in enzymology* (Vol. 335, pp. 157-166). Academic Press.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Sivakumaran, S., Molan, A. L., Meagher, L. P., Kolb, B., Foo, L. Y., Lane, G. A., ... & Tavendale, M. (2004). Variation in antimicrobial action of proanthocyanidins from *Dorycnium rectum* against rumen bacteria. *Phytochemistry*, 65(17), 2485-2497.

Soltani, Y., Ali-Bouzidi, M., Toumi, F., & Benyamina, A. (2017). Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Phytothérapie*, 16(3), 142-148.

Souza, E. R. N., Tebaldi, V. M. R., & Piccoli, R. H. (2015). Adaptação e adaptação cruzada de *Listeria monocytogenes* aos compostos eugenol e carvacrol. *Ver. Bras. Plantas Med*, 17, 528-533.

Sridhar, K., & Charles, A. L. (2019). Statistical comparative study between the conventional DPPH• spectrophotometric and dropping DPPH• analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. *Food chemistry*, 287, 338-345.

T

Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M., & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816-822.

U

Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., & Węgrzyn, G. (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Archives of Microbiology*, 184(5), 271-278.

W

Wu, W. M., Lu, L., Long, Y., Wang, T., Liu, L., Chen, Q., & Wang, R. (2007). Free radical scavenging and antioxidative activities of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and its related compounds in solution and membranes: a structure–activity insight. *Food Chemistry*, 105(1), 107-115.

Annexes

Activités antioxydantes

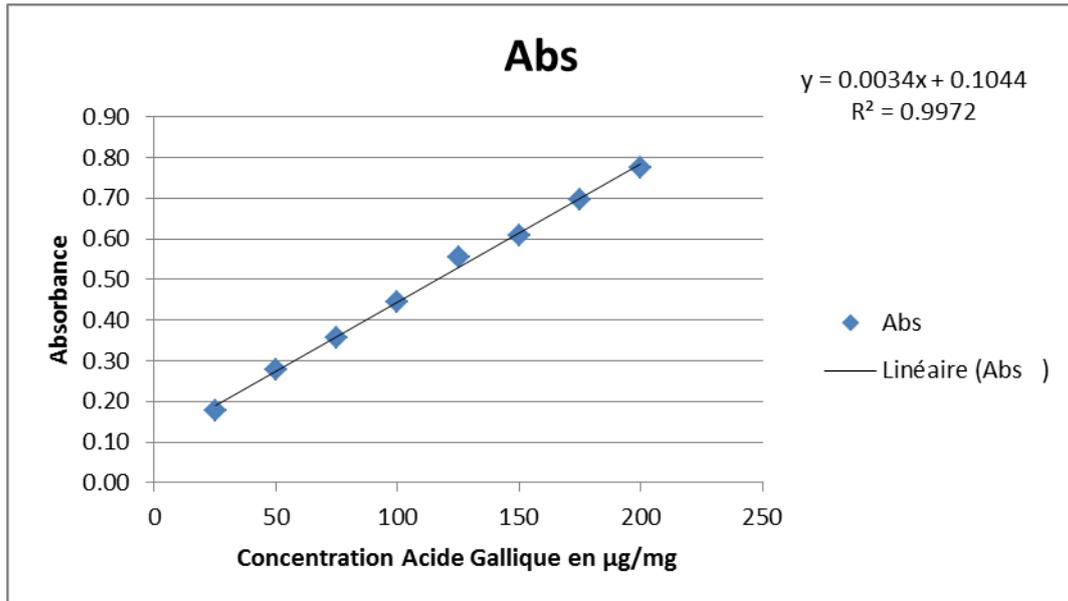


Figure 1. Courbe d'étalonnage acide gallique.

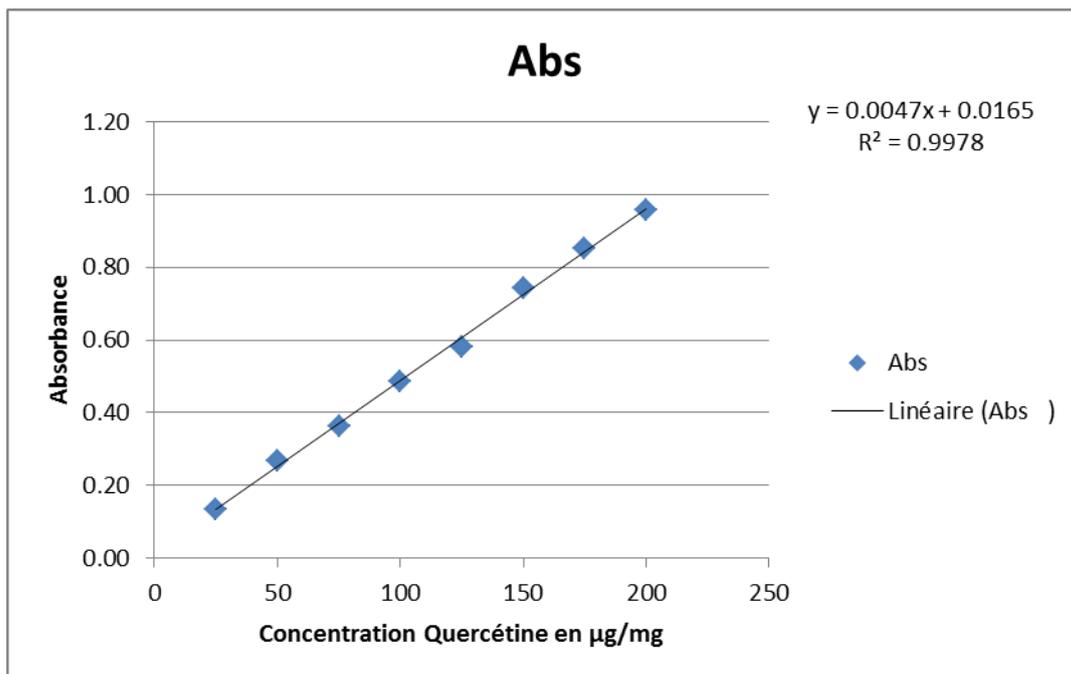


Figure 2. Courbe d'étalonnage de la gamme d'étalon de la Quercétine.

