

Université MUSTAPHA Stambouli
Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي
معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologie et Sécurité Sanitaire

THESE de DOCTORAT

Spécialité : Valorisation des Substances Naturelles

Intitulée

Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits du goudron végétal algérien

Présentée par : M^{elle} Skanderi Inssaf

Le 01/02/2023

Devant le jury :

Président	M ^r MEDDAH B	Professeur	Université de Mascara
Examineur	M ^r KAHLOULA K	Professeur	Université de Saïda
Examineur	M ^r ADLI A	MCA	Université de Saïda
Examinatrice	M ^m SAHNOUNI F	Professeur	Université de Mascara
Examinatrice	M ^m FERGOUG T Z	Professeur	Université de Mascara
Encadreur	M ^m CHOUITAH O	Professeur	Université de Mascara

Année Universitaire : 2022-2023

Remerciements

Mes remerciements les plus sincères, les plus continus s'adressent à **ALLAH** qui m'a donné la force, le courage et la patience lors de la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier, tout d'abord, mon directeur de la thèse **CHOUTAH O**, Professeur à l'Université de Mascara, pour son encadrement, ses conseils et pour la confiance qu'elle m'a témoignée.

Je remercie très vivement Monsieur **MEDDAH B**, Professeur à l'Université de Mascara, pour l'honneur qu'il me fait pour avoir accepté la présidence du jury.

Je remercie Madame **SAHNOUNI F**, Professeur à l'Université de Mascara, d'avoir accepté de porter un jugement sur mon travail scientifique et pour son aide. Je vous exprime ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à Madame **FERGOUG T Z**, Professeur à l'Université de Mascara, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de faire partie de jury.

Je remercie également Monsieur **KAHLOULA K**, Professeur à l'Université de Saïda, pour sa participation au jury et lui demande d'accepter toute ma reconnaissance et qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à Monsieur **ADLI A**, MCA à l'Université de Saïda, d'avoir accepté de juger ce modeste travail. Qu'il soit assuré de ma respectueuse et très sincère gratitude.

J'exprime ma reconnaissance à Messieurs **RIGHI K** et **BOUKHARI Y** qui m'ont aidé pendant mon travail de thèse et l'ensemble des enseignants qui ont contribué efficacement tout long de cette formation.

Je remercie également les chefs et les ingénieurs et l'ensemble du personnel du laboratoire pédagogique et du laboratoire de recherche de la faculté de Sciences de la Nature et de la Vie à l'université Mustapha Stambouli. Mascara.

Je tiens donc à remercier tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont aidé. Certaines par leurs conseils et leurs connaissances scientifiques, d'autres par leur soutien et leurs présences dans les moments les plus pénibles. Merci à Tous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux personnes qui me sont les plus chères, mes parons, je ne savais jamais comment exprimer mes sentiments pour leur sacrifice, tendresse et affection qu'ils ont toujours accomplis avec dévouement pour me permettre de réussir dans ma vie, Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer. Merci pour vos instructions, votre soutien, aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance.

A mon frère Abdalilah, sa femme et leurs adorables enfants Younes et Khawther

A ma sœur Yasmine, son mari et mes adorables neveux : Mohamed, Ayoub, Farouk et Djaouad

A ma sœur Fatima, son mari et mes adorables nièces : Hadil, Amani et Takoua

A mes amies : Fatima, khadidja, Asma, Soumia, Souhila, Ikram et toutes les filles de la 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} promotions de Doctorat ,

Inssaf

<i>Table des matières</i>	I
<i>Liste des figures</i>	V
<i>Liste des tableaux</i>	VII
<i>Liste des abréviations</i>	VIII

Introduction.....	01
-------------------	----

Partie bibliographique

Chapitre I : Le goudron végétal

1. Définition du goudron	03
2. Classification des goudrons.....	03
3. Le goudron végétal.....	03
3.1 Les techniques de production du goudron végétal.....	03
3.1.1 Procédés de distillation <i>per descensum</i>	04
3.1.1.A) Procédés allothermiques.....	04
3.1.1.A.1 Méthode de combustion en jarre ou en double- pot.....	04
3.1.1.A.1.1) Procédé à pot supérieur perforé.....	04
3.1.1.A.1.2) Procédé à pot supérieur renversé.....	05
3.1.1.A.2. Méthode de combustion en four bâti	07
3.1.1.A.3. Méthode à deux compartiments	08
3.1.1.B) procédés autothermiques.....	10
3.1.1.B.1. Méthode de combustion sur des aires carrelée (procédé sous charbonnière).	10
3.1.1.B.2. Méthode de combustion en fours ou jarres avec feu interne.....	12
3.2.2.Procédé de distillation <i>per ascensum</i> (production d’huile de cade).....	13
3.2) Les usages du goudron végétal	14
3.2.1) Domaine d’alimentation.....	14
3.2.2) Domaine Pharmacologique.....	14
3.2.3) Domaine vétérinaire	14
3.2.4) Comme répulsif et insecticide.....	15
3.2.5) Autres utilisations	15

Chapitre II : Activités biologiques des extraits végétaux

1. Activité antioxydante	16
1.1 Les radicaux libres	16
1.2 Les espèces réactives de l’azote	16
1.3 Les espèces réactives de l’oxygène (ERO).....	17
1.4 Le stress oxydant.....	17

1.5 Action physiologiques néfaste des ERO (Conséquences du stress oxydant)	18
1.5.1 Les cibles biologiques	18
1.5.2 Les systèmes antioxydants	21
2. Activité antibactérienne	26
2.1 Les antibiotiques	27
2.1.1. Mécanismes d'action d'antibiotiques	27
2.1.2. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	28
2.2. Antibactériens naturels.....	30

Chapitre III : Les plantes utilisées pour la fabrication des goudrons végétaux étudiés

1.Le Cèdre de l'Atlas.....	31
1.1 Historique	31
1.2 Taxonomie	31
1.3 Aire de répartition du Cèdre de l'Atlas	32
1.4 Description botanique.....	33
2. Le Thuya de Berbérie.....	35
2.1 Historique	35
2.2 Classification	35
2.3 Répartition géographique de l'espèce dans les pays du Maghreb.....	36
2.4 Description du thuya de Berbérie	37

Partie expérimentale

I : Matériels et méthodes

1. Objectifs de l'étude	39
2. Matériels biologiques.....	39
2.1 Matériel végétal	39
2.2 Souches bactériennes	43
3. Méthodes	45
3.1 Etude ethnobotanique.....	45
3.2 Evaluation organoleptiques et physicochimique des extraits du goudron végétal .	46
3.2.1 Propriétés organoleptiques	46
3.2.2 Caractéristiques physicochimique	46
3.2.2.1 Mesure du Ph.	46
3.2.2.2 Détermination de la densité relative à 20°C	46
3.2.2.3 Mesure de la miscibilité à l'éthanol.....	46

3.3 Analyse chromatographique des goudrons végétaux par GC-MS.....	46
3.4 Dosage des polyphénols totaux	47
3.5 Dosage des flavonoïdes	49
3.6 Dosage des tannins condensés	50
3.7 Dosage des tannins totaux	51
3.8 Etude du pouvoir antioxydant	51
3.8.1 Méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl)..	52
3.8.2 Méthode de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	53
3.8.3 Evaluation de la capacité antioxydante totale par la méthode au phosphomolybdène.....	55
3.9. Etude de l'activité antibactérienne in vitro	56
3.9.1 Préparation de l'inoculum bactérien.....	56
3.9.2 Antibiogramme	56
3.9.3 Préparation des extraits du goudron végétal	57
3.9.4 Méthode de diffusion sur gélose	57
3.9.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	58
3.9.6 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	59
3.9.7 Détermination du rapport CMB / CMI.....	60
4. Analyses statistiques.....	60

II : Résultats et Discussions

1) Enquête ethnobotanique.....	61
2) Evaluation organoleptique et physicochimique des goudrons végétaux.....	66
2.1 Caractéristiques organoleptiques	66
2.1.1 Goudron du Cèdre de l'Atlas (goudron du <i>Cedrus atlantica Manetti</i>).....	66
2.1.2 Goudron de Thuya de Berbérie (goudron du <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl) Masters).....	67
2.2 Propriétés physicochimiques.....	67
2.2.1 Le PH	67
2.2.2 La densité	67
2.2.3 La miscibilité à l'éthanol	67
3) Analyse des goudrons végétaux par GC/MS.....	68

3.1 Résultats de l'analyse chromatographique du goudron du <i>Cedrus atlantica</i>	
<i>Manetti</i> (Cèdre de l'Atlas).....	68
3.2 Résultats de l'analyse chromatographique du goudron du <i>Tetraclinis articulata</i>	
(Vahl) Masters (Thuya de Berbérie).....	75
4) Analyses quantitatives des goudrons végétaux.....	80
5) Activités antioxydantes	82
5.1 Méthode de 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH).....	82
5.2 Méthode de réduction du fer (FRAP)	84
5.3 Capacité Antioxydante Totale (CAT)	86
6) Activité antibactérienne	87
6.1 Le profil d'antibiorésistance des souches utilisées	88
6.2 Méthode de diffusion sur gélose	89
6.3 La concentration minimale inhibitrice et bactéricide CMI, CMB.....	93
<i>Conclusion et perspectives</i>	96
<i>Références</i>	
<i>Annexe</i>	

Page	Titre de la figure
05	Figure n°1 : Méthode de combustion en double- pot : à pot supérieur perforé
06	Figure n°2 : Méthode de combustion en double- pot : à pot supérieur renversé
08	Figure n°3 : Four bâti à double chambre
09	Figure n°4 : Méthode à deux compartiments.
11	Figure n°5 : Méthode de combustion sur des aires carrelée
12	Figure n°6 : Méthode de combustion en fours avec feu interne
13	Figure n° 7: Procédé de distillation <i>per ascensum</i>
17	Figure n°8 : Origines des espèces réactifs de l’oxygène
18	Figure n°9 : Déséquilibre entre les antioxydants et les ERO
19	Figure n°10 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d’acides aminés des protéines après attaque radicalaire
21	Figure n°11 ; La peroxydation lipidique
22	Figure n°12 : Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques
27	Figure n°13: Chronologie de la découverte des principales classes d’antibiotiques
28	Figure n°14 : Les mécanismes d’action d’antibiotiques
30	Figure n ° 15: Mécanismes de résistance aux antibiotiques
34	Figure n°: 16: Répartition naturelle du Cèdre de l’Atlas
35	Figure n° 17 : A : Arbre, B : écorce, C : Rameaux, D: Fruits, E : Racines de <i>Cedrus atlantica</i> Manetti
37	Figure n°18 : Aire de répartition de thuya de Berbérie
39	Figure n° 19 : A : Arbre, B : écorce, C : Branches, D: Fruits, E : Loupe de <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl)Masters
41	Figure n°20 : Méthode de fabrication du goudron de <i>Cedrus atlantica</i> Manetti
42	Figure n°21 : Flacon du goudron du <i>Cedrus atlantica</i> Manetti
43	Figure n°22 : Méthode de fabrication du goudron de <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl)Masters
43	Figure 23: Carte géographique représentant l’endroit de la présence de <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl)Masters
44	Figure n°24 : <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl)Masters
44	Figure n°25 : flacon du goudron du <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl)Masters
47	Figure n°26 : Chromatographe en phase gazeuse

48	Figure n°27 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique
49	Figure n°28 : Courbe d'étalonnage de la quercétine
50	Figure n°29 : Courbe d'étalonnage du catéchine
52	Figure n°30 : Principe de la réaction DPPH
56	Figure n°31 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique
57	Figure n°32 : Illustration de la méthode d'aromatogramme
59	Figure n°33 : Illustration de la méthode du remplissage de la microplaque
64	Figure n°34 : Graphes représentant les pourcentages des réponses aux questions posées sur les herboristes
65	Figure n°35 : Graphes représentant les pourcentages des réponses aux questions posées sur les interlocuteurs
70	Figure n°36 : CG-SM Chromathogramme du goudron de <i>Cedrus atlantica Manneti</i>
76	Figure n°37 : CG-SM Chromathogramme du goudron de <i>Tetraclinis Articulata</i> (Vahl) Masters
83	Figure n°38 : Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des deux goudrons végétaux
84	Figure n° 39 : Histogramme présentant les valeurs IC ₅₀ des goudrons végétaux étudiés
85	Figure n° 40 : Absorbances des extraits du goudron végétal et d'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations
86	Figure n° 41 : Histogramme présentant les valeurs d'EC ₅₀ des goudrons végétaux étudiés
86	Figure n° 42 : Courbe d'étalonnage d'Acide Ascorbique
89	Figure n°43 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145
89	Figure n°44 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579
90	Figure n°45 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300
90	Figure n°46 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

Page	Titre du tableau
16	Tableau n°1 : Equations de formation de quelques espèces à partir du monoxyde d'azote
24	Tableau n°2 : les principales classes de polyphénols
31	Tableau n°3 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne
33	Tableau n°4 : les superficies du cèdre de l'Atlas en Algérie et au Maroc
61	Tableau n°5 : Les usages du goudron végétal cités par les herboristes
66	Tableau n°6 : Les usages du goudron végétal cités par les interlocuteurs
71	Tableau n°7 : Composition chimique du goudron de <i>Cedrus atlantica Manetti</i>
77	Tableau n°8 : Composition chimique du goudron de <i>Tetraclinis articulata</i> (Vahl) Masters
81	Tableau n°9 : Valeurs des dosages quantitatifs des deux goudrons
89	Tableau n°10 : Profil d'antibiorésistance des souches bactériennes testées
93	Tableau n°11 : Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des goudrons végétaux
93	Tableau n°12 : Le rapport CMB / CMI des goudrons végétaux

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : degré Celsius

µg : microgramme

AA : Acide Ascorbique

ATB : Antibiotique.

AlCl₃ : trichlorure d'aluminium

ATCC: l'American Type Culture Collection

BN : Bouillon nutritif

CASFM : Comité de L'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute

CMB : concentration minimal bactéricide

CMI : concentration minimal inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité Optique

DPPH : radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : équivalent acide gallique

EC : équivalent catéchine

EC₅₀ : Concentration efficace

EQ : équivalent quercétine

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FeCl₃ : chlorure de fer(III)

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

G1 : goudron de *Cedrus atlantica Manetti*

G2 : goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*

GC/MS : Gas Chromatography–Mass Spectrometry

HCl : acide hydrochlorique concentré

IB : Inoculum Bactérien

IC50 : La concentration inhibitrice

KI : Kovàts Index

L : litre

mg : milligramme

MH : **Mueller Hinton**

mL : millilitre

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

Na₂CO₃: carbonate de sodium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pH : potentiel d'Hydrogène

PI : Pourcentage d'Inhibition

SM : Solution Mère

SOD : Superoxyde dismutase

TAC : Total Antioxydant Capacity

tR : temps de Rétention

Résumé

Les travaux présentés dans cette thèse contribuent à la valorisation de deux goudrons végétaux algériens ; le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* par une identification chromatographique (GC/MS), un dosage quantitatif de certains composés polyphénoliques et enfin une évaluation des activités antioxydante et antibactérienne. L'étude ethnobotanique a démontré que les personnes enquêtées ont peu d'informations sur le goudron végétal en générale et même sur les deux goudrons végétaux étudiés. L'identification chromatographique (GC/MS) démontre la dominance des isomères de l'himachalène et de l' α -atlantone, d' α -Calacorene, d'occidentol, du (z) nuciférol et d'ar-Turmerone, dans le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et de l' α -Cedrene, le trans-Ferruginol, le 2-tert-Butyl-4-hydroxy anisole, le Totalorone, le Thymohydro, le quinone et le Carvacrol dans le goudron de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters*. Les dosages quantitatifs ont rapporté la richesse du goudron du *Cedrus atlantica Manetti* en flavonoïdes, tanins condensés et tanins totaux dont les valeurs sont : 14.42 ± 0.47 mg EQ/g de goudron, 4.41 ± 0.05 mg EC/g de goudron et 17.16 ± 1.49 mg / mL de goudron respectivement et du goudron de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* en polyphénols totaux : 66.44 ± 1.5 mg EAG/g de goudron. Les résultats de l'activité antioxydante *in vitro* testée par les trois méthodes (FRAP, DPPH, TAC) démontrent une inhibition importante vis-à-vis le radical DPPH et une forte activité contre le fer ferreux avec des IC_{50} et EC_{50} égale à 0.0035 ± 0.000029 mg /mL, 0.072 ± 0.006 mg/mL et 0.021 ± 0.00025 mg /mL, 0.061 ± 0.0009 mg/mL pour le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* respectivement, ces derniers ont montrés également une activité antioxydante totale (TAC) importante. Les résultats de l'activité antibactérienne illustrent que les deux goudrons étaient plus efficaces sur les souches à gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC43300 et *Bacillus cereus* ATCC 14579 que sur les souches à gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 et *Escherichia coli* ATCC 25922. Le plus marqué en efficacité était le goudron de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* avec des valeurs de CMB égales à 6250 μ g/mL, 6250 μ g/mL, 97.656 μ g/mL et ≤ 24.41 μ g/mL pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* respectivement.

Mots clés : Goudron végétal, *Cedrus atlantica Manetti*, *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters*, GC/MS, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Composés polyphénoliques.

Abstract

The work presented in this thesis contributes to the valorization of two Algerian wood tars; *Cedrus atlantica Manetti* tar and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters tar by chromatographic identification (GC/MS), quantitative assay of some polyphenolic compounds and finally an evaluation of antioxidant and antibacterial activities. The ethnobotanical study has shown that the people surveyed have little information on vegetable tar in general and even on the two vegetable tars studied. Chromatographic identification (GC/MS) demonstrates the dominance of himachalene and α -atlantone isomers, α -Calacorene, occidentalol, (z)nuciferol and ar-Turmerone, in *Cedrus atlantica Manetti* tar and α -Cedrene, trans-Ferruginol, 2-tert-Butyl-4-hydroxy anisole, Totalorone, Thymohydro, quinone and Carvacrol in *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters tar. Quantitative assays reported the richness of *Cedrus atlantica Manetti* tar in flavonoids, condensed tannins and total tannins, the values are : 14.42 ± 0.47 mg EQ/g of tar, 4.41 ± 0.05 mg EC/g of tar and 17.16 ± 1.49 mg/mL of tar respectively, otherwise, *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters tar was rich in total polyphenols: 66.44 ± 1.5 mg EAG/g tar. The results of the *in vitro* antioxidant activity tested by three methods (FRAP, DPPH, TAC) demonstrate significant inhibition against the DPPH radical and strong activity against ferrous iron with IC₅₀ and EC₅₀ equal to 0.0035 ± 0.000029 mg /mL, 0.072 ± 0.006 mg/mL and 0.021 ± 0.00025 mg /mL, 0.061 ± 0.0009 mg/mL for the tar of *Cedrus atlantica Manetti* and *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters respectively, the later also showed a significant total antioxidant activity (TAC). The results of antibacterial activity showed that the two tars were more effective on the gram-positive strains *Staphylococcus aureus* ATCC43300 and *Bacillus cereus* ATCC 14579 than on the gram-negative strains. : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 and *Escherichia coli* ATCC 25922. the Most efficient was *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters tar with CMB values equal to $6250 \mu\text{g/mL}$, $6250 \mu\text{g/mL}$, $97.656 \mu\text{g/mL}$ and $\leq 24.41 \mu\text{g/mL}$ for *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* respectively.

Keywords: Tar, *Cedrus atlantica Manetti*, *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters, GC/MS, Antioxidant activity, Antibacterial activity, Polyphenolic compounds.

ملخص

العمل المقدم في هذه الأطروحة يساهم في تثمين نوعين من القطران الجزائري : قطران الأرز أو البقنون Cedrus atlantica Manetti و قطران العرعار *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters عن طريق التحديد الكروماتوغرافي (GC / MS) ، قياس كمية بعض مركبات البوليفينول وأخيراً تقييم أنشطتها المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا. أظهرت الدراسة الإثنوبوتانية أن الأشخاص الذين شملهم الاستطلاع لديهم القليل من المعلومات حول القطران بشكل عام وحتى حول نوعي القطران المدروسين . أظهرت نتائج GC / MS هيمنة نظائر هيماشالين و ألفا أتلاتون ، و ألفا كالاكورين ، وأوكسيدنتول ، و (z) نوسيفيرول ، وأر- تورميرون ، في قطران *Cedrus atlantica Manetti* وألفا سيدرين ، وثرانس-فيروجينول ، و 2-ثلاثي-بوتيل-4 - هيدروكسي أنيزول ، توتالورون ، ثيموهيدرو ، كينون وكارفاكرول في قطران *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters من تيتراكلينيس أرتيكولاتا (فال) ماسترز. أظهرت القياسات الكمية عن ثراء قطران *Cedrus atlantica Manetti* بمركبات الفلافونويد والعفص المكثف والعفص الكلي ، وقيمتها هي: 0.47 ± 14.42 مغ مكافئ من الكيرسيتين / غرام من القطران ، 0.05 ± 4.41 مغ مكافئ من الكاتيشين / غرام من القطران و 17 ، 1.49 ± 16 مغ / مل القطران على التوالي و ثراء قطران *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters بالبوليفينول الكلي: 1.5 ± 66.44 مغ مكافئ من حمض الغاليك/ غرام من القطران. أظهرت نتائج النشاطات المضادة للأوكسدة في المختبر التي تم اختبارها بالطرق الثلاث DPPH ، FRAP ، DPPH ، TAC تثبيطاً كبيراً ضد نشاط جذر DPPH ونشاط قوي ضد Fe^{2+} مع IC_{50} و EC_{50} يساوي 0.000029 ± 0.0035 مغ / مل ، 0.006 ± 0.072 مغ / مل و 0.00025 ± 0.021 مغ / مل ، 0.0009 ± 0.061 مغ / مل لقطران *Cedrus atlantica Manetti* و *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters على التوالي ، أظهر الأخيرين أيضاً نشاطاً إجمالياً كبيراً لمضادات الأوكسدة (TAC). أوضحت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أن كلا القطرانين كانا أكثر فعالية على سلالات *Staphylococcus aureus* ATCC43300 و *Bacillus cereus* ATCC 14579 موجبة الجرام أكثر من السلالات سالبة الجرام: *Escherichia coli* ATCC 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145. كان القطران الأكثر تميزاً في الكفاءة هو قطران *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters مع قيم CMB تساوي 6250 ميكروغرام / مل ، 6250 ميكروغرام / مل ، 97.656 ميكروغرام / مل و أقل أو تساوي 24.41 ميكروغرام / مل لـ *Pseudomonas aeruginosa* ، *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* على التوالي.

الكلمات المفتاحية: القطران النباتي ، العرعار ، البقنون ، التحليل الكروماتوغرافي GC / MS ، النشاط المضاد للأوكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا ، مركبات البوليفينول.



Introduction générale



Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies pour l'étude des plantes aromatiques et médicinales et leurs précieuses vertus thérapeutiques qui sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicinales naturelles. L'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) environ 80% des habitants ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité. (Halmi, S. 2015, Boussaid, M. 2017).

Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antimicrobienne et antioxydante, demeure une tâche très intéressante et utile pour remplacer les produits synthétiques ayant les mêmes propriétés.

Le goudron végétal (*el qatrân, elgedrân*) *getran, gadrân, qatrân*, , *katran, qutran*) qui est un liquide visqueux plus ou moins noir, collant et extrêmement odorant obtenu par distillation sèche (pyrogénéation, pyrolyse ou carbonisation) du bois d'arbres (Rageot, M. 2015, Baily, L. 2015) est un extraits de plantes largement utilisé depuis l'antiquité en médecine traditionnelle humaine (traitement des ulcères gastriques et des bronchites chroniques, les acnés, la teigne, l'eczéma, les démangeaisons, la gale, psoriasis....) et vétérinaire (comme antiseptique) et même pour la conservation de l'eau dans les outres sans oublier son utilisation comme insecticide . (M. Gast, 1999, Belliot, A. 2007, Julin, M. 2008, , Lindborg, M. 2008, Kargioğlu, M *et al*, 2008, HADJI, W. 2013, Ari, S *et al* 2014, Bailly, L. 2015).

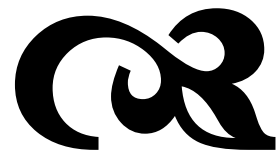
Malgré toutes ces utilisations, ces extraits n'ont pas été correctement évalués (peu d'études ont été consacré à ce genre de produits), pour cette raisons nous nous sommes intéressés de réaliser une étude sur deux goudrons végétaux : le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters*, ces espèces sont endémique des montagnes de l'Afrique du Nord, dont la première plante est connue par ses propriétés antimicrobienne, antivirale, anti-inflammatoire et insecticide , cicatrisant , ainsi que ses effets analgésique et purifiant, la seconde est dotée de maints pouvoirs biologiques, à savoir les activités antimicrobiennes (anti-bactériennes et antifongiques), anti-inflammatoires et antioxydantes , elle est utilisée pour le

traitement des infections intestinales et respiratoires , le diabète , les douleurs gastriques, l'hypertension et la fièvre .(Khanfouci, M, S. 2005 , Abi-Ayad, F. 2009, Derwich, E *et al* .2010, Toumi, F *et al* .2011, Paun, G *et al* .2013, Rhafouri, R *et al* 2014, Zrira, S et Ghanmi, M .2016, Benouaklil, F *et al* . 2017, Boussaid, M. 2017, Benyamina, A. 2019 , Mercimek Takci ,H, A et Turkmen, F, U Takci *et al* ,2019, Zahir, I *et al* . 2020, Jaouadi, I *et al* .2021).

Afin d'achever cet objectif, l'étude est organisée en trois parties :

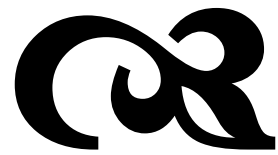
- La première : est une étude bibliographique basée sur la définition du goudron végétal et la démonstration de ces techniques d'extraction, puis une explication des activités biologiques des extraits végétaux, enfin une présentation des plantes utilisés dans la préparation des goudrons végétaux étudiés.
- La deuxième : est la partie expérimentale qui comporte plusieurs étapes :
 - Une étude ethnobotanique sur les goudrons végétaux.
 - Une évaluation organoleptique et physicochimique des goudrons végétaux étudiés.
 - Un dosage quantitatif des principes actifs suivi d'une caractérisation par GC/MS.
 - Une évaluation du pouvoir antioxydant des deux goudrons végétaux en utilisant trois méthodes (DPPH, FRAP et TAC)
 - Une étude de l'activité antibactérienne de ces deux goudrons végétaux.
- La troisième partie expose les résultats obtenus, leurs interprétations et leurs comparaisons avec des résultats antérieurs intéressant au même sujet.

A la fin le travail est clôturé par une conclusion et perspectives.



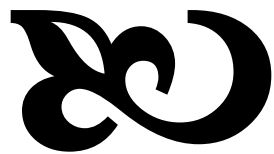
Etude bibliographique





Chapitre I

Le goudron végétal



1. Définition du goudron

Selon Gaudron (1944) : On appelle goudron la partie liquide huileuse, visqueuse qui distille en même temps que certains gaz, toutes les fois que l'on chauffe les combustibles à une haute température (Rageot.M , 2015).

2. Classification des goudrons

Selon la nature des combustibles utilisés les goudrons peuvent être classés en 3 groupes :

- Les goudrons végétaux : (goudron de pin, goudron de hêtre, goudron de cèdre, goudron de genévrier (ou l'huile de cade)...).
- Les goudrons fossilifères (goudron de houille)
- Les goudrons sédimentaires (origine schisteuse, origine pétrolifère) (Belliot, A. 2007, Paghdal, K. V et Schwartz, R. A. 2009.)

3. Le goudron végétal

Le goudron végétal est le produit obtenu par distillation sèche du bois d'arbres ou pyrogénéation à l'abri de l'air, appelée aussi pyrolyse ou carbonisation. C'est un liquide visqueux plus ou moins noir, collant et extrêmement odorant (présente une forte odeur aromatique), (Rageot, M. 2015, Baily , L. 2015).

Le mot *Kedrân* (mot d'origine arabe) est employé chez les Touaregs pour désigner tout goudron d'origine minérale, alors que ce même vocable chez les arabophones (*el qatrân, elgedrân*) désigne soit le goudron d'origine végétale, soit celui d'origine minérale (appelé aussi *el godron*, déformation du français « goudron » qui lui aussi vient du mot arabe). Dans la plupart des autres langues berbères c'est le vocable arabe qui est actuellement employé avec quelques variations régionales [*getran, gadrân, qatrân...*]. En Algérie le goudron végétal est appelé Gatran , Au sud de la Turquie katran , en Arabie Saoudite il est connu sous le nom qutran (M. Gast., 1999, Al-Asmari, A et al .2014, Hadji, W. 2013 , kurt ,Y et al 2008) .

3.1 Les techniques de production du goudron végétal

La littérature savante antique, médiévale et moderne, ainsi que les données archéologiques d'époques postérieures et ethnographiques mettent en évidence la multiplicité des procédés de

production des goudrons végétaux. Le terme *per descensum* est emprunté aux auteurs médiévaux pour qualifier la plupart des systèmes de production, ce terme signifie l'extraction d'un liquide lourd (goudron) d'une substance solide (bois) par échauffement et par égouttement. Le goudron fraîchement exsudé va s'écouler alors que les autres produits solides (charbon) resteront piégés dans le réceptacle de départ. Alors que le terme distillation *per ascensum* signifie l'extraction d'huile de cade (le seul produit fabriqué par ce procédé) par évaporation et refroidissement et condensation des vapeurs dégagées du bois de *Juniperus oxycedrus*.

3.1.1 Procédés de distillation *per descensum*

Quelle que soit la technique de distillation *per descensum* utilisée ; le bois très sec provenant d'arbres abattus et séché auparavant (pendant une période très variable qui peut durer de quelques mois à quelques années) est fendu en buchettes avant d'être chauffé indirectement (la chaleur nécessaire à la réaction est transmise indirectement à la matière première : *procédés allothermiques*) ou directement (par une transmission directe de la chaleur à la matière première : *procédés autothermiques*) dans un four fermé afin de créer un environnement pauvre en oxygène (car un excès d'air conduit à une combustion rapide qui peut réduire la qualité et la quantité du goudron produit) .

À la fin de cette combustion sèche un mélange liquide va être récupéré. Dans certains cas ce dernier est constitué du goudron végétal mélangé à l'eau où une décantation permet la séparation entre les deux phases et la récupération du goudron. Dans d'autres cas le goudron végétal se trouve mélangé à une autre phase nommée «Acide du goudron», cette dernière se sépare progressivement du goudron pendant le stockage et éliminé généralement après une période variable allant de quelques jours à quelques semaines.. (Egenberg, I. M *et al* 2002 ,kurt *et al* 2008 ,Baily L. 2015, Rageot, M. 2015, Burri *et al* 2018).

3.1.1.A) Procédés allothermiques

3.1.1.A.1 Méthode de combustion en jarre ou en double- pot

3.1.1.A.1.1) Procédé à pot supérieur perforé

Dans lequel on introduit les buchettes de bois à distiller dans une jarre (pot) à fond percé (**figure n°1**), munie d'un couvercle, puis celle-ci est placée sur l'ouverture d'une autre jarre (pot) non percée. La jarre supérieure est percée à l'aide de petits trous afin de ne récupérer dans la jarre inférieure que le goudron exempt de impuretés qui suinte du bois lors du chauffage. Les deux jarres sont ensuite lûtes au moyen de joints d'argile. L'ensemble sera placé dans une fosse,

de sorte que la jarre au-dessus dépasse la surface du sol, au tour de laquelle on allume un foyer. Sous l'effet de la chaleur, le bois exsude et le distillat s'écoule à l'intérieur de la jarre inférieure. A la fin de l'opération, les joints d'argile seront cassés et la jarre inférieure sera vidée de son goudron au moyen d'une louche (Burri, S.2010, Bailly, L. 2015) .

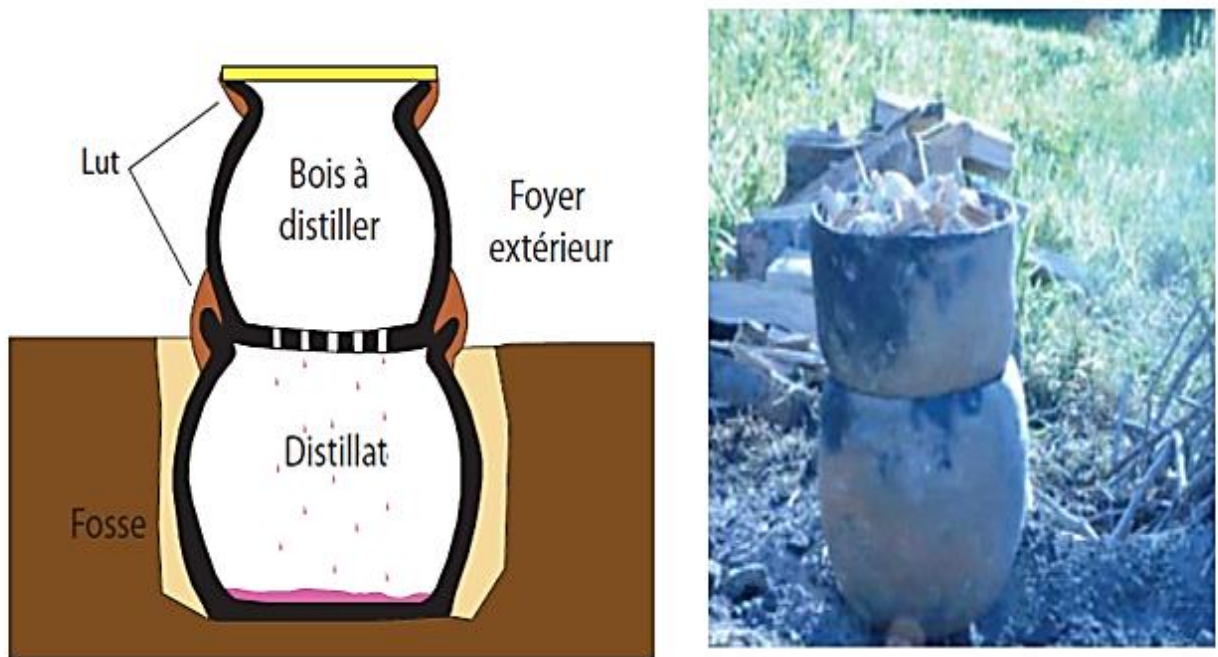


Figure n°1 : Méthode de combustion en double- pot : à pot supérieur perforé (Burri, S.2010, Rageot, M. 2015)

3.1.1.A.1.2) Procédé à pot supérieur renversé

Ce procédé est similaire au précédent ; la différence existe dans le fait que la jarre supérieure remplie de bois est renversée sur la première. Selon **Julin, M. 2008** cette jarre est posée sur une plaque traditionnelle en terre cuite percée de manière à laisser suinter le goudron (sorte de tamis) (**figure n°2 : 2**) et un mur appelé aigre fait de pierres et d'argile est construit autour du combustible (**figure n°2 : C 7**) avec un trou sur le dessus pour alimenter le feu en oxygène (**figure n°2 : C 8**) . Ce mur est absent dans le même procédé décrit par **Trintignac, A. 2003, Kargioğlu, M et al 2008 (figure n°2 : A, B)**

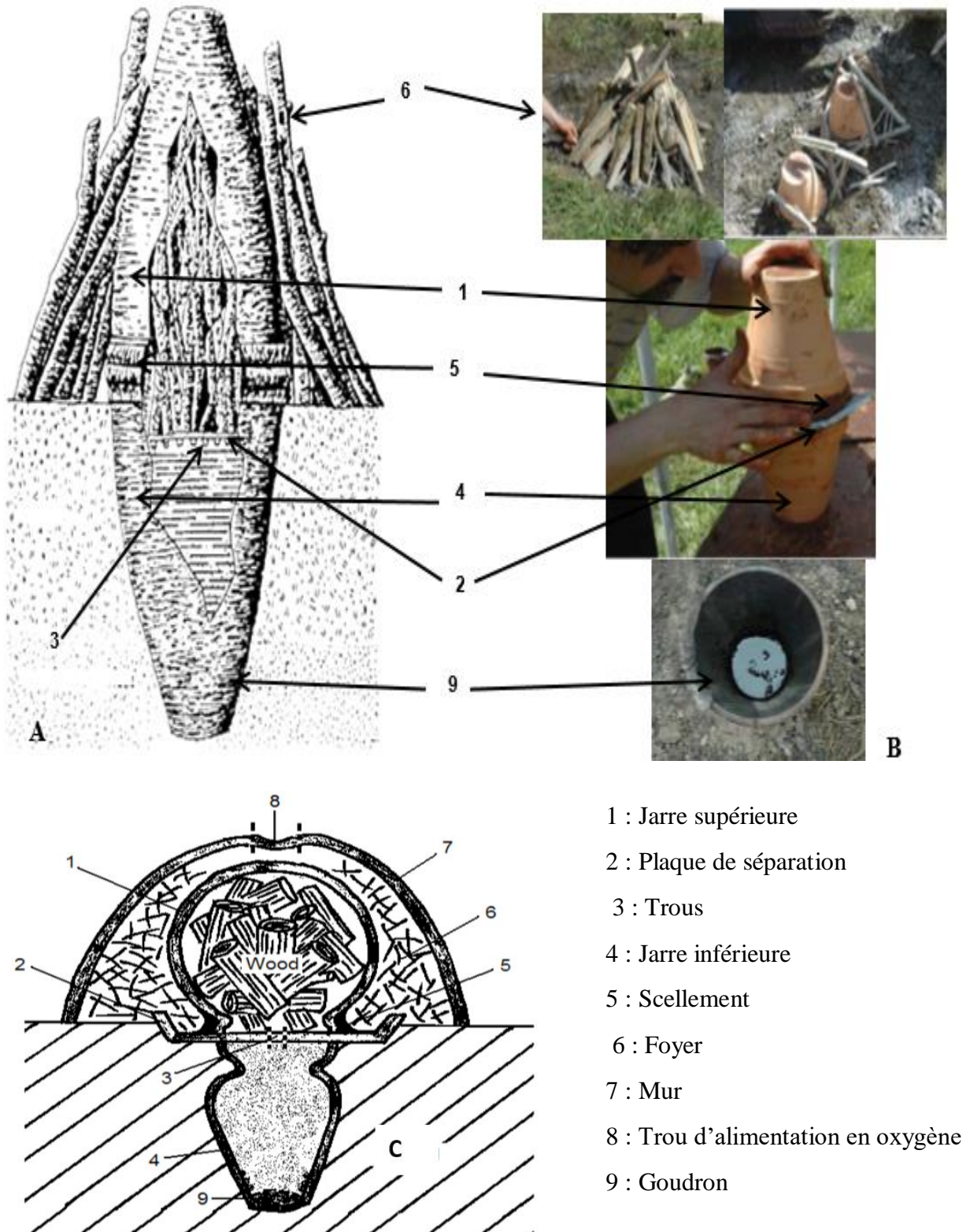


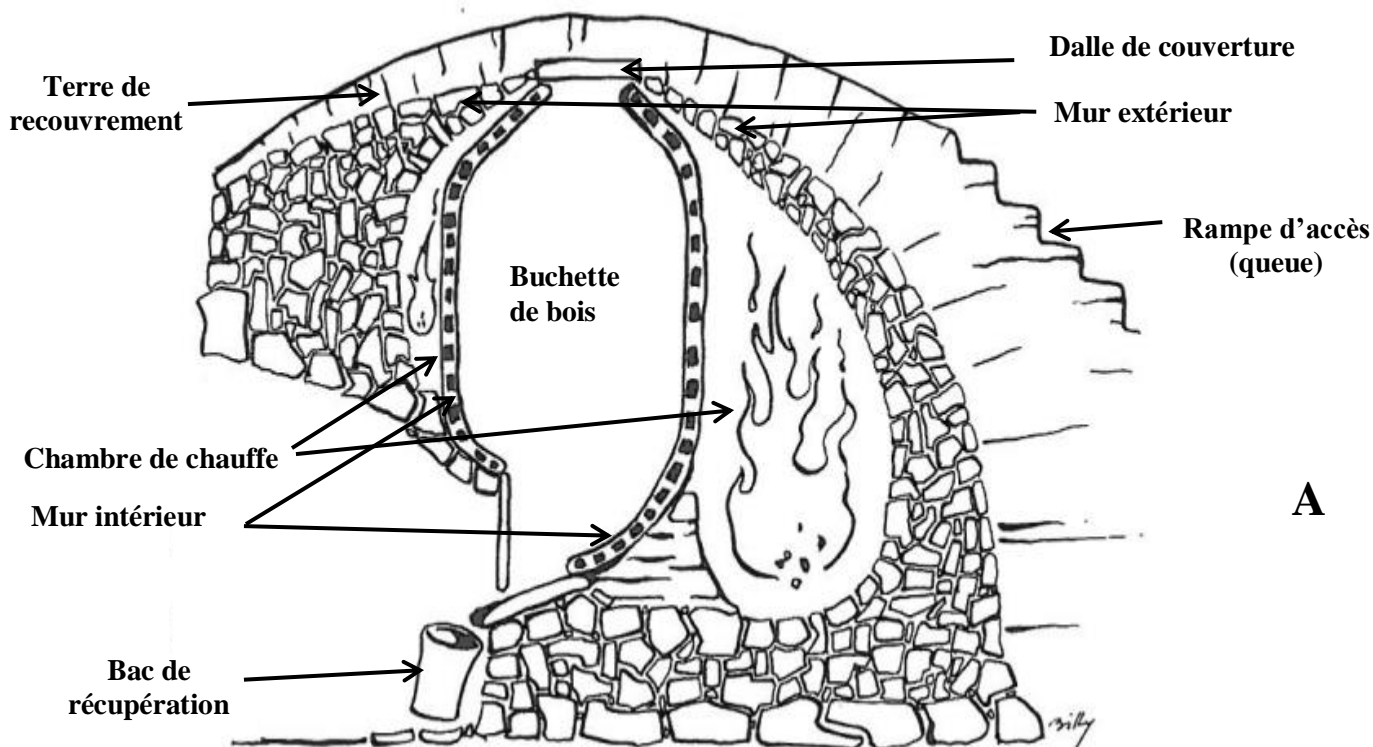
Figure n°2 : Méthode de combustion en double- pot : à pot supérieur renversé (Jauch,V. 1994, Rageot, M. 2015, Julin, M. 2008)

3.1.1.A.2. Méthode de combustion en four bâti

Dans ce cas un four dit à double chambre est bâti. La chambre intérieure d'environ deux mètres de profondeur et un mètre de diamètre est faite de briques et d'argiles, elle reçoit le bois à partir duquel le goudron est produit

Cette chambre est entourée d'une autre chambre externe appelée chambre de chauffe (foyer) dans laquelle on allume le feu afin d'avoir un chauffage maximal d'environ 250°C. cette température permet l'exsudation du goudron et une canalisation partant de la base de la chambre intérieure (la base est en forme d'entonnoir) permet de diriger le goudron produit vers un réceptacle situé à l'extérieur (**figure n°3 :A**)

La face frontale présente en son milieu un profond renforcement sous forme de couloir appelé « la voûte », il conduit à l'orifice de sortie du goudron dit « la porte ». À la partie inféro-postérieure des faces latérales, s'ouvrait de chaque côté, un large tunnel destiné au tirage et à l'alimentation du foyer (**figure n° 3:B**). (Paulin, O.1994 , Bailly, L. 2015, Belliot, A. 2007,)



A

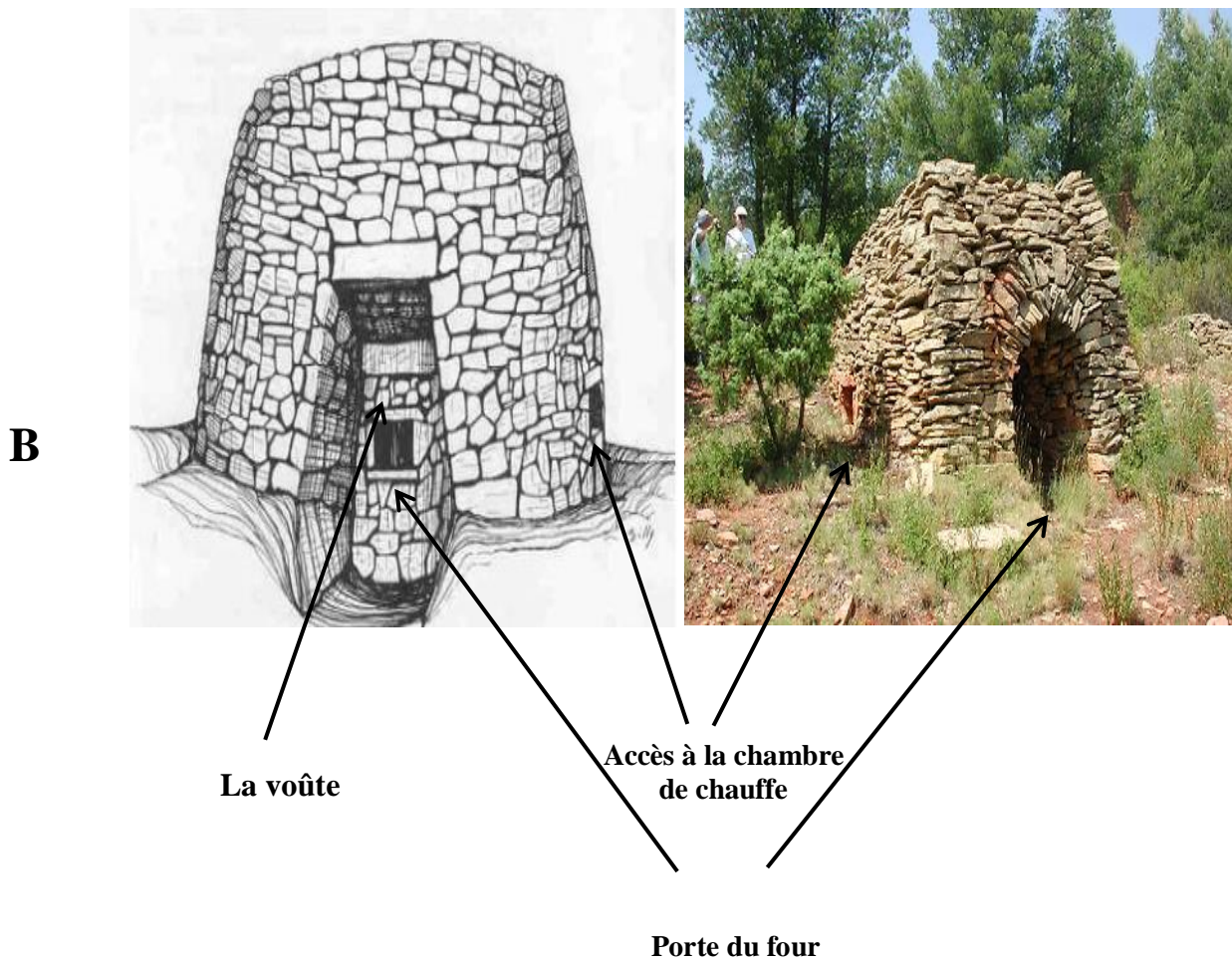


Figure n°3 : Four bâti à double chambre : A) coupe longitudinale, B) Le four de l'extérieur (Paulin, O.1994 , Bailly, L. 2015, Belliot, A. 2007)

3.1.1.A.3. Méthode à deux compartiments

Dans ce procédé (Fig n°4), deux trous (deux compartiments) sont creusés dans le sol. Un trou est rempli de bois et autour lui se trouve un tunnel en forme de demi-cercle avec une "cheminée" à chaque extrémité : C'est le compartiment d'allumage. Ce compartiment est recouvert d'un mélange d'argile, de terre et d'eau pour ne pas introduire d'oxygène dans le système.

