

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Centre des Sciences des Matériaux

Structure de Recherche : Laboratoire de Matériaux, Nanotechnologies et Environnement

Discipline : Chimie Organique et Analytique

Spécialité : Phytochimie

Présentée et soutenue le: 25/06/2022 par :

Mohammed SABER

Etude phytochimique et contribution à la valorisation de *Tetraclinis articulata* Masters et de ses sous-produits

JURY

Souad EL HAJJAJI	PES	Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Présidente
Abdelkader ZARROUK	PH	Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteur/Examineur
Ahmed SATRALLAH	PES	Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat	Rapporteur/Examineur
Lhou MAJIDI	PES	Université Moulay Ismail, Faculté Polydisciplinaire d'Errachidia	Rapporteur/Examineur
Abdelhakim BOUYAHYA	PA	Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Invité
Hicham HARHAR	PA	Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Co-Encadrant
Mohamed TABYAOU	PES	Université Mohammed V, Faculté des Sciences de Rabat	Directeur de Thèse

Année Universitaire : 2021/2022

Dédicace

D'ABORD, JE DÉDIE CE MODESTE TRAVAIL À MON PÈRE, MON
BRAS DROIT.

JE DÉDIE ÉGALEMENT CE TRAVAIL À MA CHÈRE MÈRE, LA
SOURCE DE TENDRESSE ET MON BONHEUR.

À

MES FRÈRES ET MES SOEURS

À

TOUS LES MEMBRES DE MA FAMILLE

À

TOUS MES AMIS ET MES COLLÈGUES LE LONG DE MES ÉTUDES
ET TOUTES LES PERSONNES QUE J'AIME ET QUI M'AIMENT JE
VOUS SOUHAITE À TOUS UNE VIE PLEINE DE BONHEUR ET DE
SUCCÈS ET QUE DIEU, LE TOUT PUISSANT, VOUS PROTÈGE ET
VOUS GARDE.

MOHAMMED SABER

Remerciements

Je remercie tout d'abord, **ALLAH** le Tout Puissant de m'avoir donné le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Le travail présenté dans ce mémoire de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Matériaux, Nanotechnologie et Environnement (LMNE) sous la direction du Professeur **Mohamed TABYAOUI**.

Je remercie vivement et chaleureusement mon encadrant Monsieur **Mohamed TABYAOUI**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat et Vice doyen des affaires académiques et pédagogiques, de m'avoir accordé sa confiance et m'avoir permis de découvrir le monde de la recherche scientifique. Je lui suis également reconnaissant pour son précieux accompagnement et ses conseils combien utiles et avisés.

Je remercie Monsieur **Hicham HARHAR**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, qui a assuré la co-direction de ce travail et qui m'a accompagné dans mes débuts de recherche. Je le remercie également pour ses conseils qui m'ont été d'un grand soutien pour mener à bien ce travail.

J'apprécie beaucoup l'honneur que m'accorde Madame **Souad EL HAJJAJI**, Professeure à la Faculté des Sciences de Rabat, en acceptant de présider et de participer au jury de cette thèse, je lui présente mes remerciements les plus respectueux.

Je remercie très sincèrement Monsieur **Abdelkader ZARROUK**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, pour l'honneur qu'il me fait en tant que rapporteur et examinateur de cette thèse.

Mes vifs remerciements vont à Monsieur **Ahmed SATRALLAH**, Professeur à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat, d'avoir accepté d'être rapporteur et examinateur de ma thèse, ainsi que de m'honorer par sa présence parmi les membres de jury.

Je tiens à remercier vivement Monsieur **Lhou MAJIDI**, Professeur à la Faculté Polydisciplinaire d'Errachidia, pour sa participation au jury de ma thèse en qualité de rapporteur et examinateur, ainsi que de m'honorer par sa présence parmi les membres de jury.

Je tiens également à remercier Monsieur **Abdelhakim BOUYAHYA**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, pour sa participation en tant que membre du jury. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse toute ma sincère gratitude.

Un remerciement particulier au Dr. **Lahcen EL HAMDAOUI**, pour son aide méthodologique, sa disponibilité et son assistance.

Mes remerciements sont adressés également à mes parents, mes frères et mes sœurs pour leur soutien et leurs encouragements.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail, pour leur assistance et leur aimable collaboration. **Merci à toutes et à tous.**

Résumé

Cette thèse rend compte des investigations antérieures sur *Tetraclinis articulata* et la présente étude a été consacrée à l'étude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des huiles essentielles de la sciure de bois, des feuilles et des cônes de *T. articulata* du Maroc (de la région de Khemisset). Le rendement obtenu par hydrodistillation est de l'ordre de 2.19 %, 0.46 % et 0.33 %, respectivement. L'analyse GC-MS de différentes huiles essentielles a identifié 22 composés dans la partie sciure, 6 composés dans les feuilles et 23 composés dans les cônes représentant respectivement 87.25%, 97.89% et 92.23% de la composition totale. Les résultats de l'activité antioxydante ont montré que l'huile essentielle de sciure de bois ($IC_{50} = 0.0144$ mg/mL) a une activité antioxydante très intéressante par rapport aux autres échantillons. L'activité antibactérienne de l'HE de sciure de bois a un excellent effet inhibiteur contre les bactéries testées : *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii* et *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. De plus, l'activité insecticide de l'huile essentielle de sciure de bois est sensible vis-à-vis de l'insecte *Sitophilus granarius*, elle s'est révélée plus toxique par contact ($DL_{50} = 40.625$ μ L/cm²) que par fumigation ($DL_{50} > 100$ μ L/cm³) pour 24h d'exposition. La teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes était élevée dans les extraits organiques de sciure de bois et une forte corrélation a été observée entre la teneur élevée en polyphénols et l'importante activité antioxydante. Par conséquent, cette plante pourrait être une source potentielle pour la préparation d'un médicament antioxydant naturel ou d'une préparation additive. La présente enquête comprend également l'extraction de la lignine de la sciure de bois à l'aide d'un traitement à l'acide sulfurique. La lignine extraite a été caractérisée par FT-IR et DRX, ses propriétés thermiques ont été étudiées à l'aide d'analyses ATG, DTG et DSC, et sa morphologie de surface a été observée par MEB-EDX. Les spectres FT-IR ont montré une homogénéité dans la structure chimique de l'échantillon de lignine. Dans le test d'adsorption, le modèle du second ordre décrit mieux la cinétique de la réaction d'adsorption que le modèle du premier ordre. L'analyse des isothermes d'adsorption à l'aide de différents modèles classiques a montré que l'adsorption peut être gouvernée par l'isotherme de Langmuir. Les paramètres thermodynamiques ont été déterminés à partir des valeurs de la capacité maximale d'adsorption et des constantes d'équilibre.

Mots-clés: *Tetraclinis articulata* ; Lignine ; Thuya ; sciure ; huiles essentielles ; analyse phytochimique ; activité antioxydante ; activité antibactérienne ; activité insecticide ; adsorption.

Abstract

This thesis reports previous investigations on *Tetraclinis articulata* and the search of present study was dedicated to the study of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oils of the sawdust, leaves and cones of *T. articulata* in Morocco (from Khemisset region) the yield obtained by hydrodistillation is the order of 2.19%, 0.46% and 0.33%, respectively. The GC-MS analysis of various essential oils identified 22 compounds in the sawdust part, 6 compounds in the leaves and 23 compounds in the cones respectively representing 87.25%, 97.89% and 92.23% of the total composition. The results of the antioxidant activity showed that the essential oil of sawdust ($IC_{50} = 0.0144$ mg/mL) has a very interesting anti-oxidant activity compared to other samples. The antibacterial activity of EO from sawdust has an excellent inhibitory effect against tested bacteria: *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii* and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis by. Moreover, the insecticidal activity of the essential oil of sawdust is sensitive against the insect *Sitophilus granarius*, it proved to be more toxic by contact ($DL_{50} = 40.625$ μ L/cm²) than by fumigation ($DL_{50} > 100$ μ L/cm³) for 24h of exposure. The amount of total phenolic and flavonoid contents was high in the sawdust organic extracts and a strong correlation observed between high polyphenol content and high antioxidant activity. Therefore, this plant could be potential candidates for the preparation of a natural antioxidant drug or an additive preparation. The present investigation includes also the extraction of lignin from sawdust using sulfuric acid treatment. The extracted lignin was characterized by FT-IR and XRD, its thermal properties were studied using TGA and DSC analyses, and its surface morphology was observed by SEM-EDX. The FT-IR spectra showed homogeneity in the chemical structure of the lignin sample. In the adsorption test, the second-order model gives a better description of the kinetics of the adsorption reaction than the first-order model. The analysis of adsorption isotherms using different classical models showed that adsorption may be governed by the Langmuir isotherm. The thermodynamic parameters were determined from the values of the maximum adsorption capacity and equilibrium constants.