Annexe I

Activités antioxydantes

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	EXTRAIT METHANOLIQUE			EXTRAIT ACETATE D'ETHYLE			EXTRAIT CHLOROFORMIQUE			EXTRAIT BUTANOLIQUE		
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H	CONTROLE											

Figure 3. Distribution des échantillons des différents extraits sur la plaque 96 puits.

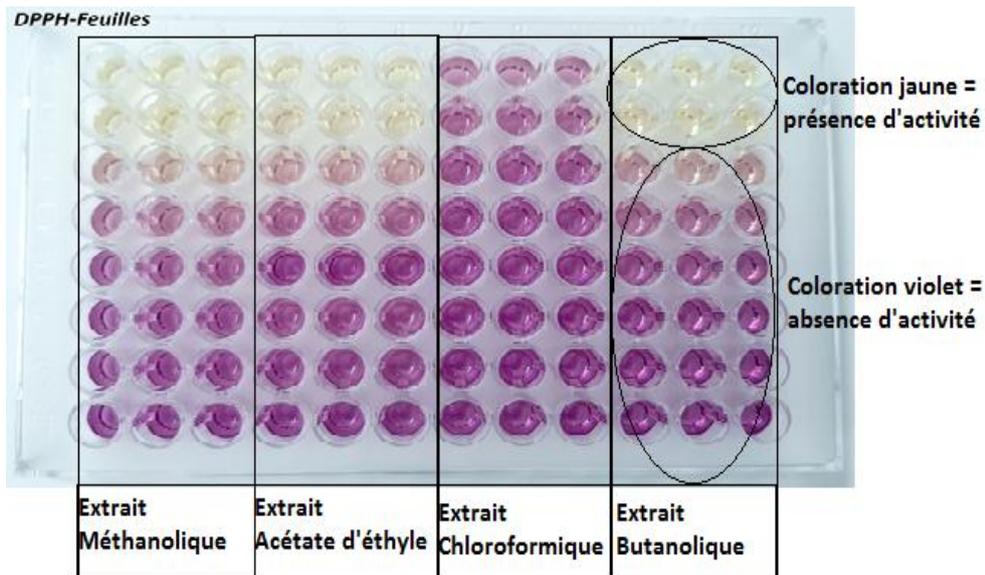


Figure 4. Plaque test DPPH pour les extraits des feuilles.

Annexe I

Activités antioxydantes

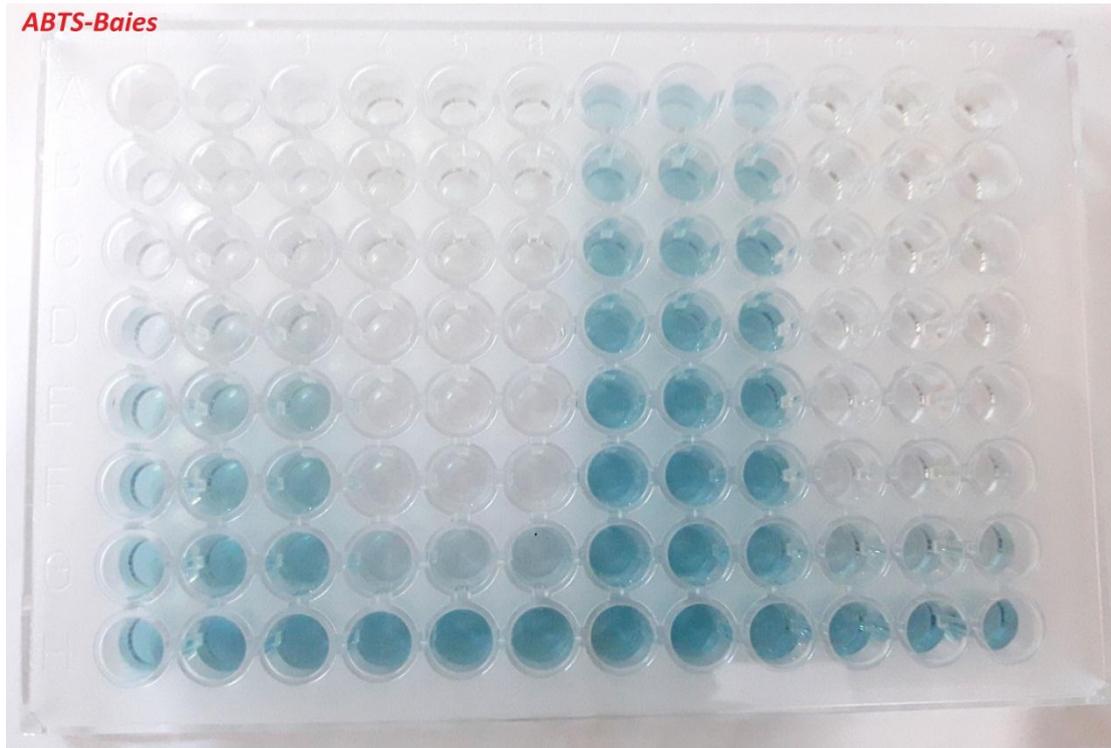


Figure 7. Plaque test ABTS pour les extraits des baies.