La vapeur est ensuite conduite à travers un long trou vers le deuxième compartiment (compartiment de récupération du goudron) où elle se refroidit et se condense en goudron. Un peu d'eau a été ajoutée au fond de ce compartiment pour refroidir le goudron et générer de la vapeur qui monte et passe à travers des branches placées au-dessus. Lorsque les branches commencent à devenir noires (Fig n°4 :9), cela indique que le processus est terminé et le goudron pourra être alors récupéré. (Julin, M. 2008)

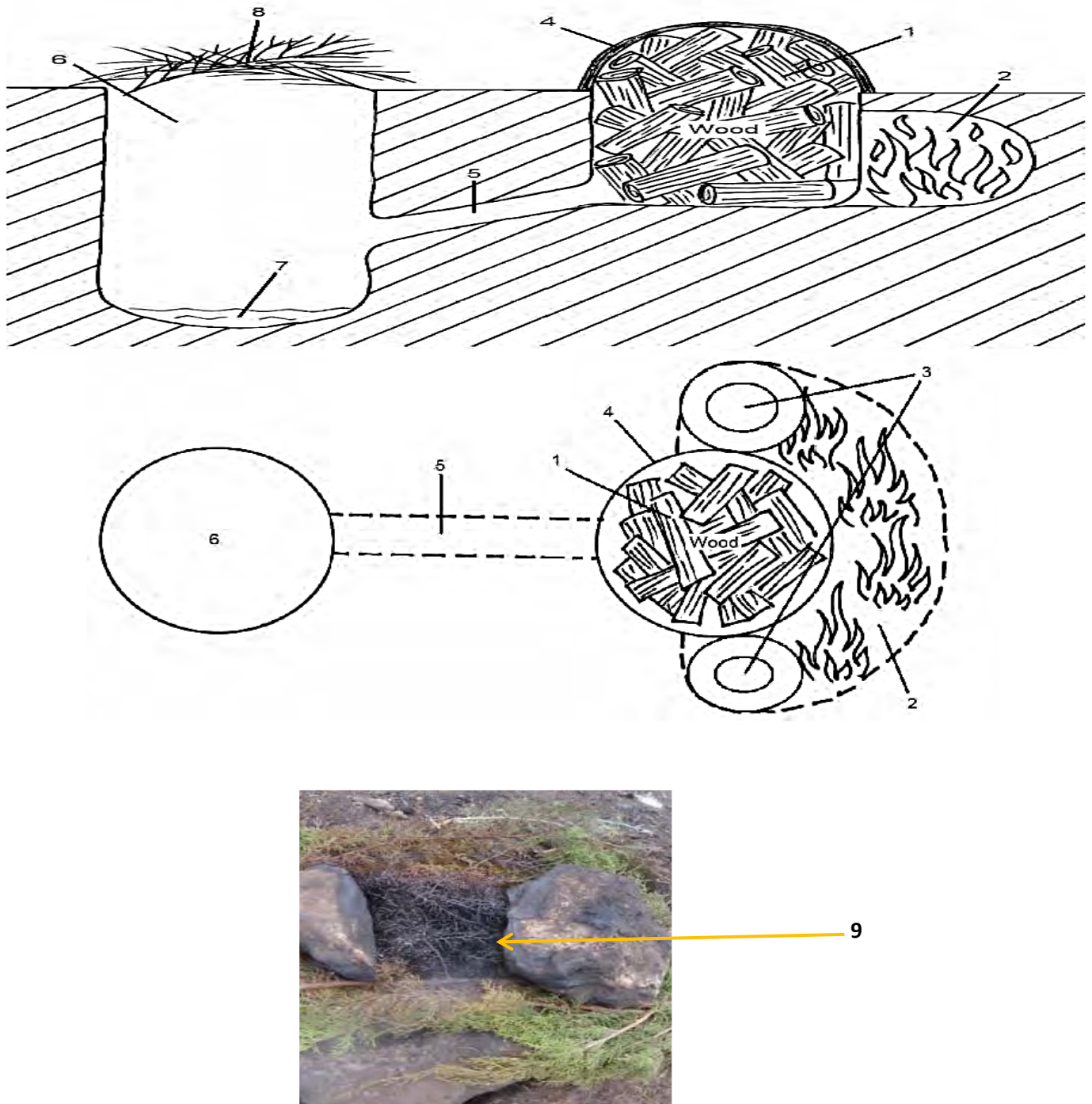


Figure n°4 : Méthode à deux compartiments.

(1 : bois. 2 : tunnel en forme de demi-cercle. 3 : cheminées. 4 : mélange d'argile, de terre et d'eau. 1,2,3, 4 : Le comartiment d'allumage. 5 : long trou. 6 : compartiment de collecte .7 : eau de refroidissement du goudron. 8 :branches. 9 : noircissement des branches (**Julin, M. 2008**))

3.1.1.B) procédés autothermiques

3.1.1.B.1. Méthode de combustion sur des aires carrelée (procédé sous charbonnière)

Cette technique est proche de la précédente, elle consiste à excaver deux trous ; L'un plus grand appelé compartiment d'allumage (fourneau). Le deuxième trou plus petit, appelé : compartiment de collecte, il est généralement situé pas plus de 30 cm en descente du grand trou. (**Figure n°5 a**)

Les surfaces intérieures du compartiment d'allumage sont recouvertes de boue et d'argile pour empêcher l'infiltration et la perte du goudron alors que le compartiment de collecte n'est pas plâtré parce qu'un récipient est placé ici (généralement métallique) pour recueillir le goudron.

Un puits est creusé au centre du compartiment d'allumage, raccordé au canal de décharge reliant les deux trous. Le diamètre du canal de décharge ne doit pas être plus de 3 cm pour empêcher l'excès d'air d'entrer dans le fourneau. Un filtre est placé au début du canal afin que les morceaux de bois ou de charbon ne se mélangent pas avec le goudron

Lors de la mise en route du four ; des buchettes de bois de 30 à 50cm sont disposées en un faisceau depuis le centre jusque vers le bord externe. On dispose ces buchettes (**Figure n°5 b**) jusqu'à obtenir un monticule bombé. Une fois que le fourneau est rempli .le dessus est recouvert de manière étanche à l'aide de deux couches de matériau La couche inférieure est constituée de feuilles et / ou d'herbes fraîches et volumineuses (**Figure n°5 c**) ; cette couche est ensuite recouverte d'une boue riche en argile (**Figure n° 5 d**) .Enfin, la combustion peut commencer grâce à une ouverture pratiquée à l'extrémité supérieure du fourneau par laquelle on insère un morceau de bois enflammé (**Figure n°5 e**). Lorsque le feu est transmis aux buchettes avoisinantes, la zone entourant la porte d'allumage est fermée, d'abord avec des herbes, puis avec de la boue. Au fur et à mesure de l'avancée de la combustion et afin de faire circuler le feu à l'intérieur du fourneau ; des fermetures et des réouvertures des trous sont appliquées dans les couches de couverture. Parfois, des fissures peuvent apparaître dans les couches de revêtement ; celles-ci sont réparées à l'aide d'herbes et de boue.

Dès cinq heures après l'allumage, le goudron commence à s'écouler du compartiment d'allumage par le canal de déchargement jusqu'au compartiment de collecte (**Figure n°5 f**). Le débit maximal se produit les premier et deuxième jours, en fonction de la taille du compartiment

d'allumage (diamètre et profond) et la qualité du bois. La combustion complète du bois peut prendre jusqu'à 15 jours.

La température atteinte dans ce genre de four est très hétérogène puisqu'elle peut atteindre 300°C à l'intérieur du compartiment d'allumage sans jamais dépasser 100°C au niveau de la zone d'écoulement du goudron (Hjulström, B *et al* 2006, Kurt, Y *et al* 2008, Rageot, M. 2015, Bailly, L. 2015,).

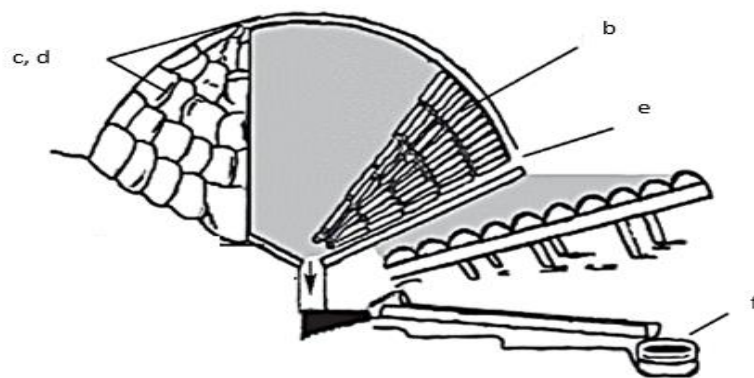


Figure n°5 : Méthode de combustion sur des aires carrelée (Kurt, Y *et al* 2008 , Bailly, L. 2015).

3.1.1.B.2. Méthode de combustion en fours ou jarres avec feu interne

Le fonctionnement reste semblable à la méthode précédente mais dans ce cas toutefois un four construit ou une jarre sont enterrés dans le sol.

Dans la première méthode un four en forme d'entonnoir est réalisé en pierres jointoyée à l'argile, profond de 2 mètres environ et assez peu large (1 à 2 mètre de diamètre) (B) la phase de remplissage doit se faire de manière ordonnée, autour d'un tronc central, que l'on retire à la fin de l'empilement. Une fois le four rempli, il est recouvert de brindilles afin de permettre une mise à feu plus rapide, et recouvert d'une épaisse couche de gazon, dans laquelle on laisse une ouverture qui servira à placer des braises permettant la chauffe de la cargaison de bois. Au fond du fourneau se trouve la « mine » (C), c'est un orifice qui était obstrué par une bonde laquelle était après trois jours de combustion, enlevée pour vérifier l'état du goudron. Lors de la vidange du four, la bonde une fois enlevée, le goudron suivait les rigoles tracées au sol, « les carneaux » (D), et se dirigeait vers le réceptacle de récupération (E) qui est creusé dans la pierre.

Dans le second cas, une jarre est partiellement enfouie en terre, d'une hauteur souvent inférieure à 2 mètres pour un diamètre dans sa partie la plus large de la même taille. Le bois y est disposé en lits horizontaux et une ouverture est pratiquée au fond de la jarre pour l'écoulement du goudron par un tuyau d'évacuation. Le feu est allumé par le haut de la jarre qui est ensuite recouverte par des pierres plates (Bailly, L. 2015)

- A : aire de déchargement
- B : fourneau en entonnoir
- C : couloir de tirage
- D : mine, et carneaux
- E : le réceptacle de récupération

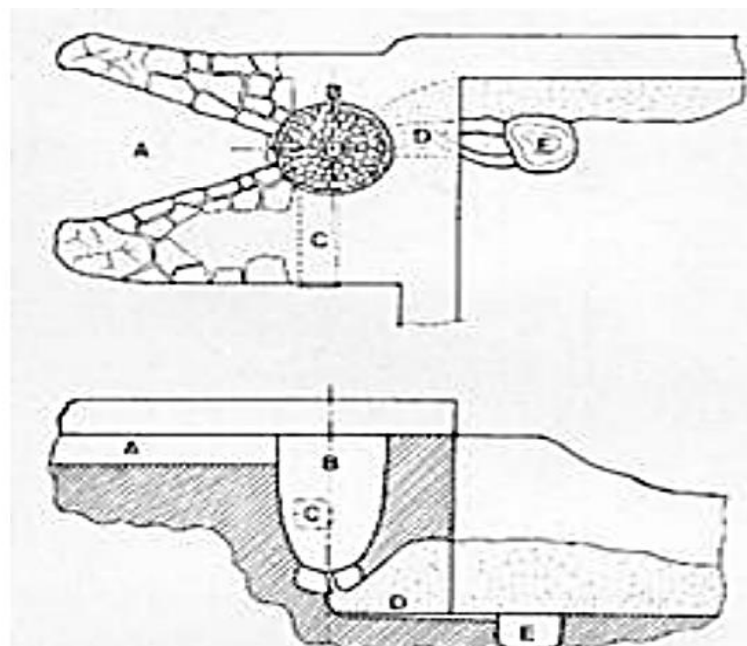


Figure n°6 : Méthode de combustion en fours avec feu interne (Bailly, L. 2015)

3.1.2) Procédé de distillation *per ascensum* (production d'huile de cade)

Dans cette technique le bois de cade coupé en petites bûchettes est entreposé dans une cuve de distillation. Autour de cette cuve, un couloir de chauffe circulaire fait de briques réfractaires permet de transmettre la chaleur du four de chauffe à la cuve de distillation. Le four de chauffe est alimenté de manière indépendante. Les vapeurs dégagées lors de la distillation sont récupérées pour une partie et condensées dans la chambre de condensation, les autres ne se condensant pas s'échappent par une cheminée. Dans la chambre de condensation un tuyau conduit le liquide condensé dans une cuve de décantation. La décantation dure une dizaine de jours. Il se forme alors trois couches. La couche inférieure est composée d'une grande quantité d'eau ; la couche médiane est un mélange d'huile et d'eau (ces deux couches sont rejetées). Enfin, la couche supérieure correspond à l'huile de cade. (HADJI, W. 2013, Belliot, A. 2007)

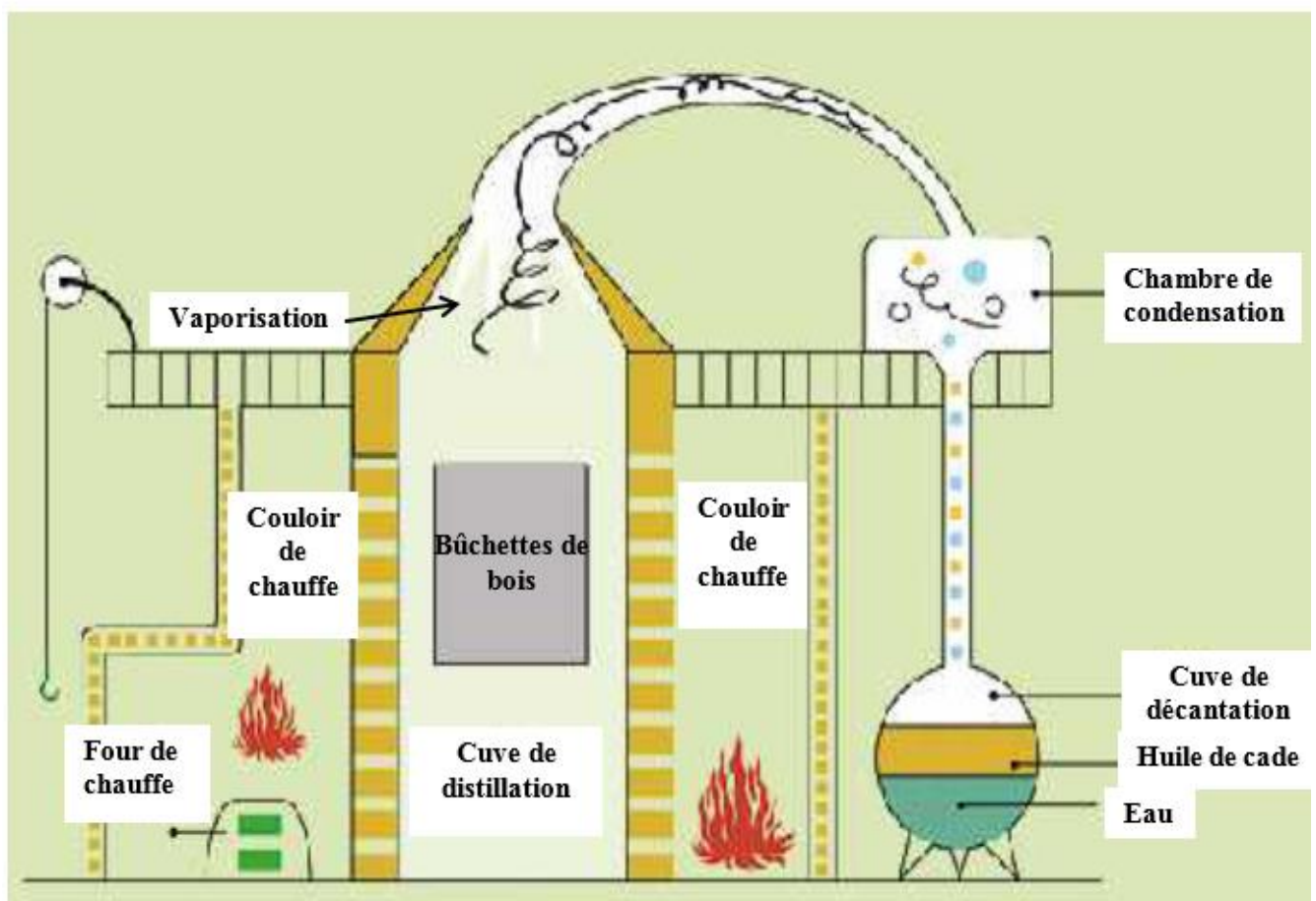


Figure n° 7: Procédé de distillation *per ascensum* (HADJI, W. 2013, Belliot, A. 2007)

3.2) Les usages du goudron végétal

3.2.1) Domaine d'alimentation

Le goudron végétal est connu pour son utilisation ancestrale dans la conservation de l'eau dans les Outres, il donne à l'eau une odeur et un goût agréables (**Julin, M. 2008, HADJI, W. 2013**).

3.2.2) Domaine Pharmacologique

Depuis l'antiquité le goudron végétal est largement utilisé en médecine humaine traditionnelle.

En usage interne et en légère dilution dans l'eau (quelques gouttes dans un verre d'eau) il est utilisé dans le traitement des ulcères gastriques (c'est un stomacal calmant les douleurs d'ulcère stomacal), et des bronchites chroniques (il permet de fluidifier les sécrétions bronchiques). Il permet aussi de tuer les bactéries du tube digestif et l'inactivation des parasites endodermiques (**M. Gast, 1999, Belliot, A. 2007, kurt et al .2008 , Kargioğlu, M et al, 2008, HADJI, W. 2013, Bailly, L. 2015**).

En usage externe il est employé pour traiter les différents problèmes capillaires et cutanés comme les pellicules, les acnés, la teigne, l'eczéma, les démangeaisons, la gale, psoriasis et les infections cutanées, il est utilisé aussi pour la cicatrisation des plaies et contre les contusions. La méthode de traitement est l'application topique sur la peau où se situe le problème, soit sous forme de goudron pur, soit de goudron dilué avec de l'huile de table ou associé à divers produits pour fabriquer des shampooings (**M.Gast, 1999, Julin, M. 2008, Lindborg, M. 2008, Ari, S et al 2014, Bailly, L. 2015**).

3.2.3) Domaine vétérinaire

Les vertus médicinales des goudrons ne sont pas mises à profit seulement pour les hommes mais l'on traite aussi traditionnellement les animaux à l'aide de ces substances. Ils sont utilisés contre les parasites intestinaux (soit donné dans le fourrage soit sous forme d'eau de goudron). Une autre utilisation majeure du goudron végétal est comme répulsif ou insecticide, en particulier contre les tiques, les puces, les moustiques et les taons, qui se nourrissent tous du sang des animaux domestiques, il est utilisé aussi contre l'herpès, la teigne, la gale et pour soigner les blessures et les égratignures qui surviennent fréquemment sur le visage, les oreilles, le cou et les pieds des animaux. (**kurt et al 2008 Julin, M. 2008, Lindborg, M. 2008, HADJI, W. 2013, Ari, S et al 2014, Bailly, L. 2015**).

3.2.4) Comme répulsif et insecticide

Le goudron végétal agit comme un répulsif contre les serpents et les rongeurs, aussi utilisé contre les piqûres d'insectes (HADJI, W. 2013, Ari, S *et al* 2014).

3.2.5) Autres utilisations

En de nombreuses régions (comme la Kabylie et l'Aurès), le goudron a une valeur antimaléfique. « Pendant les grosses chaleurs et au cours des périodes d'épidémies, les Aurasiennes en mettent sur le front, dans les oreilles et dans le nez de leurs enfants, car il assure une bonne santé. Ces gens croyaient que si le bébé sentait ce qu'ils appelaient les «mauvaises odeurs» des talismans, qui sont des amulettes protectrices portées par certaines personnes, ou s'il avait été influencé par de mauvais esprits, cela le rendait malade. Cette maladie pourrait être guérie avec le goudron végétal. Il s'utilise de différentes manières mais la plus fréquente est de l'appliquer sur ou sous le nez, autour des poignets, sur les mains, les tempes et la tête du bébé (M. Gast, 1999, Julin, M. 2008, Lindborg, M. 2008)



Chapitre II :

*Activités biologiques des
extraits végétaux*



1. Activité antioxydante

1.1 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes très instables possédant un électron célibataire non apparié sur leur couche externe ce dernier développe un champ magnétique et cherche à tous prix une union avec un électron arraché à l'orbitale externe d'une autre molécule (réactions d'oxydoréduction) (Cerou , S.1994) . Dans l'organisme humain à des concentrations physiologiques, les radicaux libres jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire mais à des concentrations plus élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose (Trabsa .H, 2018)

1.2 Les espèces réactives de l'azote

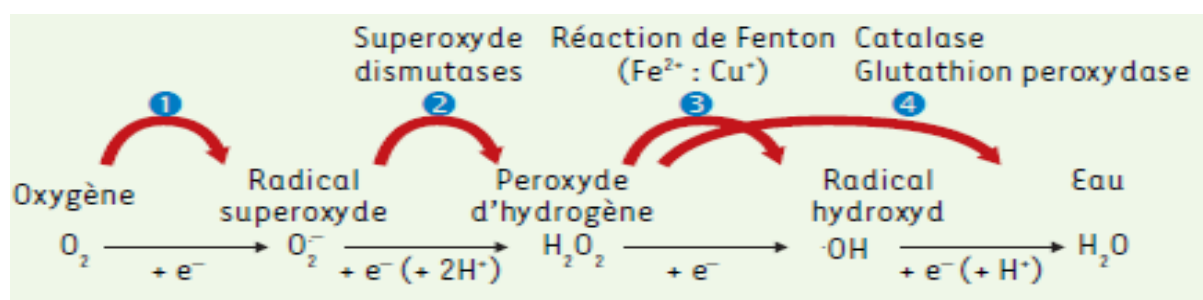
Dont le représentant majeur est l'espèce radicalaire : monoxyde d'azote (NO•) ; L'enzyme NO-synthase catalyse la réaction qui produit du monoxyde d'azote ou oxyde nitrique (NO•) à partir d'arginine et d'oxygène (Guillouty, A.2016). Le NO• représente le messenger moléculaire idéal, il est impliqué dans le règlement d'un certain nombre de fonctions y compris la tension artérielle, phagocytes et l'activité antimicrobienne, homéostasie endothéliale et neuronale, adhérence de plaquette et de leucocyte, et l'induction de l'apoptose il est une espèce très réactive (Trabsa, H. 2018) et peut se lier aux radicaux libres pour former autres composés tel que , l'anhydride nitreux N₂O₃, l'ion peroxy nitrite ONOO⁻ (ERO) , tétraoxyde d'azote N₂O₄ dioxyde d'azote NO₂ • ... etc. (Tableau n°1)

Tableau n°1 : Equations de formation de quelques espèces à partir du monoxyde d'azote (Peyrot, F. 2020, Mongens, M. 2013)

Composé		Equations de formation
Ion peroxy nitrite	ONOO ⁻	O ₂ • ⁻ + NO• ⇒ ONOO ⁻
Tétraoxyde d'azote	N ₂ O ₄	ONOO• + NO• ⇒ ONOONO (ou N ₂ O ₄)
Dioxyde d'azote	NO ₂ •	2 NO• + O ₂ ⇒ 2 NO ₂ •
Anhydride nitreux	N ₂ O ₃	NO ₂ • + NO• ⇒ N ₂ O ₃

1.3 Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

L'appellation espèces réactives oxygénées (ERO) inclut les radicaux libres de l'oxygène(provenant des réductions successives de l'oxygène) (Carrière, A *et al.* 2006) : l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), Radical peroxyde (ROO^{\bullet}), et le radical alkoxyde (RO^{\bullet}) (Matou, M. 2019) , mais aussi certains dérivés réactives non radicalaires dont la toxicité est plus importante tels que l'oxygène singulier O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et Peroxyde organique ($ROOH$) Acide hypochlorique ($HOCl$) (**figure n°8**) qui se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Benhammou, N. 2012).



Espèces réactives de l'oxygène

Equations de formation

Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	$O_2 + 1 e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + (2H^+) \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Radical hydroxyle	OH^{\bullet}	$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$
Radical peroxyde	ROO^{\bullet}	$RO^{\bullet} + O_2 \rightarrow RO_2^{\bullet}$
Peroxyde organique	$ROOH$	$RO_2^{\bullet} + RH \rightarrow RO_2H + R^{\bullet}$
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}	$RO_2H + Fe^{2+} \rightarrow RO^{\bullet} + Fe^{3+} + OH^-$
Acide hypochlorique	$HOCl$	$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + OH^-$

Figure n°8 : Origines des espèces réactifs de l'oxygène (Migdal, C., et Serres, M. 2011 , Cerou , S.1994)

1.4 Le stress oxydant

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes

antioxydants. Ainsi, à l'état quiescent, on dit que la balance antioxydants/ pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre (Migdal, C., et Serres, M. 2011) . Le stress oxydant ou stress oxydatif est un déséquilibre entre les capacités de défense antioxydante de l'organisme et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Baudin, B. 2020) c'est-à-dire déséquilibre de la balance antioxydants/ pro-oxydants (**figure n°9**)



Figure n°9 : Déséquilibre entre les antioxydants et les ERO (Baudin, B. 2020)

1.5 Action physiologiques néfaste des ERO (Conséquences du stress oxydant)

L'accumulation des espèces oxygénées réactives a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines les lipides et l'acide désoxyribonucléique (Attou, A.2011) avec apparition de caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides où la production d'anticorps pour attaquer ce derniers crée une autre vague d'attaque chimique(Beddou, F.2015).

1.5.1 Les cibles biologiques

➤ Les protéines

Les dommages oxydatifs induits sur les protéines par les radicaux libres peuvent conduire à des modifications structurales (fragmentation, modification des acides aminés) et fonctionnelles (perte d'activité enzymatique, altération du processus de protéolyse) (Chaouche, T, M.2014) , ces protéines modifiées perdent leurs propriétés biologiques, et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Trabssa, H . 2018).

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout enzymes antioxydantes qui comportent un groupement sulfhydrile (SH). Certaines protéines oxydées sont peu dégra-

dées et forment des agrégats qui s'accumulent dans les cellules et dans le compartiment extra-cellulaire, ces agrégats, associés aux lipides, forment les dépôts de lipofuscines caractéristiques des tissus des sujets âgés (**Bennamara, F, Z. 2017, Haleng, J et al. 2007**)

Lors de l'altération des protéines fixées à des transporteurs contenant des métaux de transition, ceux-ci sont libérés ce qui renforce les effets néfastes du radical hydroxyle OH• (**Mongens, M.2013**).

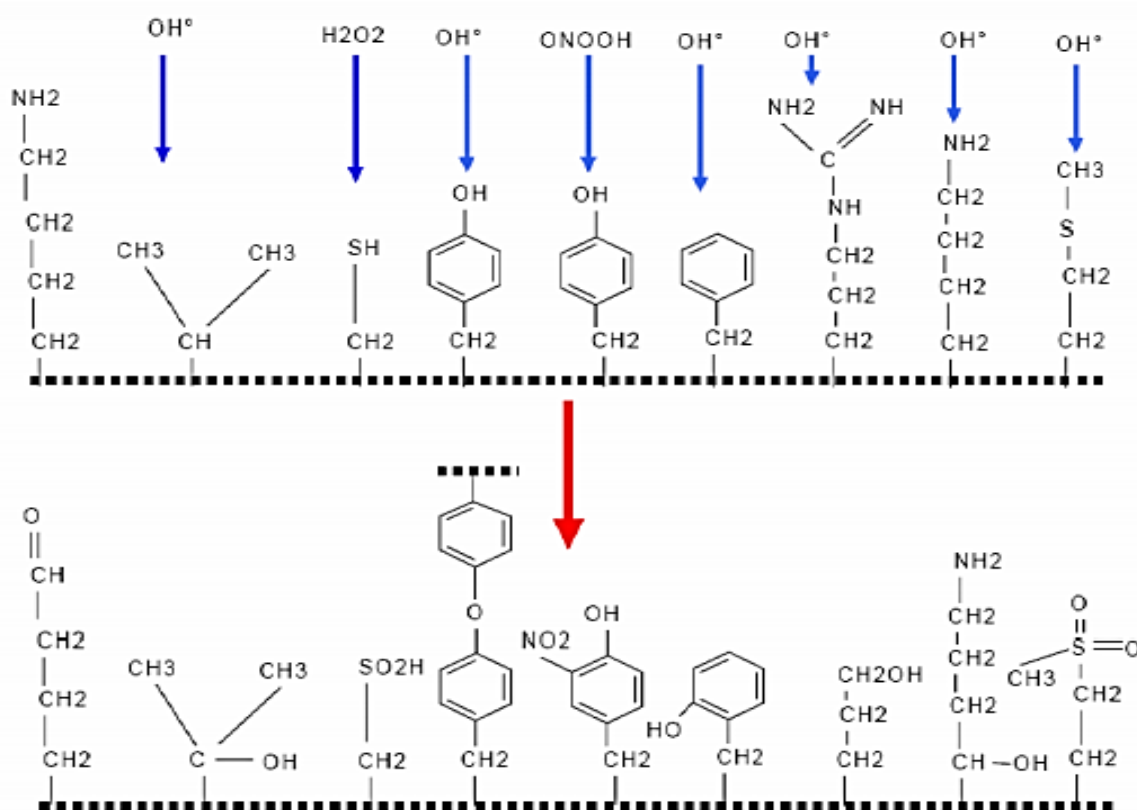


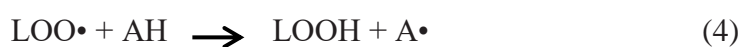
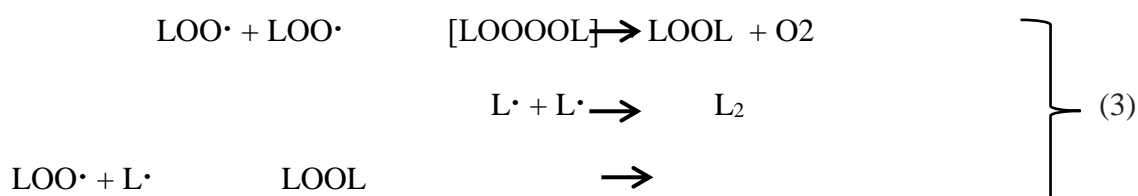
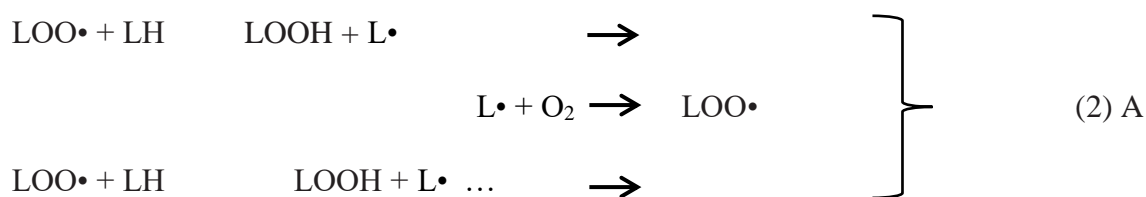
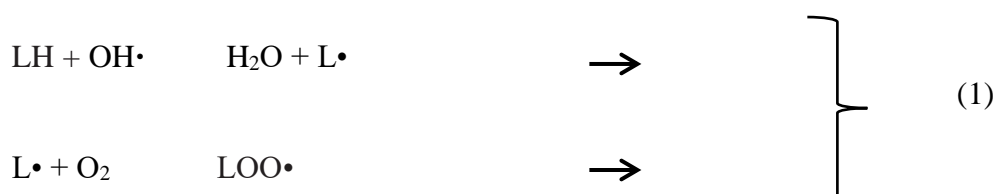
Figure n°10 : Nature de quelques modifications des chaînes latérales, d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (**Cherrak, S, A.2017**)

➤ **Les lipides**

L'oxydation des lipides polyinsaturés (LH), en présence d'oxygène, est un processus radicalaire de réactions en chaîne, connu sous le nom de peroxydation lipidique, qui se décompose en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (**figure 11**).

La phase d'**initiation** est due à l'attaque d'une espèce radicalaire (radicaux hydroxyyles (OH•), alkoxyloxy LO•..) suffisamment réactive pour arracher un hydrogène d'un acide gras polyinsaturé (LH) situé sur un carbone placé entre deux doubles liaisons pour former un radical

alkyle (L•) (réaction 1) . Ce radical est capable de réagir facilement avec l'oxygène pour donner un radical peroxyde, LOO•. Ce dernier peut à son tour arracher un hydrogène d'une autre molécule d'acide gras adjacente (LH), créant ainsi une réaction en chaîne (**propagation**) aboutissant à la formation d'un hydroperoxyde lipidique (LOOH) qui, sous l'action des métaux comme par exemple Fe²⁺ formera des radicaux alkoxydes (LO•) (réaction 2) . Enfin, Au cours des phases **terminales**, les radicaux formés réagissent entre eux pour former un produit non radicalaire (réaction 3) . Il est à noter que certains antioxydants vont provoquer la terminaison de la peroxydation en piégeant les radicaux peroxydes (réaction 4) (**Michel, F *et al.* 2008, Cerou, S. 1994, Cillard, J et Cillard, P. 2006, Guzun-Cojocaru, T. 2010**)



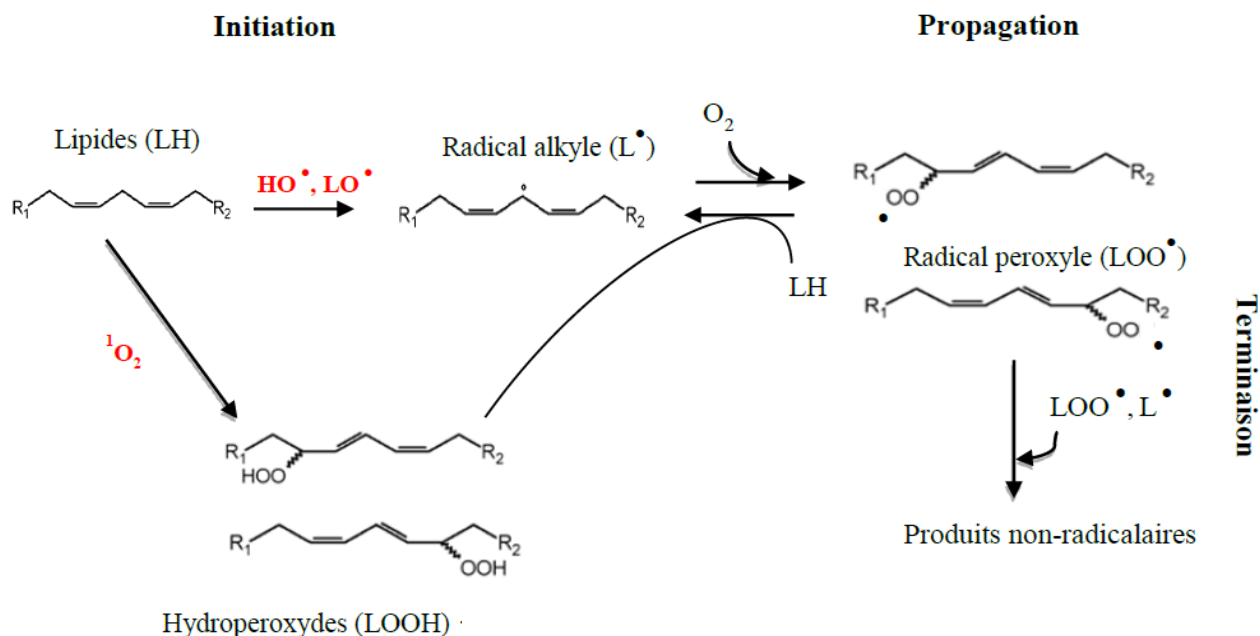


Figure n°11 ; La peroxydation lipidique (Loussouarn-Yvon, M. 2017)

➤ L'ADN

L'ADN qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO (Koechlin-Ramonatxo, C, 2006). Une abstraction d'hydrogène de l'ADN par le OH^\bullet conduit à l'hydroxylation des bases puriques et pyrimidiques (Kada, S. 2018), les ERO réagissent plus particulièrement avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2' déoxyguanosine (8-OH2DG) (Mohammedi, Z. 2013) qui au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, ceci entraîne des mutations au sein de l'ADN, conduisant à des altérations du message génétique (Haleng, J. et al. 2007) et intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes (déclenchement du cancer) (Favier, A. 2006). En plus, l'oxydation de l'ADN génère des cassures simples et doubles brins. La persistance du stress oxydatif peut perturber les mécanismes de réparation d'ADN ce qui peut mener soit à l'apoptose ou à la cancérogenèse. (Bouedjah, O. 2014).

1.5.2 Les systèmes antioxydants

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (Amadou, D. 2011).

A) Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les antioxydant enzymatiques (La Superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO. (Beddou, F. 2015)

La Superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation d' $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 (Cette enzyme s'associe à des cofacteurs métalliques comme : ions de cuivre (Cu-SOD), zinc (Zn-SOD) et manganèse (Mn-SOD) (Trabsa, H. 2015). Le H_2O_2 sera à son tour transformé en O_2 et H_2O par la catalase (Cherrak, S, A. 2017) ou il est réduit en H_2O par le glutathion peroxydase cette réduction est couplée avec l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en bisulfure de glutathion (GSSG) (BENAMMARA F. 2017). La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH comme un cofacteur. Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\bullet-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Attou, A. 2011).

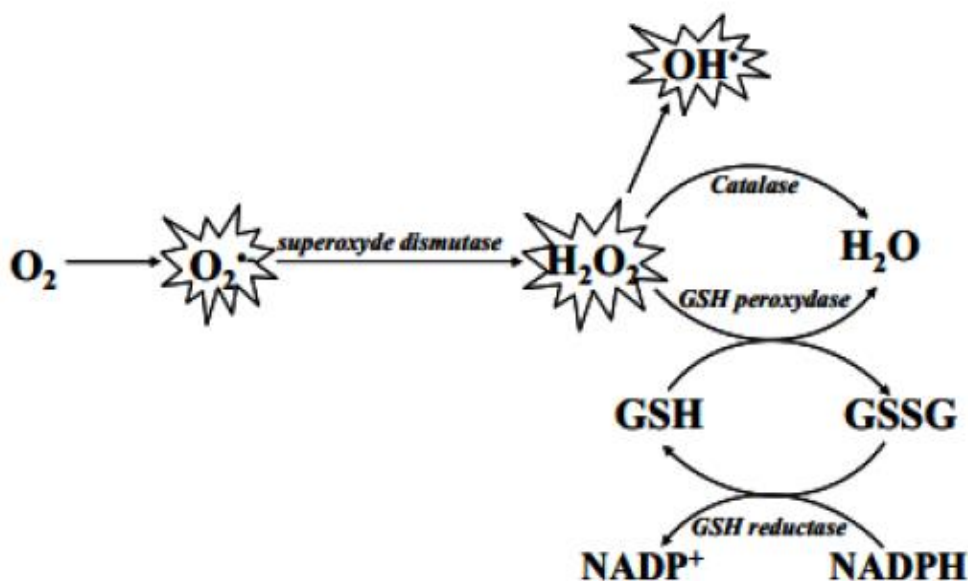


Figure n°12 : Schéma des défenses antioxydantes enzymatiques (Beddou, F.2015).

B) Les systèmes antioxydants non enzymatiques

➤ Les antioxydants endogènes

❖ **Le glutathion réduit**

Le glutathion réduit (GSH) est un antioxydant protéique abondant dans l'organisme où il joue un rôle de protection des tissus et des protéines transporteuses d'ions redox actifs comme l'hémoglobine, la transferrine, la ferritine et l'albumine. Le GSH est capable de régénérer les vitamines E et C oxydées. Au niveau hépatique, il est détoxifiant car il peut se lier aux métaux toxiques comme le mercure et l'arsenic (**Boughern, B. 2012**).

❖ **L'Acide Urique**

L'acide urique est un piègeur de 1O_2 , des radicaux peroxydes et hydroxyles ($RO_2\cdot$ et $HO\cdot$), de l'ozone et de $HClO$. La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que $HO\cdot$ (**Kada, S. 2018**).

❖ **Les protéines de stockage des métaux de transition**

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruléoplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^+ permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (**Ghalem, M. 2014**).

➤ **Les antioxydants exogènes**

❖ **Les vitamines**

- **La vitamine C**

C'est une molécule hydrosoluble. Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante ($AscH^-$) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle ($AscH\cdot$) (**Dahmani, M, M. 2019**), réduisant ainsi la peroxydation lipidique et les dommages aux protéines et à l'ADN. La vitamine C a également un pouvoir antioxydant indirect en recyclant les caroténoïdes et la vitamine E. D'un autre côté, la vitamine C permet le recyclage de Fe^{3+} en Fe^{2+} favorisant ainsi la réaction de Fenton et a donc de manière indirecte une action pro-oxydante. (**Beguel, J. P. 2012**)

- **Vitamine E**

La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ avec une activité antioxydante variable. La forme la plus active est α -tocophérol (**Mohammedi, Z. 2012**). Elle s'incorpore facilement aux membranes cellulaires grâce à son caractère lipophile et

les protège contre la peroxydation lipidique en neutralisant les radicaux ROO•, RO• et LOO•. (Matou, M. 2019)

- **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont regroupés en deux grandes familles : les carotènes et les xanthophylles, dont le bêta-carotène qui est le plus connu sont des précurseurs de la vitamine A (Guillouty, A. 2016). Leur l'activité antioxydante des est liée à la longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux ROO•, HO•, O2•-, R• par simple addition électrophile et transfert d'électron Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (Halmi. S, 2014).

- **Vitamine B6**

La vitamine B6 exerce un rôle antioxydant indirect en favorisant la synthèse de la cystéine à partir de la méthionine et ainsi renforcerait la production de GSH (Kada, S. 2018)

❖ **Les polyphénols**

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles, leur capacité antioxydante réside dans leur capacité à neutraliser les radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et à chélater les ions des métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique. Il parait néanmoins que les polyphénols interagissent avec des cibles protéiques (enzymes, signalisation intracellulaire, récepteurs nucléaires...) ce qui leur assure des effets antiinflammatoires, antithrombotiques, anticancérigènes (Halmi, S. 2014, Amandine, G. 2016).

Tableau n°2 : les principales classes de polyphénols (Mohammedi, Z. 2013, Muanda, F. N. 2010, Amadou, D. 2005, Bouguerne, B. 2012, Amandine, G. 2016)

Famille		Principaux composés	Origine
	Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine, malvidine, delphinidine	Baies, fruits rouges, vin Fruits rouges, raisin
	Flavonols	Quercétine, kaempférol, myricétine	Oignons, brocolis, tomate, thé

Flavonoïdes	Flavones	Apigénine, lutéoline, chrysin	Céleri, tisanes, plantes aromatiques
	Flavanones	Herpéretine, naringénine, ériodictyol	Agrumes
	Flavones-3-ols	Catéchines, gallocatéchines, proanthocyanidines	Raisin, thé vert, chocolat
	Isoflavones	Daïdzéine, génistéine	Soja, légumineuses
Acides phénoliques	Acide hydroxy-benzoïques	Acide vanillique Acide gallique	Vanille Feuilles de thé
	Acides hydro-cinnamiques	Acide caféique Acide férulique Acide chlorogénique	Café Riz, blé, asperges Pelure de pomme de terre, pomme, artichaut
	Les tanins condensés	procyanidine prodelphinidine	
	Les tanins hydrolysables	Isoterchebuline Terchebuline Isoterchebulinoyl-D-glucose	Tous les plantes Lentilles, thé, raisins
Stilbène		Resvératrol	Le raisin, les fruits rouges, les cacahuètes ou la rhubarbe. Retrouvés dans des familles comme les

		Melanthiaceae, Polygonaceae, Moraceae, Vitaceae...
Coumarines	Benzo-2-pyrone Peucédanol Prenyletine Syphonine Mensuol	Dans les plantes, on les rencontre chez les Apiacées, les Astéracées, les Fabacées, les Rosacées, les Rubiacées, les Rutacées et les Solanacées.
Xanthones	Le Gaboxanthone Le Xanthène-9-One Le Globuliférine	Les plantes supérieures et dans les microorganismes

❖ **Les oligoéléments**

Les oligoéléments principalement le cuivre, le manganèse, le sélénium et le zinc ont des propriétés antioxydantes. Ils sont des cofacteurs indispensables pour des réactions métaboliques d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase et la catalase. (Berger, M. M. 2006, Zitouni, A. 2017).

2. Activité antibactérienne

Les maladies infectieuses représentent la cause majeure de mortalité dans le monde ; ce sont des affections provoquées par des microorganismes pathogènes telles que les bactéries, les virus, les parasites ou les champignons et touchent des millions de personnes dans le monde.

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- ✓ locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré ;

- ✓ générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme ;
- ✓ focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine. (Kahlouche-Riachi, F. 2014, Ferdjoui, S. 2014)

2.1 Les antibiotiques

Un antibiotique est défini comme une substance d'origine synthétique ou naturelle inhibant (si bactériostatique) ou tuant (si bactéricide) les bactéries pathogènes à faible concentration, et possédant une toxicité spécifique vis-à-vis de celles-ci. Leur utilisation en thérapeutique humaine débutera avec la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928, et la mise en évidence du pouvoir antibactérien *in Vivo* par Florey et Chain en 1938 [27] qui signera l'entrée dans la médecine moderne. Par la suite, de nombreuses autres molécules antibiotiques ont été découvertes, conduisant à l'essor de cette classe thérapeutique. (Bevilacqua, S. 2011, Ziai, S. 2014, Muller, A. 2017).