Keywords: *Tetraclinis articulata*; Lignin; Thuya; sawdust; essential oils; phytochemical analysis; antioxidant activity; antibacterial activity; insecticidal activity; adsorption.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	Acide Ascorbique
ACP	Analyse en Composantes Principales
ACH	Analyse de Cluster Hiérarchique
ASE	Extraction par Liquide Pressurisé
ATG	Analyse Thermo Gravimétrique
ATD	Analyse Thermo Différentielle
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
BM	Bleu de Méthylène
<i>C. sakazakii</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
C₀	Concentration initiale du colorant (mg/L)
Cr	Concentration résiduelle en (mg/L)
DL₅₀	Concentration représente 50% de la mortalité des insectes
DL₁₀	Concentration représente 10% de la mortalité des insectes
DPPH	2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl
DRX	Diffraction des Rayons X
DSC	Calorimétrie Différentielle à Balayage
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EAG	Equivalent d'Acide Gallique
EC₅₀	Concentration à laquelle l'absorbance est égale à 0,5
EDX	Spectroscopie de Rayons X à Dispersion d'Energie
EQ	Equivalent Quercétine
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
FRAP	Pouvoir Antioxydant Réducteur Ferrique
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
FVT	Teneur en Flavonoïdes
H₂SO₄	Acide Sulfurique
HCl	Acide Hydrochlorique
HD	Hydro-Distillation
HE	Huile Essentielle
HNO₃	Acide Nitrique
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
IC₅₀	Concentration équivalente à 50 % de DPPH neutralisé
K_F	Constante de Freundlich (l/Kg)
K_L	Constante de <i>Langmuir</i> (l/g)
K₁	Constante de vitesse de premier ordre (min ⁻¹)
K₂	Constante de vitesse de pseudo second ordre (g/mg. min)
K₃	Constante de vitesse de second ordre (min ⁻¹ .g.mg ⁻¹)
LMNE	Laboratoire matériaux nanotechnologie et environnement
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
MAHE	Extraction par hydrodistillation assistée par micro-ondes

MEB	Microscopie Electronique à Balayage
PPT	Teneur en polyphénols
Q_e	Quantité adsorbée à l'équilibre (mg/g)
Q_m	Capacité d'adsorption monocouche
Q_{max}	Quantité adsorbée exprimée en mg de soluté par gramme d'adsorbant (mg/g)
Q_t	Quantité adsorbée à l'instant t (mg/g)
R%	Rendement
R_L	Facteur de séparation
S. Enteritidis	<i>Salmonella enterica</i> serovar Enteritidis
SD	Distillation à la vapeur
SM	Spectrométrie de Masse
SOX	Soxhlet
T. articulata	<i>Tetraclinis articulata</i>
TAHE	<i>Tetraclinis articulata</i> Huile Essentielle
T_g	Température de transition vitreuse
USD	Dollar américain
UV	Ultra-Violet
ΔH°	Variation d'enthalpie
ΔG°	Variation d'enthalpie libre (ou énergie libre de Gibbs)
ΔS°	Variation d'entropie
1/n	Constante de <i>Freundlich</i> qui traduit l'intensité d'adsorption

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Propositions des principaux constituants du bois en % par masse de biomasse sèche

Tableau 2: Composition élémentaire du bois, de la cellulose et de la lignine

Tableau 3: Description de quelques tests antioxydants *in vitro* chimiques

Tableau 4: Position systématique de *Sitophilus granarius* (L.)

Tableau 5: Évolution du rendement en HE de la sciure en fonction du temps d'extraction

Tableau 6: Rendements obtenus en HE des différentes parties de *T. articulata*

Tableau 7: Composition chimique de l'HE dans les feuilles de *T. articulata*

Tableau 8: Composition chimique de l'HE dans les cônes de *T. articulata*

Tableau 9: Composition chimique de l'HE dans la sciure de *T. articulata*

Tableau 10: Comparaison de la composition chimique de *T. articulata*

Tableau 11: Valeurs de (IC₅₀) pour le test DPPH dans le cas des HE

Tableau 12: Valeurs de (EC₅₀) pour le test FRAP dans le cas des HE

Tableau 13: Activités antibactériennes des huiles essentielles en utilisant la méthode de diffusion sur disque

Tableau 14: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HE de sciure de Thuya contre 5 souches bactériennes

Tableau 15: Doses létales 10 et 50 de l'huile essentielle testée.

Tableau 16: Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques

Tableau 17: Rendements obtenus en extraits organiques bruts et des phases de la sciure de *T. articulata*

Tableau 18: Rendements obtenus en extraits éthanoïques de la sciure de *T. articulata*

Tableau 19: Teneur totale en flavonoïdes et polyphénols des extraits organiques

Tableau 20: Valeurs (IC₅₀) et (EC₅₀) pour les extraits organiques

Tableau 21: Valeurs (IC₅₀) et (EC₅₀) pour les extraits éthanoïques

Tableau 22: Coefficients de la matrice de corrélation de Pearson entre la capacité antioxydante, et les composés bioactifs

Tableau 23: Valeurs p du coefficient de la matrice de corrélation entre toutes les variables

Tableau 24: Attributions des bandes d'absorption FTIR (cm⁻¹) du composant de lignine extraite de la biomasse de Thuya

Tableau 25: Caractéristiques thermiques de la lignine extraite

Tableau 26: Analyse élémentaire de la lignine extraite

Tableau 27: Constantes cinétiques et capacités d'adsorption calculées pour différents modèles étudiés

Tableau 28: Comparaison de la concentration initiale de MB, du temps de réaction et de quantité d'adsorption (q_e) de MB par la lignine extraite avec d'autres adsorbants

Tableau 29: Constantes des modèles de *Langmuir* et de *Freundlich*

Tableau 30: Paramètres thermodynamiques associés à l'adsorption

LISTE DES FIGURES

- Figure 1:** Thuya de Berbérie (arbre, cône et feuille)
- Figure 2:** Carte géographique de répartition de *T. articulata*
- Figure 3:** Structures chimiques des terpénoïdes
- Figure 4:** Structures chimiques des acides phénoliques
- Figure 5:** Structures chimiques des flavonoïdes
- Figure 6:** Structures chimiques des acides gras
- Figure 7:** Propriétés pharmacologiques de *T. articulata*
- Figure 8:** Phénol, le plus simple des composés phénoliques
- Figure 9:** 2-phénylchromane, squelette carboné des flavonoïdes stricto sensu
- Figure 10:** Structure de l'acide gallique
- Figure 11:** Structure générale d'une saponine
- Figure 12:** Formule de caféine, un alcaloïde stimulant
- Figure 13:** Structure chimique de l'isoprène
- Figure 14:** Représentation schématique de la molécule de cellulose
- Figure 15:** Principaux sucres constitutifs des hémicelluloses
- Figure 16:** Monomères constitutifs de la lignine
- Figure 17:** Structures moléculaires des antioxydants synthétiques
- Figure 18:** Structures chimique de l'acide ascorbique (Vitamine C)
- Figure 19:** Détermination directe de la CMI en milieu liquide
- Figure 20:** AntibioGramme de quelques antibiotiques
- Figure 21:** Œuf, larve, nymphe, adulte de *S.granarius*
- Figure 22:** Mécanisme de l'adsorption sur les solides poreux
- Figure 23:** Situation géographique de Khemisset
- Figure 24:** Matières végétales (Feuilles, Cônes et Sciure)
- Figure 25:** Montage de l'hydrodistillation au laboratoire (Clevenger)
- Figure 26:** Instrument GC / MS (Perkin Elmer Clarus TM GC-680 avec Q-8 MS)
- Figure 27:** Montage d'extraction par Soxhlet utilisé au laboratoire LMNE
- Figure 28:** Montage d'extraction par liquide pressurisé (Dionex ASE 200)
- Figure 29:** Spectrophotomètre UV/Visible (LLG-uniSPEC UV/VIS)
- Figure 30:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH
- Figure 31:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP
- Figure 32:** Spectromètre infrarouge (FTIR-ATR JASCO 4600)
- Figure 33:** Diffractomètre à rayons X sur poudre (LABXXRD-6100 SHIMADZU)
- Figure 34:** Appareil thermique LABSYSTM EVO (SETARAM)
- Figure 35:** Calorimètre différentiel à balayage (SETARAM 121)
- Figure 36:** Microscope électronique à balayage (Thermo Scientific Quattro S)
- Figure 37:** Structures chimique du Bleu de méthylène (BM)
- Figure 38:** Chromatogramme d'analyse CPG-SM de l'huile essentielle des Feuilles
- Figure 39:** Structure des principaux composés identifiés dans l'HE des Feuilles du Thuya
- Figure 40:** Chromatogramme d'analyse CPG-SM de l'huile essentielle des Cônes
- Figure 41:** Structure des principaux composés identifiés dans l'HE des Cônes de Thuya
- Figure 42:** Chromatogramme d'analyse CPG-SM de l'huile essentielle de Sciure

Figure 43: Structure des principaux composés identifiés dans l'HE de Sciure de Thuya

Figure 44: Evaluation de l'activité antioxydante par test DPPH

Figure 45: Evolution du pourcentage de neutralisation (%) obtenus par le test de DPPH pour les HE et l'acide ascorbique

Figure 46: Evaluation de l'activité antioxydante par test DPPH

Figure 47: Evolution d'absorbance obtenus par le test de FRAP pour les HE et l'acide ascorbique

Figure 48: Résultat pour *B. cereus*

Figure 49: Résultat pour *L. monocytogenes*

Figure 50: Résultat pour *E. coli*

Figure 51: Résultat pour *C. sakazakii*

Figure 52: Résultat pour *S. Enteritidis*

Figure 53: Méthode de dilution en tube pour déterminer (CMI)

Figure 54: Test de l'insecte *S. granarius* par contact

Figure 55: Pourcentage de mortalité de l'insecte *S. granarius* après traitement par contact

Figure 56: Test de l'insecte *S. granarius* par fumigation

Figure 57: Pourcentage de mortalité de l'insecte *S. granarius* après traitement par fumigation

Figure 58: Photos de certains tests de screening phytochimiques

Figure 59: Evaluation de la présence des polyphénols

Figure 60: Courbe d'étalonnage pour l'acide gallique (A.G)

Figure 61: Evaluation de la présence des flavonoïdes

Figure 62: Courbe d'étalonnage de la quercétine (Q)

Figure 63: Evolution du % de neutralisation obtenu par le test DPPH pour les extraits et l'acide ascorbique

Figure 64: Evolution d'absorbance obtenus par le test de FRAP pour les extraits et l'acide ascorbique

Figure 65: Evolution du pourcentage de neutralisation (%) obtenu par le test DPPH pour les extraits éthanologiques et l'acide ascorbique

Figure 66: Evolution d'absorbance obtenus par le test de FRAP pour les extraits éthanologiques et l'acide ascorbique

Figure 67: Plan factoriel d'analyse en composantes principales

Figure 68: Projection sur le plan factoriel ($F1 \times F2$) du variable de l'individu.