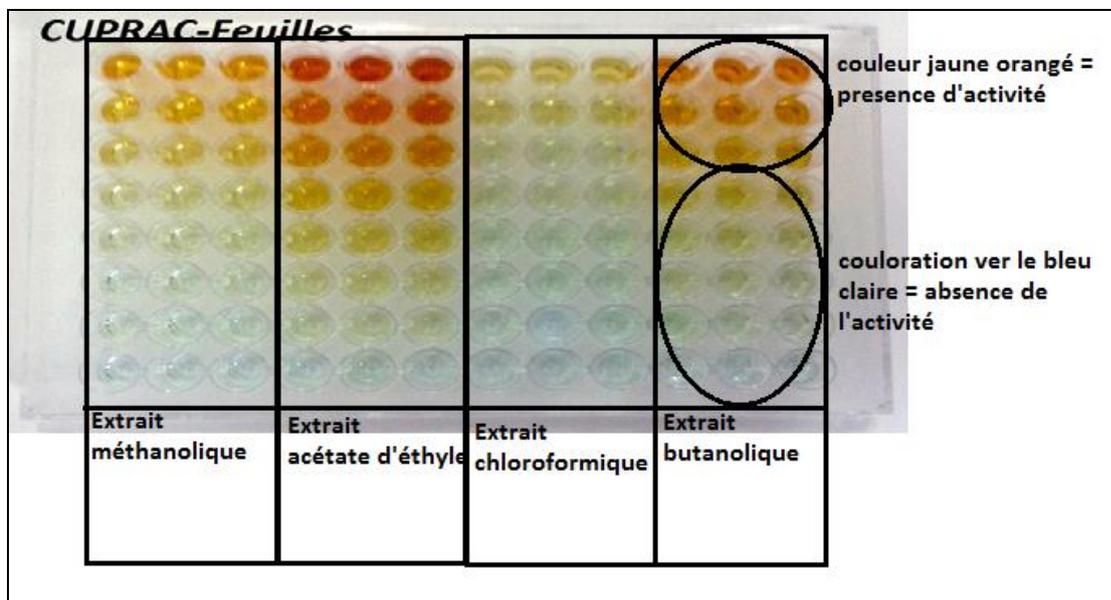


Figure 8. Plaque test CUPRAC pour les extraits des feuilles.

Activités antioxydantes



Figure 9. Plaque test CUPRAC pour les extraits des baies.

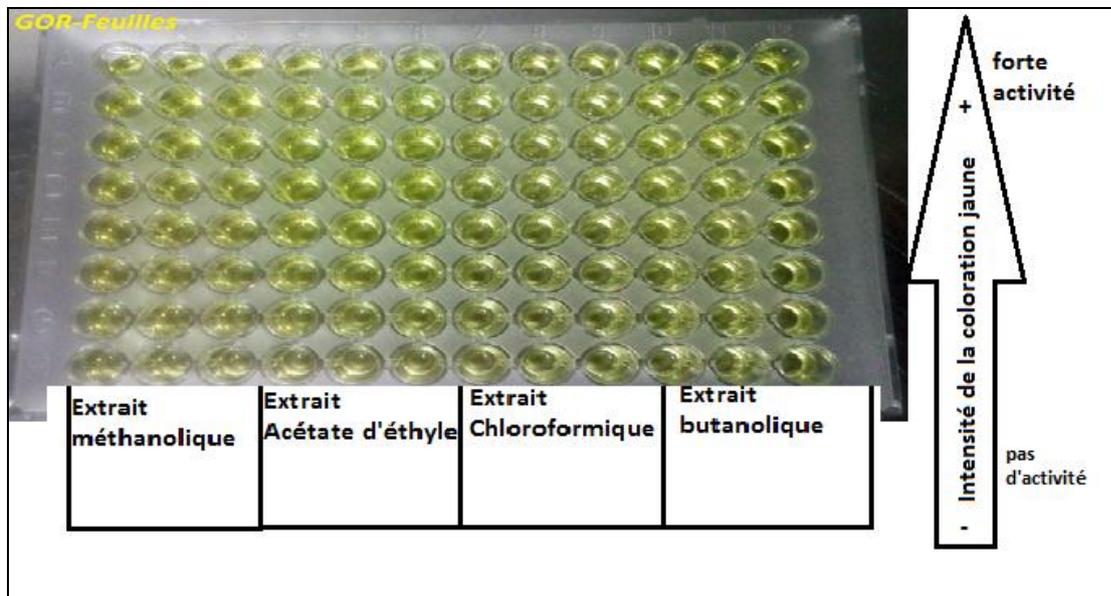


Figure 10. Plaque test GOR pour les extraits des feuilles.



Figure 11. Plaque test GOR pour les extraits des baies.