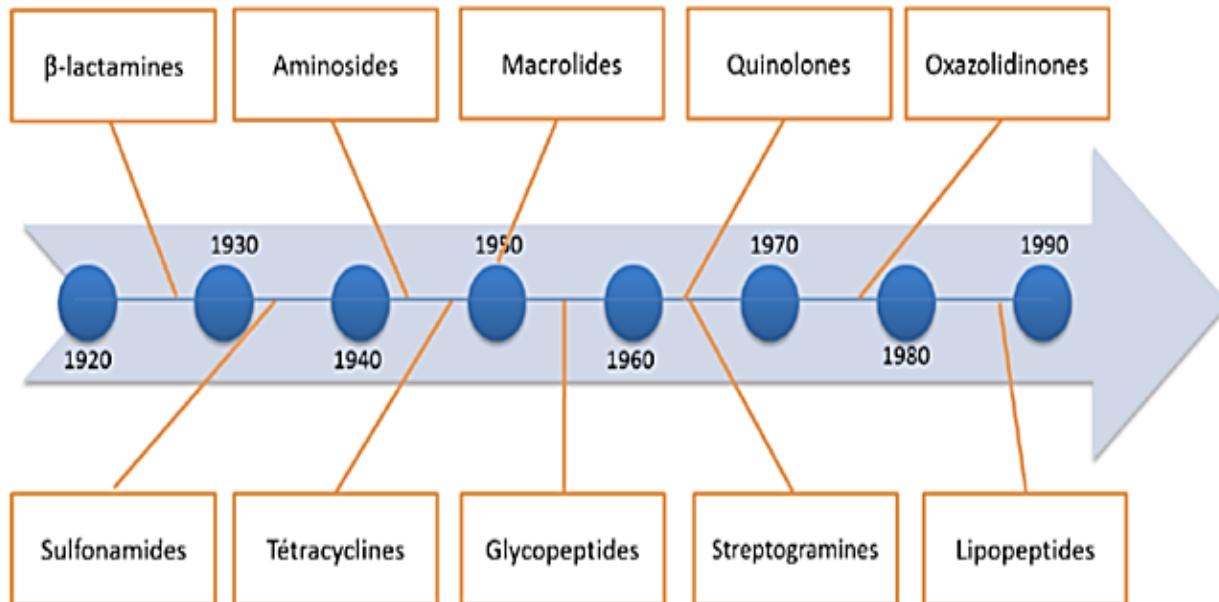


Figure n°13: Chronologie de la découverte des principales classes d'antibiotiques (Muller, A. (2017))

2.1.1. Mécanismes d'action d'antibiotiques

Le mode d'action des antibiotiques est connu car ils sont développés en fonction de leurs cibles. C'est-à-dire de l'effet destructeur désiré (Belkhiri, F. 2009). Ces différents modes d'actions sont illustrés dans la **figure n° 14** ci-dessous :

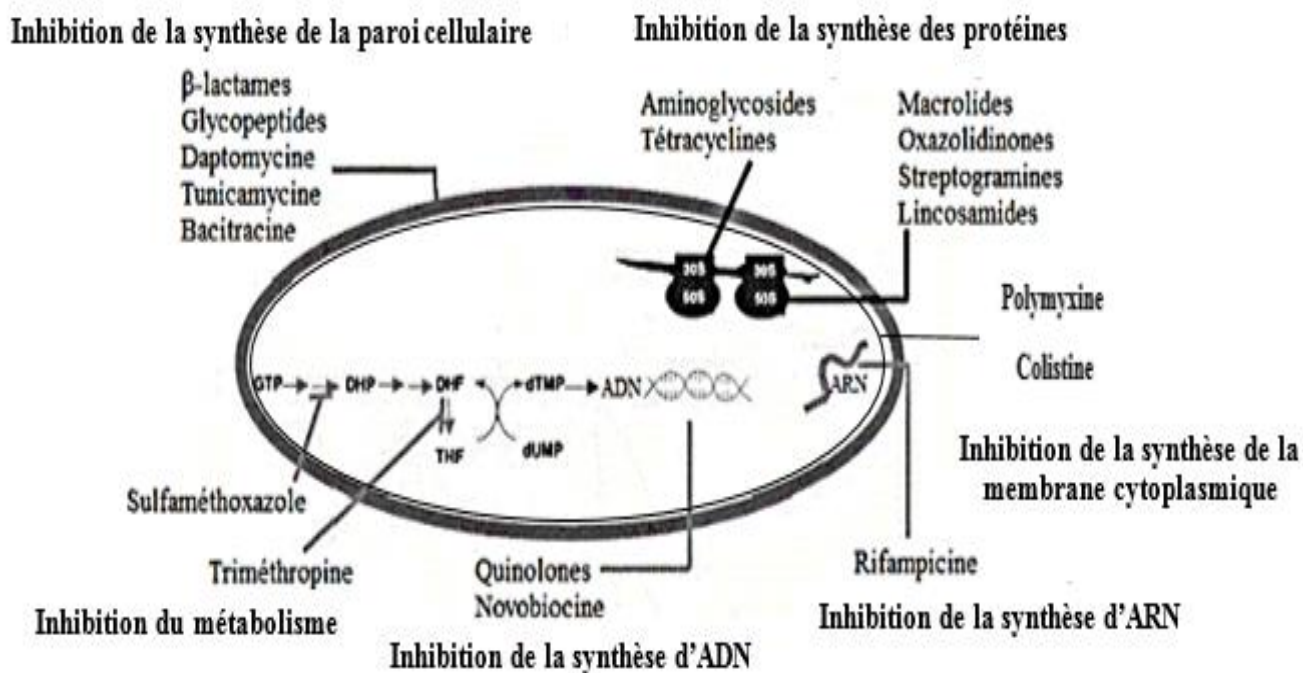


Figure n°14 : Les mécanismes d'action d'antibiotiques (Kahlouche-Riachi, F. 2014, Poli, J, P. 2018)

2.1.2. La résistance bactérienne aux antibiotiques

Dès le début de l'utilisation clinique des antibiotiques, des souches bactériennes résistantes à ces molécules sont apparues. En effet, Fleming lançait déjà un 21 avertissement face à une utilisation excessive de la pénicilline dès 1945 lors de son discours d'acceptation du prix Nobel. Cette résistance est un problème majeur compliquant le traitement des infections bactériennes surtout par la dissémination des souches multi-résistantes.

La progression de cette multi résistance risque de conduire à une augmentation de la létalité de certaines infections bactériennes et représente donc une menace réelle. Ce phénomène de résistance est connu pour toutes les familles d'antibiotiques et concerne toutes les espèces bactériennes. En effet, des consommations élevées et un mésusage d'antibiotiques sont à l'origine de l'émergence et de la diffusion de cette résistance.

❖ **Les stratégies de la résistance**

Les stratégies mises en place par les bactéries lors de la résistance vont viser soit directement les molécules soit modifier des paramètres physiologiques de la bactérie (**Figure n° 15**) :

Modification de la cible : la cible de l'antibiotique est modifiée et l'antibiotique ne peut plus s'y fixer.

➤ **Inactivation enzymatique** :

Dans ce cas ; la bactérie acquiert la capacité d'inactiver l'action des ATB par la sécrétion d'enzymes avant même qu'ils n'aient pénétré au sein du microorganisme.

➤ **Diminution de la perméabilité de la membrane** :

Beaucoup d'antibiotiques utilisent les systèmes de transport propres à la bactérie pour ses échanges avec l'extérieur pour entrer. Pour résister, la bactérie contrecarre cette entrée de toxiques en diminuant la perméabilité de sa membrane par : Une altération des porines, L'absence de passage ou l'augmentation du temps de passage, Une inhibition du transport actif, Une inhibition de la pénétration à travers les peptidoglycanes recouvrant la membrane plasmique chez les bactéries Gram positives, La modification de la composition du lipopolysaccharide.

➤ **Mécanisme d'Efflux actif** :

Les bactéries sont capables d'éliminer les antibiotiques par pompage actif hors de la cellule, qui efflue les composés toxiques au dehors l'efflux actif par des pompes plus ou moins spécifiques. (Bevilacqua, S. 2011, Lai, M. 2013, Muller, A. 2017, Seoussen, K .2018, Poli, J, P. 2018, Veyssiere, A. 2019)

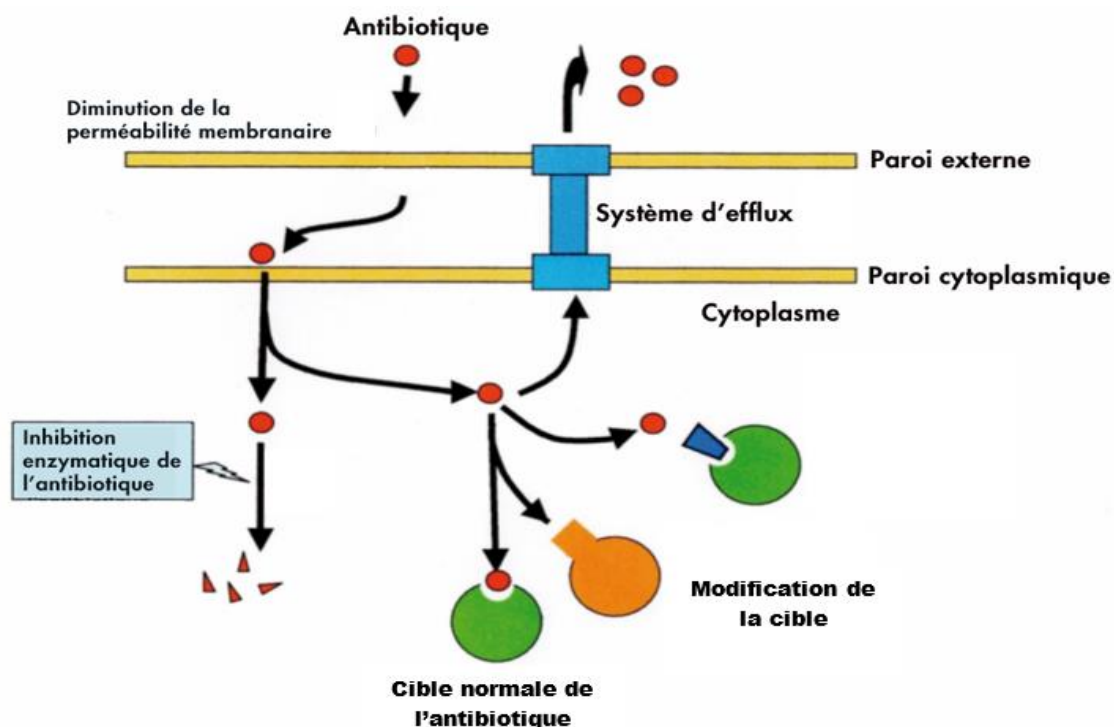


Figure n ° 15: Mécanismes de résistance aux antibiotiques **Veyssiere, A. 2019**

Ces mécanismes de résistance sont responsables :

- De la résistance naturelle : qui est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne (Elle fait partie du patrimoine génétique normal du germe).
- De la résistance acquise qui est une acquisition de nouveaux gènes (obtenu soit par mutation au niveau du chromosome (phénomène rare) soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent)) capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. **YALA, D et al 2001.**

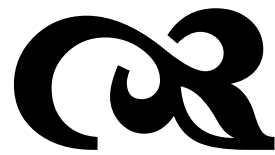
2.2. Antibactériens naturels

Vue la résistance des bactéries aux antibiotiques démontrée dans les paragraphes précédents. Les recherches sont orientées depuis quelques années vers de nouveaux substituts surtout les végétaux, qui constituent une source d'inspiration dans les recherches médicales. Ces plantes synthétisent différents métabolites secondaires dotés d'activité antibiotiques mais en général cette activité est plus faible que celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne Parmi ces métabolites on trouve les polyphénols qui sont doués de diverses importantes activités

antimicrobiennes (Tableau n°3), cette diversité est probablement reliée à leurs diversités structurales. L'inhibition des enzymes extracellulaires, la séquestration de substrat nécessaire à la croissance bactérienne ou chélation de métaux (tels que le fer), et l'inhibition du métabolisme bactérien sont les systèmes d'attaque antibactériens des polyphénols. Les huiles essentielles sont aussi connues depuis longtemps et aujourd'hui par leurs propriétés antibactériennes, même parfois à de très faibles concentrations. Ils agissent sur les protéines présentes dans les bactéries et peuvent affecter la division cellulaire, modifient la structure de la membrane cellulaire et permettent la perturbation de la production d'ATP. (Mekhoukhe, A .2008, Blkhiri, F.2009, Kahlouche-Riachi, F. 2014, Seoussen, K. 2018, Anai,V .2019)

Tableau n°3 : Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne **Daglia, M. (2012)**

Composés phénoliques	Exemples des bactéries sensibles
Flavane-3-ol Flavonole	<i>V.cholerae, S.mutans, C.jejuni, C.perfringes, E.coli, B. Cereus, H. pylori, S. aureus, L. acidophilus, A. naeslundii, P. gingivalis, P. melaninogenica, F. nucleatum, C. pneumonia</i>
Tannins condensés	<i>S.mutans, E.coli, S.aureus.</i>
Tannins hydrolysables	Différentes souches de: <i>Salmonella, Staphylococcus, Helicobacter, E. coli, Bacillus, Clostridium, Campylobacter</i>
Acides phénoliques	<i>S.aureus, L.monocytogenes, E.coli, P.aeruginosa.</i>
Néolignane	Différentes souches de <i>Mycobacterium tuberculosis.</i>



Chapitre III :

*Les plantes utilisées pour
la fabrication des goudrons
végétaux étudiés*



1. Le Cèdre de l'Atlas

1.1 Historique

Le genre *Cedrus* regroupant les cèdres appartient au groupe des conifères, à la famille des pinacées (pins). Il est caractérisé par un nombre très limité d'espèces (quatre) étroitement liées aux régions circumméditerranéennes et de l'Himalaya :

- *Cedrus brevifolia*, Henry ou Cèdre de Chypre : Sud-Ouest de l'île de Chypre.
- *Cedrus libani*, Barrel ou Cèdre de Liban : en méditerranée orientale (Liban, Syrie, Turquie).
- *Cedrus deodora*, Loudon ou Cèdre de l'Himalaya : en Afghanistan et en Inde, Népal et à l'Ouest de l'Himalaya.
- *Cedrus atlantica* Manetti (Endl.) Carrière ou Cèdre de l'Atlas : Algérie et Maroc
(Aidrous L, N. 2007, Bouchemal-Drif, A. 2011, Souyad, N. 2012, Thomas, P. 2013)

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière) l'une des quatre espèces du genre *Cedrus* est endémique des montagnes de l'Afrique du Nord : Maroc et Algérie. Cette essence a toujours suscité un grand intérêt en raison de ses nombreuses qualités forestières telles que son intérêt écologique, sa faible inflammabilité, sa production de bois de qualité, sa croissance juvénile appréciable, sa tolérance face aux stress climatiques et son intérêt paysager. Toutes ces qualités confèrent à cette espèce une place de choix dans les projets de reconstitution, la création et la revalorisation des peuplements particulièrement en régions méditerranéennes. Elle est économiquement et écologiquement la plus importante des montagnes méditerranéennes (Khanfouci, M, S. 2005, Rabhi K *et al* 2018)

1.2 Taxonomie

Le Cèdre de l'Atlas suit la taxonomie suivante :

- ❖ Embranchement: *Spermaphytes.*
- ❖ Sous embranchement : *Gymnospermes.*
- ❖ Classe : *Vectrices.*
- ❖ Ordre : *Coniférales.*
- ❖ Sous ordre : *Abiétales.*
- ❖ Famille : *Pinacées.*

- ❖ Sous famille : *Abiétées.*
- ❖ Genre : *Cedrus.*
- ❖ Espèce : *Cedrus atlantica Manetti.*
- ❖ Nom latin : *Cedrus atlantica* Manetti (Endl.) Carrière.

Noms vernaculaires

Nom Arabe : Arz el Atlas, Begnoun ,Meddad أرز, مداد, يقنون

Nom Français : Cèdre de l'Atlas

Nom Anglais : Atlas cedar

Nom Berbère : Idil , Ithguel .

(Madjour , K. 2015, Lemiti, S. 2020, Benouaklil, F. 2018, Chahboub, H. 2017 , Demarteau, M *et al* . 2007).

1.3 Aire de répartition du Cèdre de l'Atlas

Le cèdre de l'Atlas occupe les hautes montagnes d'Algérie et du Maroc. Toutefois, il est mieux représenté au Maroc qu'en Algérie mais avec des chiffres de superficie totale incohérents ; en raison probablement d'absence d'inventaires précis et complets (**Tableau n° :3**).

Tableau n°4 : les superficies du cèdre de l'Atlas en Algérie et au Maroc.

	BOUKERKER, H. 2016	TALEB, M. L. 2017	Bouazza, K. 2019	LEMITI, S. 2020	LAARIBYA S. et ALAOUI A. 2021
Algérie	30.000 ha	22 500 ha, 29 000ha	16000ha	30.400ha	40.000 ha
Maroc	120.000 à 130.000 ha	90 000 ha, 116 000ha	180.000 ha	131.000ha	145.000 ha

Au Maroc, le cèdre de l'Atlas occupe quarts blocs :

- Cédraie du Rif
- Cédraie du Moyen Atlas central
- Cédraie du Moyen Atlas oriental

- Cédraie du Haut Atlas oriental

En Algérie, il couvre trois blocs :

- Cédraie du Babors et le Djurdjura .(Monts de Babor, Massif de Djurdjura ((Tikjda et Tala Guilef) Atlas Blidéen)
- Cédraie du Ouarsenis , Theniet El Had et Ain Antar.
- Cédraie des Aurès : Massif des Aurès, Monts de Belezma, Monts du Hodna (**Figure n° : 15**) (Taleb, M. L. 2017, Benouaklil, F. 2018, Belloula, S. 2020)

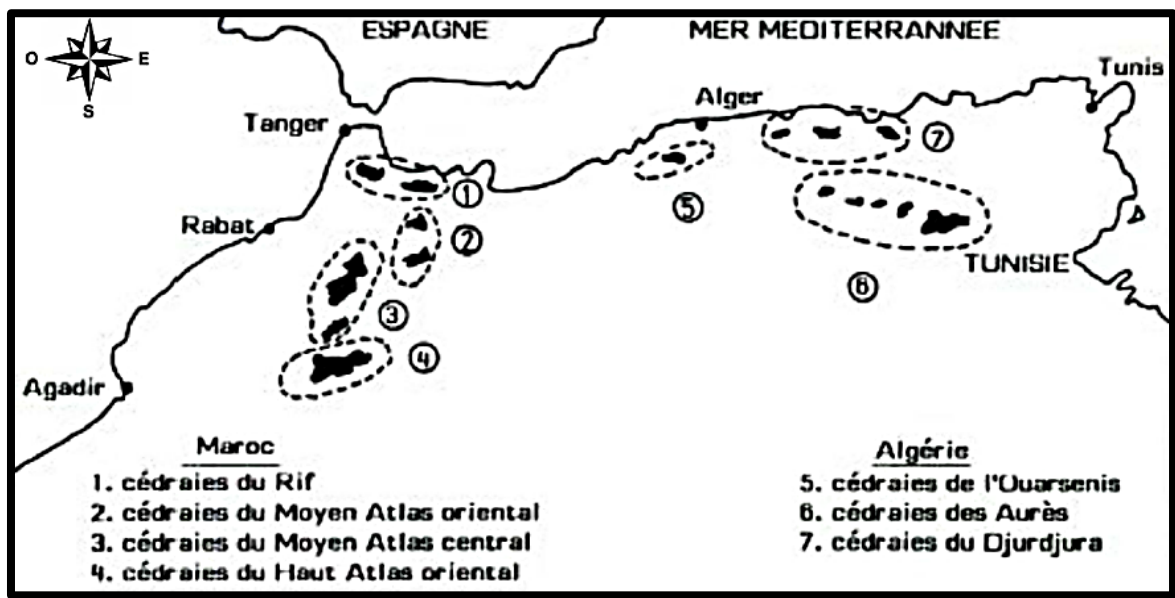


Figure n°: 16: Répartition naturelle du Cèdre de l'Atlas (M'hirit, O. 1993).

1.4 Description botanique

C'est un arbre de forme pyramidale au port majestueux, aux rameaux étalés, d'une hauteur moyenne de 40 mètres pouvant dépasser 50 mètres et atteindre les 3 mètres de circonférence d'une longévité remarquable (7 à 8 siècles). La silhouette élancée se termine en flèche légèrement courbée quand il est jeune, puis quand il vieillit, la partie supérieure forme un plan presque horizontal (**figure n°16 A**) (M. Gast, 1993 , Nezar Kebaili , M. 2009, Belloula, S.2020).

L'écorce, lisse et de couleur jaune brun à l'état jeune, devient grisâtre et fortement crevassée à l'état adulte donnant un rhytidome brun noir, épais, d'aspect fissuré et écailleux (**Addar, A. 2016**). (**figure n°16 B**)

Les branches naissent isolément sur un tronc monopodial orthotrope à croissance et ramification rythmique. Ces branches portent une multitude de petits rameaux situés dans le même

plan (**figure n°16 C**) . C'est ce qui donne à l'arbre sa silhouette tabulaire (**Bouchemal-Drif, A.2011, Souyad.N, 2012**).

Les fleurs naissent en automne et les fruits n'arrivent à maturité qu'à l'automne de la deuxième année. Le fruit (**figure n°16 D**) est un jeune cône vert mûrit en prenant la couleur brune, il est de forme cylindrique ellipsoïdale dressé légèrement déprimé au sommet

Les racines (**figure n°16 E**) sont très étendues ramifiées et pivotantes assurant la stabilité de l'arbre. Ces racines obliques sont très fortes car elles colonisent les sols profonds et humides (**Madjour, K. 2015**)

Le bois de cèdre a une odeur caractéristique, avec une couleur brun jaunâtre, assez cassant, très durable (**Bouazza, K. 2019**).

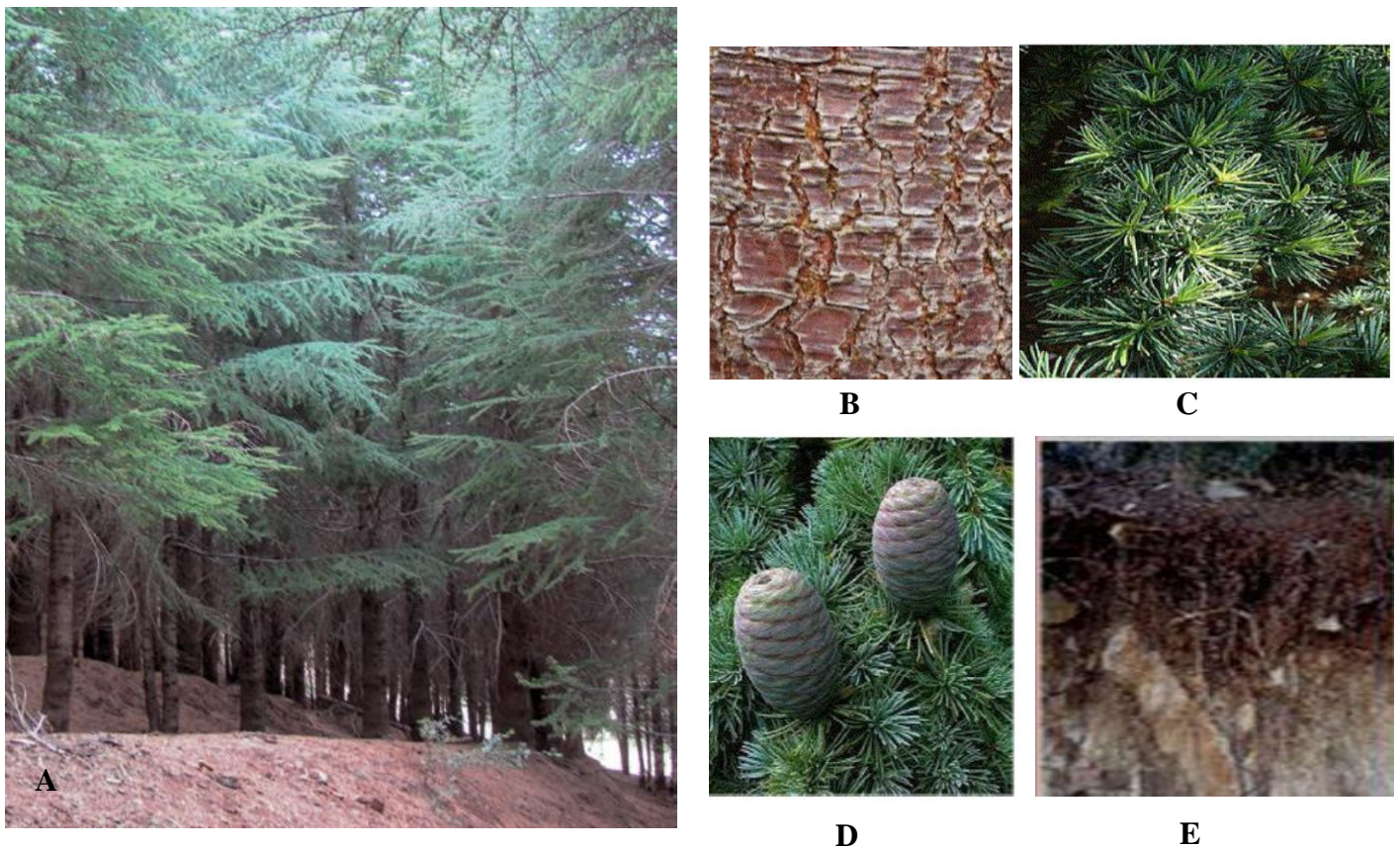


Figure n° 17 : A : Arbre, B : écorce, C : Rameaux, D: Fruits, E : Racines de *Cedrus atlantica* Manetti (Endl.) Carrière (**Chahboub. H, 2017 , Lemiti. S, 2020 , Rabhi K. 2018**).

2. Le Thuya de Berbérie

2.1 Historique

Tetraclinis articulata (Vahl) Masters, membre de la famille des Cupressacées est une essence endémique de la Méditerranée sudoccidentale, elle est originaire du nord-ouest de l'Afrique dans les montagnes de l'Atlas au Maroc, Tunisie et l'Algérie (les pays du Maghreb (d'où son appellation thuya du Maghreb ou thuya de Berberie)), (Toumi. F *et al* .2011, Achmit, A *et al* 2021) .

Cette espèce a été décrite par VAHL (1791), sous le nom de thuya articulata, puis reportée au genre *Tetraclinis* par MAIRE en 1926. (Hadjadj. K, 2017). Le médecin botaniste andalou Ibn al – Baitar arabe (qui a vécu en 12^{ème} siècle) a connu cette espèce avant Vahl, il a décrit ces propriétés thérapeutiques dans son ouvrage « *Kitāb al-Jāmi'l-Mufradāt al-Adwiya wa-l-Aghdhiya* » et il a même annoncé que d'autres médecins musulmans qui ont vécu avant lui comme avicenne, connaissaient l'arbre et ses vertus médicinales (Benyamina. A. 2019) .

2.2 Classification

Tetraclinis articulata fait partie de :

- ❖ L' embranchement : *Spermaphyta*
- ❖ Le sous Embranchement: *Gymnospermae*
- ❖ La division : *Pinophyta*
- ❖ La classe: *Pinopsida*
- ❖ L'ordre: *Pinales*
- ❖ La famille : *Cupressaceae*
- ❖ Le genre: *Tetraclinis*
- ❖ L'espèce: *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters.

Noms vernaculaires

Nom Arabe : عرعر , عرعر الابل, عرعر البرهوش, سنزروس , عرعر بربوش, شجرة الحياة, عرعار

'ar'ar , sandarus , 'ar'ar berboush , 'ar'ar berhoush, 'ar'ar el-ibel , shagaret el-hayat ,Arâar.

Nom Berbère : Azouka, Imijad, Tazout.

Nom Anglais : Arartree, Arar tree, Sandarach tree, Thyia, Sandarac tree, Sandarac Gum Tree, Juniper gum tree, Alerce, Thuja, Gharghar, thuya from Berberie.

Nom Français : Thuya de berbérie, Thuya, Callitris, Thuia articulé, Thuia à la sandaraque, Vernix., (Nauroy, J.1954 , Lamnauer D et Batanouny K 2005, Ben Yahia , S. 2015.).

2.3 Répartition géographique de l'espèce dans les pays du Maghreb

Le thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*), est une espèce endémique de l'Afrique du Nord et en particulier des pays du Maghreb Maroc, Algérie et Tunisie (où l'espèce occupe actuellement une superficie très proche à 670.000 ha) avec deux petites populations périphériques au sud-est de l'Espagne (Carthagène) et à l'île de Malte (**Figure n°17**)

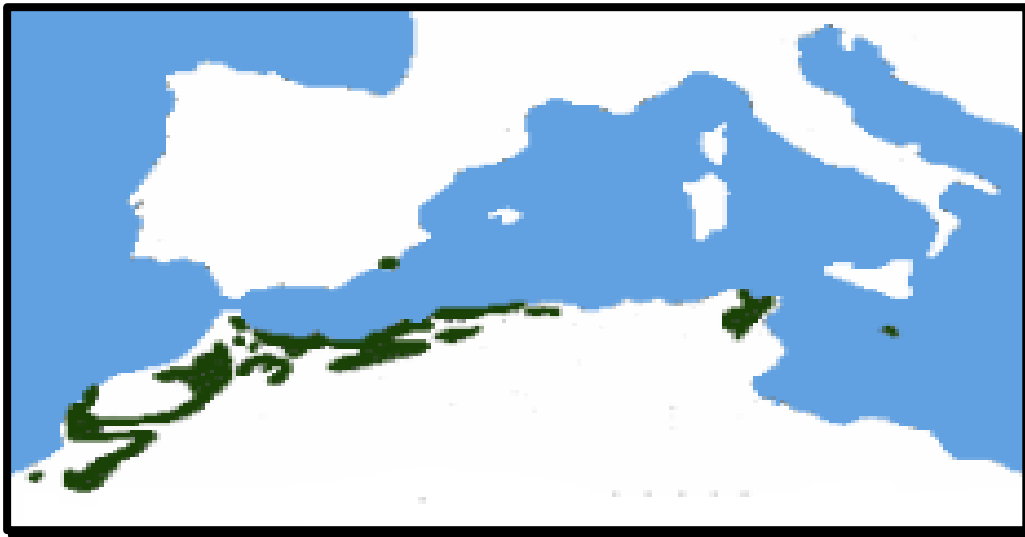


Figure n°18 : Aire de répartition de thuya de Berbérie

- Au Maroc, la superficie occupée est d'environ 566.000 ha (Haut Commissariat Aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, 2016).
- En Tunisie, selon la Direction Générale des Forêts, les chiffres sont de 30.438 ha.
- En Algérie, selon le rapport national élaboré pour la FAO par l'Institut National de Recherche Forestière (2012), les forêts de thuya de Berberie n'occupent que 73.300 ha alors qu'il couvrait auparavant plus de 161 000 hectares et occupait la troisième place après le pin d'Alep et le chêne vert. Cet arbre se trouve dans le secteur littoral oranais, ainsi qu'à l'intérieur du pays; il est exclu dans le Tell constantinois aussi bien que dans la région littorale orientale

et centrale à cause du froid et de l'humidité (Toumi, F *et al* .2011, Esteve Selma, M.A *et al* 2019, Hadjadj, K et Letreuch Belarouci . A , 2017 , Achmit, A *et al* 2021)

2.4 Description du thuya de Berbérie :

Le thuya de Berbérie est un arbre dont la taille dépasse rarement les 12 à 15 m de haut, 6 à 8 m de hauteur en moyenne, avec des troncs de 0.3 m de diamètre en moyenne. **(Figure n°18 A).**

L'écorce est rugueuse, de couleur brune-grisâtre, montrant des stries longitudinales il contient des canaux résinifères renfermant une résine exploitable (gomme sandaraque). La ramification est implantée à la tige avec des inclinaisons très variables.).**(Figure n°18 B)**

Les branches sont de faibles dimensions et les jeunes rameaux sont aplatis et composés d'articles formés de feuilles opposées ce qui lui attribue le qualificatif de l'espèce *T. articulata* (La spécification "*articulata*" fait référence à l'aspect articulé des branches).**(Figure n°18C)**

Les feuilles sont réduites à des écailles aplaties, allongées et opposées-décussées, le fruit est un cône d'allure cubique s'ouvrant par quatre valves (de 14à16 mm de diamètre.).**(Figure n°18 D).**

La loupe qui est une boule, parfois énorme, pousse sur le tronc de quelques arbres. Elle est considérée comme une anomalie ou une singularité de l'arbre, lui conférant un caractère de rareté, cependant, elle n'est pas une maladie. Elles croissent avec un rythme accéléré par rapport au bois normal.).**(Figure n°18 E)**

Les racines de thuya sont généralement traçantes et peuvent aussi être pivotantes dans des situations particulières. Elles donnent un réseau serré et dense pour fixer solidement l'arbre dans les sols rocheux et déclives.

(El Mouridi, M. 2011, Fidah,A.2016, Abi-Ayad,F.2009, Sbay, H. et Lamhamedi, M. S, 2015, Esteve Selma, M.A *et al* , 2019).

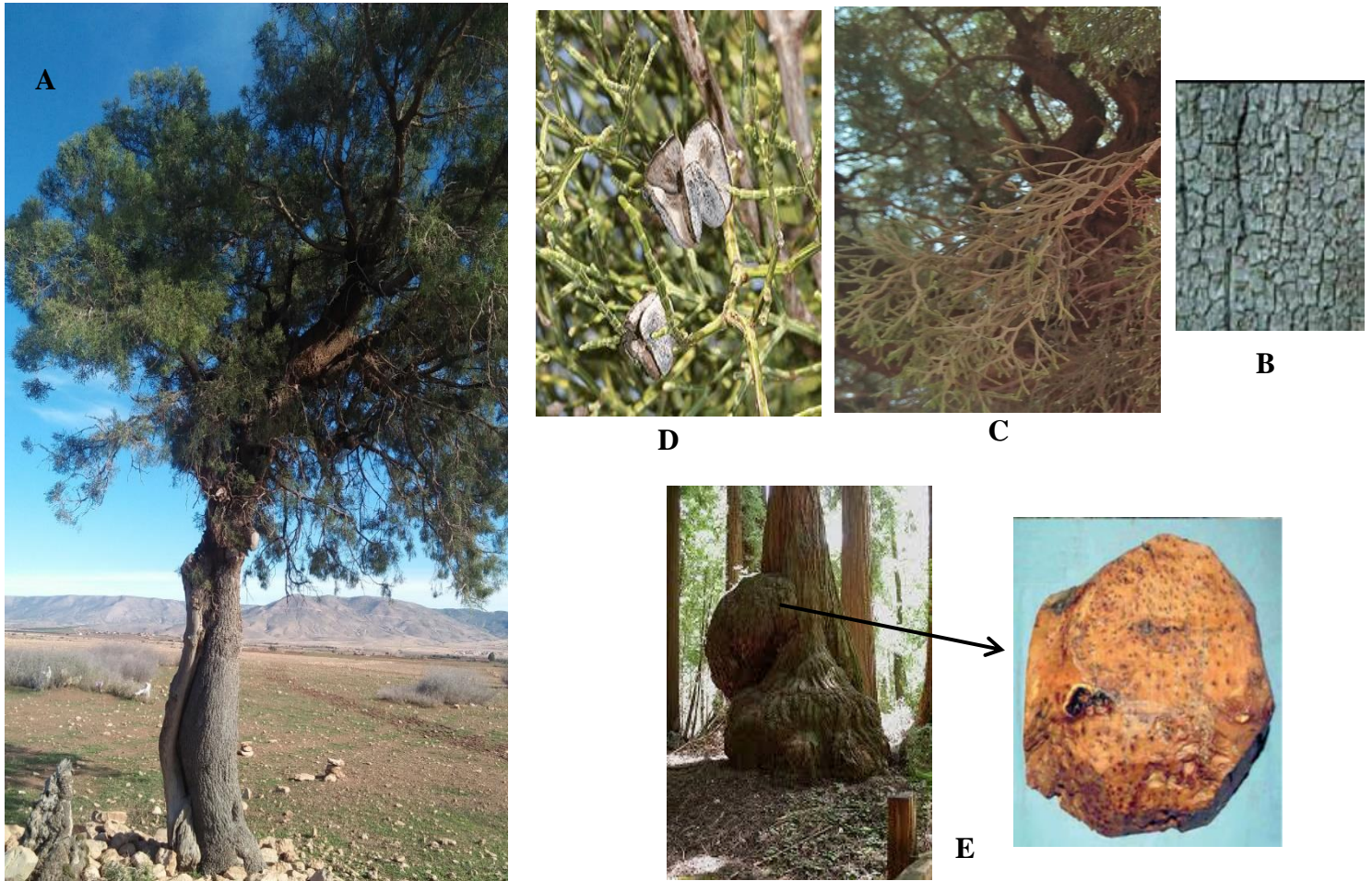
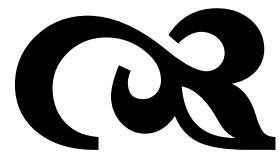


Figure n° 19 : A : Arbre, B : écorce, C : Branches, D: Fruits, E : Loupe de *Tetraclinis Articulata*. (El Mouridi, M. 2011. Hadjadj, K .2017)

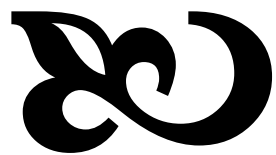


Partie expérimentale





I : Matériels et méthodes



1. Objectifs de l'étude

Dans le cadre de la mise en valeur des goudrons végétaux connus depuis l'antiquité pour leurs usages médicinales, alimentaires, vétérinaires.....etc., nous avons réalisé une étude biologique et phytochimique de deux extraits du goudron végétal fabriqués traditionnellement en Algérie.

Les objectifs principaux de cette étude sont :

- ❖ La réalisation d'une enquête ethnobotanique sur le goudron végétal en général puis sur les goudrons de *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters.
- ❖ L'évaluation organoleptique et physicochimique des deux goudrons végétaux.
- ❖ Le dosage quantitatif des principes actifs de ces goudrons et leur caractérisation par GC/MS.
- ❖ Etude de l'activité antioxydante (*in vitro*) par plusieurs méthodes (DPPH, FRAP, TAC).
- ❖ Etude de l'activité antibactérienne (*in vitro*) de ces deux goudrons végétaux .

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Bioconversion Génie Microbiologie et Sécurité Sanitaire (BGMSS) au sein du département de Biologie –Université de Mascara à l'exception de la chromatographie GC/MS qui était effectuée au niveau du centre de recherche scientifique et techniques en analyses physico-chimique-Expertise-Tipaza (SPA CRAPC Expertise SPA)

2. Matériels biologiques

2.1 Matériel végétal

Dans notre étude on a travaillé sur deux goudrons végétaux commercialisés :

A) Le goudron du *Cedrus atlantica Manetti*

Nous avons acheté ce goudron chez un herboriste à Oran, il a été fabriqué traditionnellement dans un village à Sétif par la **méthode à deux compartiments (voir chapitre 1)** avec quelques modifications (1 :un bidon métallique est placé dans chaque compartiment , 2 : le trou d'évacuation des vapeurs dégagées est remplacé par un tuyau en béton , 3 : la canalisation d'évacuation et le compartiment de collecte sont mis à l'extérieur au lieu d'être enfouis). (**Figure n°20**)

Le mélange liquide récupéré dans le bidon récepteur (d) se divise progressivement en trois phases :

- la première phase très visqueuse appelée « Latoukha ou Mltoukha »
- la deuxième phase est nommée Acide du goudron « Mhel »
- la dernière phase qui se flotte est constituée du goudron où une précipitation de 24h est indispensable pour le séparer d'acide du goudron.

Le goudron ainsi séparé est vendu à l'herboriste : **Hachim** (Sétif) pour être conditionné dans des flacons étiquetés (**Figure n°21**) puis commercialisé.



Figure n°20 : Méthode de fabrication du goudron de *Cedrus atlantica Manetti*
(a : compartiment d'allumage rempli du bois de *Cedrus atlantica Manetti* , b : canalisation d'évacuation et compartiment de collecte , c : compartiment d'allumage recouvert par un couvercle puis d'argile, d : le mélange liquide)



Figure n°21 : Flacon du goudron du *Cedrus atlantica* Manetti

B) Le goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters

Nous avons acheté ce goudron chez un herboriste à Takhemaret. Il a été fabriqué traditionnellement à Takhemaret par la **méthode de combustion sur des aires carrelée (voir chapitre 1)** avec quelques modifications (**figure 22**) (1 : les buchettes de bois sont placées sur la terre au lieu d'être disposées dans un trou, 2: l'absence du trou du compartiment de collecte, 3 : les vapeurs condensées passent à travers une canalisation métallique (B) placée au-dessous du four). Le goudron ainsi récupéré est conditionné par le producteur lui-même dans des petits flacons sans étiquetage (**figure n°25**) puis vendu à des herboristes pour la commercialisation.





Figure n°22 : Méthode de fabrication du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters (A : Organisation du bois de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters, B : Tuyau d'évacuation du goudron, C : Procédé de pyrolyse en marche).

L'identification botanique de l'espèce du *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters présent dans la zone de Beni Berdaâ (Commune Takhemaret , wilaya de Tiaret) (figure23, 24) a été confirmées par Monsieur RIGHI K (enseignant botaniste à l'université de Mustapha Stambouli –Mascara)



Figure 23: Carte géographique représentant l'endroit de la présence de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters



Figure n°24 : *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (a : arbre, b : Branche et fruit)



Figure n°25 : flacon du goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters.

2.2 Souches bactériennes

Pour les tests *in vitro*, quatre souches bactériennes (voir Annexe 2) ont été fournies par l'American Type Culture Collection (ATCC) dont un antibiogramme a été réalisé pour vérifier leur profil d'antibiorésistance:

- ✓ Deux souche à gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC43300 et *Bacillus cereus* ATCC 14579.
- ✓ Deux souches à gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

3. Méthodes

3.1 Etude ethnobotanique

Le but de cette étude est d'évaluer le niveau de connaissance de la population sur le goudron végétal et ses utilisations. Pour cela des enquêtes ont été réalisées en utilisant la langue maternelle à travers des questionnaires destinés aux herboristes qui sont les détenteurs du savoir et aux interlocuteurs.

Les questions autour desquelles s'articule les questionnaires utilisés durant cette investigation (voir Annexe 4) sont :

- Des questions personnelles (Age, sexe, niveau académique)
- Des questions sur la technique d'extraction du goudron végétal
- Des questions sur les utilisations du goudron végétal
- Des questions sur les deux goudrons végétaux étudiés (goudron de *Cedrus atlantica* **Manetti** , goudron de de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters

Cette enquête a été réalisée avec :

- 26 herboristes des endroits suivants : Mascara, Oran, Mostaganem, Takhemaret (commune de la wilaya de Tiaret).
- 300 interlocuteurs des endroits suivants : Mascara , Oran, Sétif et Takhemaret dont les trois derniers sont les lieux de vente et/ou de fabrication des goudrons végétaux étudiés.

3.2 Evaluation organoleptique et physicochimique des extraits du goudron végétal

3.2.1 Propriétés organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) du goudron de *Cedrus atlantica* **Manetti** et de *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Master ont été notées.

3.2.2 Caractéristiques physicochimique

3.2.2.1 Mesure du pH (AFNOR NFT 04-408)

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre.

3.2.2.2 Détermination de la densité relative à 20°C (AFNOR 1986),

C'est le rapport de la masse d'un certain volume du goudron végétal et la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

Elle est donnée par la formule suivante :

$$D = m' / m$$

m' : la masse en gramme de l'huile essentielle

m : la masse en gramme de l'équivalent volume en eau dans les mêmes conditions. **BOUZIDI, N. (2016)**

3.2.2.3 Mesure de la miscibilité à l'éthanol

La miscibilité a été déterminée dans de l'éthanol à 95%. (**AFNOR NF T75-006, 1998 in Hadouchi, F et al. 2010**).

Protocole :

- Introduire 1mL de chaque goudron végétal dans un tube à essai.
- Commencer à ajouter de l'éthanol avec des volumes de 1ml jusqu'à la dissolution complète du goudron végétal.

3.3 Analyse chromatographique des goudrons végétaux par GC-MS

L'analyse est réalisée au niveau du centre de recherche scientifique et techniques en analyses physico-chimique-Expertise-Tipaza, Algérie (SPA CRAPC Expertise SPA).

L'identification des extraits du goudron végétal a été effectuée en utilisant un chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard Agilent 6890) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (Hewlett Packard Agilent 5973) (**figure 26**) et équipé d'une colonne capillaire HP 5MS (5% phényl 95% diméthylpolysiloxane, 30 mx 0,25 mm, épaisseur de film 0,25 µm). Pour la détection GC/MS, un système d'ionisation électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV a été utilisé sur une plage de balayage de 30-550 unités de masse atomique. Le gaz vecteur utilisé était L'hélium (pureté : N 6.0) avec un débit de 0,5 mL / min. Les températures

de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 300 et 270°C, respectivement. La température de la source d'ions était 230 °C. La température du four a été programmée de 50 ° C à 250 ° C à une vitesse de chauffage de 5 ° C / minute et maintenue à 250 ° C pendant 15 min. Le volume d'injection des échantillons dilués (dans du méthanol) était 0.2 µl, injecté en mode splitless.

Les composés ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (indices de Kovats : IK) ; de leurs spectres de masse sur colonne HP 5MS dans l'échantillon avec ceux des standards purs analysés dans les mêmes conditions.

Les indices de rétention (IK) des composés ont été calculés en utilisant la série d'alcane C7 - C30 (Produit SULPECO ref 49451-U) et Les spectres de masse ont été comparés avec la banque de données (NIST / Nist11 / EPA / NIH MS) et la littérature (Adams, R. 2007).