Figure 69: Dendrogramme des extraits testés fondés par HCA

Figure 70: Lignine extraite de Thuya

Figure 71: Spectre IR pour la lignine extraite de la biomasse de Thuya

Figure 72: Diagrammes de diffraction des rayons X pour la lignine extraite de la biomasse de Thuya

Figure 73: Analyse thermogravimétrique ATD-ATG pour la lignine extraite de la biomasse de Thuya

Figure 74: Thermogramme DSC de lignine extraite de la biomasse de Thuya

Figure 75: Microscopie électronique à balayage de l'échantillon de la lignine à différentes dimensions

Figure 76: Analyse élémentaire de la lignine

Figure 77: Stock de la solution aqueuse de bleu de méthylène

Figure 78: Courbe d'étalonnage du bleu de méthylène (BM)
Figure 79: Effet du temps de contact sur l'adsorption du bleu de méthylène
Figure 80: $\log (Q_e - Q_t)$ en fonction du temps selon le modèle cinétique du premier ordre
Figure 81: t / Q_t en fonction du temps selon le pseudo modèle cinétique du second ordre
Figure 82: $1 / Q_e - Q_t$ en fonction du temps selon la réaction du second ordre
Figure 83: Adsorption monocouche
Figure 84: Adsorption multicouche
Figure 85: Isotherme de *Langmuir* pour l'adsorption de BM sur la lignine
Figure 86: Isotherme de *Freundlich* pour l'adsorption de BM sur la lignine
Figure 87: $\ln(K_c)$ versus $1/T$
Figure 88: Mécanismes proposés pour l'adsorption du MB sur la lignine

SOMMAIRE

Dédicace.....	I
Remerciements	II
Résumé.....	III
Abstract.....	IV
LISTE DES ABREVIATIONS	V
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DES FIGURES.....	IX
INTRODUCTION GENERALE	1
Partie I: Aperçu des propriétés nutritionnelles, phytochimiques et pharmacologiques de <i>Tetraclinis articulata</i> Masters	4
Introduction.....	5
1. Description botanique.....	6
2. Taxonomie et distribution géographique	7
3. Utilisation traditionnelle	7
4. Phytochimie	8
4.1. Composés volatils.....	8
4. 2. Acides phénoliques et flavonoïdes	10
4. 3. Acides gras.....	12
5. Propriétés pharmacologiques	13
6. Valeur nutritionnelle et application alimentaire	14
7. Utilisation et importance économique	14
Conclusion	15
Partie II : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	16
1. Généralités sur les métabolites des plantes	17
1.1. Métabolites primaires	17
1.2. Métabolites secondaires.....	17
1.2.1. Composés phénoliques.....	17
1.2.2. Alcaloïdes.....	19
1.2.3. Terpènes et terpénoïdes.....	20
2. Généralités sur le bois.....	21
2.1. Matières extractibles	21
2.2. Matières minérales.....	21
2.3. Fraction aqueuse.....	21
2.4. Fraction organique	21

2.4.1. Cellulose	22
2.4.2. Hémicellulose	23
2.4.3. Lignine	24
3. Activité anti-oxydante	25
3.1. Généralités	25
3.2. Radicaux libres	26
3.3. Stress oxydatif	26
3.4. Antioxydants	26
3.4.1. Définition	26
3.4.2. Classes des antioxydants	27
3.4.2.1. Antioxydants synthétiques	27
3.4.2.2. Antioxydants d'origines naturelles	27
3.5. Méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante.....	28
4. Activité antibactérienne	29
4.1. Généralités	29
4.2. Techniques de détermination de l'activité antibactérienne	29
4.2.1. Technique en milieu liquide	29
4.2.2. Technique en milieu solide	30
5. Activité insecticide	31
5.1. Généralités	31
5.2. Généralités sur l'insecte étudié (<i>Sitophilus granarius</i>).....	31
5.3. Lutte contre les insectes des denrées stockées	32
6. Adsorption	33
6.1. Généralités	33
6.2. Nature et origine de la pollution de l'eau	33
6.3. Méthodes de dépollution.....	34
6.4. Phénomène d'adsorption.....	34
6.4.1. Mécanisme d'adsorption	34
6.4.2. Facteurs influençant le processus d'adsorption	35
Partie III : ETUDE EXPÉRIMENTALE	37
1. Huiles essentielles	38
1.1. Matière végétale	38
1.2. Préparation des HE	39
1.3. Analyse des HE par (GC) et (GC/MS)	39
2. Extraits organiques	40
2.1. Matières végétales	40

2.2. Préparation des extraits	40
2.2.1 Extraction par Soxhlet.....	40
2.2.2 Extraction par liquide pressurisé (ASE).....	41
2.2.3 Extraction des flavonoïdes	42
2.2.4 Extraction des alcaloïdes	42
2.3. Caractérisation des extraits	42
2.3.1. Analyse qualitative	42
a. Détection des flavonoïdes	42
b. Détection des alcaloïdes.....	43
c. Détection des tanins	43
d. Détection des saponosides	43
e. Détection des stérols et polyterpènes	43
2.3.2. Analyse quantitative	43
2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux	44
2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes	45
3. Evaluation de l'activité anti-oxydante	45
3.1 Test de DPPH.....	45
3.2 Test de FRAP	47
4. Analyses statistiques.....	48
4.1. Matrice de corrélation.....	48
4.2. Analyse en composantes principales (ACP) et de cluster hiérarchique (ACH)	48
4.3. Analyse des données.....	48
5. Evaluation de l'activité antibactérienne	48
5.1. Préparation de souches bactériennes.....	48
5.2. Méthode de diffusion sur disque	49
5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	49
6. Evaluation de l'activité insecticide	49
6.1. Position systématique	49
6.2. Biologie de <i>Sitophilus granarius</i> (L.)	50
6.3. Elevage de masse.....	50
6.4. Test de l'activité insecticide par contact.....	50
6.5. Test de l'activité insecticide par fumigation	51
7. Lignine.....	51
7.1. Extraction de la lignine	51
7.2. Caractérisations de la lignine	52
7.2.1. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR).....	52

7.2.2. Analyse de diffraction des rayons X (DRX)	53
7.2.3. Analyses thermogravimétriques et thermiques différentielles (ATG-ATD).....	53
7.2.4. Calorimétrie à balayage différentielle (DSC).....	54
7.2.5. Analyse morphologique (MEB-EDX)	55
8. Etude de l'adsorption du bleu de méthylène sur la lignine.....	56
8.1. Temps d'équilibre	57
8.2. Isothermes d'adsorption	57
8.3. Paramètres thermodynamiques.....	58
Partie IV : RESULTATS ET DISCUSSION.....	59
Chapitre I: Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de différentes parties de <i>T. articulata</i>	60
1.1. Détermination du rendement en HE	61
1.2.Composition chimique des HE	62
1.2.1.Composition chimique d'huile essentielle des feuilles	62
1.2.2.Composition chimique d'huile essentielle des cônes	64
1.2.3.Composition chimique d'huile essentielle de sciure de bois	67
1.2.4. Étude comparative.....	69
1.3. Pouvoir antioxydant des HE	72
1.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante des HE (Test de DPPH).....	72
1.3.2. Evaluation de l'activité antioxydante des HE (Test de FRAP)	75
Conclusion	76
Chapitre II : Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne de l'huile essentielle de sciure de Thuya	77
II.1. Pouvoir antibactérien de l'HE de sciure	78
II.1.1. Méthode de diffusion sur disque.....	78
II.1.1.1. Résultat de l'activité antibactérienne de l'huile de sciure de Thuya sur les souches à Gram positif	78
II.1.1.2. Résultat de l'activité antibactérienne de l'huile de sciure de Thuya sur les souches à Gram négatif	80
II.1.2. Concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle	83
II.2. Pouvoir insecticide de l'HE de sciure.....	86
II.2.1. Evaluation de l'activité insecticide par contact.....	87
II.2.2. Evaluation de l'activité insecticide par fumigation.....	88
Conclusion	90
Chapitre III: Extraits organiques.....	91
III.1. Tests phytochimiques	92
III.1.1. Analyse qualitative	92

III.2. Détermination du rendement en extraits	93
III.2.1. Rendements des fractions (flavonoïdes et alcaloïdes) et l'extrait brut Méthanol	93
III.2.2. Rendements des extraits éthanoliques (Soxhlet et ASE).....	93
III.3. Analyse quantitative	94
III.2.1 Détermination de la teneur phénolique (PPT)	94
III.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes FVT.....	95
III.4. Pouvoir antioxydant des extraits organiques (tests de DPPH et FRAP)	97
III.4.1. Pouvoir antioxydant des fractions (flavonoïdes, alcaloïdes) et l'extrait brut	97
III.4.2. Pouvoir antioxydant des extraits éthanoliques (Soxhlet et ASE)	100
III.5. Corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante des extraits.....	101
III.5.1. Matrice de corrélation	101
III.5.2. Analyses des données par ACP	103
III.5.3. Analyse de cluster hiérarchique ACH.....	105
Conclusion	106
Chapitre IV: Lignine	107
IV.1.Extraction de la lignine.....	108
IV.2. Caractérisations de la lignine extraite.....	109
IV.2.1. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR).....	109
IV.2.2. Analyse de diffraction des rayons X (DRX)	111
IV.2.3. Stabilité thermique.....	112
IV.2.3.1. Analyse thermogravimétrique (ATG -DTG).....	113
IV.2.3.2. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	114
IV.2.4. Analyse morphologique (MEB)	115
IV.2.5. Analyse élémentaire.....	116
IV.3. Adsorption au bleu de méthylène	117
IV.3.1. Études cinétiques	119
IV.3.2. Isothermes d'adsorption	124
IV.3.3. Paramètres thermodynamiques.....	127
IV.3.4. Mécanismes d'adsorption	129
Conclusion	130
CONCLUSION GENERALE	132
REFERENCES.....	135

INTRODUCTION GENERALE

Tetraclinis articulata (*T. articulata*) ou Thuya de Berbérie est également appelé *Araar* en arabe. Il est géographiquement présent dans trois pays du Maghreb (Maroc, Algérie et Tunisie), dans le sud-est de l'Espagne (région d'Almeria) et sur l'île de Malte [1]. Au Maroc, la forêt de *T. articulata* a un rôle très important dans la vie économique et sociale des populations locales. Son bois, caractérisé par sa forte résistance à la pourriture, est principalement utilisé dans le secteur artisanal pour la marqueterie, l'ébénisterie, mais aussi pour le chauffage.