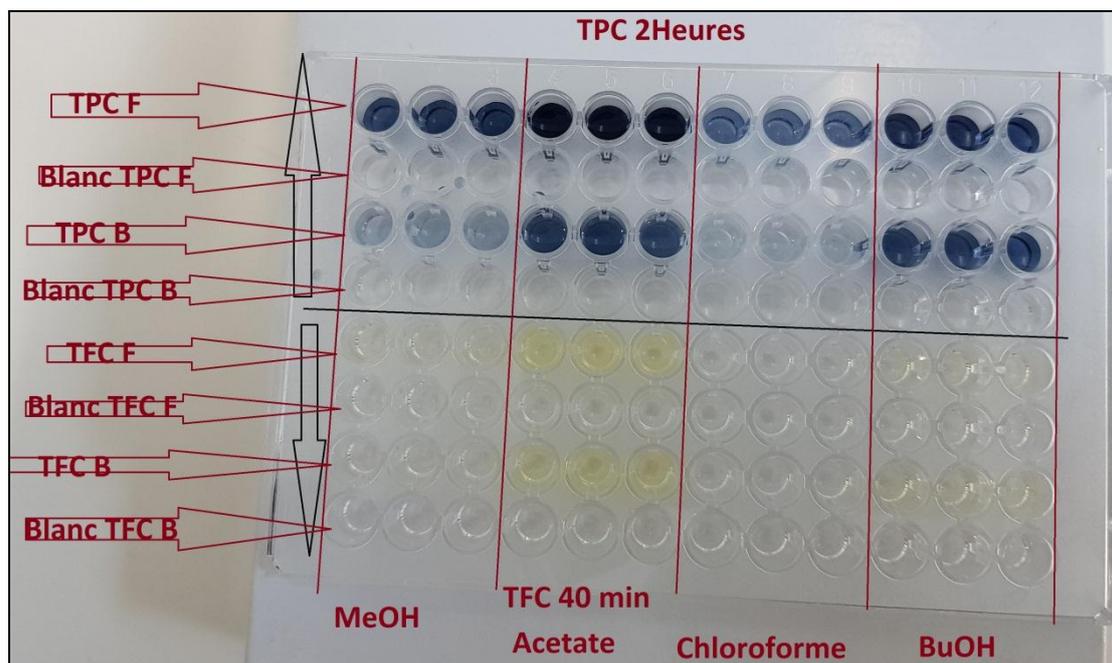


Figure 12. Plaque teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux.

Annexe II

Traitement des résultats des activités antioxydantes

Tableau 1. Rendement des extraits de *J. phoenicea* L. exprimés en (%).

	Méthanol	Acétate d'éthyle	Chloroforme	Butanol
Feuilles	8,26	0,53	0,11	2,60
Baies	9,54	0,22	1,40	0,28

Tableau 2. Inhibition du radical DPPH par les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea* L.

Extraits	% Inhibition DPPH feuilles							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
Méthanolique	4,54±0,55	10,69±1,31	16,63±1,60	34,12±1,36	59,99±3,79	85,16±0,18	86,73±0,66	20,38±1,33
Acétate d'éthyle	2,81±1,12	6,11±0,49	12,47±1,30	23,60±1,10	51,66±1,25	80,48±2,60	86,94±0,32	24,41±0,53
Chloroformique	0,11±1,61	0,52±0,89	3,32±0,30	5,35±0,44	12,01±1,37	21,16±1,32	33,10±0,75	>100
Butanolique	4,18±2,14	7,28±3,43	16,33±2,42	30,46±3,55	54,40±1,50	84,34±2,17	87,09±0,23	24,59±1,53
BHA	22,21±1,24	31,73±1,22	54,89±3,60	67,60±1,13	76,77±0,54	78,67±1,31	79,01±0,89	5,73±0,41

Tableau 3. Inhibition du radical DPPH par les extraits des baies de *Juniperus phoenicea* L.

Extraits	% Inhibition DPPH baies							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
Méthanolique	1,35±0,50	2,40±0,50	2,40±0,41	6,47±0,50	10,34±1,38	19,47±1,27	36,35±0,90	>100
Acétate d'éthyle	6,47±1,09	10,74±0,79	17,11±1,59	35,44±2,16	55,93±1,99	86,60±0,34	87,52±0,11	22,19±1,37
Chloroformique	NA	NA	NA	NA	0,95±0,75	2,66±0,52	4,17±0,11	>100
Butanolique	2,92±0,97	5,48±2,27	11,46±0,75	19,74±2,62	35,83±0,30	56,32±1,60	78,52±1,49	45,86±1,52
BHA	22,21±1,24	31,73±1,22	54,89±3,60	67,60±1,13	76,77±0,54	78,67±1,31	79,01±0,89	5,73±0,41

Annexe II

Traitement des résultats des activités antioxydantes

Tableau 4. Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea L.*

Extraits	% Inhibition in ABTS feuilles							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
Méthanolique	15,25±0,69	27,50±1,66	47,64±0,23	65,17±0,48	85,30±3,92	91,12±0,13	Sat	6,35±0,30
Acétate d'éthyle	23,83±1,09	42,28±1,13	64,78±0,96	89,13±0,93	91,04±0,00	Sat	Sat	4,39±0,12
Chloroformique	3,08±1,43	9,44±0,74	17,63±2,25	31,02±0,58	43,20±2,23	66,16±3,23	79,18±0,87	32,66±0,86
Butanolique	10,35±1,63	24,90±2,99	45,80±3,04	74,43±2,95	86,53±4,05	91,35±0,13	Sat	7,61±0,36
BHT	49,22±0,75	59,22±0,59	78,55±3,43	90,36±0,00	92,18±1,27	93,37±0,86	94,87±0,87	1,59±0,03
BHA	83,42±4,09	93,52±0,09	93,58±0,09	93,63±0,16	93,63±0,95	94,20±0,90	95,39±2,62	1,03±0,00