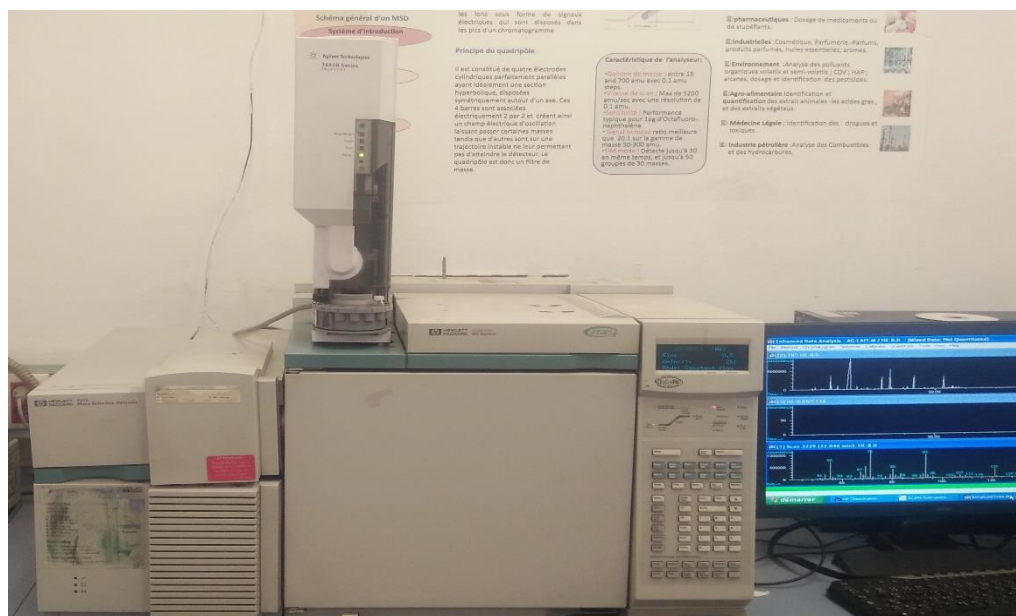


Figure n°26 : Chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard Agilent 6890) couplé à un spectromètre de masse quadripolaire (Hewlett Packard Agilent 5973) .

3.4 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits du goudron végétal a été déterminée par la méthode de (Benhamou, N *et al* 2009) utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu.

✓ Principe

Le Folin–Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un

mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène La coloration produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols (**Boizot, N et Charpentier, J. P. 2006**).

✓ **Protocole**

- Introduire 200 µl de chaque extrait du goudron dilué dans des tubes à essais.
- Additionner le mélange (1 ml de Folin Ciocalteu dilué 10 fois et 0.8 ml de carbonate de sodium à 7.5 %).
- Après agitation ; conserver les tubes pendant 30 min.
- Mesurer l'absorbance à 760 nm en utilisant le spectrophotomètre UV / Vis.

Une courbe d'étalonnage (**Figure n°27**) doit être réalisée en parallèle en utilisant l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons. Le dosage a été répété 3 fois.

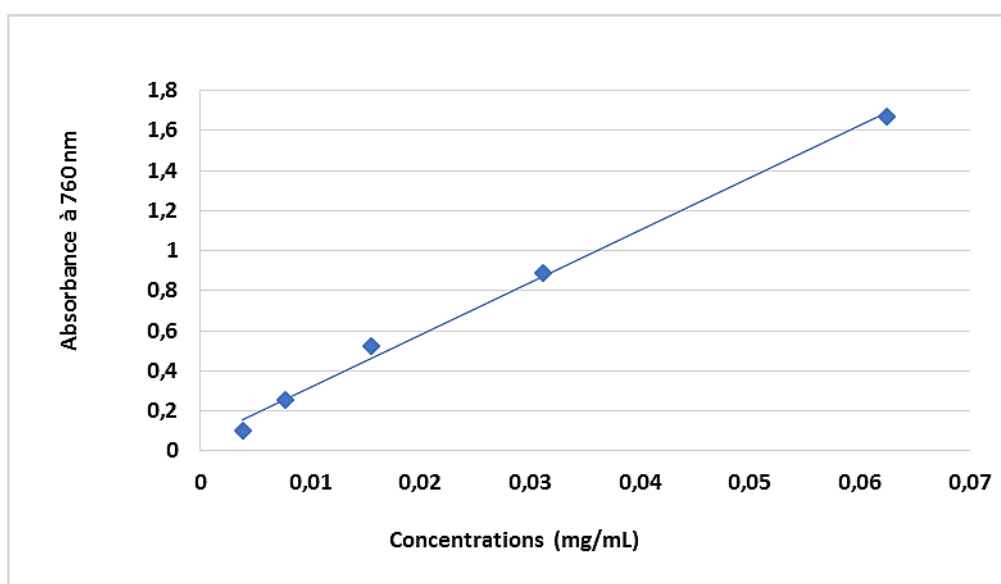


Figure n°27 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique

✓ **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents acide gallique par gramme du goudron (mg EAG/g G).

3.5 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) selon le protocole décrit par **Side Larbi, K.2016**.

✓ Protocole

- Introduire 500 µl de chaque extrait du goudron végétal dilué dans des tubes à essai.
- Ajouter 1500 µl de méthanol à 95 %, 100 µl de AlCl₃ à 10 % (m/v), 100 µl d'acétate de sodium (1 M) et 2,8 ml d'eau distillée.
- Après agitation, incuber le mélange à l'obscurité et à une température ambiante pendant 30 min.
- Réaliser le blanc dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par du méthanol à 95 %.
- Mesurer l'absorbance à 415 nm.

La quantification des flavonoïdes est faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire (**Figure n°28**) ($y = 0,1381 x + 0,0037$) réalisée par un standard étalon "la quercétine" dans les mêmes conditions que l'échantillon. Le test est réalisé en duplicata.

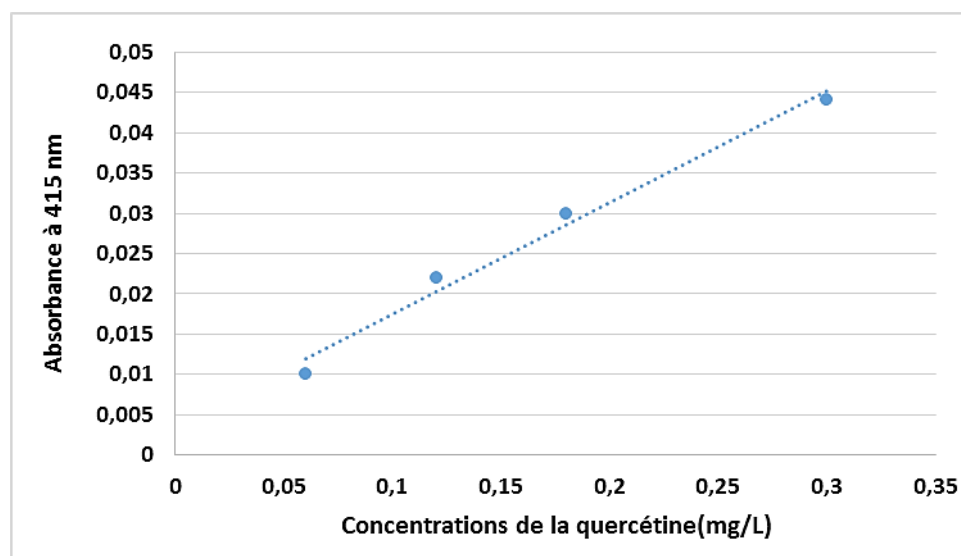


Figure n°28 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

✓ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait du goudron végétal (mg EQ/g).

3.6 Dosage des tannins condensés

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de Heimler, D *et al.* 2006.

✓ Principe

Ce test est basé sur la réaction de la vanilline avec les flavones3-ols et la formation de complexes rouges à 500 nm (Ali-rachedi, F. 2018).

✓ Protocole

- Dans des tubes à essai, introduire 25 µL de chaque extrait du goudron végétal dilué dans du méthanol .
- Ajouter 3 mL de la solution de vanilline (4% dans le méthanol) et 1,5 mL de HCl concentré.
- Laisser réagir ce mélange durant 15 min
- Mesurer l'absorption à 500 nm

Une courbe d'étalonnage (Figure n°29) ($y = 0,0007x + 0,0276$) réalisée par la catéchine pratiquée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons servira à la quantification des tanins . Le dosage a été réalisé en triplicata.

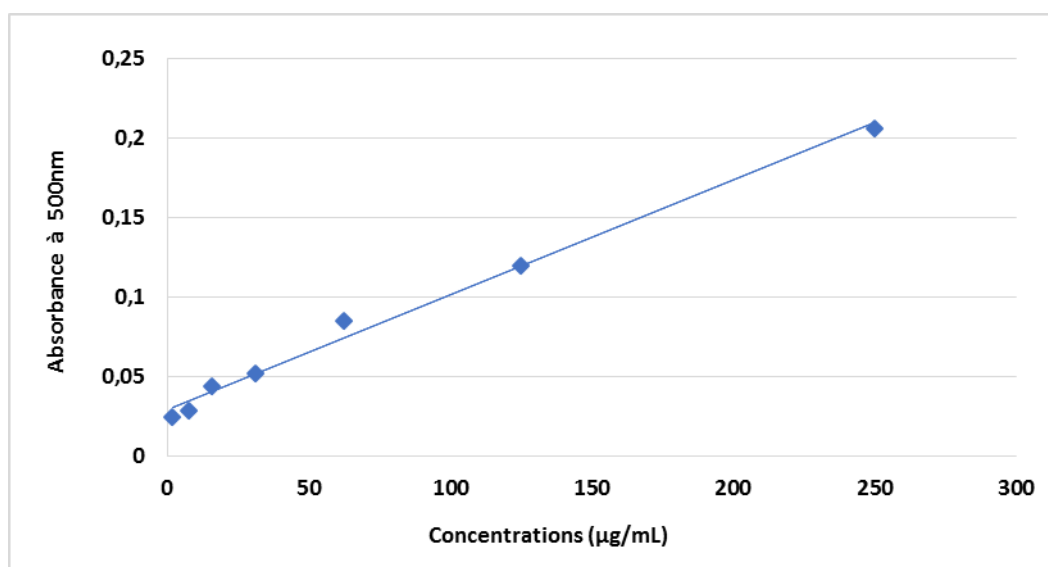


Figure n°29 : Courbe d'étalonnage du catéchine.

✓ Expression des résultats

La teneur en tanins condensés a été exprimée en milligrammes équivalents de catéchine par gramme de l'échantillon (mg EC /g G) .

3.7 Dosage des tannins totaux

Le dosage est réalisé par la méthode décrite par **HAMADOU, H. H *et al* 2018**.

✓ **Principe**

Le dosage des tanins totaux est basé sur la propriété des proanthocyanidines à se transformer par clivage de la liaison inter-flavane en milieu acide et à 100°C, en anthocyanidines colorées (jaune-vert) absorbant principalement à 550 nm

✓ **Protocole**

- Placer 2 mL d'extrait méthanolique de chaque goudron végétal (1mg/mL) dans des tubes à essai.
- Ajouter 3 mL d'acide chlorhydrique (12N ou 37 %).
- Placer les tubes fermés à l'aide d'un bouchon muni d'un joint en téflon au bain marie à 100°C pendant 30 min.
- Parallèlement, laisser un tube témoin contenant la même solution à température ambiante.
- Lire la densité optique à 550 nm après refroidissement des tubes
- Le dosage a été réalisé en duplicata.

✓ **Expression des résultats**

Les teneurs en tanins totaux sont calculées selon l'équation :

$$C = 19,33(D_{0h} - D_{0t})$$

C : la teneur en tanins totaux exprimée en mg / mL

D_{0h} : la densité optique du tube hydrolysé

D_{0t} : la densité optique du tube témoin.

3.8 Etude du pouvoir antioxydant

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des goudrons végétaux a été réalisée par trois techniques (le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer ferreux et la capacité antioxydante totale).

3.8.1 Méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl)

La mesure de l'activité antiradicalaires a été testée selon la méthode décrite par (Mighri, H *et al.* 2010)

✓ principe

Son principe est basé sur la mesure de la capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le radical chimique DPPH° par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. Cette décoloration est directement proportionnelle à la capacité antioxydante du produit ajouté, elle peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Bourkhiss, M. 2010). (Figure n°30)

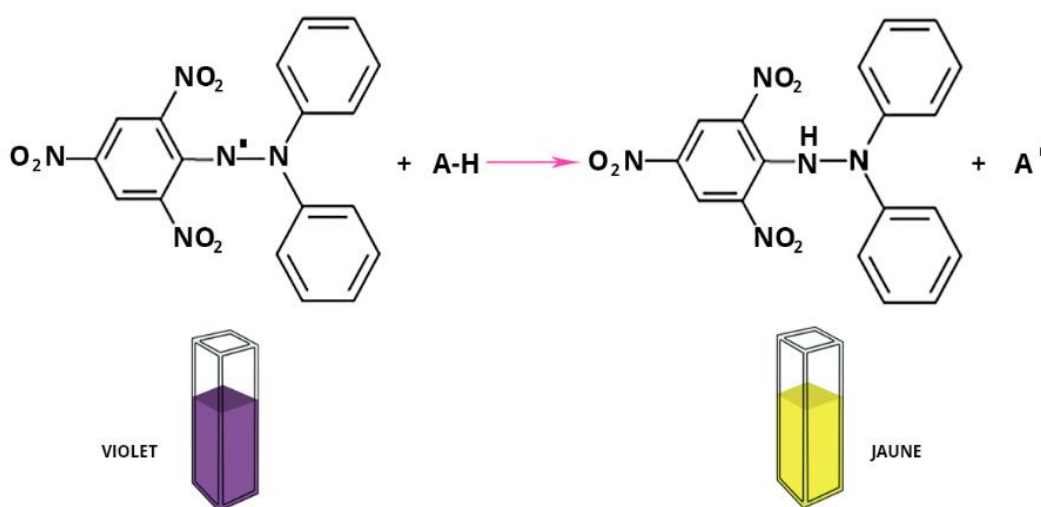


Figure n°30 : Principe de la réaction DPPH (Pisoschi, A. M *et al.* 2009)

✓ Protocole

Remarque : Pour les deux extraits du goudron végétal et le standard : Acide Ascorbique (control positif), on prépare des solutions dans du méthanol, ces solutions mères subiront ensuite des dilutions pour en avoir différentes concentrations.

- Introduire 1mL des échantillons du goudron végétal et du standard à différentes concentrations dans des tubes à essai.
- Ajouter 1mL de la solution de DPPH (0.004% ; préparée dans du méthanol).
- Après agitation, incuber les tubes à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min.

- Préparer un contrôle négatif en mélangeant 1 mL de méthanol avec 1mL de la solution méthanolique de DPPH.
- Faire la lecture de l'absorbance contre un blanc (le méthanol) à 517nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible.

✓ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$PI\% = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

Dont : PI% : Pourcentage d'inhibition.

A_0 : Absorbance du contrôle négatif.

A_1 : Absorbance des échantillons et du standard.

✓ **Calcul des IC50**

IC50 ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC50 pour efficient concentration 50) a été déterminée pour chaque extrait du goudron, elle est défini comme étant la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH.

Les IC50 ont été calculées graphiquement par des graphes tracés où l'abscisse était représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pourcentage d'inhibition (Khoudali, S . 2014, ZAIBET, W.2016) .

3.8.2 Méthode de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

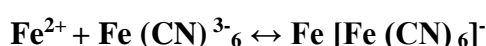
L'activité réductrice du fer des extraits du goudron végétal a été déterminée selon la méthode décrite par (Yen, G. C., & Chen, H. Y. 1995)

✓ **principe**

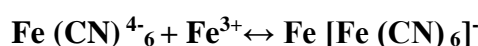
Le dosage du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) est une méthode qui mesure la réduction du complexe ion ferrique (Fe^{3+})-ligand en complexe ferreux intensément bleu (Fe^{2+}) par des antioxydants .Le test FRAP original utilise la tripyridyltriazine (TPTZ) comme ligand de liaison au fer, plus récemment, le ferricyanure de potassium a été le réactif ferrique le plus populaire utilisé dans les dosages FRAP. Dans ce cas, le bleu de Prusse est produit comme

produit final, qui est quantifié par spectrophotométrie et indique le pouvoir réducteur des antioxydants testés. La production de bleu de Prusse peut se faire par deux voies différentes avec le même résultat. (Zhong, Y., & Shahidi, F. 2015).

Les antioxydants peuvent soit réduire le Fe^{3+} dans la solution en Fe^{2+} , qui lie le ferricyanure pour donner du bleu de Prusse :



Soit réduire le ferricyanure en ferrocyanure, qui lie le Fe^{3+} libre dans la solution et forme le bleu de Prusse. (Işıl Berker, K *et al.* 2010)



✓ Protocole

- Introduire 1ml de chaque extrait du goudron végétal et d'acide ascorbique (contrôle positif) à différentes concentrations dans des tubes à essai.
- Ajouter 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de solution de ferricyanure de potassium (III) ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) (1%) puis mélanger.
- Incuber les mélanges à 50 ° C pendant 20 min.
- Après incubation, ajouter 2,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% pour stopper la réaction.
- Centrifuger les tubes à 3000 tr / min pendant 10 min.
- Mélanger 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1% avec 2,5 mL du surnageant récupéré à partir de chaque concentration.
- Lire l'absorbance du milieu réactionnel à 700 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible contre un blanc identiquement préparé en remplaçant l'extrait par le méthanol.

✓ **Expression des résultats**

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le test est réalisé en triplicata.

✓ **Concentration efficace (EC₅₀)**

C'est la concentration à laquelle l'absorbance est 0,5 obtenue à partir d'une analyse de régression linéaire (Jallali, Y *et al.* 2014). L'EC₅₀ a été déterminée pour les deux extraits du goudron végétal.

3.8.3 Evaluation de la capacité antioxydante totale par la méthode au phosphomolybdène

La capacité antioxydante totale (TAC) des extraits du goudron végétal a été évaluée selon la méthode au phosphomolybdène décrite par Prieto *et al.* 1999 avec quelques modifications.

✓ **Principe**

Cette méthode est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) en molybdène Mo (V) en présence des composés antioxydants et donc la formation d'un complexe vert de phosphate/Mo (V) à un pH acide. (Cheurfa, M., & Allem, R. 2016)

✓ **Protocole**

- Dans des tubes à essai, introduire 300 µL de chaque extrait du goudron végétal et du standard (Acide ascorbique) à différentes concentrations.
- Ajouter 3 mL de solution du réactif (0,6 Acide sulfurique M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM) puis mélanger.
- Parallèlement, préparer un blanc en mélangeant 3 mL de la solution de réactif et 0,3 mL de méthanol.
- Incuber les tubes vissés dans un bain-marie à 95 ° C pendant 90 minutes.
- Après refroidissement, mesurer l'absorbance des solutions à 695nm contre le blanc.

✓ **Expression des résultats**

La capacité antioxydante totale est exprimée en mg équivalent d'acide ascorbique par g d'échantillon (mg EAA / g) en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Figure n°31). L'expérience est effectuée en triplicata.

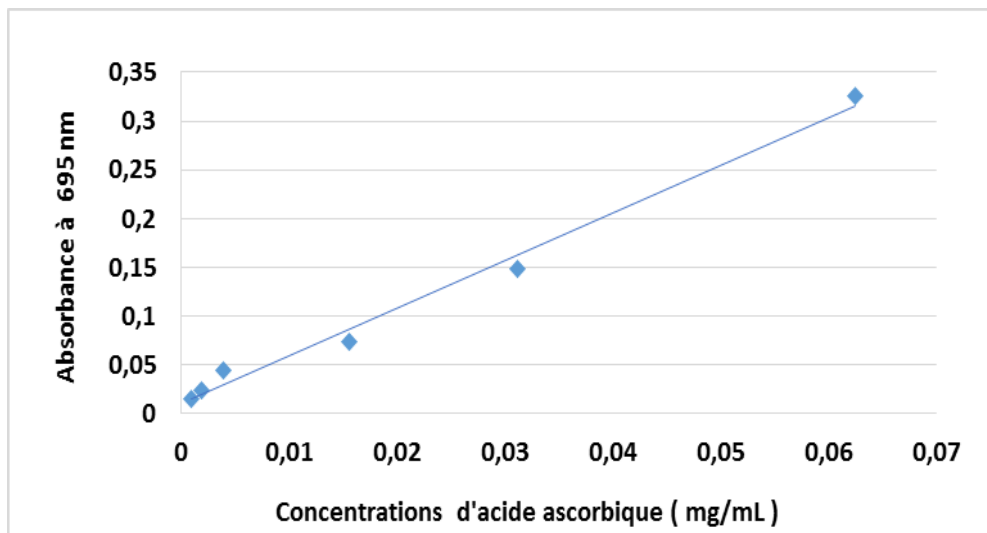


Figure n°31 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

3.9. Etude de l'activité antibactérienne in vitro

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits du goudron végétal a été réalisée par la méthode de contact directe, elle s'agit en fait d'une appréciation qualitative de l'activité par une diffusion sur gélose (méthode des disques). L'aspect quantitatif sera ensuite estimé par la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB).

3.9.1 Préparation de l'inoculum bactérien

Une suspension microbienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mc Farland (10^8 UFC/mL ; ce qui correspond à une DO de (0,08 à 0,1) à 625 nm (Abi-Ayad, F. Z. 2009)) est préparée en mettant quelques colonies bactériennes des souches jeunes de 18 heures en suspension dans une solution saline (0,9% NaCl) (Chebaibi .A *et al* .2016) .

3.9.2 Antibiogramme

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*.

Le Profil de sensibilité/résistance des souches bactériennes a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé conformément aux indications de la CASFM 2019.

La technique consiste à déposer des disques d'antibiotiques (Tétracycline 30µg, Céfalexine 30 µg, Amoxicilline 30 µg, Oxacilline 1 µg et Gentamicine 10µg) sur une gélose préalablementensemencée par écouvillonnage (les disques une fois déposés ne doivent pas être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide) ,après incubation à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures, chaque disque sera entouré d'une zone d'inhibition dont

les diamètres seront comparés avec ceux mentionnés par **OMS (2008)** ,**CLSI (2010)** et **CASFM (2019)**.

3.9.3 Préparation des extraits du goudron végétal

Chaque extrait du goudron végétal est dilué dans le DMSO puis pasteurisé à 62°C pendant 15min (**Almola, 2010 in Belmimoun, A. 2015**) .. Les concentrations ont été fixées suivant des essais préliminaires.

3.9.4 Méthode de diffusion sur gélose

✓ Protocole

La méthode utilisée est celle de **Lamamra, M. 2018** avec quelques modifications (**Figure n°32**) , elle consiste à déposer des disques de papiers waltman de 6 mm de diamètre préalablement stérilisés à la surface de la gélose ensemencée (dans les 15minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension) après avoir été chargé de 10 µl des concentrations croissantes d'extraits du goudron végétal. D'autres disques, chargés de 10 µl de DMSO sont utilisés comme témoins négatifs. Les géloses sont préparées au préalable dans des boîtes de Pétri de 9cm de diamètre, l'épaisseur de la gélose est de 4mm. L'ensemencement des milieux se fait par écouvillonnage selon les recommandations de l'OMS (**El Koli, M. 2016**).

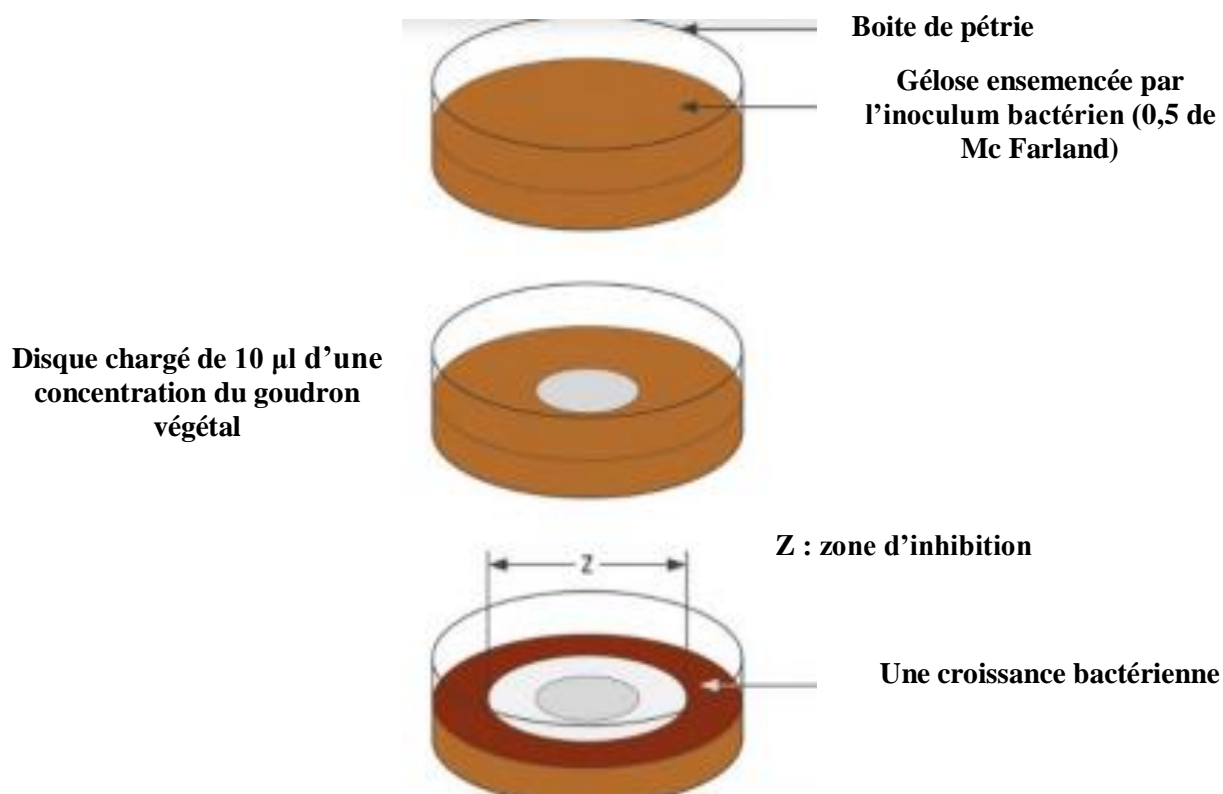


Figure n°32 : Illustration de la méthode d'aromatogramme

Les boîtes entourées par du parafilm sont laissées dans le réfrigérateur bien désinfecté pendant 18 h pour permettre une bonne diffusion des dilutions

Après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition est mesuré. L'activité est réalisée en duplicata.

✓ **Expression des résultats**

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible. (**Bertella, A. 2018**)

3.9.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 h. Sa détermination a été faite par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiés dans chaque puits (*et Toty, A. A al. 2013*).

✓ **Protocole**

Les CMI sont déterminées en milieu liquide par la méthode utilisant des plaques de microtitration à 96 puits (**Figure n°33**) .

Un volume de 100 µl d'une solution mère de chaque extrait du goudron végétal de concentration appropriée est dilué de 2 en 2 dans 100 µl de milieu BN.

Ajouter ensuite 100 µl d'inoculum bactérien à 10⁶ UFC/ml (dilution au 1/100ème d'une culture de 18 heures).

100 µl d'une solution mère (SM) des extraits du goudron végétal et 100 µl de milieu BN est utilisée comme témoin négatif.

100 µl de milieu BN additionnée de 100 µl d'inoculum bactérien (IB) servent de témoin positif.

La microplaque est ensuite incubée à 37°C pendant 18 heures (**Yayi-Ladekan, E et al. 2011**).

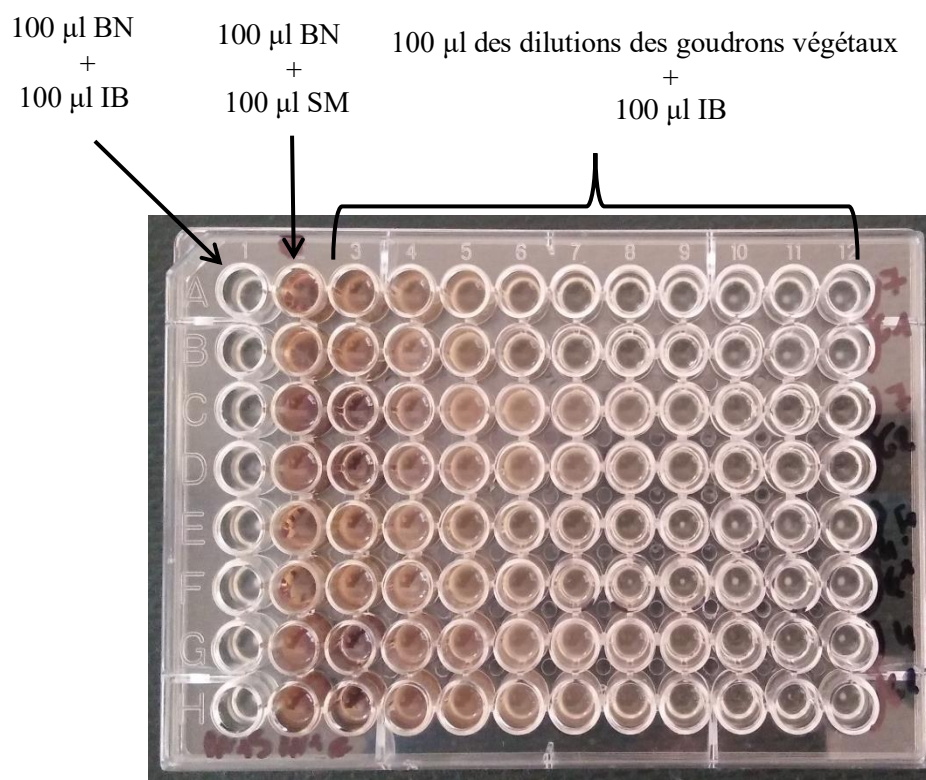


Figure n°33 : Illustration de la méthode du remplissage de la microplaque

✓ **Expression des résultats**

La CMI des extraits est déterminée à partir concentration du premier puits de la gamme où aucune croissance du germe testé n'est visible à l'œil nu (**Bammou, M et al. 2014**). Le test est répété deux fois.

3.9.6 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la concentration d'antibiotiques permettant d'obtenir, après dix-huit à vingt-quatre heures d'incubation à 37 °C, 0,01 % ou 0,1 % de germes, c'est-à-dire une bactérie pour 1 000 ou 10 000 de l'inoculum initial (**Kablan, B. J et al. 2008**).

✓ **Protocole**

Cinq microlitres de la suspension bactérienne sont repiqués à partir des puits montrant une absence complète de la croissance bactérienne puis déposés « en strie » sur gélose MH. Les boîtesensemencées sont incubées pendant 18 à 37°C.

✓ **Expression des résultats**

La CMB des extraits est déduite à partir de la première strie dépourvue de croissance (**Chebaibi, A. 2015**). Le test est réalisé en duplicata.

3.9.7 Détermination du rapport CMB / CMI

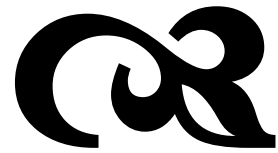
Le rapport CMB / CMI a également été calculé pour mettre en évidence la nature de l'effet antibactérien des extraits testés.

A partir de ce rapport les extraits sont classés en deux classes :

- Un extrait à effet bactéricide si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4 (CMB/CMI \leq 4)
- Un extrait dit bactériostatique si le rapport CMB/CMI est plus élevé que 4 (CMB/CMI $>$ 4). (**LAKHDAR, L. 2015**) .

4 Analyses statistiques

Les résultats de tous les tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type SD.



II : Résultats et discussions



1) Enquête ethnobotanique

➤ L'enquête ethnobotanique effectuée auprès des herboristes

Les réponses de chaque question (transformées en pourcentages) sont illustrées ci-dessous.

1) La matière première utilisée dans la fabrication du goudron végétal

Cette investigation a révélé que 50% des herboristes connaissent qu'il se fabrique à partir du bois d'arbres. Tandis que 42 % n'ont aucune idée sur la matière première utilisée dans la fabrication.

2) La technique de fabrication du goudron végétal

Seulement les personnes qui savent que le goudron végétal se produit à partir du bois peuvent répondre à cette question. Les résultats du questionnaire indiquent que 54% seulement de cette tranche ont des informations sur le procédé de fabrication du goudron végétal.

3) Les usages du goudron végétal

Les différents usages du goudron végétal cités par les herboristes sont résumés dans le tableau n°5 suivant.

Tableau n°5: Les usages du goudron végétal cités par les herboristes

Usages	Pourcentages
Répulser les serpents, scorpions et insectes	33%
Traiter la migraine	31%
Traiter le psoriasis	31%
Traiter l'eczéma	19%
Traiter la gastro-entérite du nourissant (الليل)	8%
Traiter la chute des cheveux et les pellicules	4%
Donner à l'eau un goût agréable	92%

4) Catégorie des personnes qui l'achètent

• Selon le sexe

D'après 42% des herboristes les acheteurs du goudron végétal sont seulement des femmes et 58% déclarent qu'ils sont mixtes (femmes et hommes).

• **Selon l'Age**

Selon 8% des herboristes ; les acheteurs appartiennent à toutes les tranches d'âge par contre 92% avoue que l'âge de ces derniers varie de 40 à 70 ans

5) La variation de la demande sur le goudron végétal

Durant l'année

9% des herboristes ont déclaré que la demande augmente en été, le reste ne trouve aucune différence de demande durant l'année.

Avec le temps

D'après cette étude la moitié des herboristes ont démontré qu'il n'y a aucune différence de demande avec le temps, 33% ont remarqué qu'il y'a une augmentation et 17% ont déclaré que la demande a diminuée.

6) L'origine du goudron végétal vendu

Seulement les personnes qui savent que le goudron végétal se produit à partir du bois peuvent répondre à cette question. 15% uniquement de ces herboristes ont déclaré qu'ils vendent du goudron végétal fabriqué de la même plante et le reste n'ont aucune idée sur son origine.

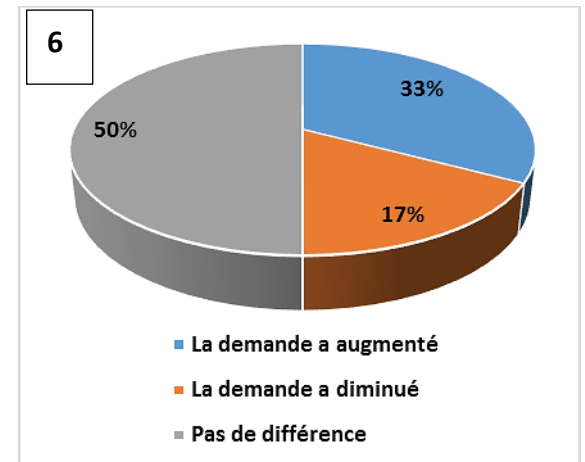
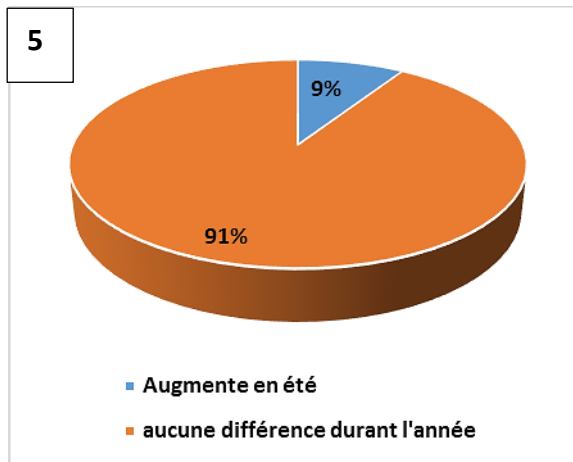
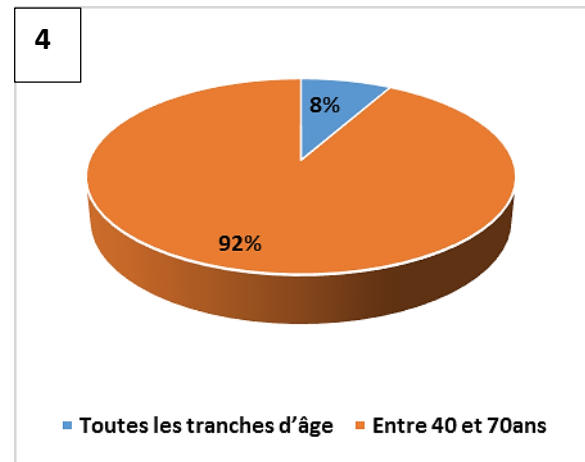
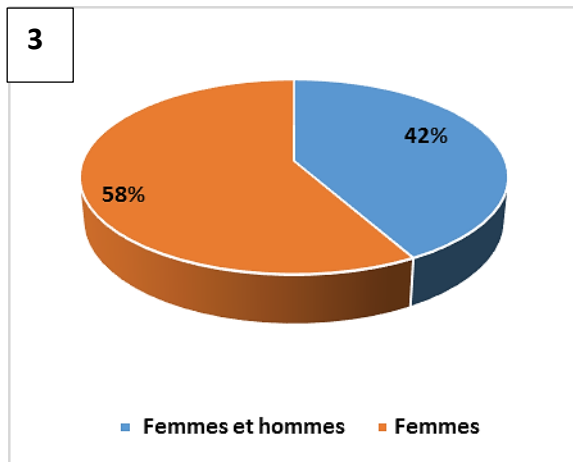
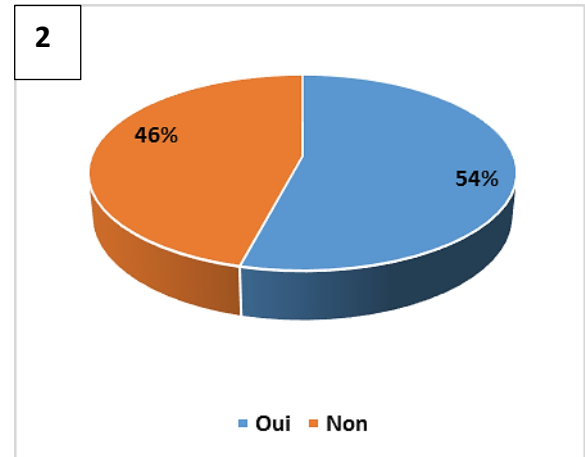
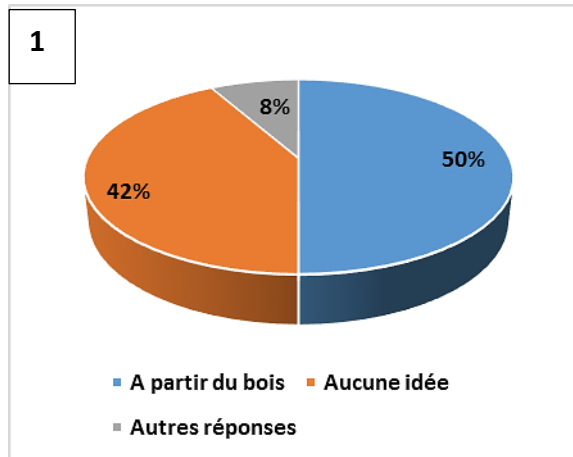
7) Les types des goudrons végétaux vendus fabriqués à partir du même arbre

✓ **Le goudron de *Cedrus atlantica Manetti***

50% de la tranche précitée vendent le goudrons de *Cedrus atlantica Manetti* , ils ont indiqué qu'il est utilisé pour Traiter : le psoriasis, l'eczéma, la gastro-entérite du nourissant, la chute des cheveux et les pellicules.

✓ **Le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters***

La 50% restante vendent le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* .Selon ces personnes ce goudron a les mêmes usages précités dans le **tableau 4**.



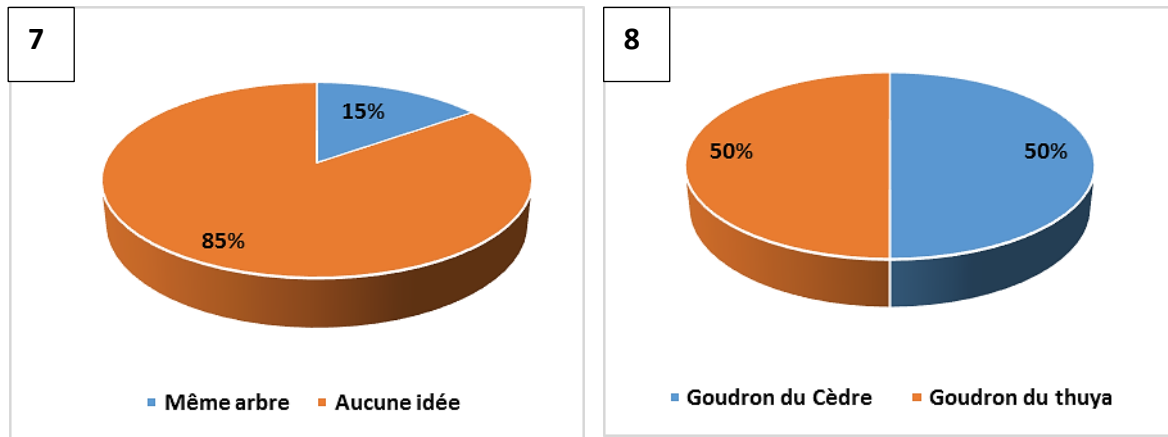


Figure n°34 : Graphes représentant les pourcentages des réponses aux questions posées sur les herboristes ; 1 : Matière première du goudron végétal, 2 : Technique d'extraction, 3 : Catégories d'acheteurs selon le sexe, 4 : Catégories d'acheteurs selon l'âge, 5 : Variation de la demande durant l'année, 6: Variation de la demande avec le temps, 7 : Origine du goudron végétal vendu, 8 : Dénomination du goudron végétal vendu fabriqué à partir du même arbre.

➤ **L'enquête ethnobotanique effectuée auprès des interlocuteurs**

La population questionnée est constituée de 53% de femmes et 47% d'hommes dont l'âge s'étend de 20 ans jusqu'au plus de 60 ans (**voir annexe 3**)

1) Connaissance du goudron végétal

D'après l'enquête effectuée 99% des interlocuteurs connaissent le goudron végétal. Les 1% restantes ne peuvent pas poursuivre le questionnaire.

2) La technique de fabrication

Les résultats d'investigation démontrent que 8% des gens enquêtés connaissent comment le goudron végétal se fabrique et 7% savent seulement qu'il se produit à partir du bois d'arbre sans savoir la technique de fabrication en revanche 84% de ces gens n'ont aucune idée ni sur la matière première utilisée ni sur sa technique de fabrication.

3) Utilisation du goudron

Cette enquête a illustrée que 99% de la population investiguée utilise le goudron végétal, le reste ne l'utilise pas à cause de sa forte odeur.

4) L'origine du goudron végétal utilisé

Seulement les personnes qui savent la matière première utilisée dans la fabrication du goudron et la méthode de productions peuvent répondre à cette question. Les résultats démontrent que la plus grande partie (71%) l'utilise sans savoir le (les) type(s) du(es) bois utilisé(s).

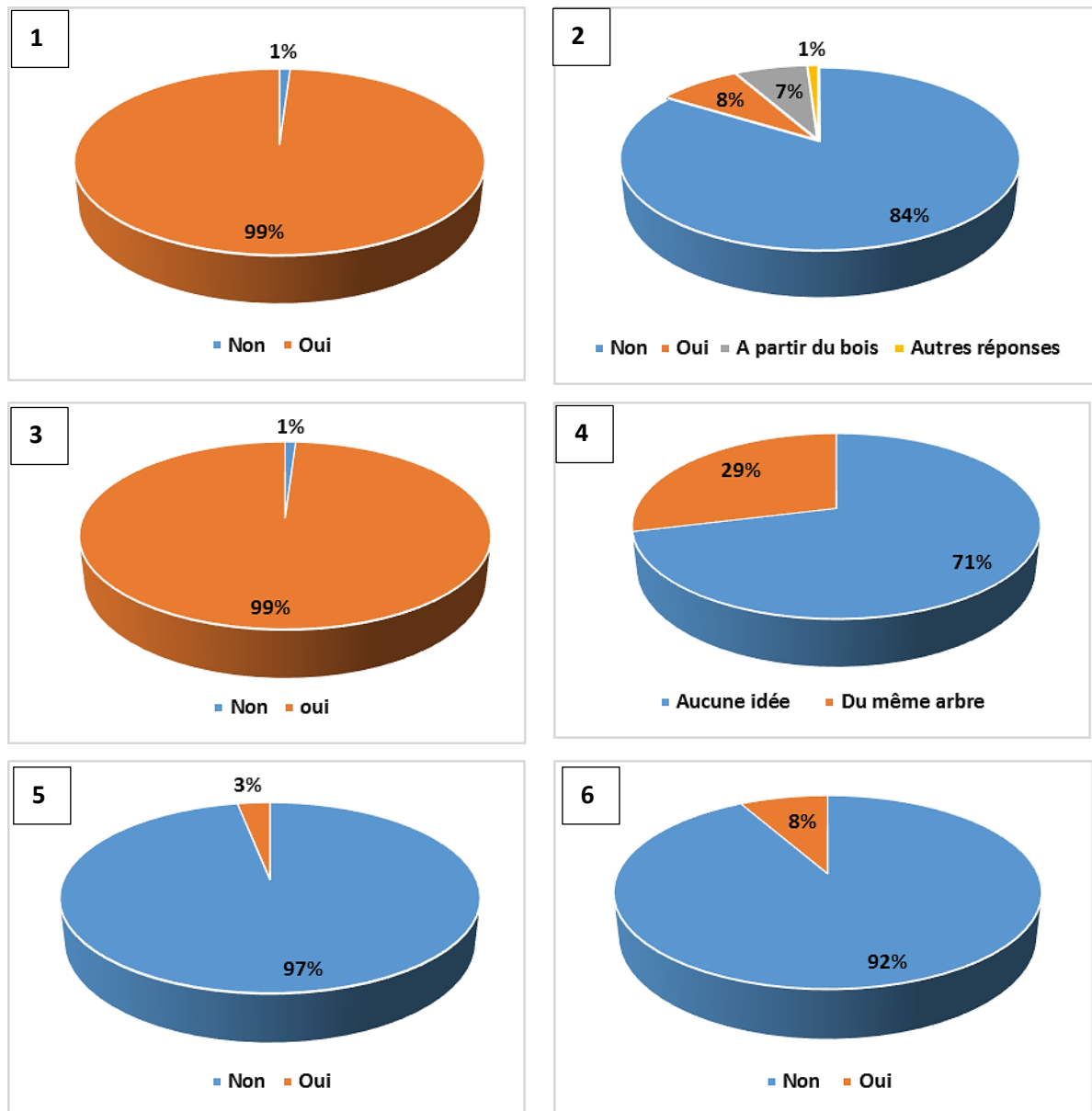


Figure n°35 : Graphes représentant les pourcentages des réponses aux questions posées sur les interlocuteurs ; 1 : Connaissance du goudron végétal, 2 : La technique de fabrication, 3 : L'utilisation du goudron, 4 : L'origine du goudron végétal utilisé, 5 : Connaissance du goudron de *Cedrus atlantica* Manetti ,6 : Connaissance du goudron *Tetraclinis articulata* (Vahl) Master.

5) Les usages du goudron végétal

Les différents usages du goudron végétal avec leurs pourcentages cités par les interlocuteurs sont résumés dans le tableau n : 6 ci-dessous.