Le stress oxydatif a été impliqué dans plusieurs maladies, notamment le diabète, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose, les maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer et Huntington), le cancer et le vieillissement [2,3,4]. Les antioxydants naturels tels que les acides phénoliques et les composés flavonoïdes isolés à partir de plantes médicinales peuvent offrir une résistance au stress oxydatif en piégeant les radicaux libres, en inhibant la peroxydation lipidique et par d'autres mécanismes [5,6]. Par conséquent, trouver de nouvelles sources d'agents antioxydants est un domaine d'intérêt majeur de la recherche. La recherche actuelle est orientée vers les plantes médicinales qui peuvent grandement contribuer au développement de nouveaux produits pharmaceutiques aux effets secondaires moindres.

Les huiles essentielles extraites de plantes commencent à intéresser comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'études pour la protection des aliments contre l'oxydation (activité antioxydante). Et également pour leur éventuelle utilisation comme alternative au traitement des maladies infectieuses (activité antimicrobienne), ceci en raison d'une augmentation alarmante du taux d'infections par des microorganismes résistants aux antibiotiques, et pour la protection contre les insectes (biopesticides ; activité insecticide). Les organisations soucieuses de l'environnement tirent la sonnette d'alarme pour l'élimination des insecticides chimiques de synthèse, dont l'utilisation a montré de sérieux inconvénients pour la santé des organismes vivants et de la biosphère.

D'autre part, l'industrie marocaine du bois de Thuya abandonne chaque année plusieurs tonnes de déchets de bois sous forme de sciure de bois. En raison des défis écologiques et

économiques mondiaux, l'aspect de cette recherche est la transition de ces déchets vers des ressources renouvelables.

Dans notre travail, nous avons recherché de nouvelles utilisations afin de valoriser ces sciures de bois, à savoir :

- L'étude de la composition chimique et l'activité antioxydante en utilisant DPPH et FRAP des huiles essentielles de *T. articulata* afin de développer un nouveau type d'alternatives de lutte contre la maladie.
- L'étude de l'activité antimicrobienne et insecticide de l'huile de sciure de bois de Thuya.
- L'étude de la teneur totale en phénol et de l'activité antioxydante des extraits organiques de sciure de *T. articulata* collectée dans l'industrie des déchets de bois dans la région de Khemisset au Maroc.

L'objectif de nos travaux est également de contribuer à une meilleure valorisation de ces déchets, avec la constante préoccupation de respecter l'environnement et de produire le moins de déchets possible. Après avoir défini le procédé d'extraction, une question se pose: que faire du résidu solide après extraction ? D'ordinaire, suite à celle-ci, la matière n'est pas valorisée. Les résultats obtenus montrent que les constituants majoritaires de la matière lignocellulosique ne sont pas dégradés lors du processus d'extraction, il est donc possible de réaliser une seconde valorisation de cette matière.

L'utilisation intensive de produits organiques a pour résultat de contenir les effluents dans la nature, certains d'entre eux sont toxiques et inter-convertibles dans l'environnement qui produisent des polluants importants dans la source d'eau et l'eau traitée, et deviennent un grave problème de santé publique. L'utilisation de la lignine comme adsorbant potentiel a augmenté ces dernières années, mais elle est toujours en cours de développement [7]. Ce couple de matériaux biosourcés et renouvelables a conduit à se concentrer davantage sur la lignine et ses applications dans les industries chimiques, matériaux et structurelles. La majorité des colorants de différentes industries telles que le textile, la tannerie et l'alimentation peuvent générer des substances toxiques et cancérigènes qui présentent une source importante de contamination environnementale lorsqu'elles sont rejetées directement dans l'environnement sans traitement spécifique [8].

Ce travail comporte quatre parties principales. La première partie est consacrée à l'étude bibliographique du matériel végétal choisi (*T. articulata*). La deuxième partie comprend des généralités sur les huiles essentielles et métabolites secondaires avec leurs classifications, etc. La troisième partie concerne l'expérimentation: l'extraction des HE et des extraits organiques de la plante, les tests phytochimiques, l'identification des huiles essentielles par CPG-SM, le dosage des phénols totaux, l'étude de l'activité antioxydante des HE et des extraits organiques par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode FRAP, ainsi que l'activité antimicrobienne et insecticide de l'huile de sciure du bois. Puis, on présente le processus de délignification pour isoler la lignine de Klason des déchets de bois après l'hydrolyse acide totale de la portion glucidique du bois. Ensuite, la lignine obtenue a été soigneusement caractérisée par plusieurs techniques telles que la spectroscopie (DRX, FTIR et MEB-EDX), l'analyse thermique (ATG, DTG et DSC), et nous avons étudié sa capacité d'adsorption vers un colorant actuel à savoir le 3,7-bis (Chlorure de diméthylamino) -phénouthiazine-5-ium (bleu de méthylène MB), en faisant varier les conditions expérimentales (temps de contact, concentration et température). Les paramètres cinétiques et thermodynamiques de la réaction ont été établis. Dans la dernière partie, on présente et on discute les résultats obtenus.

**Partie I: Aperçu des
propriétés nutritionnelles,
phytochimiques et
pharmacologiques de
Tetraclinis articulata
Masters**

Introduction

Tetraclinis articulata (*T. articulata*) est une plante médicinale distribuée du nord-ouest de l'Afrique au sud-ouest de l'Europe. Cette partie rapporte des recherches antérieures sur *T. articulata* concernant sa taxonomie, sa description botanique, sa répartition géographique, son utilisation traditionnelle, sa phytochimie, ses effets biologiques, sa toxicologie, sa valeur nutritionnelle et son intérêt économique. En effet, plusieurs activités biologiques ont été rapportées pour les extraits et les HEs de *T. articulata*, notamment des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, anticorrosives, cytotoxiques, insecticides, leishmanicides, larvicides, anti-inflammatoires, antidiarrhéiques, vasorelaxantes et protectrices. *T. articulata* est utilisé pour traiter certaines pathologies telles que le diabète, les troubles digestifs, les maladies broncho-pulmonaires et cardiaques. Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que *T. articulata* présente des propriétés biologiques remarquables, notamment des effets anticancéreux, antidiabétiques, antimicrobiens et antioxydants. L'analyse phytochimique a révélé la présence de différents composés bioactifs appartenant à différentes classes chimiques tels que les terpénoïdes, les acides phénoliques et les flavonoïdes. De plus, certains rapports toxicologiques ont indiqué que *T. articulata* ne présente aucune toxicité. Cependant, d'autres études concernant la toxicité, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de *T. articulata* et de ses principaux composés bioactifs sont nécessaires pour valider son utilisation pharmacologique. *T. articulata* contient également des éléments nutritifs tels que des composés minéraux, du sucre et des protéines. Toutes ces propriétés attribuent à *T. articulata* un intérêt économique majeur qui est utilisé actuellement dans la fabrication de vernis de luxe, de produits pharmaceutiques et dans d'autres usages industriels, il est également utilisé sous forme de poudre pour préparer la surface de certains papiers.

Cette partie a exploré les enquêtes sur la plante *T. articulata*; taxonomie, description botanique, répartition géographique, usage ethnomédicinal, les investigations pharmacologiques de ses différentes parties. De plus, une liste des composants phytochimiques identifiés dans cette plante est résumée. Cette partie vise à fournir une base scientifique pour d'autres études et le développement d'agents naturels de *T. articulata*.

1. Description botanique

T. articulata est un arbre ou arbuste, souvent petit et buissonnant qui dépasse rarement 6 à 8 m de hauteur et 0.30 m de diamètre en moyenne. Il existe néanmoins des endroits difficiles d'accès dont les dimensions peuvent être plus importantes (12 m pour 0.50 m). Quelques vieux arbres atteignant 20 m de haut et 1 m de diamètre ont été observés, mais cela reste exceptionnel (arbre marabout). Le fût est droit avec une écorce brun grisâtre striée longitudinalement. Le système racinaire est profond et peu ramifié. Le Thuya est un bois tendre au feuillage persistant léger. Dans sa jeunesse, les feuilles cotylédonaire sont en forme d'aiguille, glauques, et d'environ 2-3 cm de long, les fleurs en forme de chaton, situées au bout des rameaux. Les fruits sont des cônes glauques ressemblant à des prunes, dont les 4 valves ont un appendice plat et réfléchi au sommet. Les cônes sont de forme cubique, s'ouvrant par les 4 valves sous l'effet de la chaleur, libérant six graines ailées. La fructification débute vers l'âge de 15 ans et se répète tous les deux à trois ans jusqu'à un âge très avancé. En effet, il se caractérise essentiellement par sa longévité qui dépasse les 400 ans [9,10].