Tableau 5. Activité antiradicalaire (ABTS) des extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

Extraits	% Inhibition ABTS B							
	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	IC ₅₀ µg/mL
Acétate d'éthyle	34,80±2,59	52,10±0,55	71,20±9,09	78,80±13,80	90,67±0,00	90,67±0,78	90,67±0,38	11,75±0,10
Extraits	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
Butanolique	46,89±1,94	75,08±1,10	89,32±0,57	91,03±0,00	91,10±0,12	91,17±0,33	91,24±0,00	13,85±0,75
Méthanolique	52,52±3,00	78,50±1,18	89,46±0,54	89,96±1,11	90,60±0,21	90,96±0,33	91,03±0,21	<12.5
Chloroformique	8,38±0,57	10,09±0,37	11,58±0,98	17,70±0,49	22,19±2,78	23,75±1,67	25,11±1,10	>800
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC ₅₀ µg/mL
BHT	59,22±0,59	78,55±3,43	90,36±0,00	92,18±1,27	93,37±0,86	94,87±0,87	96,68±0,39	1,29±0,30
BHA	83,42±4,09	93,52±0,09	93,58±0,09	93,63±0,16	93,63±0,95	94,20±0,90	95,39±2,62	1,81±0,10

Annexe II

Traitement des résultats des activités antioxydantes

Tableau 6. Inhibition du CUPRAC par les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea L.*

Extraits	% Inhibition CUPRAC F							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	A _{0.50} µg/mL
Méthanolique	0,11±0,00	0,13±0,02	0,19±0,02	0,27±0,02	0,44±0,01	0,74±0,04	1,25±0,08	28,88±2,65
Acétate d'éthyle	0,18±0,01	0,26±0,01	0,42±0,02	0,67±0,03	1,13±0,03	1,93±0,07	2,96±0,17	8,17±0,62
Chloroformique	0,08±0,03	0,10±0,01	0,12±0,00	-	0,15±0,00	0,31±0,01	0,46±0,02	>100
Butanolique	0,15±0,02	0,18±0,01	0,27±0,02	0,42±0,01	0,69±0,05	1,13±0,07	1,74±0,11	16,00±1,37
BHT	0.11±0.04	0.19±0.01	0.33±0.04	0.66±0.07	1.03±0.07	1.48±0.09	2.04±0.14	9.62±0.87
BHA	0.23±0.07	0.46±0.00	0.78±0.01	1.34±0.08	2.36±0.17	3.45±0.02	3.76±0.03	3.64±0.19

Tableau 7. Inhibition du CUPRAC par les extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

Extraits	% Inhibition CUPRAC B							
	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	A _{0.50} µg/mL
Méthanolique	0,12±0,00	0,15±0,01	0,18±0,01	0,23±0,02	0,37±0,02	0,62±0,02	1,06±0,07	153,11±5,83
Acétate d'éthyle	0,20±0,01	0,29±0,02	0,46±0,01	0,74±0,08	1,31±0,02	2,14±0,09	3,15±0,20	29,74±3,06
Chloroformique	0,09±0,00	0,10±0,00	0,10±0,00	0,11±0,00	0,14±0,01	0,28±0,03	0,56±0,02	358,28±9,36
Butanolique	0,18±0,00	0,24±0,01	0,39±0,01	0,60±0,02	1,05±0,02	1,66±0,03	2,60±0,14	38,31±0,46
	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	A _{0.50} µg/mL
BHT	0.19±0.01	0.33±0.04	0.66±0.07	1.03±0.07	1.48±0.09	2.04±0.14	2.32±0.28	9.62±0.87
BHA	0.46±0.00	0.78±0.01	1.34±0.08	2.36±0.17	3.45±0.02	3.76±0.03	3.93±0.01	3.64±0.19

Annexe II

Traitement des résultats des activités antioxydantes

Tableau 8. Inhibition du GOR par les extraits des feuilles de *Juniperus phoenicea L.*

Extraits	% Inhibition GOR F							
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
Méthanolique	1,27±1,78	1,70±0,17	6,85±1,34	24,14±1,84	54,76±3,81	69,79±0,15	71,71±1,53	23,08±1,43
Acétate d'éthyle	4,12±0,65	13,52±0,85	38,52±0,71	66,72±2,26	71,01±0,17	72,32±0,49	75,40±0,09	9,19±0,29
Chloroformique	NA	NA	NA	NA	NA	2,93±0,75	11,93±0,46	>100
Butanolique	6,93±5,25	6,32±0,97	19,72±1,85	42,09±3,35	68,04±1,19	71,08±0,54	72,31±0,22	17,25±0,77
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
BHT	34,66±2,62	49,23±0,77	61,29±0,69	68,89±0,26	70,02±0,50	70,49±0,55	71,13±0,74	3,32±0,18
BHA	25,99±2,56	39,15±0,88	54,16±0,27	65,02±1,26	70,19±0,51	70,32±0,65	70,60±0,10	5,38 ±0,06

Tableau 9. Inhibition du GOR par les extraits des baies de *Juniperus phoenicea L.*

Extraits	% Inhibition in GOR B							
	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	IC ₅₀ µg/mL
Méthanolique	0,61±0,81	6,33±0,57	15,73±2,67	33,46±1,01	59,12±2,67	73,95±0,08	75,28±2,23	82,81±3,16
Acétate d'éthyle	18,58±1,54	39,53±0,60	65,14±1,25	74,82±0,21	77,29±0,88	82,06±0,55	88,24±0,28	18,27±0,40
Chloroformique	NA	NA	NA	NA	NA	3,72±0,69	10,79±1,16	>400
Butanolique	15,96±0,47	31,19±0,21	53,85±0,89	71,89±0,78	75,33±0,37	76,36±0,27	76,83±0,22	22,79±0,38
	1.5625 µg	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	IC ₅₀ µg/mL
BHT	34,66±2,62	49,23±0,77	61,29±0,69	68,89±0,26	70,02±0,50	70,49±0,55	71,13±0,74	3,32±0,18
BHA	25,99±2,56	39,15±0,88	54,16±0,27	65,02±1,26	70,19±0,51	70,32±0,65	70,60±0,10	5,38 ±0,06

Annexe II

Traitement des résultats des activités antioxydantes

Tableau 10. Comparaison des IC 50 de chaque test.