Tableau n°6 : Les usages du goudron végétal cités par les interlocuteurs

Usages	Pourcentages
Répulser les serpents, scorpions et insectes	9%
Traiter la migraine	4%
Traiter le psoriasis	3%
Traiter l'eczéma	3%
Traiter la gastro-entérite du nourissant (الليل)	13%
Traiter la chute des cheveux et les pellicules	1%
Donner à l'eau un goût agréable	96%
Utilisé lors d'évanouissement	7%
Récupérer l'odorat	4%
Repousser le djinn	8%

6) Les informations sur le goudron de *Cedrus atlantica Manetti*

D'après les résultats démontrés dans le secteur 5 (figure 34) seulement 3% des interlocuteurs connaissent le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* , ils ont indiqué qu'il est utilisé pour traiter : le psoriasis, et la gastro-entérite du nourissant.

7) Les informations sur le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*

8% des personnes enquêtées connaissent le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* .Tous ces personnes ont indiqués qu'il a les mêmes usages de n'importe quel goudron végétal sans aucune spécification .

2) Evaluation organoleptique et physicochimique des goudrons végétaux

2.1 Caractéristiques organoleptiques

2.1.1 Goudron du Cèdre de l'Atlas (goudron du *Cedrus atlantica Manetti*)

IL est d'une couleur marron foncé, un aspect visqueux et une odeur piquante et caractéristique du goudron (forte odeur de fumée).

2.1.2 Goudron du Thuya de Berbérie (goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters)

IL est caractérisé par un aspect très visqueux, collant, une couleur noire et une odeur trop piquante.

2.2 Propriétés physicochimiques

2.2.1 Le PH

La mesure du pH a donné une valeur de 2.58 et 4.293 respectivement pour le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters indiquant l'acidité des deux goudrons végétaux .

Après comparaison avec l'étude de **Shin, Y et al 2012** , on trouve que le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* était un peu plus acide que l'huile essentielle du bois du *Cedrus deodara* dont la valeur du ph était : 4.41 . Cette différence est due au type d'extrait et même à la variation des espèces utilisées .

Dans les études de **Terfaya, B et al .2021** et **Terfaya, B et al .2017**, le PH du goudron de *Juniperus phoenicea .L* et *Juniperus oxycedrus* (espèces de la même famille du *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters) étaient : 3.25 et 4.02 respectivement , ces valeurs sont plus proches à notre valeur du PH.

2.2.2 La densité

Les densités du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters étaient : 1.021 et 1.05 respectivement .

Dans l'étude de **Shin, Y et al 2012** qui ont travaillé sur Huile essentielle du bois du *Cedrus deodora* ; ils ont trouvé une densité égale à 0.9331 ; cette différence est logique car le goudron est plus dense qu'une huile.

la valeur trouvée dans le goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters est inférieure à celle trouvée par **Terfaya, B et al .2017** (1.15) et **Boulanouar, A et al .2021** (1.22) qui ont travaillé sur le goudron de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea .L* respectivement.

2.2.3 La miscibilité à l'éthanol

Les deux goudrons : goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters sont solubles dans l'éthanol 95% à 1V .

3) Analyse des goudrons végétaux par GC/MS

3.1 Résultats de l'analyse chromatographique du goudron du *Cedrus atlantica* *Manetti* (Cèdre de l'Atlas)

Dans notre étude 76 % du goudron de cèdre de l'Atlas été identifié avec 88 composants . Les isomères de l'himachalène et de l' α -atlantone, l' α -Calacorene, l'occidentalol, le (z) nuciférol et l'ar-Turmerone, sont les composants majoritaires représentant environ 59 % du goudron (**tableau n°7 , figure n°36**).

Le composant le plus abondant dans notre goudron a été le β himachalène (14.51 %), il a été détecté dans le goudron du cèdre de Liban extrait par deux méthodes ; traditionnel et artificiel (méthode Jenkner Retort effectuée sur différentes parties de l'arbre) (**Kurt Y, et al .2008, Kılıç Pekgözlü A, et al .2017**). Ce sesquiterpène et ses dérivés sont connus pour leurs activités insecticides et antifongiques (**Singh D & Agarwal ,S. K.1988**) .

Le deuxième composant majeur était **E)- α - atlantone** (5.15 %), il a été présent avec un pourcentage de 3.74 % dans le goudron des racines du cèdre du Liban produit par Jenkner Retort, totalement absent dans le goudron produit par la même technique à partir des branches (**Kılıç Pekgözlü A, et al .2017**) et le Goudron de cèdre du Liban fabriqué traditionnellement (**Kurt Y, et al .2008**).

Passant au **(Z)- α -atlantone** (4.96 %). Il a été présent dans le goudron de cèdre du Liban produit traditionnellement avec un pourcentage de 7.40 % (**Kurt Y, et al .2008**) , et non détectée dans l'étude de **Kılıç Pekgözlü A, et al .2017** réalisée sur le goudron de cèdre du Liban produit traditionnellement et par la méthode Jenkner Retort (pour les différentes parties de l'arbre) .Ces isomères α -atlantone sont connus pour leurs propriétés insecticides et antifongiques (**Thangadurai D, et al. 2002, Chaudhary A, et al. 2012**).

Le quatrième composant était **l' α -himachalène** (4.53 %). Toutes les études réalisées sur : le goudron du cèdre de Liban produit traditionnellement et par Jenkner Retort (sur les racines et les branches), ont trouvés des pourcentages élevés de ce composant (**Kurt Y, et al .2008, Kılıç Pekgözlü A, et al .2017**)

Le dernier composant de la famille de l'himachalène était le **γ -himachalène** (4.07 %). Il a été identifié seulement dans le goudron du Cèdre de Liban fabriqué traditionnellement (**Kurt Y, et al .2008**).

Ces isomères : β , γ , α himachalène sont connus comme des marqueurs du genre *Cedrus* (Saab, A. M *et al* 2005).

Concernant l' **α -calacorene** (3.53 %), l' **occidentalol** (2.51 %) et le **(z)-nuciferol** (2.61 %) ; une absence totale de ces constituants a été notée dans tous les échantillons de goudron de cèdre du Liban produits traditionnellement ou par Jenkner Retort (Kurt Y, *et al* .2008, Kılıç Pekközlü A, *et al* .2017) ,

L'**ar-turmérone** qui figurait parmi les composants majeurs dans notre échantillon avec un pourcentage de 3.35 % n'a été identifiée que dans le goudron de cèdre du Liban produit par Jenkner Retort à partir des racines et des branches avec des teneurs minimales (Kılıç Pekközlü A, *et al* .2017).

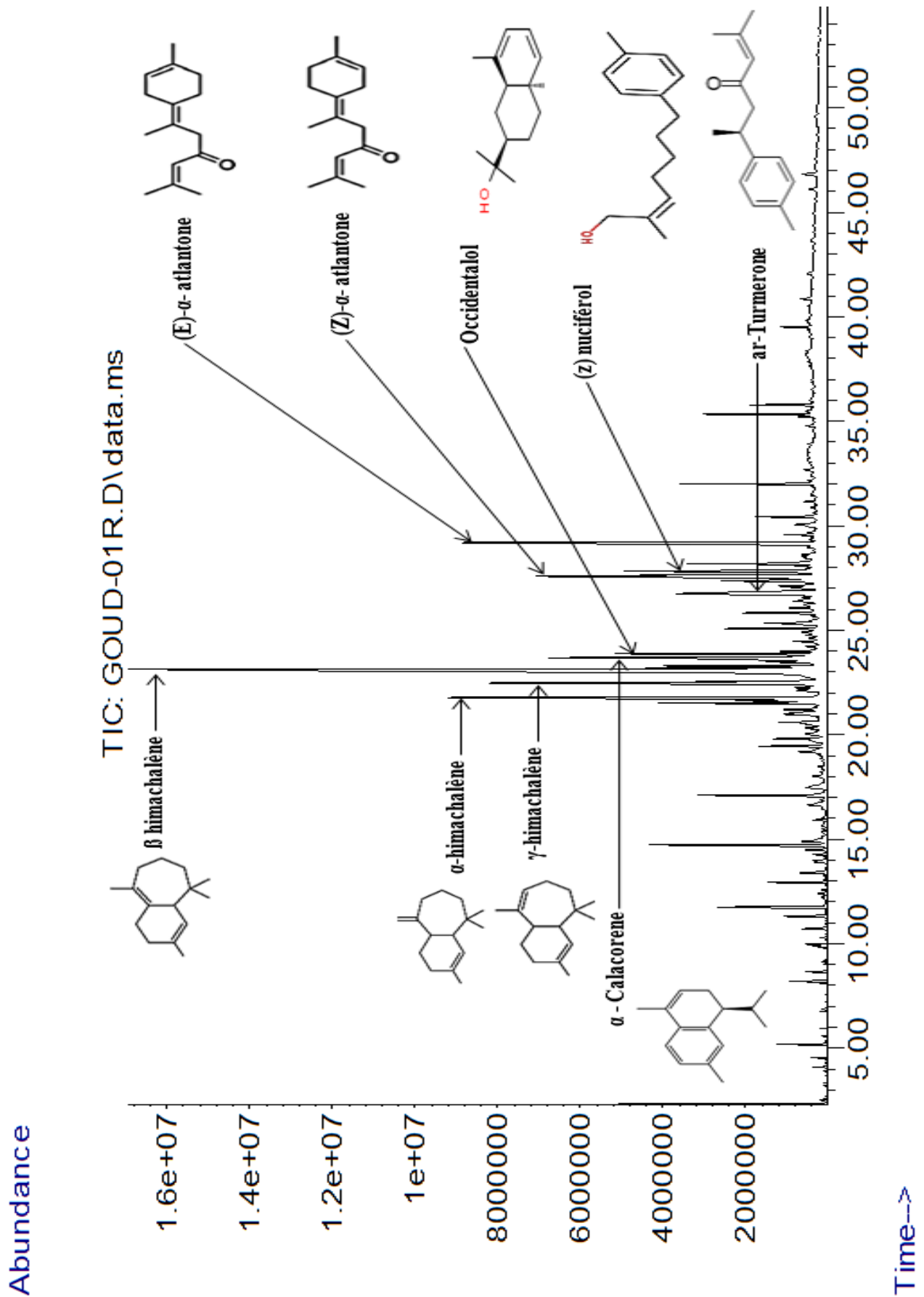


Figure n°36: CG-SM Chromatogramme du goudron de *Cedrus atlantica Manneti*

Tableau n°7 : Composition chimique du goudron du *Cedrus atlantica Manetti*

N°	Composants	tR (Temps de Rétention)	KI (Kovàts Index)	%
1	heptane	3.23	700	0.05
2	2,5-dimethylfurane	3.33	708	0.03
3	methylcyclohexene	3.89	751	0.04
4	Toluene	4.09	767	0.10
5	butanoic acid	4.30	783	0.04
6	3-methylbut-2-enal	4.43	793	0.01
7	mesityl oxide	4.54	801	0.10
8	furfural	5.18	833	0.34
9	4-hydroxy-4-methylpentan-2-one	5.32	840	0.04
10	furfuryl alcohol	5.58	853	0.05
11	(z)-salvene	5.71	859	0.02
12	<i>p</i> -xylene	5.94	871	0.05
13	3-methylbut-2-enoic acid	6.35	891	0.02
14	<i>o</i> -xylene	6.48	898	0.01
15	2-methyl-2-cyclopenten-1-one	6.76	909	0.06
16	acetylfuran	6.86	913	0.04
17	(2)-hexenyl formate	7.24	928	0.04
18	5-methylfurfural	8.20	965	0.41
19	methyl 2-furoate	8.50	977	0.01
20	phenol	8.65	983	0.22

21	1,3,5-Trimethylbenzene	9.02	997	0.04
22	propenylbenzene	9.15	1002	0.08
23	<i>o</i> -Cymene	9.78	1025	0.02
24	<i>p</i> -Cymene	9.87	1028	0.15
25	3-methylcyclopentane-1,2-dione	9.97	1031	0.29
26	3-methyl-cyclohex-2-en-1-one	10.28	1042	0.08
27	<i>o</i> -cresol	10.70	1057	0.25
28	3,5-octadien-2-one	10.95	1066	0.02
29	<i>p</i> -cresol	11.31	1079	0.48
30	<i>o</i> -guaiacol	11.75	1095	1.06
31	2,6-dimethylphenol	12.22	1111	0.13
32	maltol	12.40	1118	0.10
33	ethyl-2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one	12.58	1124	0.05
34	4-acetyl-1-methylcyclohexene	12.93	1136	0.48
35	<i>p</i> -ethylphenol	13.08	1142	0.04
36	2,4-dimethylphenol	13.39	1152	0.37
37	2-phenyl-1,3-butadiene	13.64	1161	0.03
38	3,4-dimethylphenol	13.98	1173	0.26
39	2-methoxy- <i>p</i> -cresol	14.26	1183	0.17
40	<i>p</i> -methylacetophenone	14.48	1191	0.22
41	5-methylguaiacol	14.72	1199	1.83
42	catechol	14.89	1205	0.45
43	2,3-dimethylbenzofuran	15.11	1213	0.07

44	4,7-dimethylbenzofuran	15.34	1222	0.08
45	2,4,6-trimethylstyrene	15.49	1227	0.04
46	2-ethyl-6-methylphenol	15.62	1232	0.13
47	5-ethyl-2-methylphenol	15.91	1242	0.12
48	dihydrochavicol	16.45	1262	0.12
49	3-methylcatechol	16.63	1268	0.38
50	<i>p</i> -ethylguaiacol	17.10	1286	1.32
51	4-methylcatechol	17.47	1299	0.54
52	<i>p</i> -vinylguaiacol	18.02	1320	0.29
53	silphiperfol-4,7(14)-diene	19.02	1358	0.10
54	eugenol	19.18	1364	0.54
55	dihydro eugenol	19.45	1374	0.58
56	β -cubebene	19.80	1388	0.74
57	4-ethylcatechol	19.90	1392	0.53
58	isovanillin	20.34	1409	0.34
59	longifolene	20.60	1419	0.88
60	2,3-dimethylnaphthalene	20.97	1434	1.03
61	6,9-guaiadiene	21.20	1443	0.61
62	dihydrocurcumene	21.51	1455	1.55
63	(E)-isoeugenol	21.62	1460	0.77
64	α-himachalene	21.76	1465	4.53
65	γ -muurolene	21.96	1473	0.10
66	ar-curcumene	22.12	1480	0.45

67	trans- β -guaiene	22.25	1485	0.40
68	γ-himachalene	22.46	1493	4.07
69	himachala-1,4-diene <11 α -H>	22.54	1496	0.85
70	β-himachalene	23.11	1520	14.51
71	cuparene	23.19	1524	0.85
72	himachalene< γ dihydro-ar->	23.29	1528	1.36
73	cis-calamenene	23.48	1536	0.68
74	α-calacorene	23.68	1544	3.53
75	occidentalol	23.87	1552	2.51
76	β -calacorene	23.98	1557	0.04
77	ar-dihydroTurmerone	25.08	1604	0.92
78	longiborneol	25.34	1615	1.12
79	α -cadinol	26.20	1653	0.33
80	ar-turmerone	26.75	1678	3.35
81	(E)- γ -atlantone	27.36	1705	1.35
82	(Z)-α -atlantone	27.57	1715	4.96
83	(z)-nuciferol	27.83	1727	2.61
84	(E)-2-hexyl-Cinnamaldehyde	28.18	1744	1.82
85	(E)-α -atlantone	29.18	1791	515
86	trans-isovalencenol	29.33	1798	0.24
87	β -vetivone	30.05	1833	079
88	9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene	30.43	1851	0.78
Total				76.30

3.2 Résultats de l'analyse chromatographique du goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (Thuya de Berbérie)

Les résultats de la composition chimique du goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters sont présentés dans la **figure n°37** et le **tableau n° 8**, dans lequel les composés identifiés sont listés suivant le temps de rétention.

Un total de 62% du goudron a été identifié dont les constituants majoritaires sont : α -Cedrene **8.55%** ,trans-Ferruginol **6.30%** , 2-tert-Butyl-4-hydroxy anisole **3.43%** , Totarolone **2.88%** , Thymohydroquinone **2.09%** , Carvacrol **2.05%** , ils représentent environ 25 %.

Le composant le plus abondant dans le goudron de Thuya de Berbérie était **α -Cedrene** , ce composant a été totalement absent dans l'échantillon du goudron de Thuya de Berbérie analysé par **Burri, S et al. 2018**.

Passant au **trans-Ferruginol** ; il était le composant majeur dans l'échantillon du goudron de Thuya de Berbérie (**Burri, S et al. 2018**)

Concernant le **2-tert-Butyl-4-hydroxy anisole** , Le **Thymohydroquinone** et le **Totarolone** , une absence totale de ces constituants a été notée dans le goudron de Thuya de Berbérie (**Burri, S et al. 2018**) .

Le dernier composé majeur : Carvacrol , a été présent dans le goudron du Thuya de Berbérie (**Burri, S et al. 2018**) .

Le totarol qui a figuré parmi les constituants majeurs du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters (**Burri, S et al. 2018**) a été présent dans notre goudron avec un pourcentage de 1,08.

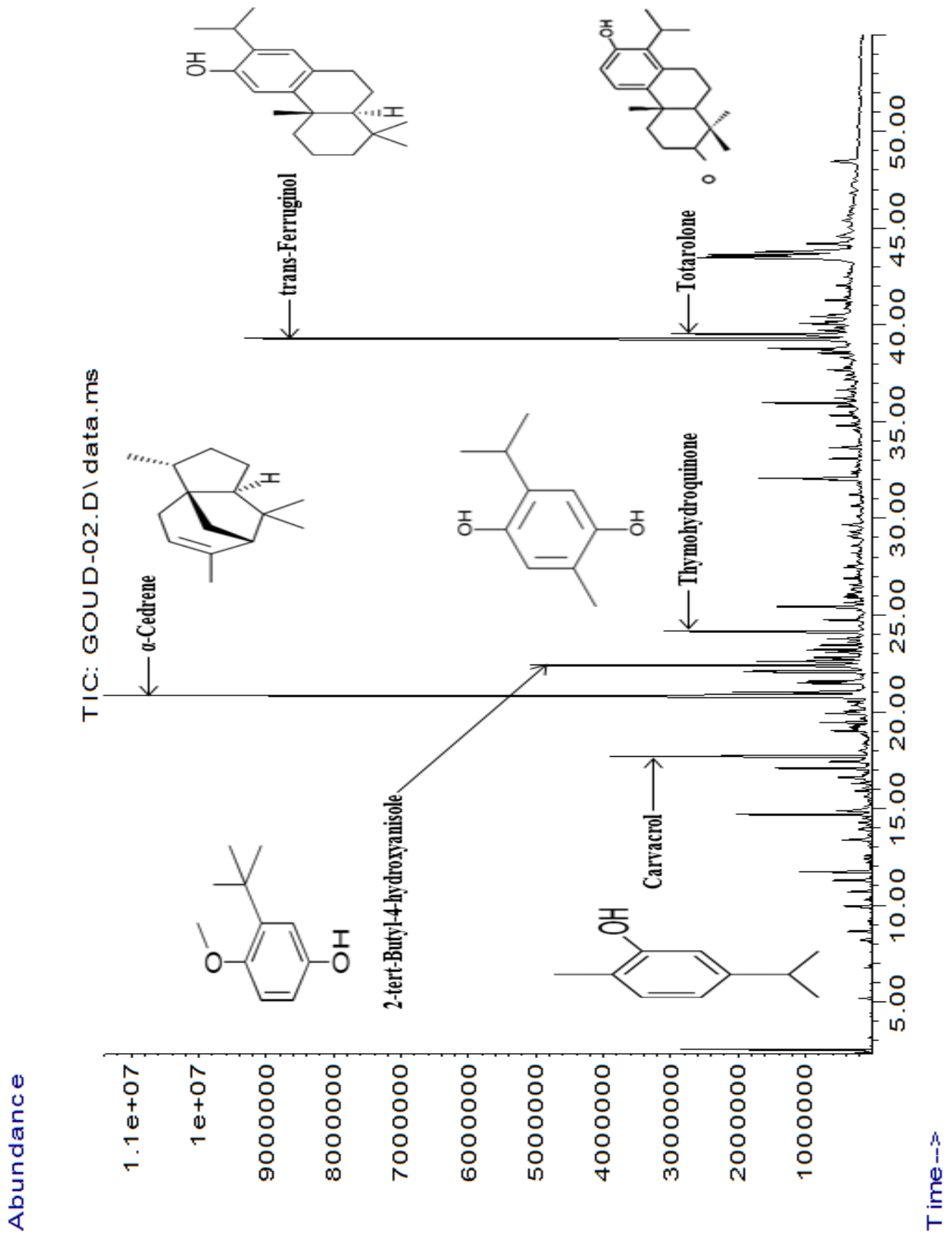


Figure n°37 : CG-SM Chromathogramme du goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters.

Tableau n°8 : Composition chimique du goudron du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*

N°	Composants	tR (Temps de Rétention)	KI (Kovàts Index)	%
1	Cyclopentanone	4,43	793	0,01
2	Furfural	5,18	833	0,10
3	Furfuryl alcohol	5,58	853	0,02
4	p-Xylene	5,94	871	0,02
5	2-methyl-2-cyclopenten-1-one	6,76	909	0,05
6	Acetylfuran	6,86	913	0,02
7	2-methyl-2-butenoic acid	7,18	925	0,04
8	5-Methylfurfural	8,2	965	0,15
9	Phenol	8,65	983	0,20
10	1,3,5-Trimethylbenzene	9,02	997	0,03
11	1,4-Cineole	9,61	1019	0,02
12	3-Methylcyclopentane-1,2-dione	9,97	1031	0,31
13	3-Methyl-cyclohex-2-en-1-one	10,28	1042	0,06
14	o-Cresol	10,7	1057	0,21
15	3,5-octadien-2-one	10,95	1066	0,02
16	p-Cresol	11,28	1078	0,38
17	o-Guaiacol	11,75	1095	0,54
18	2,6-Dimethylphenol	12,22	1111	0,06
19	Maltol	12,4	1118	0,09
20	Ethyl-2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one	12,58	1124	0,06
21	p-Ethylphenol	13,08	1142	0,03
22	2,4-Dimethylphenol	13,39	1152	0,31
23	2,5-Dimethylphenol	13,9	1170	0,11
24	3,4-Dimethylphenol	13,98	1173	0,11
25	2-Methoxy-p-cresol	14,26	1183	0,14
26	5-Methylguaiacol	14,72	1199	1,03

27	catechol	14,89	1205	0,35
28	2,4,5-Trimethylphenol	14,97	1208	0,08
29	4,7-Dimethylbenzofuran	15,34	1222	0,05
30	2-Ethyl-6-methylphenol	15,62	1232	0,15
31	5-Ethyl-2-methylphenol	15,91	1242	0,13
32	Carvacrol,methylether	16,06	1248	0,11
33	Thymoquinone	16,29	1256	0,15
34	Dihydrochavicol	16,45	1262	0,06
35	3-Methylcatechol	16,63	1268	0,43
36	.p-Ethylguaiacol	17,1	1286	0,79
37	4-Methylcatechol	17,47	1299	0,46
38	Carvacrol	17,7	1307	2,05
39	p-Vinylguaiacol	18,02	1320	0,28
40	Aoisylformate	18,35	1332	0,08
41	Chavicol	18,73	1347	0,06
42	3-Methylcatechol	18,85	1352	0,15
43	Syringol	19,02	1358	0,35
44	Eugenol	19,18	1364	0,18
45	p-dimethylacetal anisaldehyde	19,29	1368	0,21
46	dihydro Eugenol	19,45	1374	0,40
47	4-Ethylcatechol	19,9	1392	0,45
48	1,7-dí-epi- α -Cedrene	20,05	1397	0,24
49	Methyleugenol	20,25	1405	0,15
50	Isovanillin	20,34	1409	0,21
51	cis-isoeugenol	20,53	1416	0,30
52	α-Cedrene	20,85	1429	8,55
53	β -Cedrene	21,02	1436	1,12
54	β -Duprezianene	21,12	1440	0,19
55	6,9-Guaiadiene	21,2	1443	0,02
56	2,3-Dimethoxybenzyl alcohol	21,48	1454	0,69
57	(E)-Isoeugenol	21,57	1458	0,51
58	α -Himachalene	21,76	1465	0,13
59	γ -Gurjunene	22,05	1477	0,65

60	ar-Curcumene	22,1	1479	0,94
61	2-tert-Butyl-4-hydroxy anisole	22,4	1491	3,43
62	3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole	22,6	1499	1,05
63	trans- β -Guaiene	22,72	1504	0,29
64	α -chamigrene	22,8	1507	0,46
65	Cuparene	23,1	1520	0,46
66	α -alaskene	23,24	1526	0,66
67	β -Thujaplicinol	23,6	1541	0,23
68	8,14-Cedranoxide	23,77	1548	0,39
69	Thymohydro quinone	24,16	1565	2,09
70	Khusimone	25,06	1603	0,09
71	2,4,6-trimethoxyStyrene	25,24	1611	0,12
72	epi-Cedrol	25,44	1620	1,18
73	β -Cedren-9-one	25,64	1628	0,24
74	Cedr8(15).en-9- α -ol	25,91	1640	0,21
75	Himachalol	26,1	1649	0,47
76	(Z)-Coniferyl alcohol	26,3	1658	0,27
77	epi-zizanone	26,36	1660	0,18
78	Cadalene	26,9	1684	0,14
79	Rosa-5,15-diene <ent->	32,06	1932	0,89
80	Sandaracopimara-8(14),15-diene	33,08	1985	0,43
81	Kaur-15-ene	33,64	2014	0,40
82	Ethylene brassylate	33,72	2019	0,10
83	2,7-Dimethylphenanthrene	34,57	2064	0,20
84	Abietatriene	34,78	2075	0,41
85	Sandaracopimarinal	35,97	2141	0,95
86	Retene	36,21	2155	0,44
87	Trans- Totarol	38,78	2304	1,08
88	trans-Ferruginol	39,29	2335	6,30
89	6,7-dihydroFerruginol	39,43	2343	0,48
90	trans-Ferruginol acetate	39,54	2350	1,84
91	cis-Ferruginol	39,71	2360	0,70
92	cis-Ferruginol acetate	40,06	2381	0,80

93	Methyl abietate	40,17	2388	0,43
94	Heyderiol	40,43	2403	0,63
95	7- α -hydroxy-trans-totarol	41,43	2458	0,33
96	Totarolone	43,48	2526	2,88
97	Hinokienone	43,62	2529	1,90
98	Hinokione	43,77	2532	1,96
99	Hinokiol	44,2	2540	0,99
100	Sugiol	44,59	2548	1,05
Total				61.94

4) Analyses quantitatives des goudrons végétaux

Les composés phénoliques sont considérés comme des métabolites secondaires bioactifs dotés de capacités antiradicalaires et antimicrobiennes, plus particulièrement les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins (Saidi, I. 2018 , Seoussen, K. 2018).

Les résultats de l'étude quantitative de ces derniers figurent dans le **tableau n°9** suivant.

Tableau n° 9: Valeurs des dosages quantitatifs des deux goudrons (goudron du *Cedrus atlantica Manetti* et goudron du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*)

	Polyphénols totaux (mg EAG/g de goudron)	Flavonoïdes totaux (mg EQ/g de goudron)	Tannins condensés (mg EC/g de goudron)	Tanins totaux (mg / mL de goudron)
<i>Goudron du Cedrus atlantica Manetti</i>	57.15 \pm 0.15	14.42 \pm 0.47	4.41 \pm 0.05	17.16 \pm 1.49
<i>Goudron du Tetraclinis articulata (Vahl)Masters</i>	6.44 \pm 1,5	8.65 \pm 0.1	0.49 \pm 0.23	9.4 \pm 1.77

Les quantités des polyphénols totaux et flavonoïdes du goudron de cèdre de l'Atlas sont : (57.15 ± 0.15 mg EAG/g de goudron) et (14.42 ± 0.47 mg E Q/g) respectivement ces valeurs sont plus supérieures à celles du goudron du cèdre de Liban étudié par **Mercimek Takci H A et al. 2019** et qui ont trouvé un contenu polyphénolique égal à 0.85 ± 0.06 mg EAG/g et une quantité de flavonoïdes égale à 0.068 ± 0.02 mg EC/g. Cette divergence peut être due à la variation des espèces utilisées et même la technique d'extraction (**kurt et al. 2008**).

La quantité des polyphénols totaux du goudron de Thuya de Berbérie était 66.44 ± 1.5 mg EAG/g de goudron, cette valeur est inférieure à la valeur enregistrée par **Bourkhiss, M. B et al 2010b** qui ont travaillé sur l'huile essentielle du tronc du Thuya de Berbérie et dont le contenu polyphénoliques était 470.12 mg EAG/g ceci peut être expliqué par le fait que la technique d'extraction du goudron nécessite une température élevée entraînant la perte de la plupart des métabolites secondaires (**Mercimek Takci H A et al. 2019**).

La quantité des flavonoïdes du goudron du Thuya de Berbérie était 8.65 ± 0.1 mg EQ /g de goudron.

Les quantités des tanins condensés et tanins totaux du cèdre de l'Atlas et du Thuya de Berbérie étaient respectivement : 4.41 ± 0.05 mg EC /g de goudron , 0.49 ± 0.23 mg EC /g de goudron et 17.16 ± 1.49 mg/mL, 9.4 ± 1.77 mg/mL.

D'après ces résultats il était remarquable que le goudron du cèdre de l'Atlas est plus riche en flavonoïdes , tanins condensés et tanins totaux, en revanche la quantité des polyphénols totaux était supérieure dans le goudron du Thuya de Berbérie.

En effet selon **KERBOUCHE, L. 2010** et **Tili, M.L. 2015** la répartition tant qualitative que quantitative des composés phénoliques dans les plantes varie selon :

- Les espèces.
- Le matériel végétal utilisé (les organes, les tissus, avec leurs différents stades de développement).
- La méthode d'extraction
- La nature du solvant utilisé.

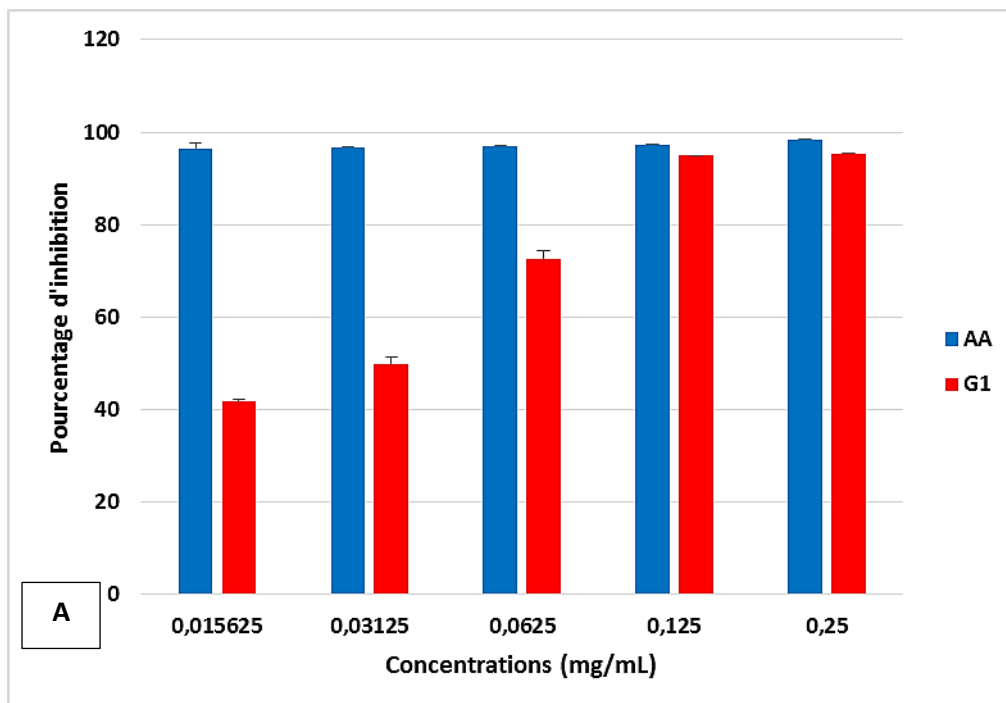
5) Activités antioxydantes

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des goudrons végétaux a été réalisée par trois techniques (le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer ferreux et la capacité antioxydante totale).

5.1 Méthode de 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Le test de DPPH est l'un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité antiradicalaires des extraits de plantes (Manallah, A. 2018).

La figure n°38 ci-dessous illustre la variation des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des deux goudrons végétaux étudiés : le goudron du *Cedrus atlantica* Manetti et le goudron du *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters(G2). En se référant aux résultats établis sur cette figure nous remarquons une augmentation des pourcentages d'inhibition du radical libre proportionnellement aux concentrations des deux goudrons végétaux et de l'acide ascorbique (Ces pourcentages restent toujours inférieurs à ceux d'acide ascorbique puisque c'est un antioxydant standard).



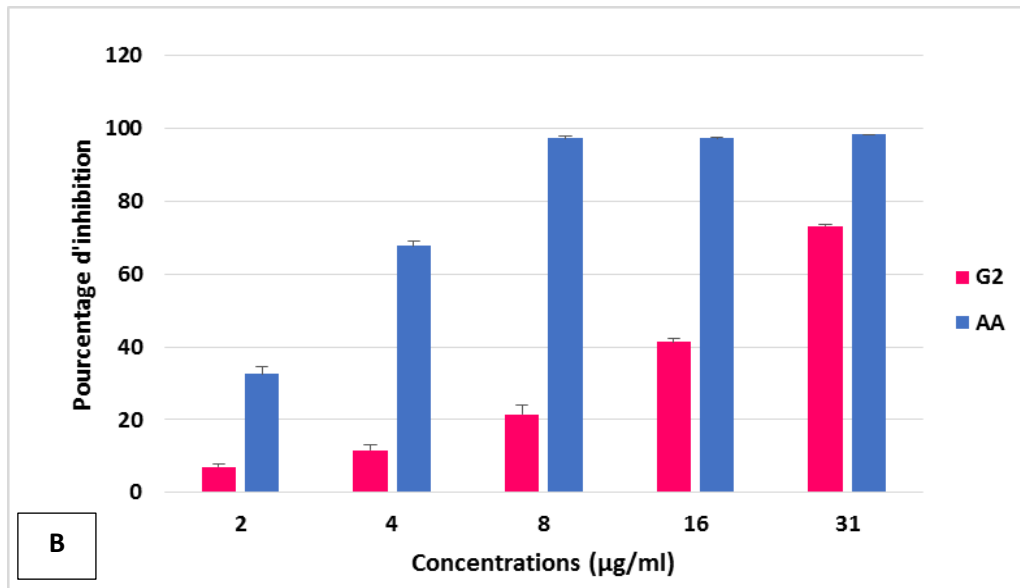


Figure n°38 : Pourcentages d’inhibition du DPPH en fonction des concentrations des deux goudrons végétaux (A : goudron du *Cedrus atlantica Manetti* (G1) et B: goudron du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*(G2) et d’acide ascorbique (AA)

Les concentrations qui piègent 50% des radicaux libres ou concentrations inhibitrices sont inversement lié à la capacité antioxydante (Plus la valeur d’IC50 est basse, plus l’activité antioxydante d’un composé est élevé) (Khoudali, S *et al.* 2014). Les IC50 des goudrons végétaux analysés sont indiquées dans la **figure n° 39** suivante.

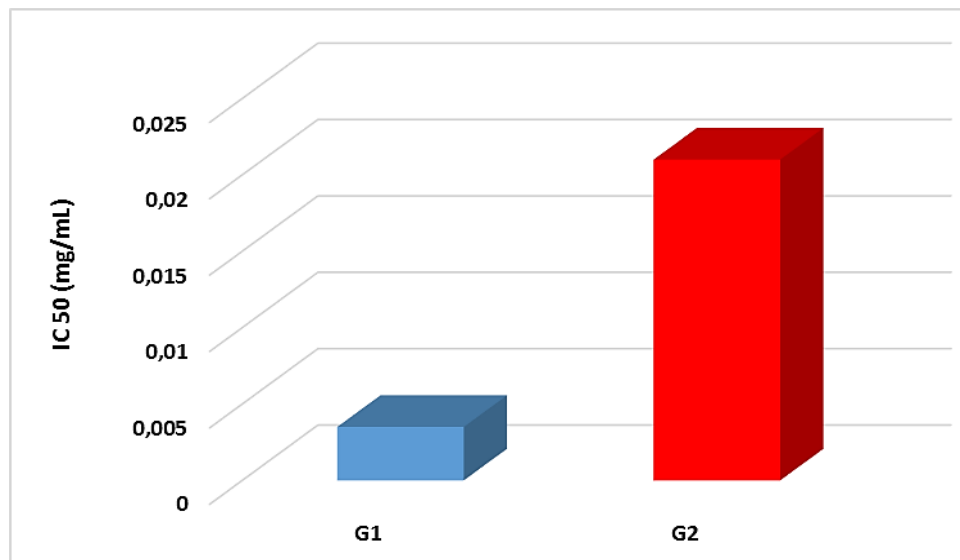


Figure n° 39: Histogramme présentant les valeurs IC₅₀ des goudrons végétaux étudiés : (G1) Goudron de *Cedrus atlantica Manetti*, (G2) Goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*.

Les valeurs d'IC₅₀ du goudron du *Cedrus atlantica Manetti* et du *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* sont : 0.0035 ± 0.000029 mg /mL et 0.021 ± 0.00025 mg /mL respectivement.

• Dans l'étude de **Jaouadi, I et al. 2021** ; les deux huiles essentielles du goudron du cèdre de l'Atlas Marocain ont montré des pouvoirs du piégeage du radical DPPH considérables avec des IC₅₀ égales à 0.126 ± 0.013 et 0.143 ± 0.014 mg /mL et d'après, **Venditti, A et al 2022**, l'activité antioxydante d'huile essentielle du bois de *Cedrus libani* a été la plus pertinente parmi les autres huiles testées avec une IC₅₀ égale à 1.532 ± 0.064 mg /mL . Toutes ces valeurs d'IC₅₀ précitées sont trouvées supérieures à notre IC₅₀ ce qui se traduit par un pouvoir du piégeage du radical DDPH plus puissant du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* étudié. En revanche **Mercimek Takci H A et al. 2019** ont indiqué que le goudron du Cèdre du Liban n'a montré aucune activité antioxydante basée sur le piégeage des radicaux DDPH.

• Dans une étude réalisée par **Makhloufi. A et al .2015** sur le goudron de *Juniperus phonicea* (espèce de la même famille du *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*) avait une Concentration inhibitrice (IC₅₀) égale à 1.45 ± 0.16 mg ml⁻¹. Cette concentration a été comprise entre 0.088 ± 0.00327 et 0.12 ± 0.00525 mg/mL dans l'étude de **Djouahri, A et al 2015** qui ont travaillé sur des huiles essentielles du bois du *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*.

D'après, **Saber, M et al 2020** l'huile essentielle de la sciure du bois de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* a été plus active que l'antioxydant de référence avec une IC₅₀= 0.01444 mg/mL contre 0.0184 mg/mL pour l'acide ascorbique

Après comparaison de ces valeurs avec notre IC₅₀ on déduit que le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* avait un pouvoir antioxydant supérieur au goudron de *Juniperus phonicea* et aux huiles essentielles du bois du Thuya de Berbérie , et inférieur à l'huile essentielle de la sciure du bois du Thuya de Berbérie.

5.2 Méthode de réduction du fer (FRAP)

Le pouvoir de réduction ferrique d'un composant sert d'indicateur significatif de son activité antioxydante, il est basé sur la réduction de l'ion ferrique (Fe³⁺) présent dans le [K₃Fe(CN)₆] (couleur jaune), à la forme ferreuse (Fe²⁺) (couleur bleue), Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant l'augmentation de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Haddoudi, M et al. 2014**).

Les figures n°40 et 41 ci-dessous démontrent le pouvoir de réduction et les EC₅₀ des deux goudrons végétaux étudiés

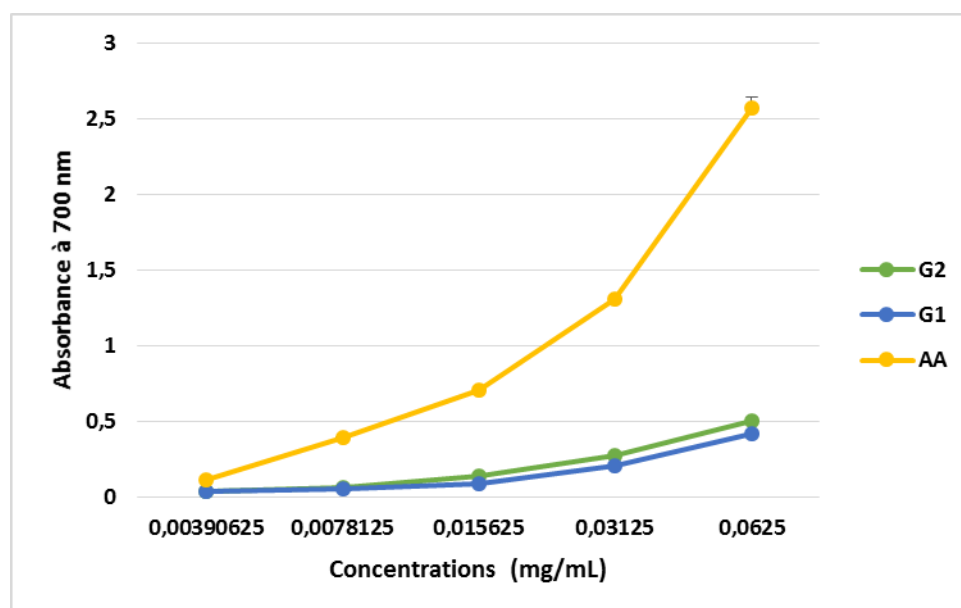


Figure n° 40: Absorbances des extraits du goudron végétal et d'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations (**G₁** : goudron du *Cedrus atlantica Manetti* , **G₂** : goudron du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*, **AA** : Acide ascorbique).

Sur la base des résultats démontrés dans la **Figure n°40** ; les deux goudrons végétaux avaient un pouvoir réducteur accru , ce pouvoir reste toujours inférieur à celui de l'acide ascorbique (connu pour être un puissant réducteur).

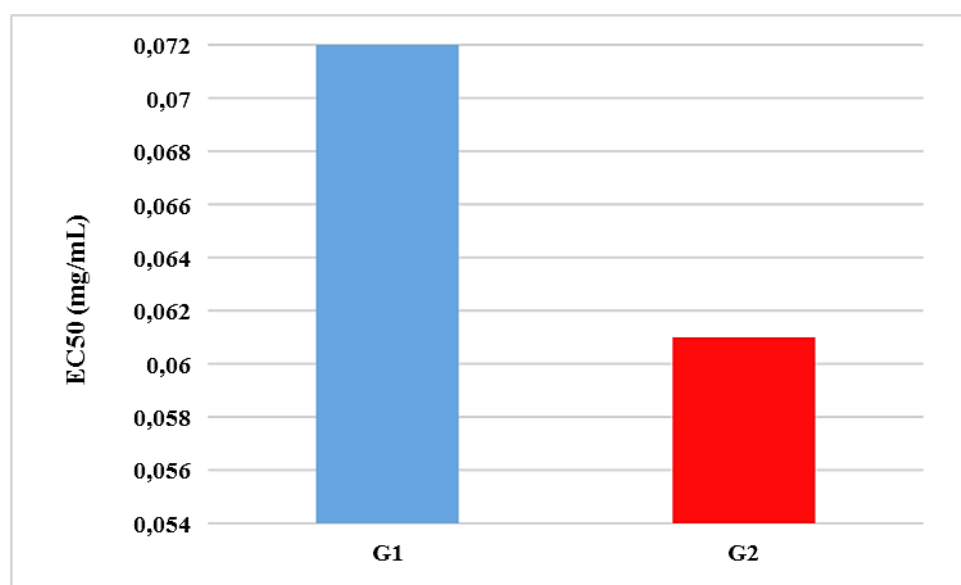


Figure n° 41: Histogramme présentant les valeurs d'EC₅₀ des goudrons végétaux étudiés ((G1) Goudron de *Cedrus atlantica Manetti* , (G2) Goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*).

D'après la **Figure n°41** ; les valeurs d' EC₅₀ du goudron du *Cedrus atlantica Manetti* et du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* étaient respectivement : 0.072 ± 0.006 mg/mL et 0.061 ± 0.0009 mg/mL.

Selon **Jaouadi ; I et al . 2021**, Les valeurs d'EC₅₀ des huiles essentielles du goudron du cèdre de l'Atlas ont été : 0.832 ± 0.002 mg/mL et 0.410 ± 0.002 mg/mL ces valeurs sont nettement inférieures à notre valeur ceci indique que le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* étudié avait un pouvoir de réduction du (Fe³⁺) plus élevé.

Dans l'étude réalisée par **Djouahri ,A et al 2015** , les huiles essentielles du bois du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* avaient des valeurs d' EC₅₀ comprises entre 0.03112 ± 0.00104 et 0.04949 ± 0.00113 mg/mL. et d'après, **Saber, M et al 2020** l'huile essentielle de la sciure du bois de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* avait un pouvoir de réduction du (Fe³⁺) plus élevé avec EC₅₀=0.029 mg/mL. Les EC₅₀ de ces deux études démontrent un pouvoir de réduction du (Fe³⁺) plus élevé par rapport à notre goudron.

5.3 Capacité Antioxydante Totale (CAT)

La capacité antioxydante totale des goudrons végétaux est déterminée à partir de la formation du complexe vert de phosphomolybdène. Ce complexe verdâtre résulte de la réduction de Mo(VI) en Mo(V) par le composant antioxydant, détectable dans le visible à 695 nm.