Figure 1:Thuya de Berbérie (arbre, cône et feuille)

2. Taxonomie et distribution géographique

T. articulata est une espèce forestière méditerranéenne de la famille des Cupressaceae, qui s'étend du nord-ouest de l'Afrique au sud-ouest de l'Europe [11]. Cette espèce végétale est essentiellement localisée sur le Maghreb arabe, puisqu'en dehors de cette région, on ne la trouve à l'état résiduel que sur la côte sud-est de l'Espagne dans la région de Carthagène [12], et à Malte, où il est en voie d'extinction [13] (Figure 2). En Afrique du Nord, où ses populations atteignent environ un million d'hectares, il est principalement présent au Maroc (900 000 ha). En Tunisie, il est présent entre Bizerte et Zaghuan [13]. En Algérie, il représente actuellement moins de 140 000 ha [14].

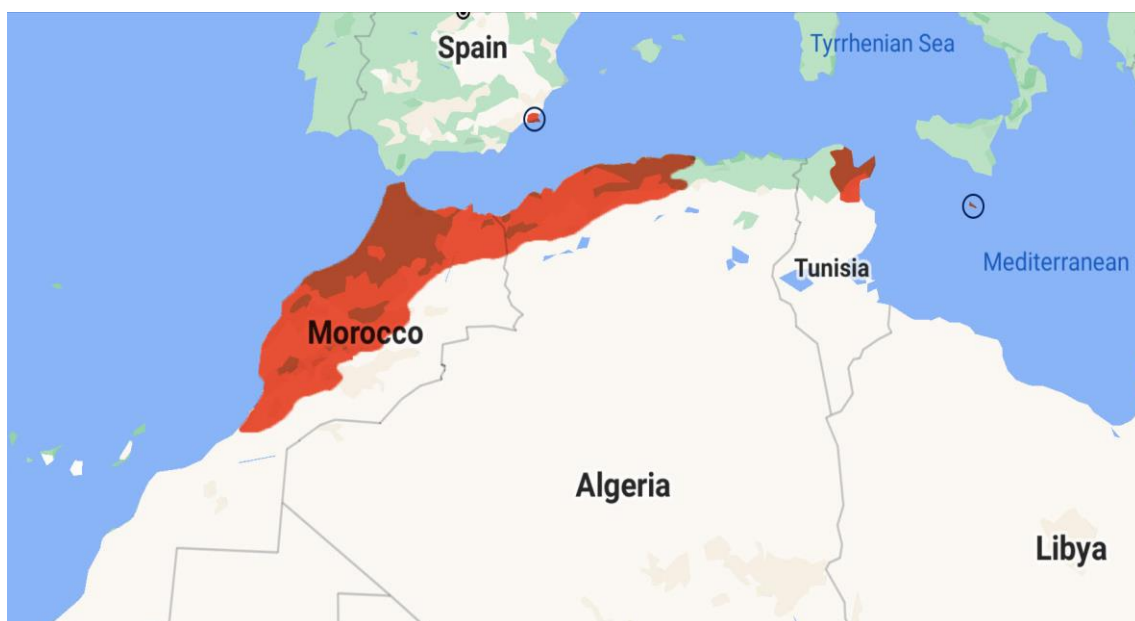


Figure 2: Carte géographique de répartition de *T. articulata* [15]

3. Utilisation traditionnelle

Des enquêtes ethnobotaniques ont rapporté l'utilisation de *T. articulata* en médecine traditionnelle. Cette espèce appartient à la famille des Cupressacées, l'une des familles de plantes médicinales les plus fréquemment rapportées et citées dans les études ethnobotaniques du Maroc. Les applications médicales dépendent des parties de la plante *T. articulata*. En fait, toutes les parties de la plante ont été utilisées en médecine traditionnelle pour différentes raisons thérapeutiques. En médecine traditionnelle marocaine, la plante *T. articulata* et ses extraits ont été utilisés contre plusieurs maladies, notamment les troubles digestifs [16,17], dermatologiques, neurologiques, microbiens et typhoïdes [16], maladies cardiaques [18], troubles métaboliques [17], problèmes du système squelette-musculaire [19], intoxication [20], diabète [21,22], et d'autres problèmes de santé comme les maux de tête, l'inflammation

des yeux, la diarrhée, les maladies urinaires et broncho-pulmonaires [23]. La plante a également été utilisée pour les soins capillaires et cutanés [24,17] et pour les soins dentaires [23].

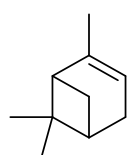
4. Phytochimie

La composition chimique des extraits et des huiles essentielles de *T. articulata* est dessinées dans des figures 3, 4, 5 et 6. Différentes parties de *T. articulata* (partie aérienne, feuilles, brindilles, branches, cônes, racines, tiges, fruits, graines, bois et sciure) produisent par hydrodistillation une huile essentielle dont la composition a été largement étudiée. Une forte variabilité chimique a été observée, selon la partie de la plante, le pays, la saison de récolte et la méthode d'extraction.

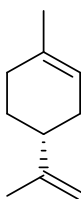
Les structures chimiques de ces composés ont été dessinées par le logiciel ChemDraw (ChemOffice 2016).

4.1. Composés volatils

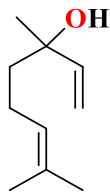
Des investigations ont montré que *T. articulata* de différentes régions (Maroc, Algérie, Tunisie, Espagne) contient plusieurs terpénoïdes tels que le α -pinène, le limonène, le linalol, le myrcène, l'acétate de bornyle, le cédrool, le camphre, le caryophyllène, le carvacrol, le α -cédrène, le terpinène-4-ol, tricyclène, totarol, 3-Carène, verbénone, éther méthylique de thymol, p-cymène, germacrène D, (Z)- β -Ocimène et nonan-1-ol (Figure 3). Des études comparatives ont été réalisées sur l'huile essentielle de *T. articulata* extraite de différentes parties. En effet, de ce tour d'horizon de la littérature, il a été constaté que la composition chimique varie quantitativement et qualitativement sous l'effet de plusieurs facteurs tels que la partie utilisée pour l'extraction [25,26,27], la situation géographique [28,29,30,31], la période de récolte [30,32], et la technique d'extraction [33,34]. Ces paramètres ont également été montrés pour influencer le rendement de *T. articulata* HE et extrait.



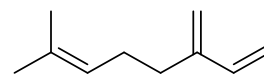
α -Pinène



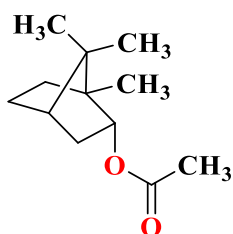
Limonène



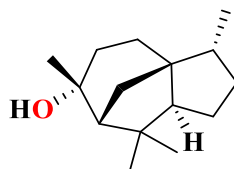
Linalool



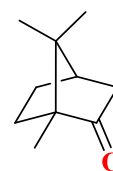
Myrcène



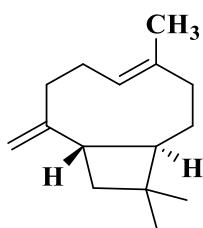
Acétate de bornyle



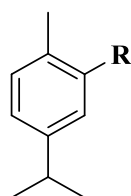
Cédrol



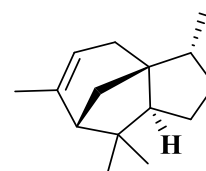
Camphre



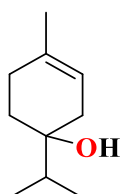
Caryophyllène



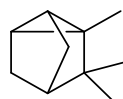
**R= OH: Carvacrol
R= H: p-Cymène**



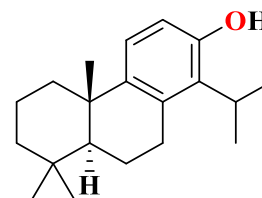
α -Cédrene



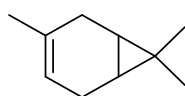
Terpinène-4-ol



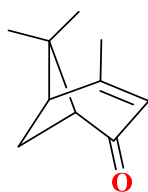
Tricyclene



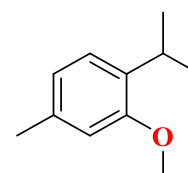
Totarol



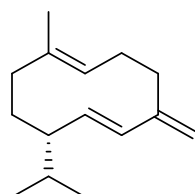
3-Carène



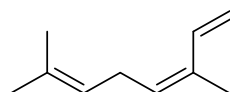
Verbénone



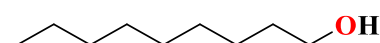
Thymol methyl ether



Germacrène D



(Z)- β -Ocimène



Nonan-1-ol

Figure 3: Structures chimiques des terpénoïdes

4. 2. Acides phénoliques et flavonoïdes

Il a été rapporté que les extraits de *T. articulata* contiennent des acides phénoliques tels que l'acide tannique, l'acide caféique et l'acide gallique [35] (Figure 4). Les flavonoïdes sont également présents dans *T. articulata*, notamment la catéchine, la rutine et la quercétine [35]. De plus, un certain nombre de composés polyphénoliques (myricitrine, quercitrine, afzéline, amentoflavone et cupressuflavone) ont été révélés [36]. Rached et al [37], identifié par LC-DAD-ESI/MSⁿ, neuf flavonoïdes différents, à savoir l'épicatéchine, la myricétine, la quercétine et les dérivés glycosides du kaempférol (Figure 5). Dane et ses collègues ont rapporté, par UPLC PDA-MS, que l'extrait méthanolique de *T. articulata* était riche en catéchine (18.83 %), myricétine-hexose (4.58 %), myricétine-rhamnoside (42.76 %), quercétine-3-O-glucoside (0.5 %), kaempférol-hexose (02.0 %), quercétine-3-O-rhamnoside (31.05 %) et kaempférol-désoxyhexose (2.03 %) [38].