Extraits	DPPH CI ₅₀ (µg.mL ⁻¹)		ABTS CI ₅₀ (µg.mL ⁻¹)		CUPRAC A _{0.5} (µg.mL ⁻¹)		GOR CI ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	
	Feuilles	Baies	Feuilles	Baies	Feuilles	Baies	Feuilles	Baies
Méthanolique	20,38	22,19	6,35	12,50	28,88	153,11	23,08	82,81
Acétate d'éthyle	24,41	22,19	4,39	11,75	8,17	29,74	9,19	18,27
Butanolique	24,59	45,86	7,61	13,85	16	38,31	17,25	22,79
BHT	-	-	1,59	1,29	9,62	9,62	3,32	3,32
BHA	5,73	5,73	1,03	1,81	3,64	3,64	5,38	5,38

Evaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode des mico-dilutions.

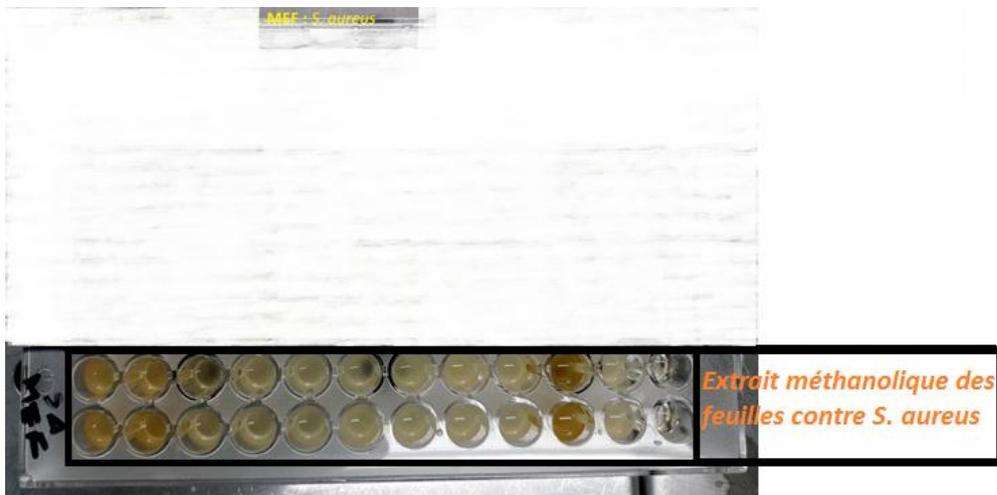


Figure 1. Extrait méthanolique des feuilles contre *Staphylococcus aureus*.

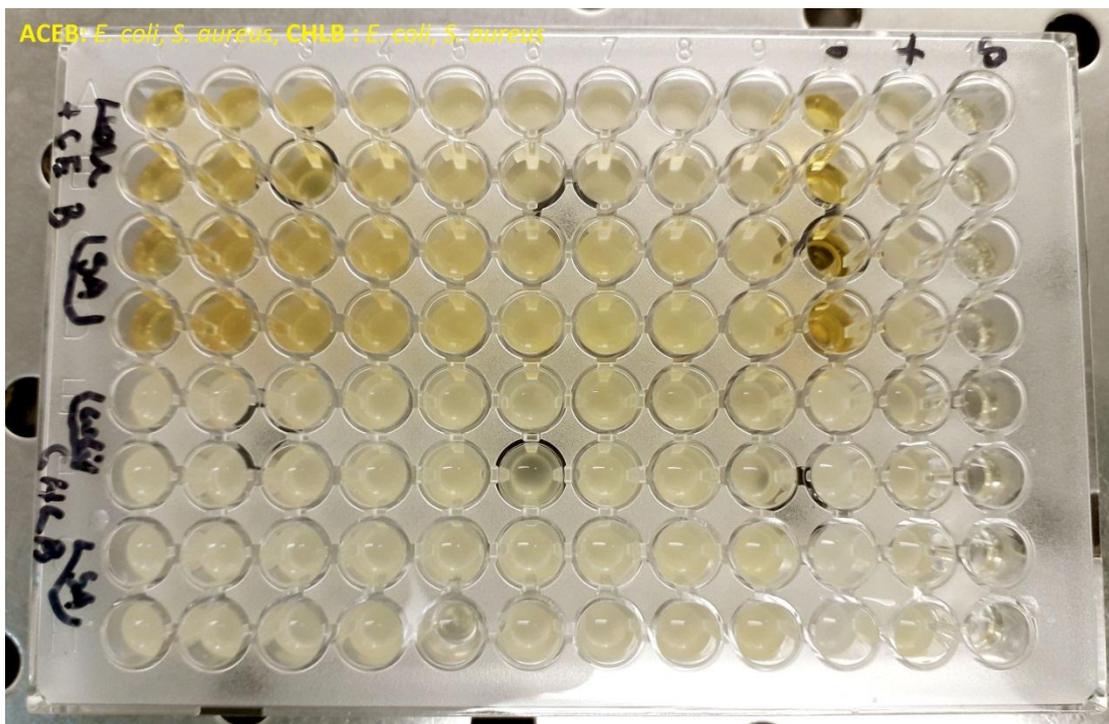


Figure 2. Extrait acétate d'éthyle et chloroformique des baies contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Annexe III