Les résultats de TAC des goudrons du *Cedrus atlantica Manetti* et du *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique ci-dessous (**figure n° : 42**) sont respectivement : 262.75 ± 14.43 mg EAA / g du goudron et 309.88 ± 4.81 mg EAA / g du goudron

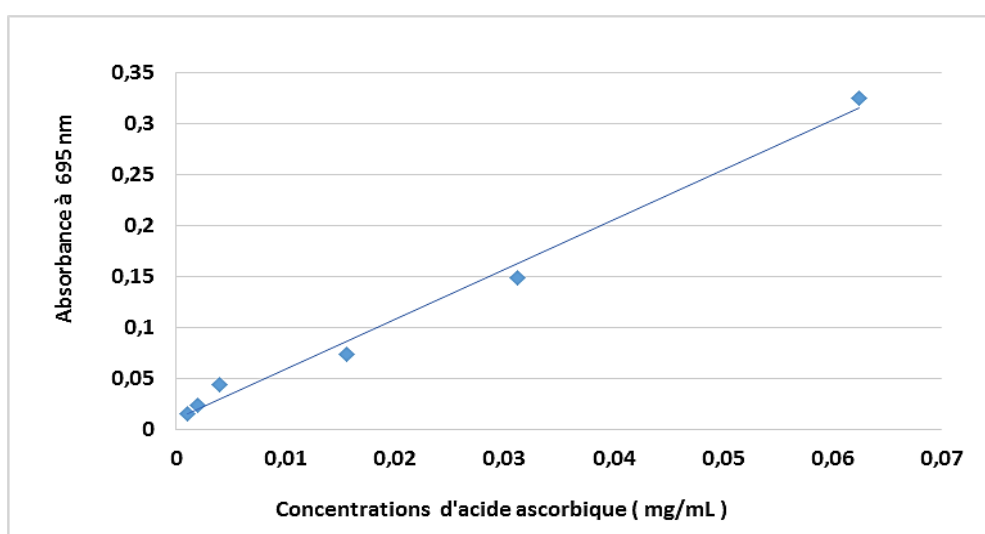


Figure n° 42: Courbe d'étalonnage d'Acide Ascorbique

Globalement on peut remarquer que les deux goudrons étudiés avaient des pouvoirs antioxydants importants. En effet, plusieurs travaux ont montré que les composés phénoliques sont les constituants antioxydants majeurs de plantes, et il existe une relation étroite entre les activités antioxydantes et le contenu phénolique total (Bourkhiss, M. B *et al* 2010b, El Jemli, M *et al* 2016). L'effet antimicrobien de ces composés a été aussi prouvé par plusieurs études *in vivo* et *in vitro* (Harrar, A. 2018)

D'après les études réalisées auparavant on peut avoir une idée sur les composants les plus probablement responsables de l'activité antioxydante :

Sanad, H *et al.* 2022 et Paun, G *et al.* 2013 ont démontré que l'activité antioxydante intéressante de leurs extraits pourrait être due à la présence des sesquiterpènes : γ -himachalène, β -himachalène et l' α -himachalène. Ces sesquiterpènes étaient les composants majeurs du goudron du *Cedrus atlantica Manetti*.

Selon Zrira. Set al .2004 l'activité antiradicalaire importante de leur d'huiles essentielles de la sciure de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* est probablement due aux O méthylthymohydroquinone et thymohydroquinone , ce dernier est parmi les constituants majeurs du goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*.

Selon Saber, M *et al* 2020 le pouvoir antioxydant puissant d'huile essentielle de la sciure du bois de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters* peut être attribué au pourcentage plus élevé de carvacrol qui représente 18.78% de l'huile totale .Ce composé qui figure parmi les constituants majeurs de notre goudron est reconnu par son puissant effet antioxydant (Ruberto, G., & Baratta, M. T. 2000, Kulisic, T. et al 2004, Sökmen, M et al 2004 et Fidah, A. 2016).

6) Activité antibactérienne

Le pouvoir antibactérien des goudrons végétaux (G1 : *Cedrus atlantica Manetti* « Cèdre de l'Atlas » et G2 : *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* « Thuya de Berbérie») a été étudié *in vitro* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé et la méthode de microdilution vis-à-vis les quatre souches de référence : *Staphylococcus aureus* ATCC43300 , *Bacillus cereus* ATCC 14579 , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

6.1 Le profil d'antibiorésistance des souches utilisées

Le profil d'antibiorésistance démontré dans le **tableau n°10** suivant est déterminé après une comparaison des diamètres d'inhibition des différents antibiotiques : Tétracycline 30µg, Céfalexine 30 µg, Amoxicilline 30 µg, Oxacilline 1 µg et Gentamicine 10µg (annexe1) avec ceux critiques selon les recommandation de **CLSI (2010)** ,**OMS (2008)** et **CASFM (2019)**.

Tableau n° 10: Profil d'antibiorésistance des souches bactériennes testées

	Tétracycline 30µg	Céfalexine 30 µg	Amoxicilline 30 µg	Oxacilline 1 µg	Gentamicine 10µg
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	/	Résistante	Résistante	Résistante	Intermédiaire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	Résistante	Résistante	Résistante	/	Sensible
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Résistante	Sensible	Résistante	Résistante	Sensible

/ : Antibiotique non testé

D'après le tableau précédent on peut remarquer que les quatre souches sont résistantes à la plupart des antibiotiques testés.

Les résultats de l'antibiogramme des trois souches *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* concordent avec les données théoriques (**Prescott et al., 2003 ; Tortora et al., 2003**) (voir Annexe 2) ceci signifie que ces souches sont purs .

En revanche la souche d'*Escherichia coli* qui est naturellement sensible à la famille de Pénicilline (**Prescott et al., 2003 ; Tortora et al., 2003**) (voir Annexe 2) a présenté une résistance vis-à-vis l'amoxicilline et l'oxacilline (une résistance acquise) ceci signifie que cette souche a subit une mutation.

6.2 Méthode de diffusion sur gélose

Les résultats de l'activité antibactérienne des deux goudrons en utilisant le test de diffusion sur gélose sont illustrés dans les figures ci-dessous .

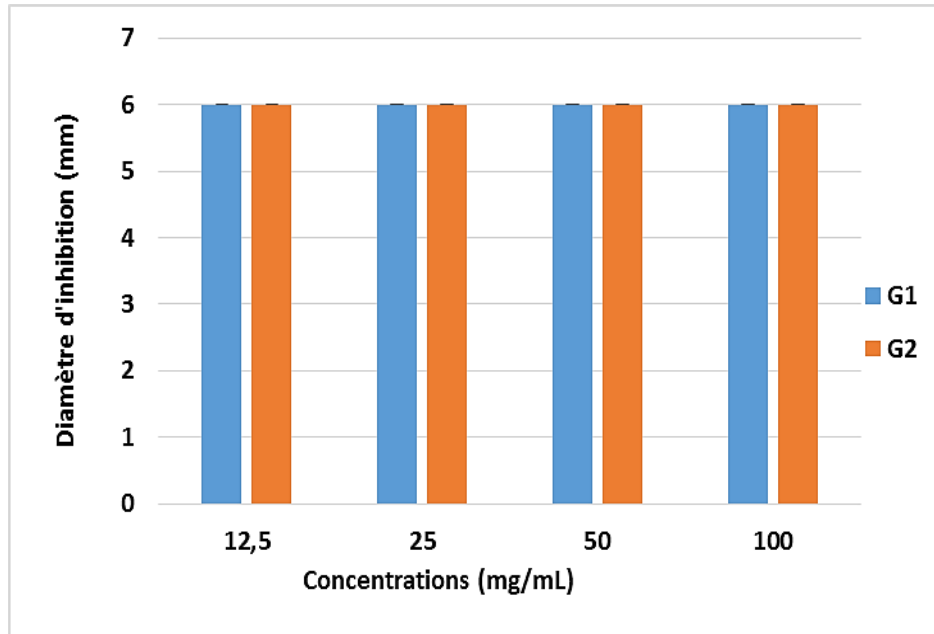


Figure n°43 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145

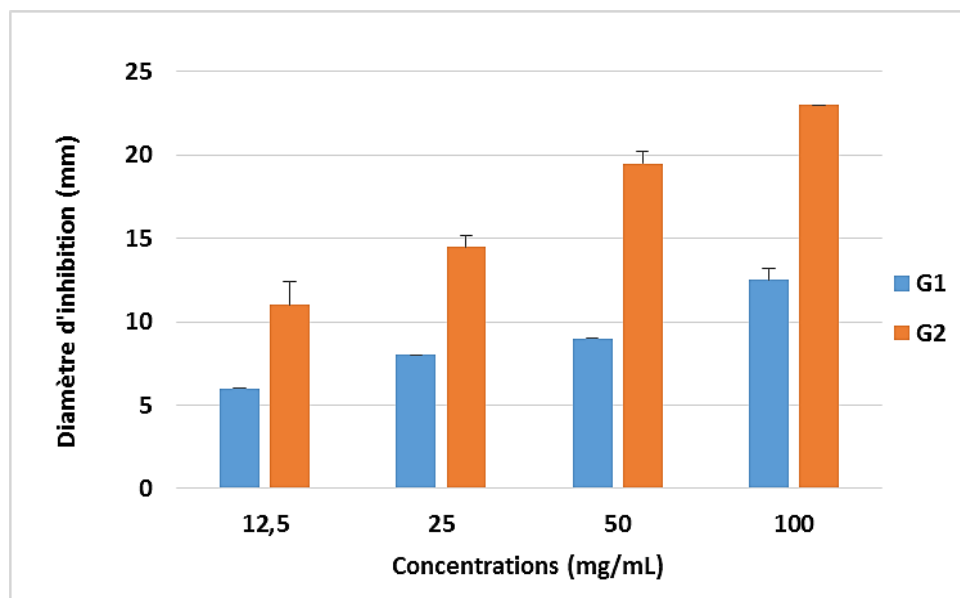


Figure n°44 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 14579

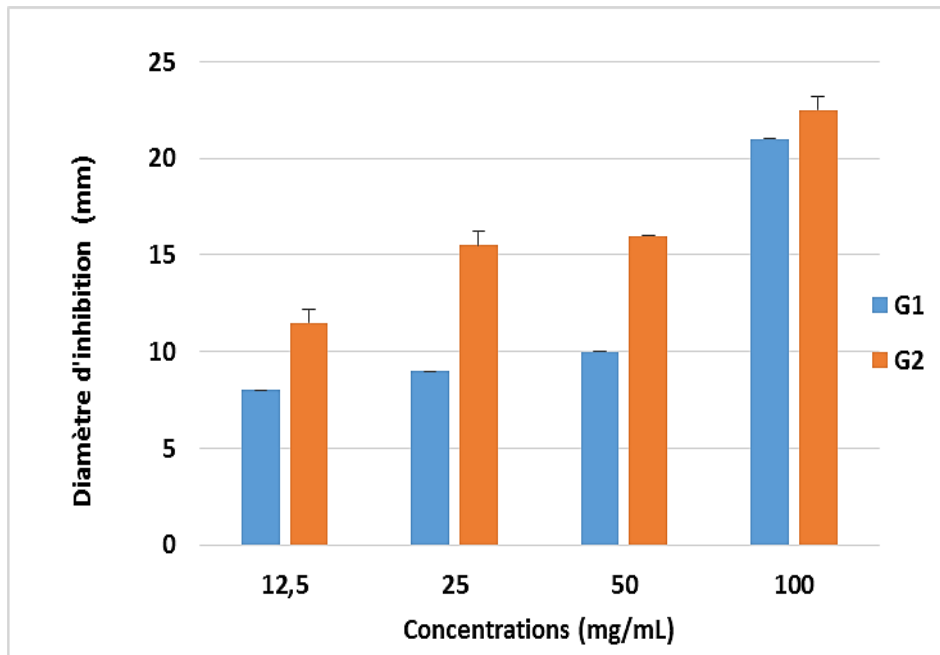


Figure n°45: Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC43300

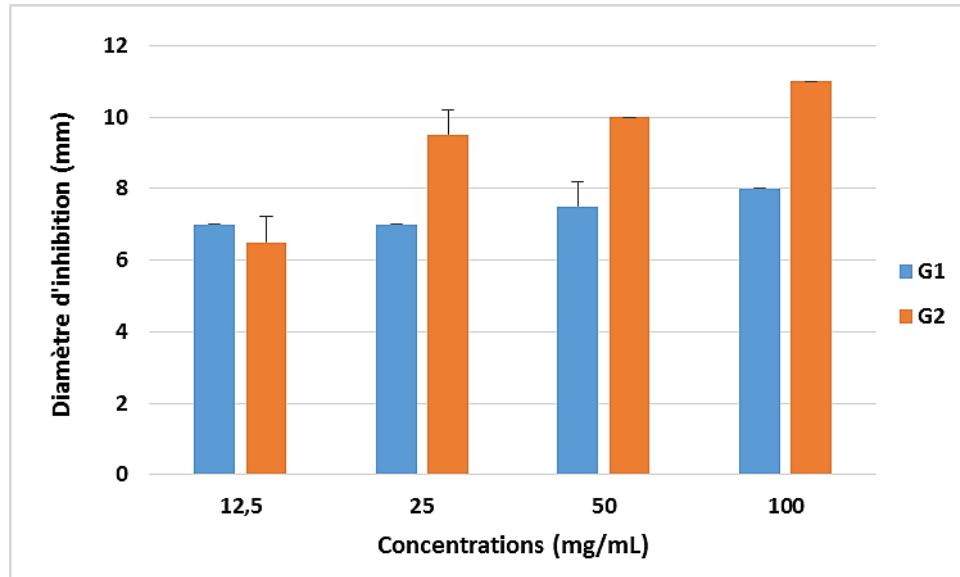


Figure n°46 : Activité antibactérienne des deux goudrons vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 25922

Les résultats illustrés dans les histogrammes précités ont révélé que le goudron du Cèdre de l'Atlas inhibait efficacement la croissance de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de

21±00 mm pour la concentration 100mg/mL , cette inhibition avait diminué pour *Bacillus cereus* avec un diamètre de 12.5 ± 0.71 par contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistantes avec des diamètres de 8 ± 0 mm et 06 ± 00 mm pour la concentration 100mg/mL respectivement .

Ces résultats sont en accord avec :

- Le travail de **Takci, H. A. M et al 2021** : qui ont trouvé que le goudron du cèdre de Liban était plus efficace sur *Staphylococcus aureus* que *E. coli*
- L'étude réalisée par **Benouaklil, F et al 2017** sur l'effet antibactérien de l'huile essentielle du bois de cèdre de l'Atlas Algérien et qui ont montré que *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* étaient résistantes par rapport à *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*
- Le travail de **Venditti, A et al 2022** qui ont démontré que l'huile essentielle du bois de *Cedrus libani* a été active sur la souche de référence staphylococcus aureus mais elle a été inactive sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922 cette dernière est la même souche utilisée dans notre étude

Selon **Takci, H. A. M et al 2021** cet effet antibactérien pourrait être associé aux dérivés sesquiterpéniques de l'himachalène puisqu'une corrélation positive entre ces composés et l'activité antimicrobienne a été prouvée (**Sanad, H et al 2022**) .

Passant au goudron du Thuya de Berbérie ; d'après les histogrammes des Figures 43, 44, 45, 46 ; on a remarqué que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* étaient les souches les plus sensibles avec des diamètres d'inhibition de 22.5 ± 0.71 mm et 23 ± 00 mm pour la concentration 100mg/mL respectivement, en revanche des diamètres de 11 ± 00 mm et 06 ± 00 mm ont été enregistrés pour *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* respectivement indiquant la sensibilité limitée *Escherichia coli* et la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* .

Ces résultats concordent avec :

- l'étude de **Makhloufi, A et al .2015** qui a travaillé sur le goudron du *Juniperus phonicea* (espèce de la même famille du Thuya de Berbérie) et qui a trouvé que

Pseudomonas aeruginosa et *Escherichia coli* ont été moins sensibles par rapport à *Staphylococcus aureus*,

- l'étude de **Bourkhiss et al. (2010a)** (qui a travaillé sur l'huile essentielle de la sciure du bois du Thuya de Berbérie) et qui ont constaté que *Bacillus subtilis* est plus sensible par rapport à *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* qui sont révélés moins sensibles.

L'effet antibactérien puissant du goudron de Thuya de Berbérie est probablement due au carvacrol qui en raison de sa nature hydrophobe, il interagit avec la bicouche lipidique de la membrane cytoplasmique et s'aligne lui-même entre les chaînes d'acides gras provoquant l'expansion et la déstabilisation de la structure membranaire et augmentant sa fluidité et sa perméabilité (**Sökmen, M et al 2004, Nostro, A., & Papalia, T. 2012, Akbli et al., 2016**). Ce composé avait l'activité antimicrobienne la plus puissante contre toutes les souches testées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'étude réalisée par **Cosentino .S et al 1999**.

En plus du carvacrol **Trusheva B et al 2003** et ont démontré que la totarolone isolée de la propolis de Crète avait une forte activité antimicrobienne,

Le pouvoir antioxydant et antibactérien peuvent être due aussi à d'autres composés mineurs car selon **Benouaklil. F. 2018** et **Yahyaoui, M. 2020** ; les composants bioactifs majeurs présents dans les huiles essentielles et les extraits sont les principaux responsables de leurs activités biologiques, mais les composés mineurs peuvent également y contribuer et peuvent présenter une activité individuelle et ou synergique. Le cas du 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) qui est un antioxydant synthétique (**Ono, M et al 1999**) ; il est présent dans le goudron de *Tetraclinis articulata* (**Vahl**)**Masters** avec un pourcentage de 1.05, ce composé peut être responsable du pouvoir antioxydant du goudron . Et même le totarol qui est connu par ses puissants pouvoirs antioxydant et antibactérien (**Bourkhiss, M. B et al 2010 a,b**)

Ces activités biologiques peuvent être dues aussi aux interactions entre les différents constituants (**Aberchan M 2003**).

6.3 La concentration minimale inhibitrice et bactéricide CMI, CMB

Les tableaux n°11 et 12 regroupent la concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale bactéricide CMB et le rapport CMB / CMI des goudrons végétaux vis-à-vis les quatre souches.

Tableau n° 11: Les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des goudrons végétaux

Souches testées / Goudrons végétaux étudiés	Goudron du <i>Cedrus atlantica Manetti</i>		Goudron du <i>Tetraclinis articulata (Vahl)Masters</i>	
	CMI(µg/mL)	CMB(µg/mL)	CMI(µg/mL)	CMB(µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	390.625	1562.5	97.656	97.656
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	3125	6250	1562,5	6250
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	781.25	1562.1	≤24.41	≤24.41
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6250	12500	1562.5	6250

Tableau n° 12: Le rapport CMB / CMI des goudrons végétaux

Souches testées / Goudrons végétaux étudiés	Goudron du <i>Cedrus atlantica Manetti</i>	Goudron du <i>Tetraclinis articulata (Vahl)Masters</i>
	Rapport CMB / CMI	Rapport CMB / CMI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	4	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	2	4
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	2	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2	4

En général, selon les valeurs de CMI obtenues avec la méthode de micro dilution, on peut évaluer le pouvoir antibactérien des deux goudrons étudiés, d'après **Alianni et al. (2001)** in (**Yakhlef, G et al , 2011**) une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI a été proposée comme suit :

- **Forte inhibition** : CMI inférieure à 500 µg/ml
- **Inhibition modérée** : CMI varie de 600 à 1 500 µg/ml
- **Faible inhibition** : CMI supérieure à 1 600 µg/ml.

Ainsi, selon ce barème on peut dire qu'il y avait :

- Une **forte inhibition** de la croissance de *Staphylococcus aureus* par les deux goudrons.
- Une **forte inhibition** de la croissance de *Bacillus cereus* par le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* en revanche l'inhibition était **modérée** par le goudron de *Cedrus atlantica Manetti*.
- Une **inhibition modérée** de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* par le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* .
- Une **faible inhibition** de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* par le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* .

Pour les quatre souches testées ; les valeurs de la CMB étaient plus proches de celles des CMI.

D'après **LAKHDAR, L. 2015**, lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4, l'agent antibactérien est considéré comme bactéricide. Nous constatons que l'action des deux goudrons sur les quatre souches est bactéricidique, cette action bactéricidique a été prouvée dans les goudrons de trois espèces de genévriers : *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoenicea* , *Juniperus thurifera* (espèces de la même famille du Thuya de Berbérie) et du cèdre de l'atlas (**Burri, S et al 2018**).

Globalement l'étude de l'activité antibactérienne des deux goudrons : le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* et le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* par la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de microplaque a démontré que les deux goudrons étaient plus actifs sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* que sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec une différence entre le pouvoir des deux où la grande puissance a été remarquée dans le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters*.

Ce pouvoir antibactérien élevé des deux goudrons contre les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* par rapport au *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* est généralement due au gram des souches car les bactéries Gram⁻ sont connues pour leur résistance par rapport aux bactéries Gram⁺ grâce à la structure particulière de leur membrane externe. Cette dernière délimite chez les bactéries à gram négatif un espace périplasmique contenant quelques feuillettes de peptidoglycane. Elle a une composition lipidique asymétrique exposant des lipopolysaccharides au milieu extérieur. Cette organisation constitue une barrière très efficace. (Akbli et al., 2016 , Bouzid, D.2017. Salvador, D. 2018)



Conclusion et perspectives



Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement surtout végétales afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies. Pour cela la découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques,

Les goudrons végétaux sont des essences de plantes largement utilisés depuis l'antiquité en médecine traditionnelle humaine pour le traitement de plusieurs maladies à titre d'exemples : les acnés, la teigne, l'eczéma, les démangeaisons, la gale, psoriasis, en médecine vétérinaire et même pour la conservation de l'eau dans les Outres.

L'étude bibliographique réalisée sur les goudrons végétaux a montré que l'on ne disposait que de peu d'informations de nature chimique et/ou biologique. Pour pallier ce manque d'informations, notre travail a porté sur l'étude de deux goudrons végétaux : le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et celui de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* en réalisant d'abord une enquête ethnobotanique pour évaluer le niveau de connaissance de la population sur le goudron végétal et ses utilisations puis une évaluation organoleptique et physicochimique des deux goudrons végétaux étudiés suivie par un dosage quantitatif et qualitatif des principes actifs de ces goudrons et finalisant par une étude des activités biologiques antioxydantes et antibactériennes

L'étude ethnobotanique démontre que la plupart des personnes enquêtées n'ont aucune idée ni sur l'origine du goudron végétal ni sur sa technique de fabrication. Il l'utilise en grande proportion pour donner à l'eau un goût agréable. Concernant les deux goudrons étudiés la plupart ne les connaissent pas ; hors le reste indiquent que le goudron du *Cedrus atlantica Manetti* est généralement utilisé pour traiter le psoriasis et la gastro-entérite du nourissant par contre le goudron de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* n'avait pas des utilisations distinctes que n'importe quel goudron.

Les analyses par la GC-MS ont montré la dominance des isomères de l'himachalène et de l' α -atlantone, d' α -Calacorene, d'occidentol, du (z) nuciférol et d'ar-Turmerone, dans le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (goudron du Cèdre de l'Atlas) . En contrepartie les constituants majeurs du goudron de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* (goudron de Thuya de Berbérie) étaient : l' α -Cedrene ,le trans-Ferruginol , le 2-tert-Butyl-4-hydroxy anisole , le Totarolone, le Thymohydroquinone et le Carvacrol .

Les dosages quantitatifs ont rapporté la richesse du goudron du Cèdre de l'Atlas en flavonoïdes, tanins condensés et tanins totaux par rapport au goudron de Thuya de Berbérie. En revanche ce dernier avait un taux supérieur en polyphénols totaux.

Les résultats de l'activité antioxydante ont montré un potentiel de piégeage de certains radicaux libres étudiés. Effectivement, les deux goudrons montrent une inhibition importante vis-à-vis le radical DPPH et une forte activité contre le fer ferreux avec des IC_{50} et EC_{50} égales à $0,002 \text{ mg/mL} \pm 0,0027$, $0,072 \pm 0,006 \text{ mg/mL}$ et $0,021 \text{ mg/mL} \pm 0,00025$, $0,061 \pm 0,0009 \text{ mg/mL}$ pour le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* respectivement. Ces derniers ont montrés également une activité antioxydante totale importante.

Les résultats de l'étude antibactérienne obtenus par la méthode de diffusion sur milieu gélosé ont démontré : la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* contre les deux goudrons et d'*Escherichia coli* contre le goudron de Cèdre de l'Atlas, la sensibilité limitée d'*Escherichia coli* pour le goudron de Thuya de Berbérie et de *Bacillus cereus* pour le goudron de Cèdre de l'Atlas des, la sensibilité de *Staphylococcus aureus* pour les deux goudrons et de *Bacillus cereus* pour le goudron du Thuya de Berbérie.

Les valeurs des CMI et CMB confirment les résultats trouvés dans la méthode de diffusion sur milieu gélosé avec une inhibition modérée de *Pseudomonas aeruginosa* par le goudron de Thuya de Berbérie. Ce dernier était plus efficace avec des valeurs de CMB égales à $6250 \mu\text{g/mL}$, $6250 \mu\text{g/mL}$, $97,656 \mu\text{g/mL}$ et $\leq 24,41 \mu\text{g/mL}$ pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* respectivement. Les valeurs de CMI et CMB démontrent aussi que les deux goudrons avaient un pouvoir bactéricidique contre toutes les souches testées.

Selon des études réalisées auparavant ; le pouvoir antioxydant et antibactérien du goudron du *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters* peuvent être dus aux dérivés sesquiterpéniques de l'Himachalène le goudron de et aux Carvacrol, Totarolone, Thymohydroquinone respectivement.

Bien que l'ensemble des résultats obtenus nous aient permis de contribuer à la valorisation des deux goudrons végétaux ; le sujet mérite bien d'être développé :

- En approfondissant l'étude phytochimique par l'isolement, la purification et l'identification des principes actifs
- En évaluant le pouvoir antioxydant des deux goudrons par différentes autres techniques, même antibactérien (contres autres souches) et antifongique.
- En réalisant une étude *in vivo* de leurs activités biologiques initiée par une étude toxicologique.
- En effectuant une étude sur l'effet synergique des deux goudrons.

De plus, des études sur autres goudrons végétaux utilisés par la population algérienne sont nécessaires.



Références

bibliographiques



- **Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A, Bouayoune T.** Influence De La Duree Et De La Technique D'extraction Sur Le Rendement Et La Qualite Des Huiles Essentielles Du Cedre De L'atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). J Ann. Rech. For. Maroc 2001; 34:110-118.
- **Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A.** Analysis of Moroccan Atlas Cedarwood Oil (*Cedrus atlantica*Manetti). J. Essent. Oil Res. 2004; 16(06): 542-547.
- **Aberchane M, Satrani B, Fechtal M, Chaouch A.** Effet de l'infection du bois de Cèdre de l'Atlas par *Trametes pini* et *Ungulina officinalis* sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles. J Acta Bot. Gallica 2003; 150(02): 223-229.
- **Abi-Ayad, Fatima Zahra .**2009.Analyse de l'huile essentielle du thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir Antimicrobien .thèse de Magister, Option: substances naturelles activités biologiques et synthèse. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.
- **Achmit .Mohamed , Aoussar .Noura , Mellouki .Fouad, Ait Mhand. Rajaa, Dolores Ibáñez. María , Amparo Blázquez. María , Akssira. Mohamed , Zerouali .Khalid , Rhallabi . Naima** 2021. In vitro antibacterial and biofilm inhibitory activity of the sawdust essential oil of *Tetraclinis articulata* (vahl) against catheter-associated *Staphylococcus aureus* clinical isolates. Current Research in Biotechnology 3 (2021) 1–5 . ScienceDirect.
- **Adams R.** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Allured Publishing Corporation, Carol Stream3, 2007.
- **Addar, Abdelkader.** 2016. Mise en évidence des processus diachroniques de la régénération naturelle du cèdre de l'Atlas au niveau des massifs du Djurdjura et du Chréa.Thèse de doctorat , Spécialité : Ecologie et Environnement. Universite Des Sciences Et De La Technologie Houarri Boumediene.
- **AFNOR NFT 04-408.** (1974). Determination of pH. Association Française de Normalisation AFNOR Paris.
- **AFNOR NFT 60-212.** (1968). Determination of Refractive index. Association Française de Normalisation AFNOR, Paris.
- **AFNOR, 1986:** Huiles essentielles. Recueil de normes françaises. Edition Tec&Doc Lavoisier. 2e édition.
- **Aidrous Larbi, Nacima.** 2007. Exploration De La Variabilite Geographique Des Cedres Mediterraneens , *Cedrus Atlantica* , *Cedrus Libani* Et *Cedrus Brevifolia*. Mémoire de magister en science agronomiques, Option : Foresterie. Institut National Agronomique El- Harrach.

- **Ait Igri M, Holeman M, Ildrissi A, Berrada M. (1990)** Contribution à l'étude des huiles essentielles des rameaux et de bois de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, **24**, 36-43.
- **Akbli, M., Rhallabi, N., Mhand, R. A., Akssira, M., & Mellouki, F. (2016).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de la sciure du bois de loupe de *Tetraclinis articulata* (Vahl) master du Maroc sur des souches d'origine clinique [Antibacterial activity of the essential oil of sawdust of root burl wood of *Tetraclinis articulata* (VAHL) master of Morocco against clinical strains]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **16**(2), 314.
- **Al-Asmari. Abdulrahman ., Siddiqui. Yunus., Mozaffarul. Islam., Al-Ghamdi. Mohammed & El-Elai. Abdulrahman .** The antibacterial effect of qutran (wood tar) from olive trees on pathogenic bacteria. *Int. J. Phytomed*, 2014, vol. 6, p. 444-8.
- **Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- **Amadou, D. 2005.** ETUDE DE LA PHYTOCHIMIE ET DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DE *Syzygium guineense* WILLD. (*MYRTACEAE*). Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculte De Medecine, Universite De Bamako. Mali .
- **Amairi, T. (2021).** *Résistance aux antibiotiques des Escherichia coli isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie* . thèse de doctorat. Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie .Département des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Khider de Biskra).
- **Amandine, G. 2016.** Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat en pharmacie. Faculte Des Sciences Pharmaceutiques. Universite Toulouse III Paul Sabatier.
- **Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2019).** Natural antioxidants of plant origin. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 90, pp. 1-81). Academic Press.
- **Anses . 2010.** Évaluation des risques sanitaires liés à l'exposition par ingestion de *Pseudomonades* dans les eaux destinées à la consommation humaine (hors eaux conditionnées).
- **Anses . 2016 a.** Danger biologique transmissible par les aliments : *Bacillus cereus*.
- **Anses . 2016 b.** *Staphylococcus aureus* et entérotoxines staphylococciques.
- **Anses. 2019.** *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) .

- **Ari, S., Kargioğlu, M., Temel, M., & Konuk, M.** (2014). Traditional tar production from the Anatolian black pine [*Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe var. *pallasiana*] and its usages in Afyonkarahisar, Central Western Turkey. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 10(1), 1-9.
- **Attou, A.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de magistère. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- **Bailly, L.** Caractérisation moléculaire et isotopique de goudrons et résines archéologiques dérivés de conifère en contexte maritime, PhD. Thesis, University of STRASBOURG, 2015.
- **Bammou mohamed, Sellam Khalid, El-Rhaffari Lhoussaine, Echchagadda Ghizlane, Ibjibijen Jamal, Nassiri Laila.** Activité antibactérienne (in vitro) de l'extrait aqueux des feuilles d'*Anvillea radiata* (Coss. & Dur.) sur des bactéries multirésistantes à des antibiotiques. ScienceLib Editions Mersenne : Volume 6 , N ° 140503 2014.
- **Barouki, R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
- **Baudin, B.** 2020 . Stress oxydant et protections antioxydantes. *Revue Francophone des Laboratoires* . vol. 2020, no 522, p. 22-30.
- **Becerra, J., Flores, C., Mena, J., Aqueveque, P., Alarco´ n, J., Bittner, M., Herná´ndez, V., Hoeneisen, M., Ruiz, E., Silva, M.,** 2002. Antifungal and antibacterial activity of diterpenes isolated from wood extractables of Chilean Podocarpaceae. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 47, 151 – 157.
- **Beddou, F.** (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur .Thèse de doctorat. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- **Béguel, J. P.** (2012). Etude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale des Sciences de la Mer. Université De Bretagne Occidentale.
- **Belkheiri, N.** (2010). *Dérivés phénoliques à activités Antiathérogènes* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- **Belliot A.** Cade oil, ichthyol coal tar: dermatological and cosmetic uses, Ph.D. Thesis, University of Nantes, France, 2007.
- **Belliot, A.** (2007). *Huile de cade, goudron de huille, ichthyol: utilisations dermatologiques et cosmétiques*. Diplôme d'état de docteur en pharmacie. Nantes.

- **Belloula , Salima .** 2020 .Caracterisation Des Facteurs Ecologiques Influent Sur Le Deperissement Du Cedre E L'atlas -Cas Des Cedraies Du Massifs Des Aurese- .thèse de doctorat en sciences agronomiques , Spécialité : science forestières. Université Batna 1.

- **BELMIMOUN, A.** (2015). *Evaluation de l'activité anti-oxydante et antimicrobienne des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales* Thèse de doctorat . Département de Biologie .Université Mustapha Stambouli de Mascara)

- **Belyagoubi, N.** 2011. *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.* Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

- **Ben Yahia ,Samira.**2015. *Activités antimicrobiennes et insecticides de Thymus capitatus, Daucus crinitus et Tetraclinis articulata sur la mineuse Tuta absoluta (Meyrick) et la microflore pathogène de la tomate Lycopersicum esculentum.* thèse de doctorat En Ecologie et Biologie des populations . Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers. Université Abou-Bakr Belkaid Tlemcen.

- **Benali Toumi .Fouzia, Benyahia. Mohamed, Hamel. Laid, Mohamedi .Halima & Boudaghen. Lynda.** 2011. *Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters originaire d'Algérie.* Acta Botanica Gallica, 158:1, 93-100.

- **Benhammou N, Bekkara A F, Panovska K T.** Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of Atriplex halimus. C. R. Chim J 2009; 12(12):1259–1266.

- **Benhammou, N.** (2012). *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.* Thèse de doctorat. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

- **Benlarbi, L., Makhloufi, A., Tarfaya, B., Belahcene, M., Moussaoui, A., Makhloufi, N., ... & Mebarki, L.** (2014). *Biological activities of Olea europea sylvestris Tar, growing wild in South west of Algeria.* *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 3(8), 771-777.

- **Bennamara, F.** 2017. *Stress oxydant et pathologies humaines.* Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté De Médecine Et De Pharmacie-Rabat.Université Mohammed V-Rabat ,

- **Benouaklil, F., HAMAIDI-CHERGUI, F., Hamaidi, M. S., & Saidi, F.** (2017). *Chemical composition and antimicrobial properties of algerian cedrus atlanticam. essential oils.* *Revue Agrobiologia*, 7(1), 355-362.

- **Benouaklil, Fatouma.** 2018. Caractérisation Phytochimiques Et Etudes Des Propriétés Pharmacologiques Du Cedre De L'atlas (*Cedrus Atlantica*).Thèse de doctorat . Faculté de science de la nature et de vie. Université De Saad Dahleb De Blida.

- **BEN YAHIA, N. B. A.** (2015). *Activités antimicrobiennes et insecticides de Thymus capitatus, Daucus crinitus et Tetraclinis articulata sur la mineuse Tuta absoluta (Meyrick) et la microflore pathogène de la tomate Lycopersicum esculentum* (Doctoral dissertation).

- **Benyamina Abdelfettah.** 2019. Etude Ethnopharmacologique et caractérisation des composés phénoliques des organes aériens de Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters de l'ouest Algérien . Thèse de doctorat , Spécialité : science de l'environnement. Université Djillali Liabes De Sidi Bel-Abbes.

- **Berger, M. M.** (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(1), 48-53.

- **Bernabeu, A., Shapiro, S., & Villalaín, J.** (2002). A MAS-NMR study of the location of (+)-totarol, a diterpenoid bioactive molecule, in phospholipid model membranes. *Chemistry and physics of lipids*, 119(1-2), 33-39.

- **Bertella, A., Benlahcen, K., Abouamama, S., Pinto, D. C., Maamar, K., Kihal, M., & Silva, A. M.** (2018). Artemisia herba-alba Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity. *Industrial Crops and Products*, 116, 137-143.

- **Boizot, N., & Charpentier, J. P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

- **Bouazza Khalldiia.** 2019. La biodiversité végétale et le dépérissement du Cédus atlantica dans le parc national de Theniet El Had (W. Tissemsilt). Thèse de doctorat , Spécialité :Sciences de l'Environnement, Option : Biodiversité végétale méditerranéenne de l'Algérie occidentale .faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Djillali Liabes De Sidi Bel Abbes.

- **Bouchemal-Drif Assia,** 2011. Etiologie du dépérissement du Cède de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) dans le parc National de Chréa.Mémoire de magister en science de la nature, Spécialité : Ecologie et Environnement.Université Houari Boumediene.

- **Bouguerne, B.** 2012. Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et études de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de doctorat. Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- **Boukerker Hassen.** 2016. Autoécologie et évaluation de la biodiversité dans les Cédraies de *Cedrus atlantica* Manetti dans le parc national de Belezma (Batna, Algérie). Thèse de doctorat en sciences Agronomiques, Option : Foresterie. Faculté des Sciences Exactes, des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohamed Khider –Biskra-.
- **Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., & Hakim, Y.** (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, (3), 37.
- **Boulanouar, A., Larbi, B., & M'hammed, A. M.** (2021). Bioautography and antifusaric activity of three tar extracts from the pyrolysis of three plants growing wild in the south-west of Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 11(4), 355-361.
- **Boundedjah, O.** (2014). Mécanismes d'assemblage des granules de stress dans des conditions de stress oxydatif et osmotique. Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale Des Génomes Aux Organismes (GAO). Université D'evry Val D'essonne.
- **BOURKHISS, B., OUHSSINE, M., HNACH, M., BOURKHISS, M., SATRANI, B., & FARAH, A.** (2007). Composition chimique et bioactivité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 146(1-2), 75-84.
- **Bourkhiss M, Hnach M, Lakhlifi T, Bourkhiss B, Ouhssine M, Satrani B. (2010a)** Production et caractérisation de l'huile essentielle de la sciure de bois de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 79, 4-11.
- **Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B.** (2010b). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège*.
- **Bourkhiss M, Hnach M, Lakhlifi T, Bouachrine M, Farah A, Satrani B, Ouhssine M, Chaouch A, Costa J. (2012)** Fractionnement et valorisation de l'huile essentielle de la sciure de bois de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Phytothérapie*, 10, 222-228.
- **Boussaid, M. (2017)**. Caractérisation des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (Thuya de Barbarie) de la région de Tlemcen et étude de leurs activités biologiques .Thèse de doctorat UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN.

- **Bouزيد, DJIHANE, Nouioua ,Wafa, Soltani, ELKHAMSSA, et al.** Chemical constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil and their antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2017, vol. 25, no 5, p. 780-787.
- **Bouزيد, N. (2016).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche «*Artemisia herba alba* Asso». Thèse de doctorat . Département de Biologie .Université Mustapha Stambouli de Mascara).
- **Burri, S. (2010).** Production et commercialisation de la poix et de l'huile de cade en basse-Provence au Moyen Âge. *Anthropobotanica*, (1).
- **Burri, S., Alifriqui, M., Bun, S. S., Cenzon-Salvayre, C., Cigerci, I. H., Cloarec, A., ... & Yilancioğlu, K. (2018).** Des ressources naturelles à la santé. *Les Nouvelles de l'archéologie*, (152), 62-69.
- **Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M. C., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (2006).** Les espèces actives de l'oxygène:le yin et le yang de la mitochondrie. *médecine/sciences*, 22(1), 47-53.
- **CASFM .2019.** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. V.1.0 Janvier . Institut Pasteur Paris, France.
- **Cenzon-Salvayre, C., Cloarec-Quillon, A., Corbineau, R., Durand, A., El Jemli, M., Fernandez, X., ... & Yilancioğlu, K. (2018).** Des ressources naturelles à la santé. Approche interdisciplinaire de la production des goudrons de conifères et de leur usage médicinal en Méditerranée sur la longue durée. *Les Nouvelles de l'archéologie*, (152), 62-69.
- **Cerou, S.1994.** *Radicaux libres et pathologie humaine: actualisation et perspectives d'avenir*. Thèse de doctorat. Université de Limoge , Faculté de pharmacie/
- **Chahboub , Hamida.2017.**Impacte De La Micohrization Sur La Physiologie Des Plantules Du Cedre De L'atlas *Cedrus Atlantica* Manetti (Endl.) Carrière Soumise A Une Contrainte Hydrique. Thèse de doctorat. Université des sciences et de la technologie houarri boumediene.
- **Chaouche, T. M. (2014).** CONTRIBUTION A L'ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES METABOLITES SECONDAIRES DE QUELQUES PLANTES MEDICINALES. Thèse

- de Doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- **Chaudhary A, Sood S, Kaur P, Kumar N, Thakur A, Gulati A, Singh B.** Antifungal Sesquiterpenes from *Cedrus deodara*. *J. Med. Plant Res* 2012a; 78(02): 186–188.
 - **Cherrak, S. A.** (2017). Etude in vitro de l'effet antioxydant des complexes Flavonoïdes–Métaux: Relation structure activité. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
 - **Cheurfa, M., & Allem, R.** (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187.
 - **CHOW, Y. L., & ERDTMAN, H.** (1962). The Chemistry of the Natural Order Cupressales. *Acta Chem. Scand*, 16(6).
 - **Cillard, J., & Cillard, P.** (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
 - **CLSI** .(2010). Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline, 2nd edn. M45A2E. Wayne.
 - **Cosentino, S. C. I. G., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M. L., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F.** (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in applied microbiology*, 29(2), 130-135.
 - **Daglia, M.** (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.
 - **Dahmani, M, M.** 2019. Evaluation de l'activité biologique des polyphénols de *Carthamus caeruleus* L (Asteraceae). Thèse de doctorat. Faculté des Sciences. Université De M'hamed Bouguera-Boumerdes.
 - **Demarteau, M., François, L., Cheddadi, R., & Roche, E.** (2007). Réponses de *Cedrus atlantica* aux changements climatiques passés et futurs. *Geo-Eco-Trop: Revue Internationale de Géologie, de Géographie et d'Écologie Tropicales*.
 - **Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A.** (2010). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *Int. J. Agric. Biol*, 12(3), 381-385.

- **Djouahri, A., Boualem, S., Boudarene, L., & Baaliouamer, A.** (2015). Geographic's variation impact on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils from wood and leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial crops and Products*, 63, 138-146.

- **Egenberg, I. M., Aasen, J. A., Holtekjølen, A. K., & Lundanes, E.** (2002). Characterisation of traditionally kiln produced pine tar by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 62(1), 143-155.

- **El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K.** (2016). Radical-scavenging activity and ferric reducing ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in pharmacological sciences*, 2016.

- **EL KOLLI, Meriem.** *Composition chimiques et activités biologiques des huiles essentielles de quelques apiacees carum montanum benth. et hook et daucus gracilus stem.* 2018. Thèse de doctorat.

- **El Mouridi, M.** (2011). Caractérisation mécanique de la loupe de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters) en vue de sa valorisation (Doctoral dissertation, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc).

- **El Moussaouiti, M., Talbaoui, A., Gmouh, S., Aberchane, M., Benjouad, A., Bakri, Y., & Kamdem, D. P.** (2010). Chemical composition and bactericidal evaluation of essential oil of *Tetraclinis articulata* burl wood from Morocco. *Journal of the Indian Academy of Wood Science*, 7(1), 14-18.

- **Esteve Selma, M.A.; Montoya, P.; Moya, J.M.; Miñano, J.; Hernández, I.; Carrión, J. S.; Charco, J.; Fernández, S.; Munuera, M. & Ochando, J.** *Tetraclinis articulata : biogéographie, écologie, menaces et conservation*, 2019. Direction Générale du Milieu Naturel. 247 pp.

- **Fagbohoun, L.** 2014. Etude chimique de colorants naturels et matériaux résineux traditionnels au Bénin dans le domaine artisanal. Avignon. Thèse de doctorat . *Spécialité: Chimie Organique Et Substances Naturelles*. Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse (France).

- **Favier, A.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.

- **Fidah A, Rahouti M, Kabouchi B, Famiri A.** Durable Woods and Antifungal Activity of Their Essential Oils: Case of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters and *Cedrus atlantica* Manetti. In: Essential Oils, ED. H. A. El shemy (eds). Egypt, UK: intechopen Publisher; 2019 . p .271-281.
- **Fidah. Abdelwahed** 2016. Etude De La Durabilite Naturelle Des Bois De *Cedrus Atlantica* (Manetti) Et De *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters Et Evaluation De La Bioactivite De Leurs Huiles Essentielles Sur Les Champignons Basidiomycetes Lignivores. These De Doctorat ,Spécialité : Biologie Végétale et Environnement. Université Mohammed V Faculté des Sciences , Rabat.
- **Gaba-Chahboub H M S, Lamhamedi O, Abrous-Belbachir.** Effet de l'inoculation ectomycorhizienne en pépinière sur la croissance et la nutrition des plants du cèdre de l'Atlas en Algérie. *J Bois For. Trop.* 2016; 330 (330) : 57-67.
- **Ghalem, M.** (2014). Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Zizyphus lotus* et *Anthyllis vulneraria*. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers. Département de Biologie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- **Ghebru, H.** (1988). Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*. *Mémoire de maîtrise et Sciences Vétérinaires en Microbiologie Immunologie, Nantes.*
- **González, M. A., Clark, J., Connelly, M., & Rivas, F.** (2014). Antimalarial activity of abietane ferruginol analogues possessing a phthalimide group. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(22), 5234-5237.
- **Gow-Chin Y, Chia-Horn, C.** Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric.Food Chem* 1995; 43(1): 27-32.
- **Guillouty, A.** 2016. Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Faculté Des Sciences Pharmaceutiques. Université Toulouse Iii Paul Sabatier.
- **Guzun-Cojocar, T.** 2010. Peroxydation des lipides émulsionnés et transfert d'ions fer à l'interface huile/eau stabilisée par des protéines de lait : influence des résidus phosphates et de la stabilité du chélate de fer. Thèse de doctorat. École doctorale des environnements, santé, stic, Université de Bourgogne, Dijon.
- **Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A.** (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science: Revue Internationale Des Sciences Et Technologie*, 5(2).

- **Haddoudi, M., Mellouk, H., Bejjany, B., Dani, A., & Digua, K.** (2014). Valorisation du marc du café: extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydante. *Les technologies de laboratoire*, 8(36).

- **Hadjadj Kouider¹**. 2017. Etude de la productivité du thuya de berbérie (*Tetraclinis articulata* (VAHL) Masters) dans l'ouest Algérien dans la perspective de développement durable. THESE DE DOCTORAT . UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID-TLEMCEN .Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers.

- **Hadjadj Kouider², Letreuch Belarouci Assia** .2017. Synthèse bibliographique sur le thuya de berbérie [*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.] .*Geo-Eco-Trop*, 2017, 41, 1: 13-27.

- **HADJI, W.** 2013. *Valorisation des huiles essentielles: Cas de l'utilisation de l'huile de cade dans les eaux* . Mémoire de magister, Université de Ouargla-Kasdi Merbah.

- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P.** (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

- **Halmi, S.** 2014. Etude botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat en Sciences. Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie .Université Des Freres Mentouri De Constantine.

- **HALMI, SIHEM.** 2015. Étude botanique et phytochimique approche botanique et phytochimique d'*opuntia ficus indica* . Thèse de doctorat. Département De Biologie Et Ecologie Vegetale. Faculte Des Sciences De La Nature Et De La Vie. Université Des Freres Mentouri De Constantine.

- **HAMADOU, H. H., KALLO, M. S., MANZO, L. M., MOUSSA, I., ADAMOU, R., & IKHIRI, K.** (2018). Criblage phytochimique et dosage des polyphénols du *Detarium microcarpum* Guill. et Perr. utilisé dans le traitement des maladies parasitaires au Niger. *Afrique science*, 14(5), 390-399.