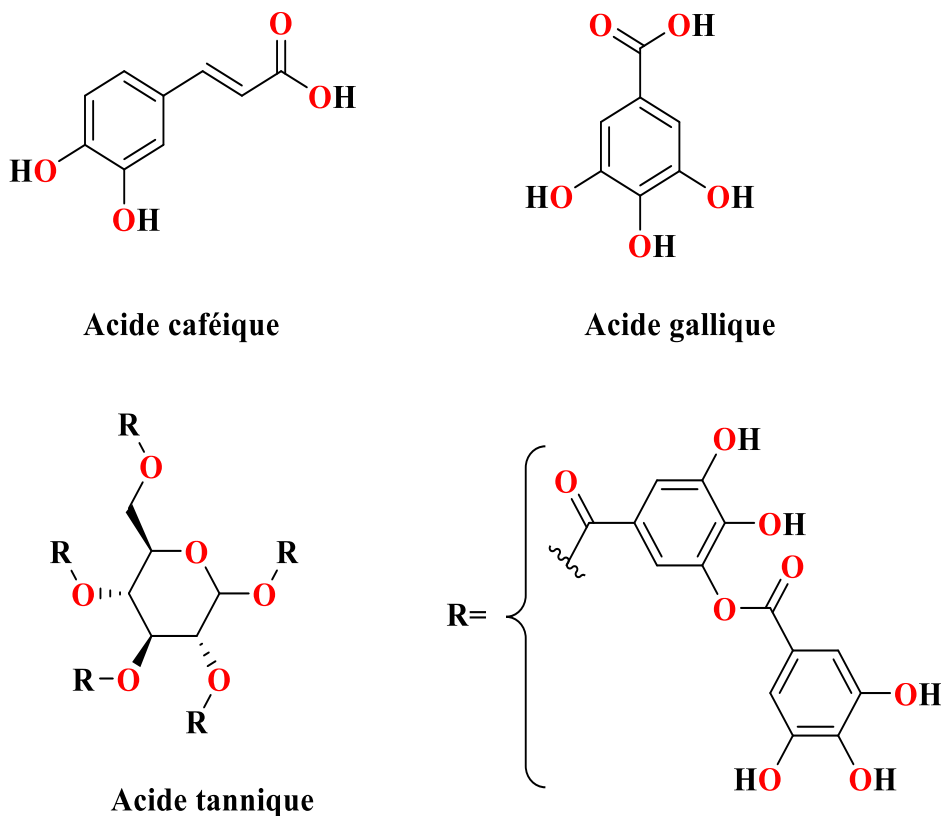


Figure 4: Structures chimiques des acides phénoliques

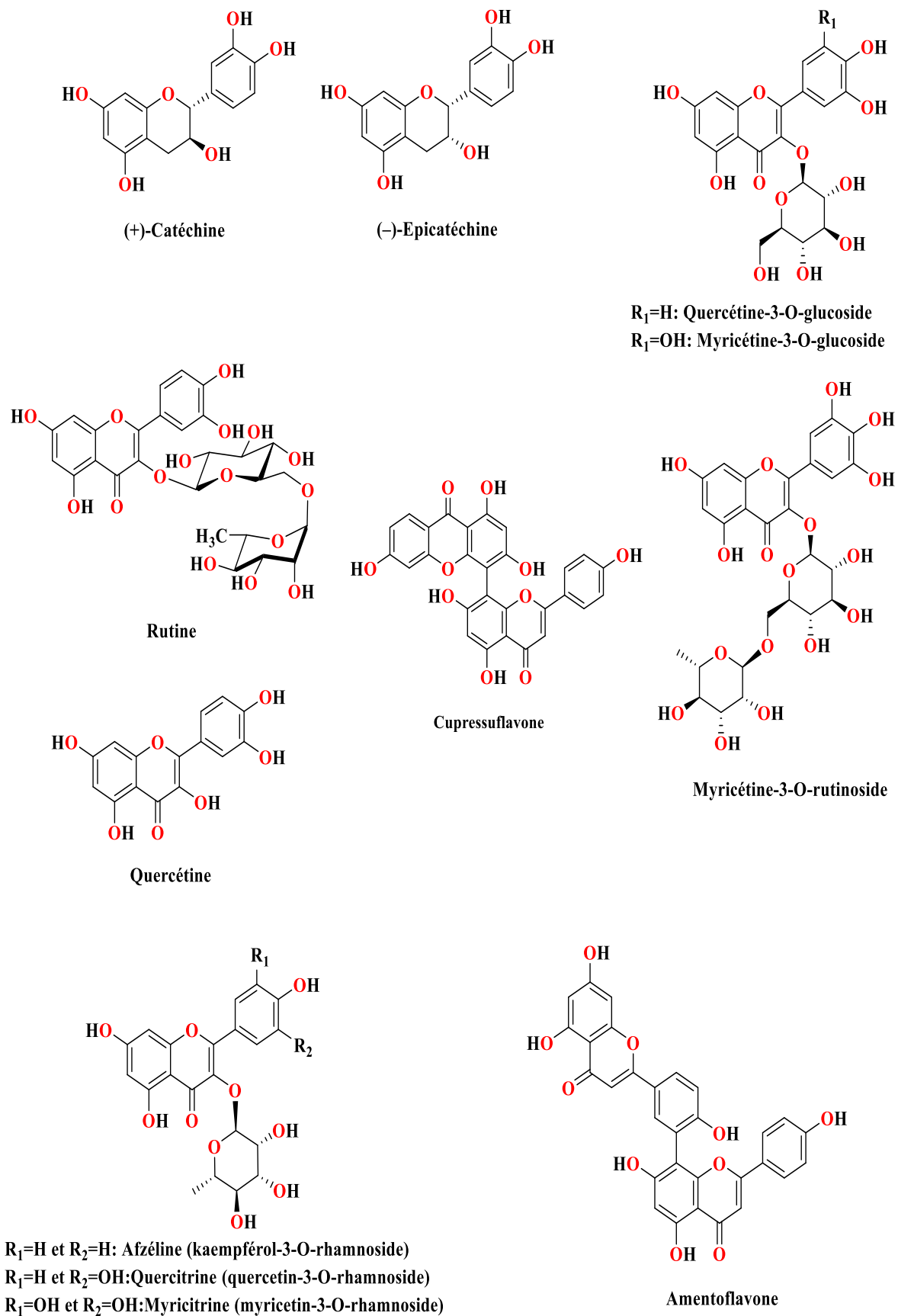


Figure 5: Structures chimiques des flavonoïdes

4. 3. Acides gras

Concernant les acides gras, une étude menée par Mongrand et al [39], sur les feuilles de *T. articulata* a rapporté plusieurs acides gras, dont l'acide laurique (4.4%) ; Acide myristique (4.4%); acide palmitique (12.5%); Acide palmitoléique (0.8%); br-17 : 0 (0.4%) ; 16:2 7,10 (0.3%) ; 16:3 Δ 7,10, 13 (1.6%); acide stéarique (2.0%) ; 18:1 Δ 9(4.2%) ; 18:2 9, 12(9.7%); 18:3 9, 12, 15 (28.8%) ; Acide arachidique (8.5%); 20:2 5, 11 (0.9%) ; 20:2 11, 14 (0.3%) ; 20:4 5, 11,14, 17 (0.9%) ; acide béhénique (20.2%) (Figure 6).

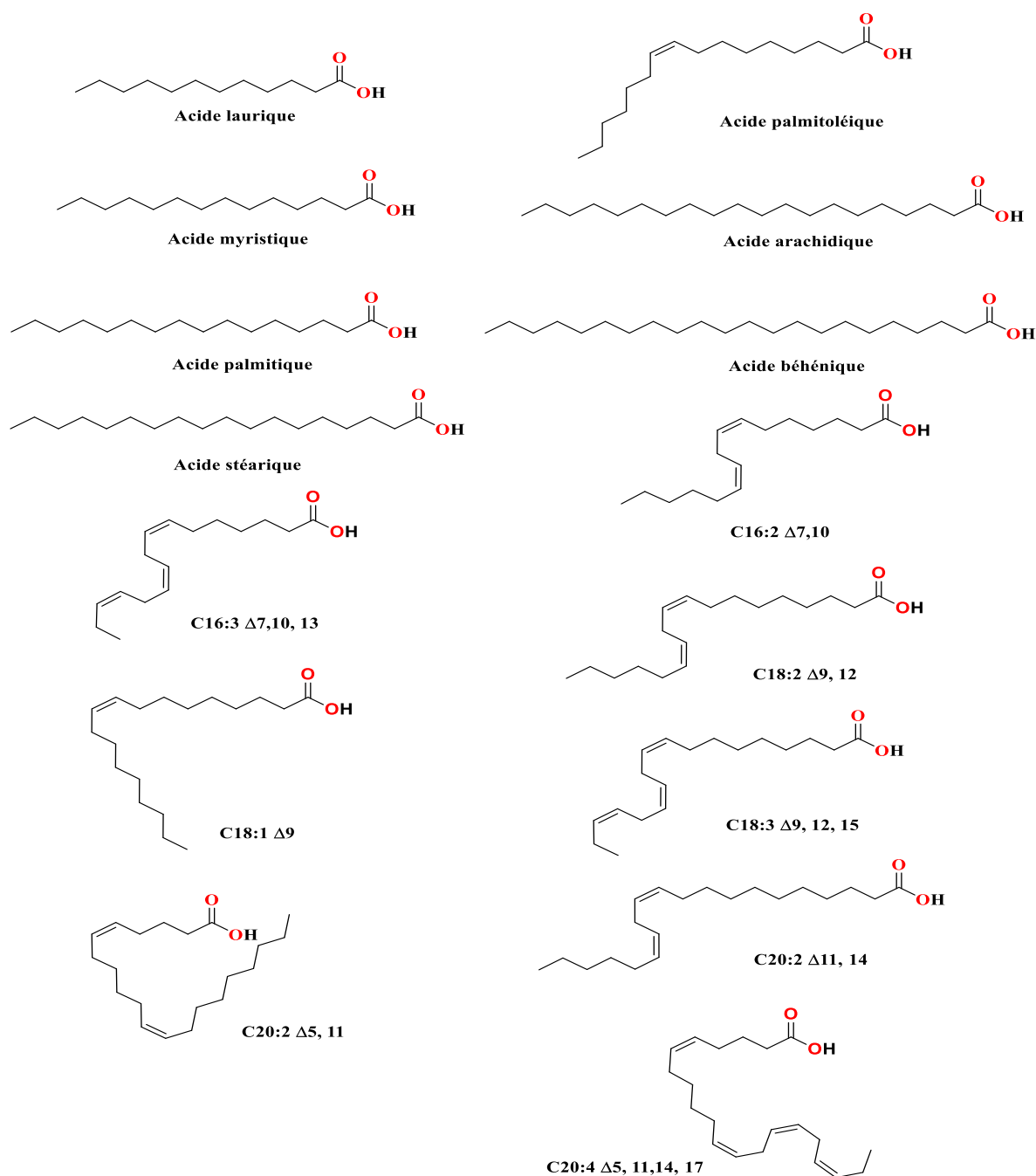


Figure 6: Structures chimiques des acides gras

5. Propriétés pharmacologiques

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que *T. articulata* présente de nombreuses propriétés pharmacologiques (Figure 7).