Concentration Minimales Inhibitrices

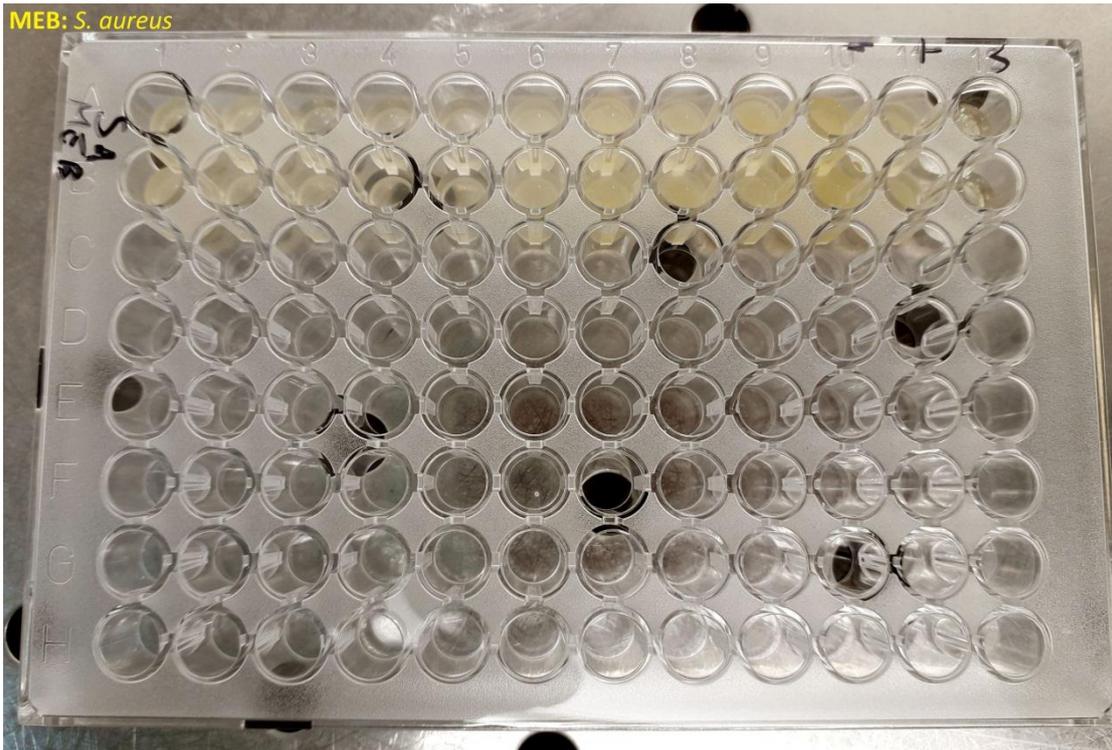


Figure 3. Extrait méthanolique des baies contre *Staphylococcus aureus*.

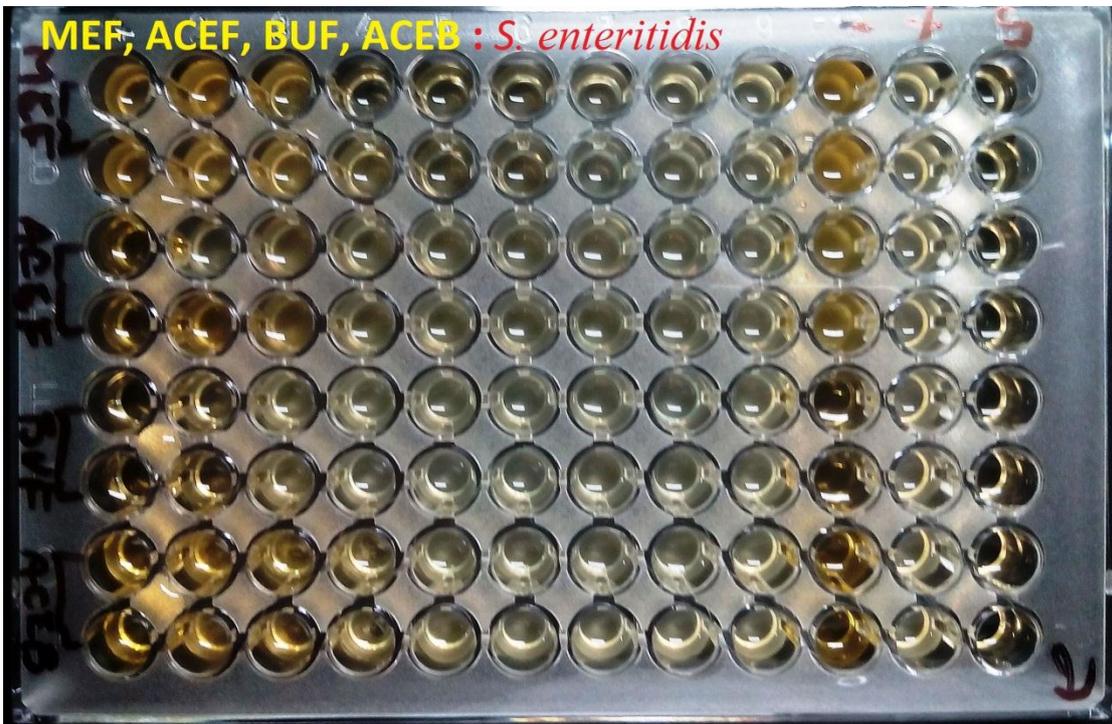


Figure 4. Extrait méthanolique, acétate d'éthyle et butanolique des feuilles et extrait acétate d'éthyles des baies contre *Salmonella enteritidis*.