- **Harrar, A.** (2018). *Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L* (Doctoral dissertation).Mémoire de Magister. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie , Département de biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

- **Hart, T., & Shears, P.** (1997). *Atlas de Poche de Microbiologie, Flammarion Medecine-Sciences, 1997: Atlas de Poche de Microbiologie* (Vol. 1). Bukupedia.

- **Heimler D, Vignolini P, Giulia D M, Vincieri F F, Romani A.** Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chem J* 2006; 99(03): 464-469.
- **HERLANT .** Pharmacien , professeur agrégé à l'Université de Bruxelles. 1878. ÉTUDE SUR LES PRINCIPAUX PRODUITS RÉSINEUX DE LA FAMILLE DES CONIFÈRES. Bruxelles h. Manceaux, éditeur, imprimeur de l'académie de médecine de belgique libraire de la faculté de médecine de l'université de bruxelles paris, ve ad. Delahaye & ce, libraires. **Livre** bruxelles, imprimerie et librairie h. Manceaux 8, rue des trois- têtes, montagne de la cour.
- **Hjulström, B., Isaksson, S., & Hennius, A.** (2006). Organic geochemical evidence for pine tar production in middle Eastern Sweden during the Roman Iron Age. *Journal of Archaeological Science*, 33(2), 283-294.
- **Işıl Berker, K., Güçlü, K., Tor, İ., Demirata, B., & Apak, R.** (2010). Total antioxidant capacity assay using optimized ferricyanide/prussian blue method. *Food Analytical Methods*, 3(3), 154-168.
- **Jallali Y, Zaouali Y, Missaoui I, Smeoui A, Abdelly C, Ksouri R.** Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and *Inula crithmoïdes* L. *J Food Chem* 2014; 145:1031–1038.
- **Jaouadi, I., Cherrad, S., Bouyahya, A., Koursaoui, L., Satrani, B., Ghanmi, M., & Chaouch, A.** (2021). Chemical variability and antioxidant activity of *Cedrus atlantica* Manetti essential oils isolated from wood tar and sawdust. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(12), 103441.
- **Jauch V.** (1994) - Eine römische Teersiederei im antiken Tasgetium - Eschenz, *Archéologie suisse*, 17.
- **Julin, M.** (2008). Tar production—traditional medicine and potential threat to biodiversity in the Marrakesh region: An ethnobotanical study. Uppsala.
- **Kablan, B. J., Adiko, M., & Abrogoua, D. P.** (2008). Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire. *Phytothérapie*, 6(5), 282-288.
- **Kabouche, A.** (2005). Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. thèse de doctorat . Département De Chimie .Faculte Des Sciences Exactes .Universite Mentouri-Constantine. Algérie.

- **KADA, S.** 2018. *Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques*. Thèse de doctorat en Sciences. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Ferhat Abbas Setif 1.
- **Kargioğlu, M., Ceneci, S., Serteser, A., Evliyaoğlu, N., Konuk, M., Kök, M. Ş., & Bağcı, Y.** (2008). An ethnobotanical survey of inner-West Anatolia, Turkey. *Human Ecology*, 36(5), 763-777.
- **Khanfouci ,Mohammed Salah.**2005. Contribution A L'etude De La Fructification Et De La Regeneration Du Cedre De L'atlas (*Cedrus Atlantica* M) Dans Le Massif Du Belezma.Mémoire de magister. Université Hadj Lakhdar Batna .
- **Khoudali, S., Benmessaoudleft, D., Essaqui, A., Zertoubi, M., Azzi, M., & Benaissa, M.** (2014). Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(3), 887-898.
- **KERBOUCHE, L. (2010).** *Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de cupressacées*.Mémoire de magister .Spécialité : sciences agronomiques .Ecole Nationale Supérieure El Harrach. Alger.
- **Kılıç Pekgözlü A, Kuştaş S, Mercan B, Biçer A.**Chemical Characterization of Lebanon Cedar Tar.Drvna Ind J 2017 ; 68(02) : 107-112.
- **Knudsen, E. A.**(1963). Treatment of psoriasis with tar baths. *British Journal of Dermatology*, 75(11), 428-433.
- **Koehlin-Ramonatxo, C.** (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
- **Krause, S. T., Liao, P., Crocoll, C., Boachon, B., Förster, C., Leidecker, F., ... & Degenhardt, J.** (2021). The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(52), e2110092118.
- **Kulisc, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M.** (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*, 85(4), 633-640.

- **Kurt Y, Isik, K.** Comparison of tar produced by traditional and laboratory methods. *Studies on Ethno- Medicine* 2012; 6(2) :77-83.
- **Kurt, Y., Kaçar, M. S., & Isik, K.** (2008). Traditional tar production from *Cedrus libani* A. Rich on the Taurus Mountains in Southern Turkey. *Economic Botany*, 62(4), 615-620.
- **Laaribya S. Et Alaoui A.** Modélisation par l'entropie maximale de l'habitat potentiel du cèdre de l'atlas au Maroc (*Cedrus atlantica* Manetti), *Revue Nature et Technologie*, 13 (2) (2021) : 120-128.
- **LAKHDAR, Leila.** *Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro.* 2015. Thèse de doctorat.
- **Lamnauer, D. & Batanouny, K.,** 2005. *A Guide to Medicinal Plants in North Africa.* IUCN Centre for Mediterranean Cooperation. 235 pp.
- **Lemiti, Salima.** 2020. *Effet De La Combinaison Des Facteurs Ecologiques Sur Le Cedre De L'atlas Dans Les Parcs Nationales De Chrea.* Thèse de doctorat , Faculté de la nature et de vie , Université de BLIDA 1.
- **Lindborg, M.** (2008). *GC-MS analysis for Polyaromatic Hydrocarbons (PAH) in Moroccan medicinal tars: An ethnobotanical study and chemical investigation of the use and safety of medicinal tars in Marrakesh and the High Atlas Mountains, Morocco.*
- **Loussouarn-Yvon, M.** (2017). *L'acide carnosique et le carnosol, deux super-antioxydants du romarin (*Rosmarinus officinalis*): rôles, mécanismes, physiologie et applications.* Thèse de doctorat. Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé (ED SVS 62). Aix-Marseille Université.
- **M. Gast,** « Cèdres », in Gabriel Camps (dir.), 12 | *Capsa – Cheval*, Aix-en-Provence, Edisud (« Volumes »,no 12) , 1993 .
- **M. Gast,** « Goudron », *Encyclopédie berbère*, 21 | 1999, 3170-3174.
- **Madjour, Karim.** 2015. *Regeneration Naturelle D Cedre De L'atlas (*Cedrus Atlantica* Manetti) Au Niveau Du Parc Nationale Du Djourdjura (Secteur Du Tala Guilef).* Mémoire de magister, Option : Ecologie Végétal Appliquée et Gestion de l'Environnement. Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU .

- **Manallah, A. (2018).** *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive olea europaeaL.* Mémoire de magistère. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biochimie. Université Ferhat ABBAS - Sétif 1.

- **Matou, M. (2019).** Composition et propriétés biologiques d'extraits de *Phyllanthus amarus* Schumacher et thonning (1827) utilisés en médecine traditionnelle aux Antilles. Thèse de Doctorat. Faculté des sciences exactes et naturelles . Univercité des Antilles.

- **Makhloufi A, Boulanouar A., Mebarki L., Benlarbi L., Tarfaya B.** 2015. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF JUNIPERUS PHONICEA TAR, GROWING WILD IN BECHAR REGION, SOUTH WEST OF ALGERIA .ORAL PRESENTATION -94. Conference: MESMAP-2 ABSTRACTS April 22-25th, 2015 / Antalya – TURKEY.

- **Mercimek Takci H A,Turkmen F U,** Sari M. In vitro mutagenic effect of cedar (*Cedrus libani* A.Rich) tar in the salmonella / microsome assay system. *Banat's J. Biotechnol* 2019 ; 10(20) :13-18.

- **M'hirit .O, Samih .A, Maiagnoux .M,** 1993. Le Cedre De L'atlas *Cedrus atlantica* (Manetti). *Ann. Rech. For. Maroc*, 27 (spécial), vol.1,1. ISSN 0483-8009.

- **Michel, F., Bonnefont-Rousselot, D., Mas, E., Draï, J., & Thérond, P.** (2008). Biomarqueurs de la peroxydation lipidique: aspects analytiques. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 66, No. 6, pp. 605-620).

- **Migdal, C., & Serres, M.** 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

- **Mohammedi, Z.** (2013). Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire , Option: Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.

- **Mongens, M.** (2013). Origine et conséquences du stress oxydant. Thèse de Doctorat. La Faculté De Médecine De Créteil, École Nationale Vétérinaire D'alfort.

- **Muanda, F. N.** 2010. IDENTIFICATION DE POLYPHENOLS, EVALUATION DE LEUR ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ETUDE DE LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES. Thèse de doctorat. Université Paul Verlaine-Metz.

- **Muller, A. (2017).** Bon usage des antibiotiques: résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé . Thèse de Doctorat Université Bourgogne Franche-Comté.

- **MUMTAZ ALI** . 2009. Evaluation of antibacterial, antifungal and antitoxidant activities and phytochemistry of selected species belonging to families Solanaceae, Pinaceae Guttiferare. Doctoral thesis. INSTITUTE OF CHEMICAL SCIENCES UNIVERSITY OF PESHAWAR PAKISTAN.
- **Nam A M, Bighelli A, Ghanmi M, Satrani B, Casanova J, Tomi F**. Deodarone Isomers in Cedrus atlantica Essential Oils and Tar Oils. *Natural product communications* 2015;10 (11).
- **Nauroy, J. 1954**. Contribution à étude de la pharmacopée marocaine traditionnelle (drogues végétales). Thèse. Université de Paris.
- **Nezar Kebaili , Miloud**.2009. Influence de quelques variables du milieu sur larégénération naturelle du cèdre de l’Atlas (Cedrusatlantica Manetti) dans le massif de Belezma (Batna). Mémoire de magister, Spécialité : Foresterie . Université de Batna.
- **Nostro, A., & Papalia, T.** (2012). Antimicrobial activity of carvacrol: current progress and future prospectives. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 7(1), 28-35.
- **OMS. 2008** .Standardisation de l’antibiogramme en médecine humaine . 4ème Edition.
- **Ono, M., Yamamoto, M., Masuoka, C., Ito, Y., Yamashita, M., & Nohara, T.** (1999). Diterpenes from the fruits of *Vitex rotundifolia*. *Journal of natural products*, 62(11), 1532-1537.
- **Paghdal, K. V., & Schwartz, R. A.** (2009). Topical tar: back to the future. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(2), 294-302.
- **Paun, G., Zrira, S., Boutakiout, A., Ungureanu, O., Simion, D., Chelaru, C., & Radu, G. L.** (2013). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of essential oils from moroccan aromatic herbs. *Rev Roum Chim*, 58(11-12), 891-7.
- **Peyrot, F.** 2020. Réactions des espèces réactives de l’azote dérivées du monoxyde d’azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques. Thèse de Doctorat. Université Paris XI.
- **Pisoschi, A. M., Cheregi, M. C., & Danet, A. F.** (2009). Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. *Molecules*, 14(1), 480-493.

- **Porte, Laurent** . (1994). *Fours à cade, fours à poix dans la Provence littorale*. Verlag nicht ermittelbar.

- **Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A, (2003)**. Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp : 1164

- **Prieto P, Pineda M, Aguilar M**. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E1. *Anal. Biochem J* 1999; 269(2): 337–341.

- **Proestos, C., & Komaitis, M.** (2009). Antioxidant capacity of hops. In *Beer in Health and Disease Prevention* (pp. 467-474). Academic Press.

- **Rabhi K., Akli A., Djouhri A., Yahi N., Boudedja S., Messaoudene M.,** 2018. Bilan et croissance des reboisements de cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica* (Endl.) Carrière, en Algérie : cas du Djurdjura et de l'Atlas blidéen. *Bois et Forêts des Tropiques*, 337 : 3-15. Doi : <https://doi.org/10.19182/bft2018.337.a31627>.

- **Rageot, Maxime.** 2015. *Les substances naturelles en Méditerranée nord-occidentale (VIe-Ier millénaire BCE): chimie et archéologie des matériaux exploités leurs propriétés adhésives et hydrophobes*. Thèse de doctorat. Université Nice Sophia Antipolis.

- **Richard Nicol.**2016. manuel de microbiologie appliquée à l'usage des techniciens de l'agroalimentaire et des laboratoires. LEXITIS EDITION. ISBN : 978-2-36233-163_3

- **Ruberto, G., & Baratta, M. T.** (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69(2), 167-174.

- **Saab, A. M., Harb, F. Y., & Koenig, W. A.** (2005). Essential oil components in heart wood of *Cedrus libani* and *Cedrus atlantica* from Lebanon. *Minerva Biotecnologica*, 17(3), 159.

- **Saadia Zrira , Bachir Benjilali & Abdelaziz Elamrani** (2005) Chemical Composition of the Sawdust Oil of Moroccan *Tetraclinis articulata* Vahl, *Journal of Essential Oil Research*, 17:1, 96-97.

- **Saber, M., Harhar, H., Bouyahya, A., Ouchbani, T., & Tabyaoui, M.** (2020). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of Sawdust from Moroccan *Thuya* (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Biointerface Res. Appl. Chem.*, 11(1), 7912-7920.

- **Sanad, H., Belattmania, Z., Nafis, A., Hassouani, M., Mazoir, N., Reani, A., ... & Sabour, B.** (2022). Chemical Composition and In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Marine Cyanolichen *Lichina pygmaea* Volatile Compounds. *Marine Drugs*, 20(3), 169.

- **Satrani B, Aberchane M, Farah A, Chaouch A, Talbi M.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *J Acta Bot. Gallica*. 2006; 153(1): 97-104.

- **Sbay, Hassan et Lamhamedi .Mohammed . S.,** 2015 . Guide pratique de multiplication vegetative des especes forestieres et agroforestieres : Techniques de valorisation et de conservation des especes a usages multiples face aux changements climatiques en Afrique du Nord. Royaume du Maroc, Haut Commissariat aux Eaux et Forets et a la Lutte Contre la Desertification, Centre de Recherche Forestiere, p. 1-34.

- **Salvador, D.** (2018). Étude structurale d'un système d'efflux tripartite bactérien MexAB-OprM impliqué dans la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* . thèse de doctorat . Université de Bordeaux.

- **SELADJI, MERYEM.** *Etude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyses de leurs huiles essentielles.* 2015. Thèse de doctorat.

- **Shin, Y. H., Kim, H. J., Lee, J. Y., Cho, Y. J., & An, B. J.** (2012). Major compound analysis and assessment of natural essential oil on anti-oxidative and anti-microbial effects. *Journal of Life Science*, 22(10), 1344-1351.

- **SIDE LARBI, K.** (2015). *Potentiel du contenu polyphénolique et huiles essentielles de quelques plantes médicinales à activités anticartilagineuse et biologiques* .Thèse de doctorat . Département de Biologie .Université Mustapha Stambouli de Mascara).

- **Singh D, Agarwal S K.** HIMACHALOL AND /3- HIMACHALENE: Insecticidal Principles of Himalayan Cedarwood Oil. *J. Chem. Ecol.* 1988; 14 (04):1145–1151.

- **Six, S. C., Buysler, M., Vignaud, M., Dao, T. T., Messio, S., & Payraud, S.** (2012). Toxi-infections alimentaires collectives à *Bacillus cereus*: bilan de la caractérisation des souches de 2006 à 2010. *Bull. Épidémiol. Anim. Aliment*, 50, 57-61.

- **Sökmen, M., Serkedjieva, J., Daferera, D., Gulluce, M., Polissiou, M., Tepe, B., ... & Sökmen, A.** (2004). In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3309-3312.

- **Souyad.Nassima.** 2012. Phytoécologie, phytodynamique et évaluation patrimoniale de quelques formations à *Cedrus atlantica*, (Endl.) Carrière de la région de Aurès (Ouled Yagoub, Khenchela) .Mémoire de magister en science de la nature, Spécialité : Ecologie et Environnement.Université Houari Boumediene.

- **Takci, H. A. M., Turkmen, F. U., & Sari, M.** (2021). Effect of cedar (*Cedrus Libani* A. Rich) tar on bacterial growth. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 805-808.

- **Taleb Mohamed Lamine.** 2017. Etude de l'influence de la densité et de l'état de sociabilité des tiges sur le dépérissement du Cèdre de l'Atlas *Cedrus atlantica* Manetti dans le Parc National de Theniet El Had (Algérie). These de doctorat .specialite : sciences de l'environnement. Option : ecologie forestiere. Faculte des sciences de la nature et de la vie. Universite djillali liabes de sidi bel abbes.

- **Terfaya, B., Makhloufi, A., Mekboul, A., Benlarbi, L., & Abdelouahed, D.** (2017). Antifungal activity of *Juniperus oxycedrus* Tar; growing wild in north-west of Algeria. *Applied Biology in Saharan Areas*, 1, 33-36.

- **Terfaya, B., Makhloufi, A., Mekboul, A., Benlarbi, L., & Abdelouahid, D.** (2021). In vitro Antifusarial Activity of a Tar Extracted from the *Juniperus phoenicea* L. Wild in Southwest of Algeria. *Phytothérapie*, 19(4), 243.

- **Thangadurai D, Anitha S, Pullaiah T, Reddy P N, Ramachandraiah O S.** Essential Oil Constituents and in Vitro Antimicrobial Activity of *Decalepis hamiltonii* Roots against Food-borne Pathogens. *J. Agric. Food Chem* 2002; 50(11): 3147-3149.

- **Thomas, P.** 2013. *Cedrus atlantica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013.

- **Tortora J., Funk B.F., Case CH.L,** (2003). Introduction à la microbiologie, (edn) ISBN. Canada

- **Toty, A. A., Guessennd, N., Bahi, C., KRA, A. K. M., Tokore, D. A., & Dosso, M.** (2013). Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la société royale des sciences de Liège*.

- **Trabsa, H.** 2018. Activité antioxydante et anti-inflammatoire des fractions des plantes médicinales: *sedum sediforme* et *lycium arabicum*. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie , Département de biochimie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

- **Trintignac Alain.** La production de poix dans la cité des Gabales (Lozère) à l'époque gallo-romaine. In: Revue archéologique de Picardie, n°1-2, 2003. Cultivateurs, éleveurs et artisans dans les campagnes de Gaule romaine. pp.239-248;
- **Trusheva B, Popova M, Bankova V, Tsvetkova I, Naydensky H, Sabatini AG.** A new type of European propolis, containing bioactive labdanes. *Rivista Italiana EPPOS* 2003;36:3-7.
- **Turkiewicz I P, Wojdyło A, Tkacz K, Nowicka P Hernández F.** Antidiabetic, Anticholinesterase and Antioxidant Activity vs. Terpenoids and Phenolic Compounds in Selected New Cultivars and Hybrids of Artichoke *Cynara scolymus* L. *J Molecules* 2019; 24(07):1-15.
- **Yahyaoui, M. (2020).** Application des huiles essentielles dans le domaine des emballages alimentaires.thèse de doctorat en chimie organique. Université Tunis El Manar.
- **Venditti, A., Maggi, F., Saab, A. M., Bramucci, M., Quassinti, L., Petrelli, D., ... & Bianco, A. (2022).** Antiproliferative, antimicrobial and antioxidant properties of *Cedrus libani* and *Pinus pinea* wood oils and *Juniperus excelsa* berry oil. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 156(2), 384-395.
- **Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., & Ayachi, A. (2011).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*, 9(4), 209-218.
- **Yayi-Ladekan, E., Kpoviessi, D. S. S., Gbaguidi, F., Kpadonou-Kpoviessi, B. G. H., Gbenou, J., Jolival, C., ... & Quetin-Leclercq, J. (2011).** Variation diurne de la composition chimique et influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims cultivé au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(4), 1462-1475.
- **Zahir, I., Er-rahmany, A., Es-sadouy, R., & El Hadri, I. (2020).** Activités biologiques de *Tetraclinis articulata*: revue de synthèse. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- **Zaibet, W. (2018).** *Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD.* Thèse de doctorat. faculté de technologie. Département de génie des procédés. UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF-1UFAS (ALGERIE).

- **Zaidi S.** 2003..REGENERATION NATURELLE DU CEDRE (*Cedrus atlantica*, MANETTI) ET SA DYNAMIQUE FORESTIERE DANS L'ATLAS BLIDEEN, Magister. Thesis, University of Science and Technology, HOUARI BOUMEDIENE, ALGERIA,

- **Zeroual, A., Mazoir, N., Berraho, M., Auhmani, A., & Benharref, A. (2007).** (4aS*, 10aR*)-7-Hydroxy-8-isopropyl-1, 1, 4a-trimethyl-1, 2, 3, 4, 4a, 9, 10, 10a-octahydrophenanthren-2-one. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 63(8), o3497-o3498.

- **Zhang, H. W., Lin, Z. X & Chan, K..** (2015). Treatments used in complementary and alternative medicine. In *Side effects of drugs annual* (Vol. 37, pp. 595-601). Elsevier.

- **Zhong, Y., & Shahidi, F.** (2015). Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In *Handbook of antioxidants for food preservation* (pp. 287-333). Woodhead Publishing.

- **Zitouni, A.** 2017. Profil polyphénolique et activité antioxydante de deux plantes médicinales *Pistacia lentiscus. L* et *Gymnocarpos decander*. Forsk. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.

- **Zrira S., Bessiere J. M., Menut C., Elamrani A. & Benjilali B.** (2004) Yield and chemical composition of the sawdust essential oil of Moroccan *Tetraclinis articulata* (Vahl), *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 7:3, 217-222, DOI: 10.1080/0972-060X.2004.10643395.

- **Zrira S, Ghanmi M.** Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential of *Cedrus atlantica* (Cedarwood oil). *J. Essent. Oil-Bear. Plants* 2016;19(05): 1267 – 1272.



Annexes



Annexe : 1 Composition des milieux de culture utilisés

- **Bouillon nutritif** : Extrait de viande : 1,0 g/L - Extrait de levure : 2,5 g/L - Peptone : 5,0 g/L – Chlorure de sodium : 5,0 g/L - pH = 7,0.
- **Gélose nutritive** : Extrait de viande : 1,0 g/L - Extrait de levure : 2,5 g/L - Peptone : 5,0 g/L - Chlorure de sodium : 5,0 g/L - Agar-agar : 15,0 g/L - pH = 7,0. Gélose
- **king A** : peptone dite "A" : 20,0 g, glycérol : 10,0 g, sulfate de potassium : 10,0 g, chlorure de magnésium : 1,4 g, agar purifié : 12,0 g pH =7,2
- **Gélose chapman** : Peptone : 10,0 g - Extrait de viande de boeuf : 1,0 g -Chlorure de sodium : 75,0 g -Mannitol : 10,0 g - Rouge de phénol : 0,025 g - Agar-agar : 15,0 g - pH = 7,4..
- **Gélose PCA** Tryptone5g Extrait de levure2.5g Glucose1g Agar agar12g pH7,0 ± 0,2.
- **Gélose au Cétrimide** : peptone de gélatine : 16,0 g - peptone de caséine : 10,0 g - bromure de tétradonium (cétrimide) : 0,2 g - acide nalidixique : 15,0 mg - sulfate de potassium : 10,0 g - chlorure de magnésium : 1,4 g – agar : 10,0 g - pH = 7,1.
- **Gélose Mossel** :Peptone 10,0 g , Extrait de viande 1,0 g, Mannitol 10,0 g, Jaune d'œuf à 20 % 10 %, Sulfate de Polymyxine B 0,01 g, Rouge de phénol 0,025 g, Chlorure de sodium 10,0 g, Agar 14,0 g, pH=7,2.
- **Gélose Mueller-Hinton** : Peptone : 17.5g, Extrait de viande : 2g, Amidon :1.5g, Agar : 17g, pH =7,3

Annexe : 2 Généralités sur les quatre souches utilisés

1) *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie de la famille des *Staphylococaceae*. Appelée également staphylocoque doré, cette bactérie halophile est de forme sphérique, de 0,5 µm à 1,5 µm de diamètre, disposée généralement en grappes de raisin. C'est une bactérie immobile, asporulée et aérobie facultatif qui possède une catalase et une coagulase libre. La température et le pH optimaux pour sa croissance 35 -41°C et 6-7 respectivement. Elle est ubiquitaire présente sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée de l'être humain (**Hart & Shears, 1997 ; Anses, 2016b ; Richard, 2016**). Elle est résistante aux β-lactamines, aux aminosides, aux fluoroquinolones, aux glycopeptides, aux tétracyclines, aux macrolides et aux lincosamides (**Prescott et al., 2003 ; Tortora et al., 2003**).

2) *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est un bacille ovoïde en chaîne à Gram positive ayant un diamètre d'environ 1.0 – 1.2 µm et une longueur de 3.0 – 5.0 µm, anaérobie facultatif, sporulé, mobile, non capsulé, glucose + et catalase +. La bactérie se multiplie à des pH compris entre 4,3 et 9,3 et à une température qui s'étend de 5 à 50°C. Cette souche est très répandue dans la nature et souvent isolée du sol, de la poussière ou de la surface des végétaux, ce qui favorise sa propagation dans les aliments (**Hart & Shears, 1997 ; Six, et al., 2012, Anses, 2016a ; Richard, 2016**). *B. cereus* est naturellement résistante à la pénicilline G et aux amino- et carboxypénicillines, au triméthoprime et à la colistine. Cependant, les céphalosporines sont peu actives (**Prescott et al., 2003 ; Tortora et al., 2003**).

3) *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm de long, non sporulé, mobile grâce à un ou plusieurs flagelles polaires, aérobie à métabolisme strictement respiratoire. La bactérie est catalase +, oxydase +, Lactose - et non indologène. Sa culture est aisée entre 10° C et 42°C et à un PH neutre. C'est une bactérie ubiquitaire présente généralement dans les eaux, le lait cru et fromages et les légumes. Ses propriétés de virulence lui donnent une capacité de croissance au détriment de nombreux hôtes dont l'Homme : au niveau du tractus digestif, de la voie oto-rhino-laryngologique et de la peau

(Anses, 2010 ; Richard, 2016). *P. aeruginosa* est résistante à différentes familles d'antibiotiques : Pénicillines, Tétracycline, Triméthoprim, Quinolones, β -lactamines, Aminocyclitol et Fluoroquinolone (Prescott *et al.*, 2003 ; Tortora *et al.*, 2003).

4) *Escherichia coli*

Escherichia coli est un Bacille à Gram négatif non sporulé, mobile grâce à une ciliature péritriche, mesurant de 2 à 4 μm de long et d'un diamètre d'environ 0,6 μm . Elle est aéro-anaérobie, Lactose +, glucose +, catalase +, oxydase -. Sa température de multiplication est comprise entre 7 et 46°C. Cette souche fait partie de la microflore commensale intestinale de l'Homme et de nombreux animaux à sang chaud et représente près de 80% de la microflore aérobie (Ghebru, 1988 ; Richard, 2016 ; Anses, 2019). *E. coli* est naturellement sensible à certains antibiotiques : pénicillines, céphalosporines, aminocyclitol et fluoroquinolones (Prescott *et al.*, 2003 ; Tortora *et al.*, 2003).

Annexe 3 : Résultats des activités biologiques

I) Résultats des pourcentages d'inhibitions du DPPH des deux goudrons végétaux et d'acide ascorbique

Tableau n°13 : pourcentage d'inhibition du DPPH du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (G1)

Concentrations (mg/mL)	0,015625	0,03125	0,0625	0,125	0,25
G1	41,71±0,63	49,85±1,49	72,45±1,95	94,93±0,015	95,33±0,25
Acide Ascorbique	96,49±1,196	96,83±0,0945	96,97±0,047	97,27±0,118	98,43±0,185

Tableau n°14 : pourcentage d'inhibition du DPPH du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters(G2)

Concentrations (µg/mL)	2	4	8	16	31
G2	6,99 ±0,94	11,67±1,33	21,48±2,66	41,36±0,94	73,16±0,27
Acide Ascorbique	32,60±1,96	67,77±1,36	97,28±0,45	97,28±0,076	98,26±0,076

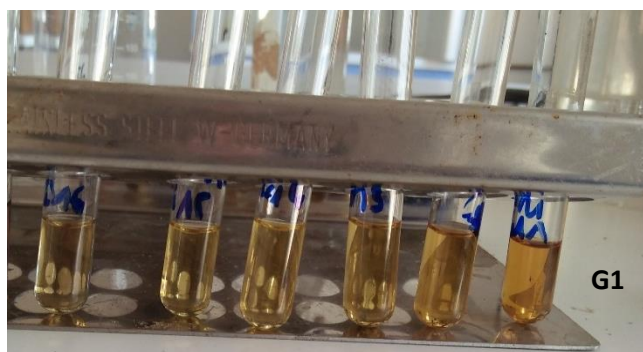
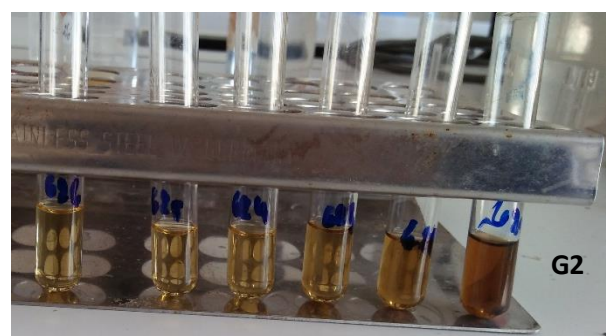
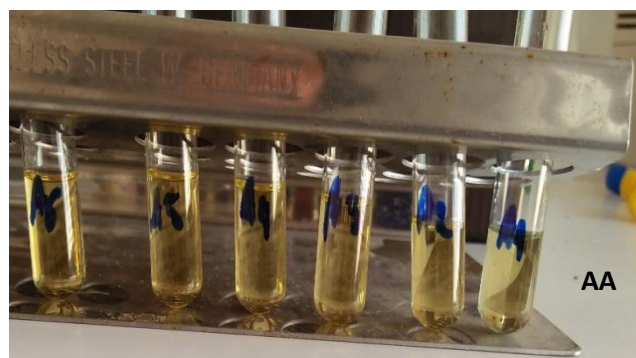


Figure n° 47 : Variation de la couleur des deux goudrons végétaux et d'acide ascorbique

II) Résultats de la méthode de FRAP

Tableau n°15 : Absorbances des extraits des goudrons végétaux et d'acide ascorbique

Concentrations (mg/mL)	0,00390625	0,0078125	0,015625	0,03125	0,0625
Acide Ascorbique	0,109±0,006	0,394±0,004	0,706±0,024	1,306±0,009	2,574±0,069
Goudron de <i>Cedrus atlantica Manetti</i>	0,033±0,005	0,055±0,007	0,0895±0,016	0,209±0,0015	0,417±0,001
Goudron de <i>Tetraclinis articulata (Vahl) Masters</i>	0,034±0,024	0,063±0	0,135±0,007	0,272±0,0145	0,505±0,006

III) Activité antibactérienne

➤ Antibiogramme

Tableau n°16 : Les diamètres d'inhibition (mm) de l'antibiogramme

	Tétracycline 30µg	Céfalexine 30 µg	Amoxicilline 30 µg	Oxacilline 1 µg	Gentamicine 10µg
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300	Absence	17	Absence	Absence	Absence
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	/	19	Absence	Absence	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	07	Absence	Absence	/	17
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Absence	16	09	Absence	21

Absence : absence de zone d'inhibition

/ : Test non réalisé

➤ Méthode de diffusion sur gélose

Tableau n°17 : Les diamètres d'inhibition du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (G1)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	6±0	6±0	6±0	6±0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	8±0	9±0	10±0	21±0
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	6±0	8±0	9±0	12,5±0,71
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	7±0	7±0	7,5±0,71	8±0

Tableau n°18 : Les diamètres d'inhibition du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters(G2)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	6±0	6±0	6±0	6±0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC43300				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	11,5±0,71	15,5±0,71	16±0	22,5±0,71
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	11±0,41	14,5±0,71	19,5±0,71	23±0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
Concentrations du goudron (mg/mL)	12,5	25	50	100
Diamètres d'inhibitions (mm)	6,5±0,71	9,5±0,71	10±0	11±0

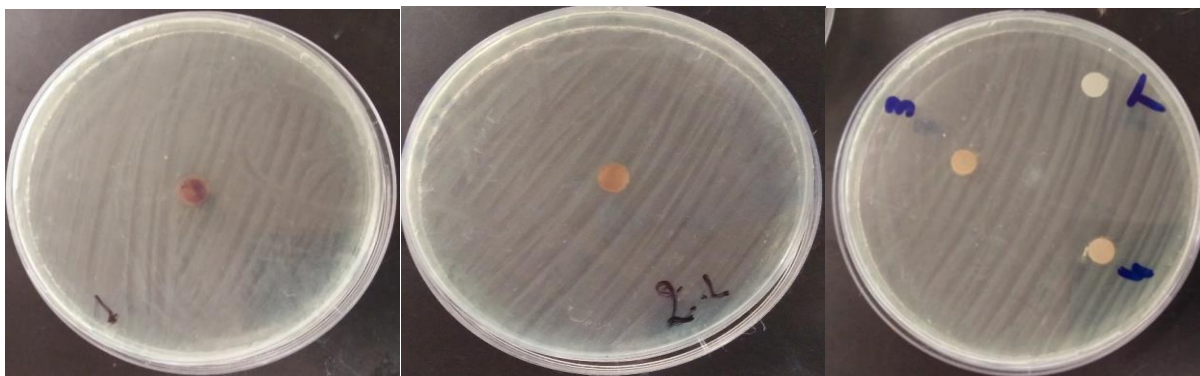


Figure n°48 : Activité antibactérienne du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (G1) vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145

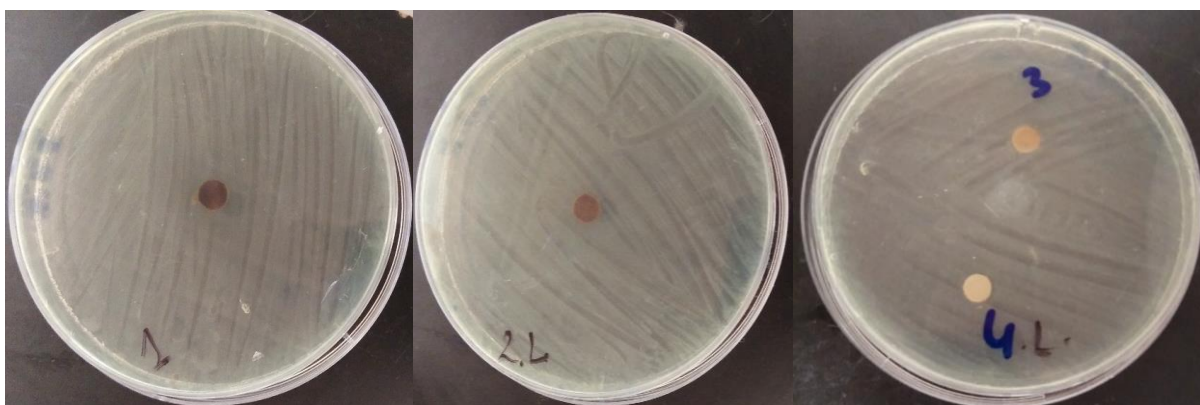


Figure n°49 : Activité antibactérienne du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (G2) vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145

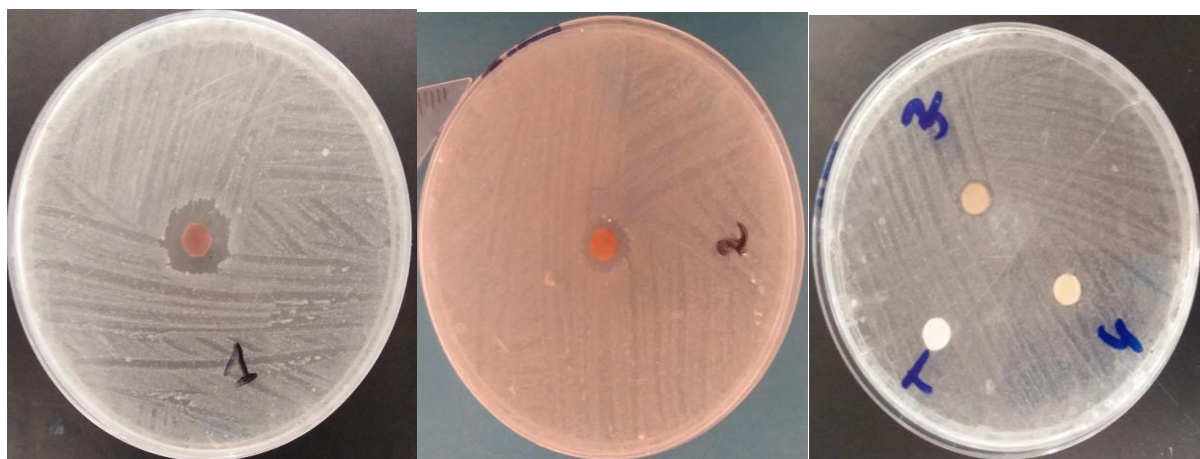


Figure n°50 : Activité antibactérienne du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (G1) vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 14579

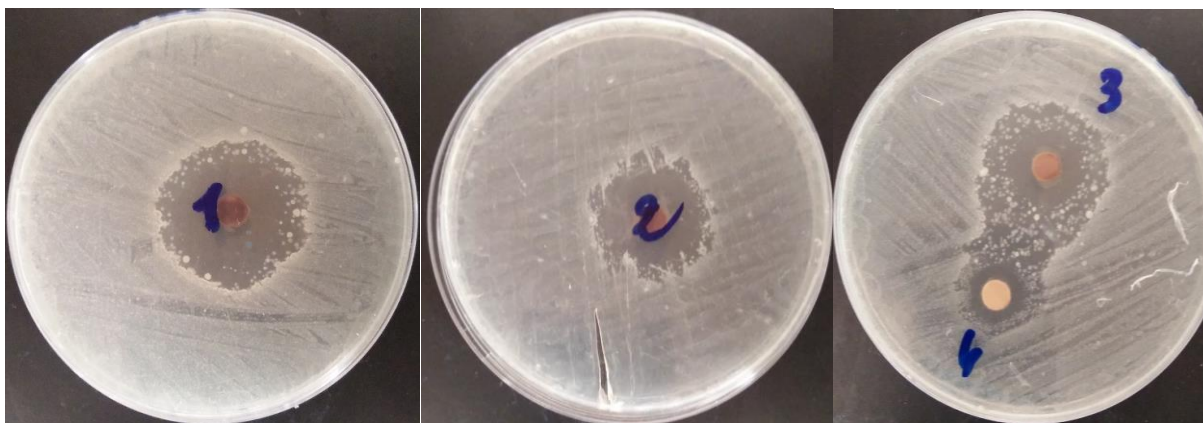


Figure n°51 : Activité antibactérienne du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (G2) vis-à-vis *Bacillus cereus* ATCC 14579

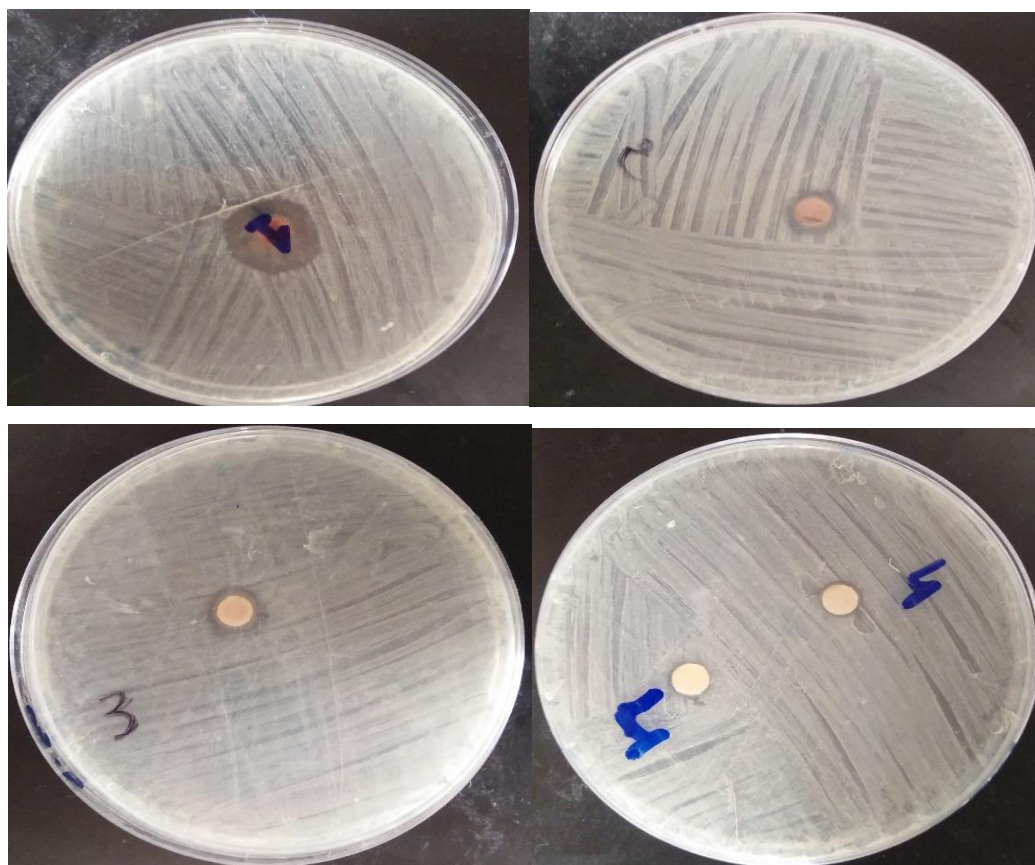


Figure n°52 : Activité antibactérienne du goudron de *Cedrus atlantica* Manetti (G1) vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

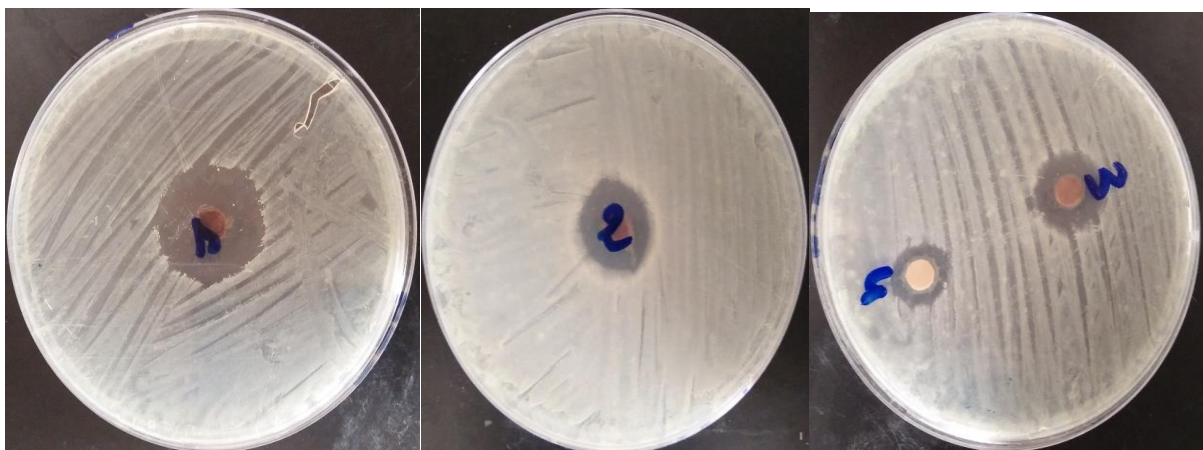


Figure n°53 : Activité antibactérienne du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters (G2) vis-à-vis *Staphylococcus aureus* ATCC43300

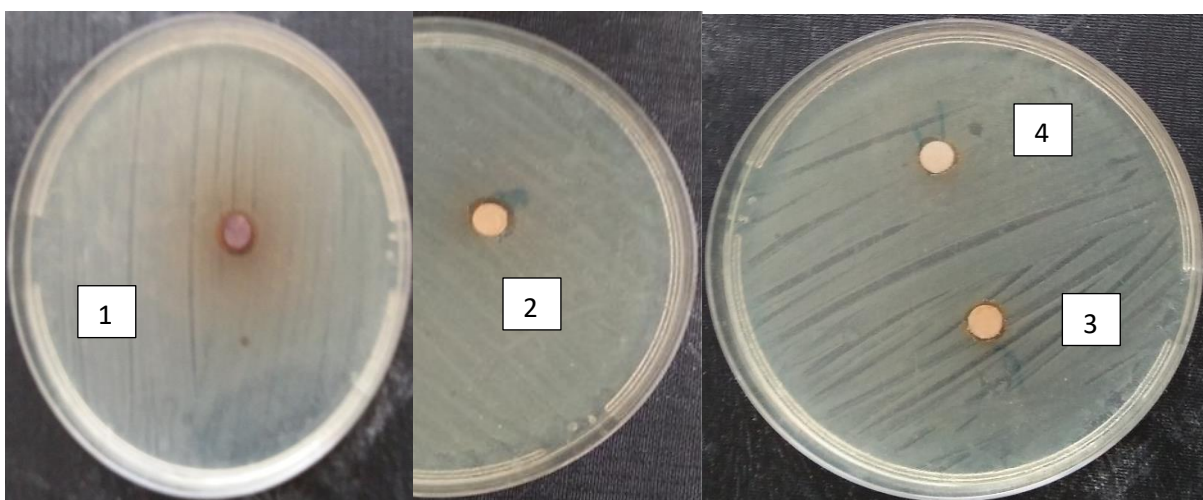


Figure n°54 : Activité antibactérienne du goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (G1) vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 25922

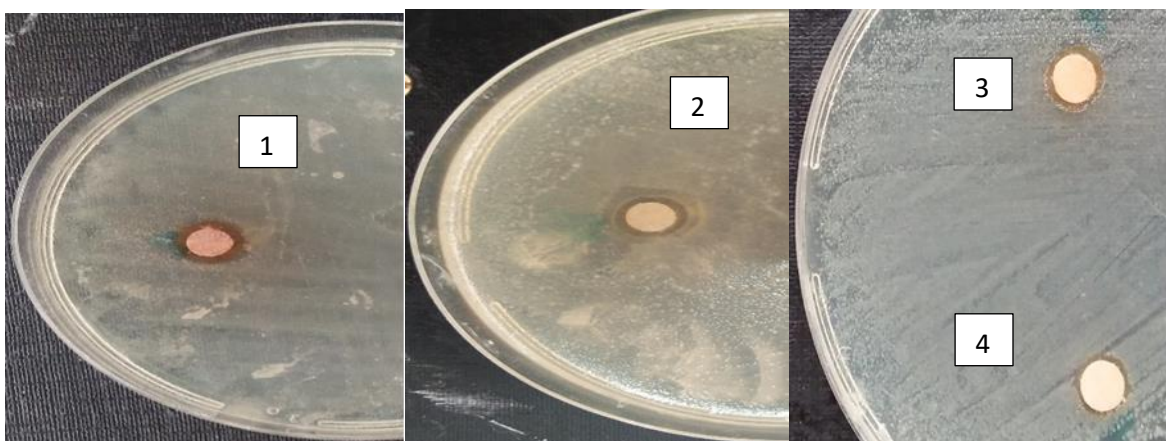


Figure n°55 : Activité antibactérienne du goudron de *Tetraclinis articulata* (Vahl)Masters (G2) vis-à-vis *Escherichia coli* ATCC 25922

NB : 1 : concentration 100mg/mL , 2 : concentration 50 mg/mL , 3 : concentration 25 mg/mL, 4 : concentration 12,5 mg/mL

Annexe 4 : L'enquête ethnobotaniques

➤ Les questionnaires destinés aux herboristes et interlocuteurs

1) Questionnaire destiné aux herboristes

Sexe : Masculin Féminin

Age :

Niveau académique :

Vendez-vous du goudron végétal ? Oui Non

Savez-vous comment il se fabrique ? Si oui expliquez comment.