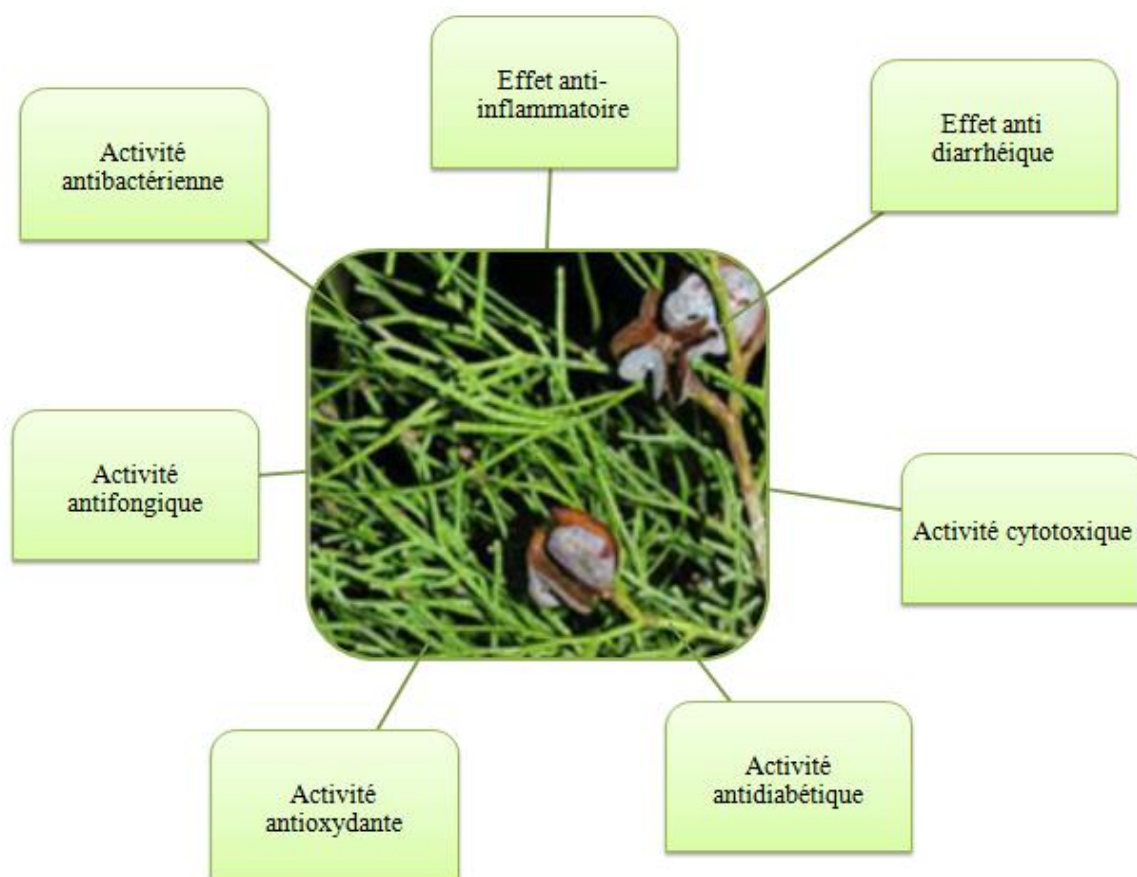


Figure 7: Propriétés pharmacologiques de *T. articulata*

Plusieurs études ont montré que les HE et les extraits de *T. articulata* ont un large éventail d'activités biologiques. Les HE et les extraits avaient une activité antibactérienne intéressante contre un certain nombre de bactéries Gram-positives et Gram-négatifs, notamment *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *luteus*, etc. [28,35,40,41,42]. De plus, l'huile essentielle de *T. articulata* a montré une activité antifongique intéressante contre les champignons pathogènes dont *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Candida albicans*, *Botrytis cinerea*, etc. [40,43,44,45,46]. D'autres propriétés ont été rapportées pour cette espèce HE et extraits, notamment antioxydant [47,48,49], anti-inflammatoire [35,37,50], cytotoxicité [37,49,51,52], inhibition de la corrosion [53,54], insecticide [38,55,56], leishmanicide [51], larvicide [55,56],

antidiarrhéique [57], vasorelaxant [36], et pro activités de contrôle [58]. D'autre part, l'HE de *T. articulata* a montré une faible toxicité et aucune mortalité chez les souris [59].

6. Valeur nutritionnelle et application alimentaire

D'après les études qui ont tenté de contribuer à la connaissance des propriétés nutritionnelles des feuilles sauvages de *T. articulata*. Les résultats ont montré que la composition organique de la feuille est constituée de lipides et de protéines et que les proportions de ces produits varient mais restent du même ordre de grandeur ; au total, ils se sont avérés contenir 6.66 % de graisse, 0.07 % d'azote total, 0.44 % de protéines, 6 % de cire et de graisse. Il contient également divers minéraux tels que Ca, K, Mg, Mn, Cu, S et Si [60].

A notre connaissance, l'application de *T. articulata* dans l'industrie alimentaire n'a pas été étudiée. Cependant, récemment, certains travaux ont testé la puissance de l'huile essentielle du *T. articulata* en tant qu'antimicrobien, pour remplacer les pesticides chimiques pour le traitement des aliments d'origine végétale [32]. En effet, Rguez et al on évalué les effets de l'huile essentielle du *T. articulata* (riche en composés bioactifs dont le α -pinène, le β -caryophyllène et l'oxyde de caryophyllène comme chémotypes) sur le contrôle de l'infection par *Botrytis cinerea* sur la tomate (avant et après récolte) [32]. Les résultats ont montré des effets antifongiques importants *in vitro* [32]. De plus, l'application de l'huile essentielle du *T. articulata* par pulvérisation sur des folioles détachées a réduit remarquablement *B. cinerea*. De plus, TAHE a amélioré la croissance des plantes et réduit également l'infection par *B. cinerea* de 52.11 % (pour les plantes non traitées) à 17.72 % (pour les plantes traitées) en tant que traitement préventif sur les plants de tomates en serre. L'infection des fruits de tomate par *B. cinerea* a été réduite de manière importante après l'application de l'huile essentielle du *T. articulata* et ces résultats considèrent donc *T. articulata* comme un produit naturel prometteur pour réduire les infections par *B. cinerea* sur la tomate pendant le stockage et le transport [32].

7. Utilisation et importance économique

T. articulata assure un rôle très important dans la vie économique et sociale des populations [61]. Dans le secteur artisanal, le bois de *T. articulata*, de par sa rusticité et sa résistance aux agents de destruction, est considéré comme un excellent matériau de technologie pour l'ébénisterie dure et moderne qui supporte très bien le broyage, et comme un très beau matériau susceptible de nombreuses utilisations en menuiserie fine. Ce bois est très recherché

par l'artisan marqueteur [62]. Le bois de racine, la loupe, est exceptionnellement dure et se polit comme du verre. Il est utilisé pour fabriquer des designs uniques, tels que des boîtes à bijoux, des plateaux, des tables, des articles de bureau, des stylos... Au Maroc, le travail du bois de *T. articulata* est localisé principalement dans la ville d'Essaouira, ce secteur emploie environ 1690 travailleurs dont 440 sont des maîtres artisans et les exportations d'artisanat sont de l'ordre de 400.000 USD [63]. La gomme de sandaraque, de couleur jaunâtre, produite notamment par *T. articulata* est utilisée dans la fabrication de vernis de luxe, de produits pharmaceutiques et dans d'autres usages industriels, elle est également utilisée sous forme de poudre pour préparer la surface de certains papiers [63].

Conclusion

Nous avons mis en évidence dans cette étude bibliographique les utilisations traditionnelles, la phytochimie et les effets biologiques de *T. articulata*. Il a été ainsi montré que cette espèce contient de nombreux métabolites secondaires en tant que composés bioactifs avec une diversité remarquable. La valeur nutraceutique de *T. articulata*, riche en éléments nutritifs et également en composés bioactifs lui a d'ailleurs conféré un intérêt en médecine traditionnelle, avec différentes utilisations selon les régions. Les extractibles de *T. articulata* peuvent également trouver une place dans l'industrie alimentaires.

En outre, des études biologiques d'extraits et d'huiles essentielles de *T. articulata* ont révélé une corrélation entre les composés chimiques et les effets biologiques. Cependant, la plupart de ces tests ont été étudiés via des approches *in vitro* et *in vivo*. Par conséquent, d'autres études explorant la pharmacodynamique et la pharmacocinétique de *T. articulata* sont nécessaires. A noter que la détermination de l'action pharmacologique ainsi que les bénéfices cliniques des composés bioactifs de *T. articulata* pourraient révéler des résultats intéressants pour l'identification de médicaments anti-inflammatoires et antidiabétiques. Les études toxicologiques de ces composés en utilisant différentes doses et plusieurs tests de toxicité sont importants pour valider leur innocuité clinique.