Figure 5. Extrait chloroformique des baies contre *Salmonella enteritidis* et *Bacillus cereus*.

Annexe III

Concentration Minimales Inhibitrices

Tableau 1. Valeurs d'absorbance à 620 nm des plaques de test micro-dilutions.

		DILUTIONS (%)									(-)	(+)	(S)
		SM	50	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0,78125	0,390625			
ABSORBANCES													
MEF	<i>S. aureus</i>	0,8660	0,5900	0,5750	0,5090	0,4820	0,6590	0,8480	1,1380	0,9810	1,1340	0,9280	0,0460
		0,8330	0,7940	0,5740	0,5170	0,5730	0,9260	0,8530	1,1270	1,0140	1,0770	1,0200	0,0470
	<i>S. enteritidis</i>	0,5	0,623	0,391	0,141	0,167	0,197	0,229	0,285	0,315	0,677	0,306	0,048
		0,595	0,467	0,439	0,265	0,191	0,177	0,217	0,253	0,282	0,793	0,287	0,048
ACEF	<i>S. enteritidis</i>	0,116	0,234	0,287	0,256	0,242	0,233	0,249	0,249	0,275	0,28	0,273	0,045
		0,139	0,291	0,291	0,253	0,243	0,229	0,23	0,239	0,285	0,276	0,27	0,045
BUF	<i>S. enteritidis</i>	0,091	0,209	0,268	0,287	0,265	0,231	0,235	0,219	0,287	0,062	0,267	0,044
		0,09	0,136	0,287	0,258	0,246	0,232	0,238	0,234	0,287	0,062	0,26	0,045
ACEB	<i>E. coli</i>	0,1960	0,5290	0,6910	0,7520	0,7240	0,6050	0,7140	0,6600	0,7960	0,1010	0,6480	0,0470
		0,2380	0,5220	0,7140	0,7250	0,7390	0,7260	0,7150	0,7570	0,6670	0,1010	0,6540	0,0520
	<i>S. aureus</i>	0,1650	0,5940	0,7430	0,9930	1,2190	1,1750	1,2900	1,1840	1,0660	0,1110	0,7590	0,0500
		0,1600	0,6560	0,7220	0,8820	0,9430	0,8140	1,1150	1,2020	1,0330	0,1140	0,8950	0,0490
	<i>S. enteritidis</i>	0,168	0,328	0,383	0,25	0,323	0,288	0,257	0,245	0,293	0,135	0,266	0,045
0,15		0,389	0,253	0,27	0,327	0,312	0,283	0,267	0,29	0,129	0,289	0,046	
CHLB	<i>E. coli</i>	1,3240	0,9370	0,8040	0,7380	0,6840	0,5660	0,6920	0,7160	0,6870	1,4180	0,7000	0,0650
		1,5140	1,0280	0,8160	0,7480	0,6940	0,6720	0,6790	0,7250	0,7890	1,4780	0,7120	0,0480
	<i>S. aureus</i>	1,3650	1,0500	0,6750	0,6810	0,6210	0,5530	0,5720	0,8980	1,1230	1,3300	0,7890	0,0480
		1,4190	1,1060	0,8160	0,8800	0,1270	0,5870	0,6740	0,9440	1,0870	1,2230	1,0000	0,0480
	<i>S. enteritidis</i>	1,415	1,096	0,856	0,418	0,259	0,116	0,067	0,063	0,196	1,836	0,271	0,045
		1,409	0,876	0,788	0,357	0,187	0,133	0,064	0,126	0,318	1,843	0,277	0,045
	<i>B. cereus</i>	1,564	0,994	1,011	0,16	0,159	0,081	0,059	0,775	0,937	1,819	1,05	0,045
1,674		0,902	0,918	0,563	0,166	0,09	0,061	0,095	0,963	1,822	1,04	0,046	
MEB	<i>S. aureus</i>	0,7230	0,5920	0,1860	0,5430	0,5270	0,8660	1,4150	1,2540	1,4270	1,0630	1,2290	0,0470
		0,7040	0,3640	0,5300	0,5540	0,5170	0,8740	1,2360	1,1870	0,9730	1,0500	1,1590	0,0510
	<i>S. enteritidis</i>	1,235	1,067	0,871	0,413	0,216	0,109	0,075	0,07	0,15	1,672	0,279	0,139
		1,123	1,172	0,859	0,46	0,211	0,107	0,078	0,068	0,271	1,704	0,276	0,047
	<i>B. cereus</i>	1,453	1,253	1,169	0,292	0,076	0,066	0,26	0,918	0,974	1,677	1,098	0,662
		1,413	1,564	0,709	0,397	0,104	0,082	0,67	1,063	0,959	1,657	1,078	0,045

SM: solution mère, (-): test négatif ; extrait + Muller Hinton Bouillon, (+): test positif ; souche + MHB, (S): test de stérilité; MHB.