Citer les utilisations du goudron végétal.

Qui l'achète ? (hommes/femmes, jeunes/vieux) :

La demande varie-t-elle au cours de l'année ? :

Est-ce que la demande a varié avec le temps Oui Non

Vendez-vous un goudron fabriqué à partir du même arbre, d'un mélange d'arbres, aucune idée

Même arbre Mélange d'arbre Aucune idée

Si vous vendez un goudron fabriqué à partir du même arbre, donner la dénomination de l'arbre et citer les utilisations de ce goudron.

2) Questionnaire destiné aux interlocuteurs

Sexe : Masculin Féminin

Age :

Niveau académique :

Savez-vous le goudron végétal ? Oui Non

Savez-vous comment il se fabrique ? Si oui expliquez comment.

L'avez-vous déjà utilisé, si oui est ce que vous avez utilisé un goudron végétal produit du même arbre, d'un mélange d'arbres ou vous n'aviez aucune idée sur son origine.

Citez ces utilisations.

Savez-vous le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* (Goudron du Cèdre de l'atlas) et si oui , citer ces utilisations.

Savez-vous le goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl)Masters* (Goudron de Thuya de Berbérie) et si oui , citer ces utilisations.

➤ Quelques résultats de l'enquête

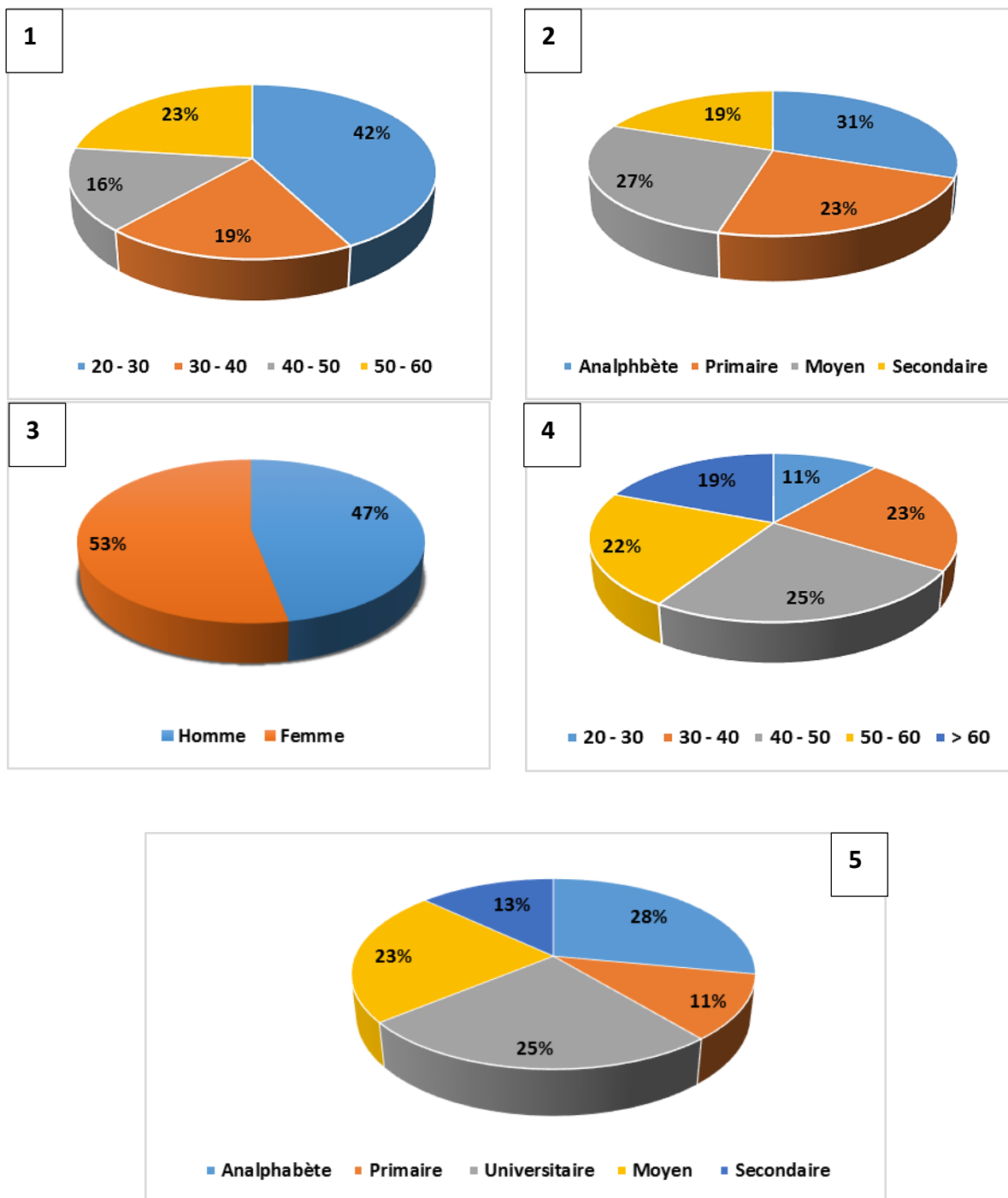


Figure n°56 : Graphes représentant les pourcentages des réponses aux questions suivantes :

1 : L'âge des herboristes , 2 : Le niveau académique des herboristes, 3 : Le sexe des interlocuteurs, 4 : L'âge des interlocuteurs, 5 : Le niveau académique des interlocuteurs.

Annexe 5 : Autres analyses effectuées**➤ Indice de réfraction AFNOR NFT 60-212. (1968)**

Dans notre étude, l'indice de réfraction a touché des valeurs de 1.528 et 1.531 respectivement pour le goudron de *Cedrus atlantica Manetti* et de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*

➤ Activité antibactérienne testée par la méthode des puits

Exemples des résultats d'effet antibactérien du goudron de *Tetraclinis articulata (Vahl) Masters*

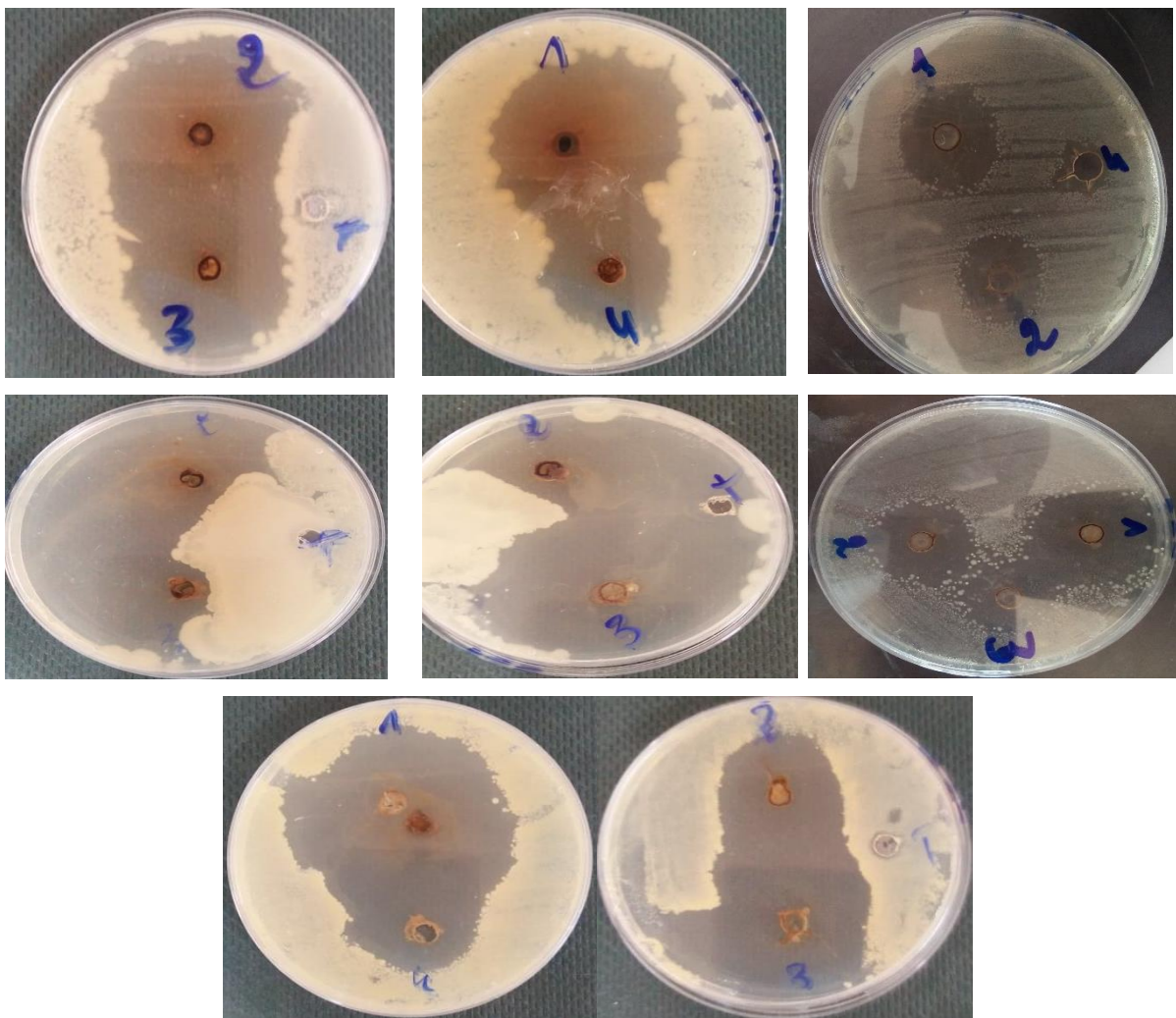


Figure n°57 : Effet du goudron de Thuya de Berbérie sur *Bacillus cereus* ATCC 14579 , *Bacillus subtilis* ATCC 168 et *Staphylococcus aureus* ATCC43300.

Exemples des résultats d'effet antibactérien du goudron de *Cedrus atlantica* Manetti

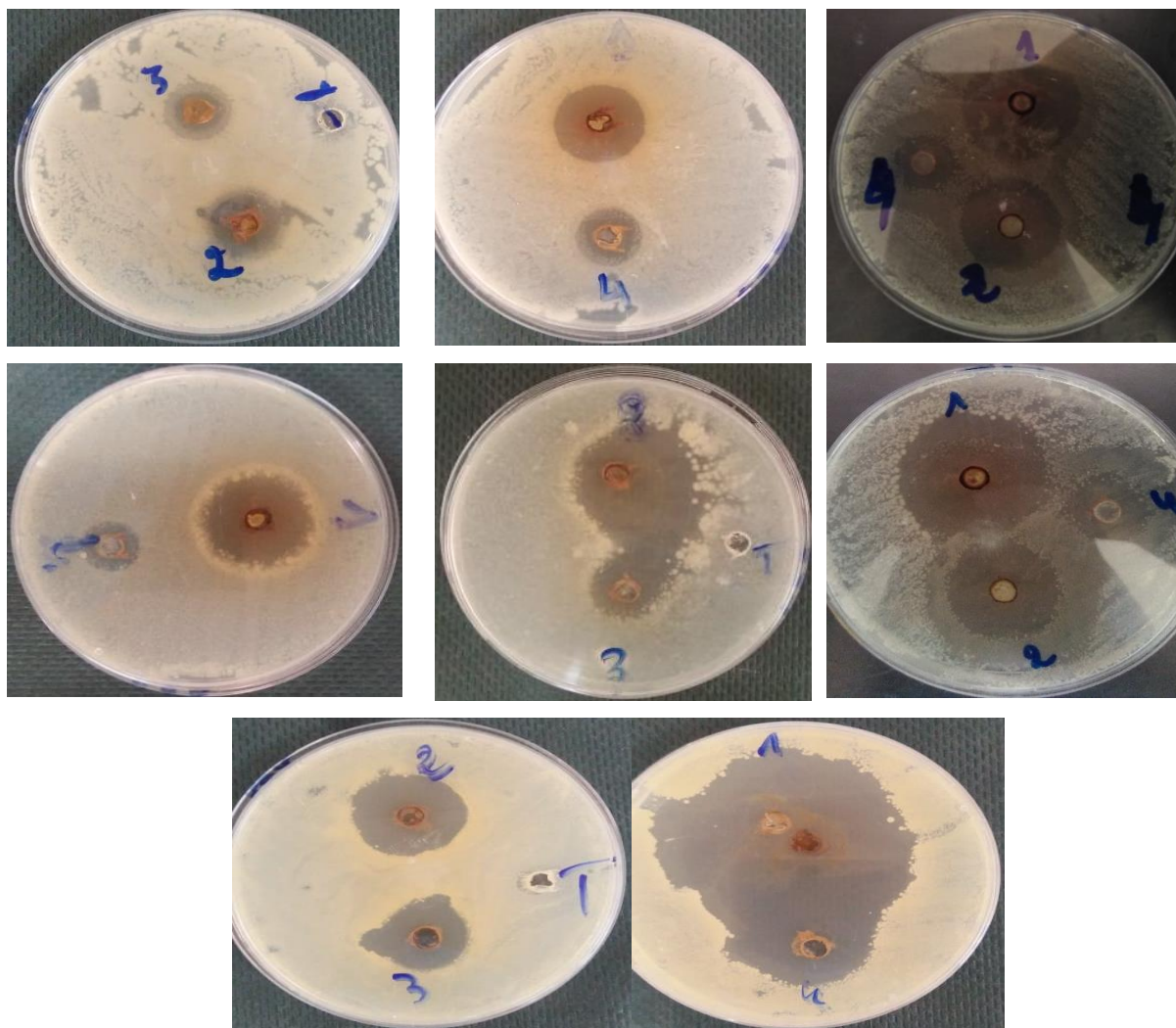


Figure n°58 : Effet du goudron du Cèdre de l'atlas sur *Bacillus cereus* ATCC 14579 ,*Bacillus subtilis* ATCC 168 et *Staphylococcus aureus* ATCC43300.

Annexe 6 : Bulletin d'analyse du goudron végétal



République Algérienne Démocratique et Populaire
 SPA CRAPC Expertise
 Filiale Du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimiques -MESRS-
 Capital Social : 7 000 000 DA
 Adresse : Frères Belhadj Bou-Ismaïl (w) Tipaza
 Tél/Fax : 024 32 54 93 / 024 31 41 41 Mail: contact@crapcexpertise.dz site : www.crapcexpertise.dz

Bulletin d'Analyse
N° 00248 /2019/ SPA CRAPC EXPERTISE, Du 11/11/2019

N° du Dossier	751/2019	GC/MS	Profroma	604/2019
Date d'Enregistrement	20/08/2019	/		22/08/2019
Demandeur	Mme SKENDRI INSSAF			
Adresse	Mascara			

I. Caractéristiques des échantillons réceptionnés :

Echantillon	Goudron de <i>Cedrus Atlantica Mametti</i>
Nombre d'échantillon	02
Date de réception des échantillons	20/10/2019

II. Conditions Opératoires de l'analyse par GC/MS :***Injecteur**

Température : 300°C

Mode d'injection : Split 80:1

Volume injecté : 0.2 µl

standard utilisé : séries d'alcane C7 -C30

***Colonne**

Type : HP-5MS

Dimensions : long 30 m * D'int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm

Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% diméthylpolysiloxane. (Autre : Spécifier)

Température du four : 50°C, 5°C/min jusqu'à 250°C., Isotherme pendant 15 min.

Durée d'analyse : 55 min

Gaz vecteur : Héllum pureté : N 6.0

Débit GV : 0.5 ml/min

***DéTECTEUR DE MASSE**

Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550)

Délai du solvant : 3 min

Température de l'interface : 270 °c

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Quadripôles

Température de la source : 230 °c

***Équipement :**

Chromatographe : Hewlett Packard Agilent 6890 plus

Spectromètre de masse : Hewlett Packard Agilent 5973

III. Résultats d'analyse :

Les résultats sont regroupés ci joint

CACHET ET SIGNATURE

Bou- Ismaïl, le : 11/11/2019

LAARABA

PUBLICATION
INTERNATIONALE

Chemical Characterization and Antioxidant Activity of *Cedrus atlantica* Manetti Tar (Atlas Cedar Tar)

Inssaf Skanderi*, Ourida Chouitah

*Laboratory of Bioconversion, Microbiology Engineering and Health Safety, Faculty SNV,
University of Mascara, Mascara, Algeria.*

inssaf.skanderi@univ-mascara.dz

Keywords: *Cedrus atlantica* Manetti, Tar, GC-MS, antioxidant activity, polyphenols.

Cedrus atlantica Manetti Tar was analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry, it was subjected to analyzes to know their total polyphenolic and condensed tannins contents, also their Ferric-reducing antioxidant power and Total antioxidant capacity. Chemical characterization identified 88 constituents where Himachalene and α -atlantone isomers (14.51 % - 4.07 %), Calacorene (3.52 %) and ar-Turmerone 3.35 %, were the major components, the total polyphenolic content and condensed tannins contents were 57.15 ± 0.15 milligrams equivalent of gallic acid /g tar and 4.41 ± 0.05 milligrams equivalent of catechin /g tar respectively. This extract showed remarkable Ferric-reducing antioxidant power with effective concentration equal to 50 ± 0.075 mg /mL $\pm 0,00028$ and total antioxidant capacity equal to 262.75 mg equivalents of ascorbic acid /g tar $\pm 14,43$. The experimental results indicated that our tar has promotive antioxidant activity.

Introduction

The *Cedrus* genus gather cedars belonging to the “conifers” family. It contains four species; Lebanon cedar (*Cedrus libani*), Himalayas cedar (*Cedrus deodora*), Cyprus cedar (*Cedrus brevifolia*) and finally Atlas cedar (*Cedrus atlantica*) [1]. The Atlas cedar cover 29,000 hectares of Algerian forests, it is highly wanted for its numerous uses (sawing, coal, tar, resin, tannin, etc.) [2].

The essences of *Cedrus atlantica* Manetti have been always considered as a noble and precious substances [3]

Cedar is generally resistant to insects and pathogens because of various chemical constituents that have been used for many purposes [4].

Cedar wood has been traditionally used for both animal and human diseases treatments in traditional medicine from past to present [5].

Tar is produced by dry distillation (pyrolysis) of wood using different traditional techniques such: canister method, *per descensum* method (combustion furnace technique) [6, 4], Cedar tar is widely used veterinary as an antiseptic as well as in some human health care applications such: Ulcers, dandruff, eczema [7, 8].

Despite all these traditional uses, the extract was not properly evaluated (few studies have been devoted to these products [4,5,7,9]) especially the *Cedrus atlantica Manetti* tar whose researches focuses mainly on essential oils of wood and oil tar of this specie [10,11, 12, 13, 3, 14,15].

Based on these data, we realized a study of that essence in order to recognize its chemical components and to determine its antioxidant activity using two different methods after quantifying the polyphenolic and tannins contents.

Experimental part

Sample

The Atlas cedar tar (Tar of *Cedrus atlantica Manetti*) samples were traditionally produced by pyrolysis (dry distillation of *Cedrus atlantica Manetti* wood by canister method [4]) in Setif village's, «Algeria », then marketed to different herbalists where they were bought from.

Chromatographic GC-MS analysis

The GC-MS instrumentation consisted of a Hewlett Packard Agilent 6890 gas chromatograph coupled to a quadrupole MS system (model Hewlett Packard Agilent 5973 mass spectrometer). Atlas cedar tar was diluted in methanol and analysed using the following conditions: HP-5MS capillary column (5 % Phenyl 95 % dimethylpolysiloxane, 30 m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness); carrier gas,

Helium (purity: N 6.0); flow rate, 0.5 mL/min; injection mode, splitless; solvent delay, 3 min ; injection volume, 0.2 µL; injection temperature, 300°C; oven temperature programmed from 50°C to 250°C at 5°C/ minute (min) heating rate and held at 250°C for 15 min; ionization mode, electronic impact (EI) at 70 eV. Identification of the components was with their relative's retention indices on HP5MS column. Then determined with reference to homologous series of C7 - C30 (Product SULPECO ref 49451-U) and by a comparison of their mass spectral fragmentation with the data bank library (NIST/Nist11/EPA/NIH MS) and with the literature [16].

Total condensed tannins (CTC)

The analysis of condensed tannins was carried out for Atlas cedar tar sample according to the method of [17]. 3 mL of the vanillin solution (4% in methanol) and 1.5 mL of concentrated HCl are added to 25 µL of diluted Atlas cedar tar. The absorption is recorded at 500 nm after 15 min of reaction, a calibration curve is carried out in parallel under the same operating conditions using catechin. The results are expressed in equivalent milligrams of catechin per gram of the weight of the sample (mg CE/g S). All the required measures were determined in three replications.

Total polyphenolic content (TPC)

The total polyphenol content of Atlas cedar tar was determined according to [18] using the folin – ciocalteu reagent. 200 μ L of diluted tar was added to a mixture (1 mL of folin ciocalteu diluted 10 times and 0.8 mL of sodium carbonate at 7.5 %). The tubes are shaken and stored for 30 min. The absorbance is measured at 765 nm using the UV / Vis spectrophotometer. Gallic acid was used as a standard and total polyphenol content was expressed as milligrams equivalent of gallic acid per gram of the weight of the sample (mg GAE / g S). the test was done in triplicate.

In vitro antioxidant activities

Antioxidant activity of *Cedrus atlantica* .M tar was determined according to two different methods, which were Ferric-Reducing antioxidant Power (FRAP) and total antioxidant capacity (TAC).

1.Total antioxidant capacity by phosphomolybdenum method

The total antioxidant capacity (TAC) of our tar was evaluated according to the phosphomolybdenum method described by [19] with little modifications. 300 μ L of Atlas cedar tar sample at various concentrations were mixed with 3 mL phosphomolybdate reagent (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate and 4 mM ammonium molybdate V/V/V). All tubes were capped

and incubated in a boiling water bath at 95 °C for 90 min. The mixtures were then allowed to reach room temperature. The absorbance of the solutions is measured at 695 nm against the blank which contains 3 mL of the reagent solution and 0.3 mL of methanol and it is incubated under the same conditions as the sample. As a positive control, ascorbic acid was chosen to be employed. The total antioxidant activity was presented as “mg of ascorbic acid equivalent per g of sample” mg AAE / g S). Standard graph of ascorbic acid was employed in order to calculate the equivalents of ascorbic acid (AA). The experiment was conducted in triplicate.

2.Ferric-reducing antioxidant power (FRAP)

The FRAP assay was performed followed by the method previously by [20]. Briefly, 1 mL of Atlas cedar tar sample diluted was mixed with 2.5 mL phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 2.5 mL of potassium ferricyanide (III) ($K_3Fe(CN)_6$) solution (1 %). The mixtures are incubated at 50 °C for 20 min. After that 2.5 mL (10 %) trichloroacetic acid (TCA) was added and the mixture was centrifuged at 3000 rev / min for 10 min. At the end, the upper layer 2.5 mL of each concentration was mixed with 2.5 mL of distilled water and 0.5 mL of 0,1 % iron (III) chloride anhydrous ($FeCl_3$) then the absorbance was recorded at 700 nm. Ascorbic acid was used as a positive control. A higher absorbance indicates a higher reducing power. the test is carried out in tripli-

cate. Result is expressed as Effective Concentration of tar at which the absorbance was 0.5 (EC₅₀ in (mg/mL) obtained from linear regression analysis [21].

Statistical analysis

The results of measurements of total condensed tannins, total polyphenolic components, and antioxidants activities are expressed as mean values ± standard deviation (SD).

Results and discussion

Chemical composition of *Cedrus atlantica* Manetti tar

76 % of the Atlas cedar tar is identified with 88 components; himachalene and α-atlantone isomers, α-Calacorene, occidentalol, (z) nuciferol and ar-Turmerone, are the majority components accounting about 59 % of the tar (Table 1, Figure 1).

Table 1: Constituents of *Cedrus atlantica* Manetti tar

Components	tR (min)	KI	%
heptane	3.23	700	0.05
2,5-dimethylfuran	3.33	708	0.03
methylcyclohexene	3.89	751	0.04
toluene	4.09	767	0.10
butanoic acid	4.30	783	0.04
3-methylbut-2-enal	4.43	793	0.01
mesityl oxide	4.54	801	0.10
furfural	5.18	833	0.34
4-hydroxy-4-methylpentan-2-one	5.32	840	0.04
furfuryl alcohol	5.58	853	0.05
(z)-salvene	5.71	859	0.02
p-xylene	5.94	871	0.05
3-methylbut-2-enoic acid	6.35	891	0.02
o-xylene	6.48	898	0.01
2-methyl-2-cyclopenten-1-one	6.76	909	0.06
acetylfuran	6.86	913	0.04
(2)-hexenyl formate	7.24	928	0.04
5-methylfurfural	8.20	965	0.41
methyl 2-furoate	8.50	977	0.01
phenol	8.65	983	0.22
1,3,5-Trimethylbenzene	9.02	997	0.04

propenylbenzene	9.15	1002	0.08
<i>o</i> -Cymene	9.78	1025	0.02
<i>p</i> -Cymene	9.87	1028	0.15
3-methylcyclopentane-1,2-dione	9.97	1031	0.29
3-methyl-cyclohex-2-en-1-one	10.28	1042	0.08
<i>o</i> -cresol	10.70	1057	0.25
3,5-octadien-2-one	10.95	1066	0.02
<i>p</i> -cresol	11.31	1079	0.48
<i>o</i> -guaiacol	11.75	1095	1.06
2,6-dimethylphenol	12.22	1111	0.13
maltol	12.40	1118	0.10
ethyl-2-hydroxy-2-cyclopenten-1-one	12.58	1124	0.05
4-acetyl-1-methylcyclohexene	12.93	1136	0.48
<i>p</i> -ethylphenol	13.08	1142	0.04
2,4-dimethylphenol	13.39	1152	0.37
2-phenyl-1,3-butadiene	13.64	1161	0.03
3,4-dimethylphenol	13.98	1173	0.26
2-methoxy- <i>p</i> -cresol	14.26	1183	0.17
<i>p</i> -methylacetophenone	14.48	1191	0.22
5-methylguaiacol	14.72	1199	1.83
catechol	14.89	1205	0.45
2,3-dimethylbenzofuran	15.11	1213	0.07
4,7-dimethylbenzofuran	15.34	1222	0.08
2,4,6-trimethylstyrene	15.49	1227	0.04
2-ethyl-6-methylphenol	15.62	1232	0.13
5-ethyl-2-methylphenol	15.91	1242	0.12
dihydrochavicol	16.45	1262	0.12
3-methylcatechol	16.63	1268	0.38
<i>p</i> -ethylguaiacol	17.10	1286	1.32
4-methylcatechol	17.47	1299	0.54
<i>p</i> -vinylguaiacol	18.02	1320	0.29
silphiperfol-4,7(14)-diene	19.02	1358	0.10

eugenol	19.18	1364	0.54
dihydro eugenol	19.45	1374	0.58
β -cubebene	19.80	1388	0.74
4-ethylcatechol	19.90	1392	0.53
isovanillin	20.34	1409	0.34
longifolene	20.60	1419	0.88
2,3-dimethylnaphthalene	20.97	1434	1.03
6,9-guaiadiene	21.20	1443	0.61
dihydrocurcumene	21.51	1455	1.55
(E)-isoeugenol	21.62	1460	0.77
α-himachalene	21.76	1465	4.53
γ -muurolene	21.96	1473	0.10
ar-curcumene	22.12	1480	0.45
trans- β -guaiene	22.25	1485	0.40
γ-himachalene	22.46	1493	4.07
himachala-1,4-diene <11 α -H>	22.54	1496	0.85
β-himachalene	23.11	1520	14.51
cuparene	23.19	1524	0.85
himachalene< γ dihydro-ar->	23.29	1528	1.36
cis-calamenene	23.48	1536	0.68
α-calacorene	23.68	1544	3.53
occidentalol	23.87	1552	2.51
β -calacorene	23.98	1557	0.04
ar-dihydroTurmerone	25.08	1604	0.92
longiborneol	25.34	1615	1.12
α -cadinol	26.20	1653	0.33
ar-turmerone	26.75	1678	3.35
(E)- γ -atlantone	27.36	1705	1.35
(Z)-α-atlantone	27.57	1715	4.96
(z)-nuciferol	27.83	1727	2.61
(E)-2-hexyl-Cinnamaldehyde	28.18	1744	1.82
(E)-α-atlantone	29.18	1791	5.15

trans-isovalencenol	29.33	1798	0.24
β -vetivone	30.05	1833	0.79
9,10-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydroanthracene	30.43	1851	0.78
Others			23.7
Grand total			100

Legend: **tR**: Retention Time; **KI**: Kovàts Index.

The most abundant component was β -himachalene (14.51 %) mentioned in other studies carried out on Lebanon cedar tar by both methods; traditional and artificial (Jenkner Retort method carried out on different parts of the tree) [7,4].

The abundance was considered in the Atlas cedar wood essential oils of different origins [12]. However, it was absent in the wood essential oil of the same plant [13]. This sesquiterpene and its derivatives are known for their insecticidal and antifungal activities [22].

The second major component was E)- α -atlantone (5.15 %) present with 3.74 % in Lebanon cedar tar of roots produced by Jenkner Retort [7], totally absent in the tar produced by the same technique from the branches and in the traditional Lebanon cedar tar [4]. while, too high percentages were observed in Atlas cedar wood essential oils 19.30 % [11,10].

The (Z)- α -atlantone (4.96 %) was present with 7.40 % in the traditional Lebanon cedar tar [4], but not detected in the study [7] of Lebanon cedar tar produced traditionally

and by the Jenkner Retort method (for the different parts of the tree). Contrarily, considerable contents were mentioned in the Atlas cedar wood oil produced by hydrodistillation 4.02 % [13], 5.16 % [3,14]. These α -atlantone isomers are known for their insecticidal and antifungal [23, 24].

The fourth component was α -himachalene (4.53 %). Other studies carried out on Lebanon cedar tar produced traditionally or by Jenkner Retort (on roots and branches) all found high percentages of this component [7,4], as well as an increase percentage were noted in the Atlas cedar wood essential oil produced by hydrodistillation [14,3], and steam distillation [14], but this component was absent in the analysis of [13].

The last component of the himachalene family was γ -himachalene where 4.07 % was found. It was identified only in Atlas cedar wood essential oil [3] and Lebanon traditional tar [4]. Concerning α -calacorene (3.53 %), occidentalol (2.51 %) and (z)-nuciferol (2.61 %); a total absence of these constituents was noted in all samples of Lebanon cedar tar produced traditionally or by

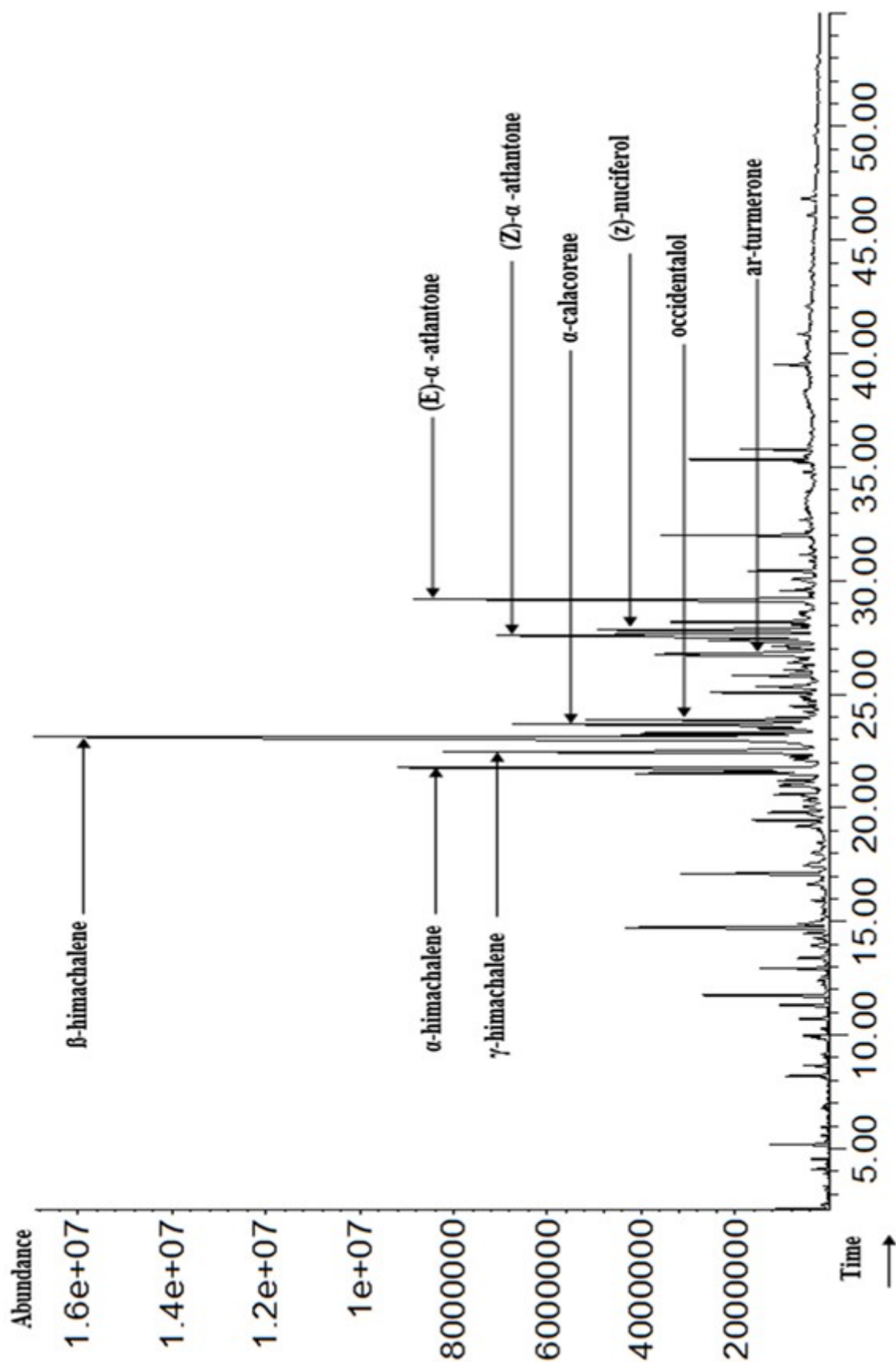


Figure 1. GC/MS chromatogram of *Cedrus atlantica* Manetti Tar

Jenkner Retort [7,4] and even Atlas cedar wood essential oils produced by hydrodistillation or steam distillation in the studies cited above.

Ar-turmerone which was among the major components in our sample with a percentage of 3.35 % was identified only in Lebanon cedar tar produced by Jenkner Retort from the roots and branches with minimal contents [7].

Total polyphenolic and condensed tannins contents

Atlas Cedar tar have a high polyphenolic content (57.15 ± 0.15 mg GAE/ g tar) compared to that found [5] on Lebanon cedar tar (0.85 ± 0.06 mg GAE/g). This divergence may be due to the variation of the species used and even the extraction technique [4]. The amount of condensed tannins in terms of equivalent catechin was calculated as 4.41 ± 0.05 mg CE /g tar, the calibration curves of gallic acid and catechin are presented below (Figure 2, 3).

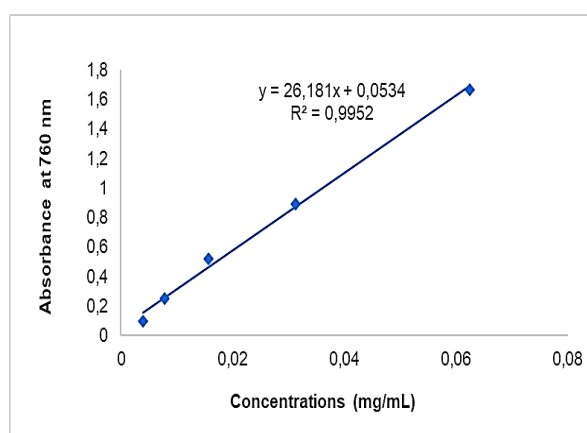


Figure 2. Calibration curve of Gallic acid

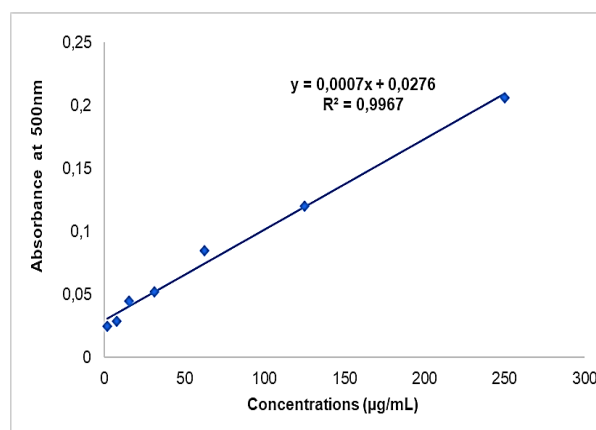


Figure 3. Calibration curve of Catechin

Antioxidant activities of Atlas cedar tar

1. FRAP assay

The Ferric-reducing antioxidant power of a component serves as a significant indicator of its antioxidant activity, it is based on the reduction of the ferric ion (Fe^{3+}) present in the $[K_3Fe(CN)_6]$ (yellow color), complex to ferrous (Fe^{2+}) (blue color), a higher absorbance at 710 nm indicates higher reducing power and vice versa. Based on the obtained results (Figure 4). Atlas cedar tar had an increase reducing capacity but it was always inferior to ascorbic acid (known to be a strong reducing agent). The EC_{50} value of reducing power for Atlas cedar tar was 0.075 ± 0.00028 mg/mL this low value means a high reducing power of (Fe^{3+}) of Atlas Cedar tar.

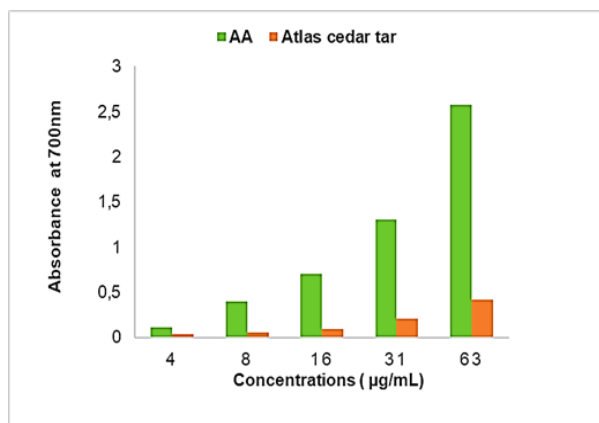


Figure 4. Antioxidant capacity of *Cedrus atlantica Manetti* tar, using ferric reducing power method

2. TAC assay

The Atlas cedar tar was also used to determine its antioxidant capacity from the formation of the green phosphomolybdenum complex. This greenish complex result from the reduction of Mo (VI) to Mo (V) by the antioxidant component, detectable in the visible region at 695 nm. The total antioxidant capacity of our tar using the calibration curve below is 262.75 ± 14.43 mg AAE / g tar.

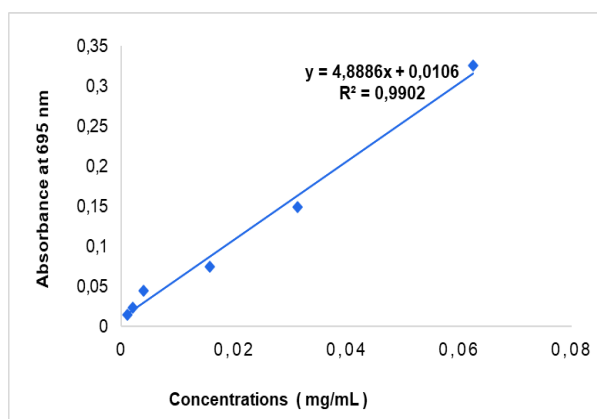


Figure 5. Calibration curve of Ascorbic Acid

Conclusions

In this study, the chromatographic analysis (GC/MS) of Atlas cedar tar obtained by

dry distillation (canister method) identified 88 components. Himachalene and α -atlantone isomers were the major components, they were predominant almost in most of *Cedrus atlantica Manetti* wood essential oils and *Cedrus libani A. Rich* tars that we used to compare with. Regarding the antioxidant activities, we did not find available studies to compare. it is the first study of the antioxidant activity of traditional *Cedrus atlantica Manetti* tar using these two methods: FRAP, TAC and even of other traditional tars; the increase in antioxidant activity tested by FRAP and TAC is very probably due to the significant quantity of sesquiterpenoids. (Himachalene isomers) known for their antioxidant activity [25] these results indicated that our tar has promotive antioxidant activity.

Acknowledgements

The author would like to thank the parents, professors and technicians of Mascara University, friends for their unfailing support.

References

- [1] Belliot A. Cade oil, ichthyol coal tar: dermatological and cosmetic uses, Ph.D. Thesis, University of Nantes, France, 2007.
- [2] Gaba-Chahboub H M S, Lamhamedi O, Arous-Belbachir. Effet de l'inoculation ectomycorhizienne en pépinière sur la croissance et la nutrition des plants du cèdre de l'Atlas en Algérie. J Bois For. Trop. 2016; 330 (330) : 57-67.
- [3] Satrani B, Aberchane M, Farah A, Chaouch A, Talbi M. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par

- hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. J Acta Bot. Gallica. 2006; 153(1): 97-104.
- [4] Kurt Y, Kaçar M S, Isik K. Traditional Tar Production from *Cedrus libani* A. Rich on the Taurus Mountains in Southern Turkey. Econ. Bot J 2008; 62(4) :615–620.
- [5] Mercimek Takci H A, Turkmen F U, Sari M. In vitro mutagenic effect of cedar (*Cedrus libani* A. Rich) tar in the salmonella / microsome assay system. Banat's J. Biotechnol 2019 ; 10(20) :13-18.
- [6] Bailly, L. Caractérisation moléculaire et isotopique de goudrons et résines archéologiques dérivés de conifère en contexte maritime, PhD. Thesis, University of STRASBOURG, 2015.
- [7] Kılıç Pekgözlü A, Kuştaş S, Mercan B, Biçer A. Chemical Characterization of Lebanon Cedar Tar. Drvna Ind J 2017 ; 68(02) : 107-112.
- [8] Zaidi S. REGENERATION NATURELLE DU CEDRE (*Cedrus atlantica*, MANETTI) ET SA DYNAMIQUE FORESTIERE DANS L'ATLAS BLIDEEN, Magister. Thesis, University of Science and Technology, HOUARI BOUMEDIENE, ALGERIA, 2003.
- [9] Kurt Y, Isik, K. Comparison of tar produced by traditional and laboratory methods. Studies on Ethno-Medicine 2012; 6(2) :77-83.
- [10] Aberchane M, Satrani B, Fechtal M, Chaouch A. Effet de l'infection du bois de Cèdre de l'Atlas par *Trametes pini* et *Ungulina officinalis* sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles. J Acta Bot. Gallica 2003; 150(02): 223-229.
- [11] Zrira S, Ghanmi M. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential of *Cedrus atlantica* (Cedarwood oil). J. Essent. Oil-Bear. Plants 2016; 19(05): 1267 – 1272
- [12] Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A. Analysis of Moroccan Atlas Cedarwood Oil (*Cedrus atlantica* Manetti). J. Essent. Oil Res. 2004; 16(06): 542-547.
- [13] Fidah A, Rahouti M, Kabouchi B, Famiri A. Durable Woods and Antifungal Activity of Their Essential Oils: Case of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters and *Cedrus atlantica* Manetti. In: Essential Oils, ED. H. A. El shemy (eds). Egypt, UK: intechopen Publisher; 2019 . p .271-281.
- [14] Aberchane M, Fechtal M, Chaouch A, Bouayoune T. Influence De La Duree Et De La Technique D'extraction Sur Le Rendement Et La Qualite Des Huiles Essentielles Du Cedre De L'atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). J Ann. Rech. For. Maroc 2001; 34: 110-118.
- [15] Nam A M, Bighelli A, Ghanmi M, Satrani B, Casanova J, Tomi F. Deodarone Isomers in *Cedrus atlantica* Essential Oils and Tar Oils. Natural product communications 2015;10 (11).
- [16] Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Alured Publishing Corporation, Carol Stream3, 2007.
- [17] Heimler D, Vignolini P, Giulia D M, Vincieri F F, Romani A. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. Food Chem J 2006; 99(03): 464-469.
- [18] Benhammou N, Bekkara A F, Panovska K T. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. C. R. Chim J 2009; 12(12):1259–1266.
- [19] Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E1. Anal. Biochem J 1999; 269(2): 337–341.
- [20] Gow-Chin Y, Chia-Horn, C. Antioxidant Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. J. Agric. Food Chem 1995; 43(1): 27-32.
- [21] Jallali Y, Zaouali Y, Missaoui I, Smeoui A, Abdelly C, Ksouri R. Variability of antioxidant and antibacterial effects of essential oils and acetonic extracts of two edible halophytes: *Crithmum maritimum* L. and

Inula crithmoïdes L. J Food Chem 2014; 145:1031–1038.

[22] Singh D, Agarwal S K. HIMACHALOL AND /3-HIMACHALENE: Insecticidal Principles of Himalayan Cedarwood Oil. J. Chem. Ecol. 1988; 14 (04): 1145–1151.

[23] Thangadurai D, Anitha S, Pullaiah T, Reddy P N, Ramachandriah O S. Essential Oil Constituents and in Vitro Antimicrobial Activity of *Decalepis hamiltonii* Roots against Foodborne Pathogens. J. Agric. Food Chem 2002; 50(11): 3147-3149.

[24] Chaudhary A, Sood S, Kaur P. Kumar N, Thakur A, Gulati A, Singh B. Antifungal Sesquiterpenes from *Cedrus deodara*. J. Med. Plant Res 2012; 78(02): 186–188.

[25] Turkiewicz I P, Wojdyło A, Tkacz K, Nowicka P, Hernández F. Antidiabetic, Anticholinesterase and Antioxidant Activity vs. Terpenoids and Phenolic Compounds in Selected New Cultivars and Hybrids of Artichoke *Cynara scolymus* L. J Molecules 2019; 24(07): 1-15.