Nos travaux de recherche dans le cadre de cette thèse nous a permis de confirmer la grande richesse de *T. articulata* et de déceler ses potentielles applications pratiques dans les secteurs alimentaires, cosmétiques, de la santé, agricoles et industriels. De plus nous avons mis en lumière la valeur industrielle des polymères du bois de Thuya qui recèle un potentiel économique très concret. Nous espérons pouvoir encourager à des recherches plus approfondies dans les différents secteurs économiques précités.

Partie II : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralités sur les métabolites des plantes

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits "secondaires" dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [65].

1.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme [66]. Ils ont un rôle essentiel dans le métabolisme et le développement végétal et ils se trouvent chez toutes les espèces.

- ❖ **Les glucides** : représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois.
- ❖ **Les lipides** : constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires.
- ❖ **Les protéines** : sont des polymères tridimensionnels élaborés à partir de 20 acides aminés différents liés entre eux dans un ordre spécifique.
- ❖ **Les acides nucléiques** : sont des polymères de nucléotides. Il existe 2 acides nucléiques ; l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN).

1.2. Métabolites secondaires

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle, au niveau de la plante, n'est pas encore parfaitement élucidé. Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent pas chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général (métabolisme primaire): ce sont des métabolites secondaires qui n'exercent aucune fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais qui peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal : rôle de résistance par exemple [67].

1.2.1. Composés phénoliques

Composés aromatiques possédant au moins 1 groupement phénol. Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols. Il en existe plusieurs sous-groupes : acides phénols, flavonoïdes, coumarines, tanins... etc [68]. Ces composés prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets

bénéfiques sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer [69], les maladies dégénératives et cardiovasculaires [70]. Un encouragement à la consommation d'aliments d'origine végétale riches en composés phénoliques constitue désormais une des principales recommandations en santé publique.

a. Phénols

Il existe une très grande variété de phénols, allant de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques [71].

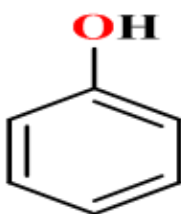


Figure 8:Phénol, le plus simple des composés phénoliques

b. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaines) [72]. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydantes. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie [73].

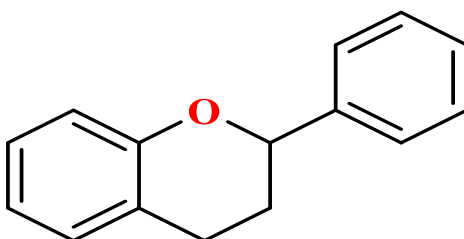


Figure 9: 2-phénylchromane, squelette carboné des flavonoïdes stricto sensu

c. Tanins

Les tanins donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou les bétails. Le tanin est un phénol qui est associé à un sucre. Un des tanins de base est l'acide gallique, il précipite, agglutine ou coagule les protéines et la gélatine. On peut en outre l'utiliser en cas d'empoisonnement par des alcaloïdes, car il les précipite et les rend inoffensifs [71,74]. Selon leur nature chimique ces composés sont divisés en deux classes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés [75].

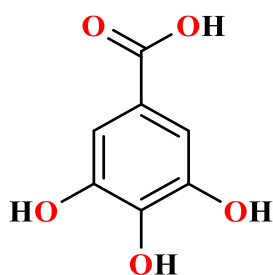


Figure 10: Structure de l'acide gallique

d. Saponosides

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales (savon -soponaire, l'herbe à savon, le réglisse, le bouillon blanc, le Modène), ils sont des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon [74].

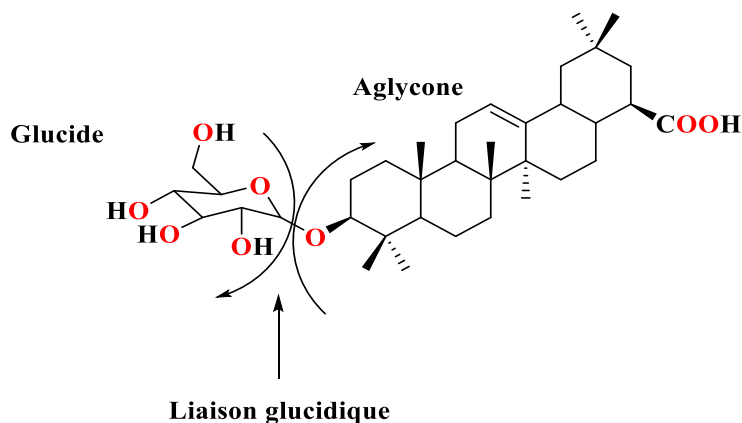


Figure 11: Structure générale d'une saponine

1.2.2. Alcaloïdes

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'azote (-N—) qui les rend pharmacologiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées ; C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (*Vinca rosea syn, Catharanthus roseus*) employé pour traiter certains types de cancer.

D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone (*Atropa belladonna*), ont une action directe sur le corps : activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) [73].

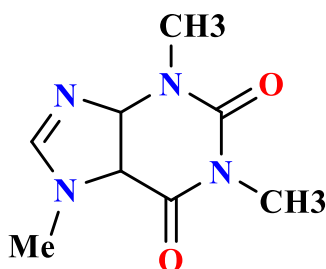


Figure 12: Formule de caféine, un alcaloïde stimulant

1.2.3. Terpènes et terpénoïdes

Les terpènes forment une classe très importante de composés organiques naturels, Selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporées dans leur structures (Figure 13), les terpènes sont subdivisés en : Hémiterpènes (C_5H_8), monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), diterpènes ($C_{20}H_{32}$), Triterpènes ($C_{30}H_{48}$), Tetraterpènes ($C_{40}H_{64}$) et polyterpènes $(C_5H_8)_n$ [76]. **Les polyterpènes** sont une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, ils ont des propriétés odoriférantes chez les végétaux, cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones.

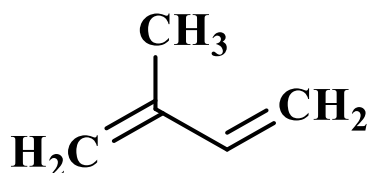


Figure 13: Structure chimique de l'isoprène

Beaucoup de terpènes sont des hydrocarbures, mais les composés contenant de l'oxygène comme les alcools, aldéhydes ou cétones en sont aussi. Ces dérivés sont fréquemment appelés terpénoïdes. Mono- et sesquiterpènes sont les constituants majeurs des huiles essentielles tandis que les autres terpènes sont des constituants des baumes, résines, cires et caoutchouc. Les usages des terpènes sont très nombreux : parfums, médicaments, colorants, etc. La plupart des terpènes constituent le principe odoriférant des végétaux (ocimène du basilic, myrcène du laurier, limonène du citron, pinène du pin, etc.). Beaucoup de molécules terpéniques possèdent de propriétés antiseptiques (girofle, thymol, eucalyptol, camphre, etc.).

Historiquement, les terpènes ont été très employés pour l'embaumement, d'où le qualificatif de balsamique donné aux plantes et aux huiles qui en contiennent [77].

2. Généralités sur le bois

Le bois est une matière naturelle, renouvelable et très hétérogène. Les différentes espèces de bois peuvent être classées en deux groupes : les angiospermes et les gymnospermes, respectivement appelés les feuillus et les résineux [78,79].

Le bois est constitué d'extractibles, de matières minérales, d'eau et de matières organiques.

2.1. Matières extractibles

Les produits d'extraction sont un mélange complexe de produits organiques qui peuvent être extraits du bois par des solvants appropriés. Leur présence et leur quantité varient avec l'espèce, les conditions écologiques et la saison [79].

2.2. Matières minérales

La fraction minérale est inerte et représente environ 1 %. Dans le cas du bois, la teneur en matières minérales est assimilable à la masse des cendres. Les cendres se composent de métaux comme Ca, K, Mn, Na, P, ..., avec une prédominance pour le Ca et le K. Dans le bois, ces métaux existent sous forme d'oxyde [79].

2.3. Fraction aqueuse

Le bois est un matériau hygroscopique qui échange l'eau de façon continue avec son environnement. Dans le bois, l'eau se trouve sous deux formes : eau libre et eau liée. Lorsque le bois sèche, l'eau libre s'évapore en premier. Si le bois continue à sécher et que l'eau liée s'évapore à son tour, le bois subit un retrait dimensionnel. Pour éviter les variations dimensionnelles, le bois doit être conservé à des conditions de température et d'humidité de l'air bien déterminées. La teneur en eau dépend des paramètres précités. Elle varie de 50 à 65 % lorsque le bois est fraîchement coupé. Cette quantité d'eau s'évapore lentement après stockage à l'air et se stabilise entre 10 et 15 % [79].

2.4. Fraction organique

La composition chimique de la fraction organique varie très peu d'une espèce à l'autre puisqu'elle est constituée de 50 % de carbone, 6 % d'hydrogène et 44 % d'oxygène.

Ces pourcentages conduisent à la formule brute $\text{CH}_{1.44}\text{O}_{0.66}$ valable pour toutes les espèces de bois [79].

La fraction organique du bois contient trois constituants principaux : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. La teneur de ces constituants dans les feuillus et dans les résineux est indiquée dans le tableau 1 [79] et leur composition élémentaire moyenne dans le tableau 2 [80].

Tableau 1: Propositions des principaux constituants du bois en % par masse de biomasse sèche

Constituants	Feuillus	Résineux
Cellulose	47±6	41±4
Hémicellulose	29±7	28±3
Lignine	23±4	29±3

Tableau 2: Composition élémentaire du bois, de la cellulose et de la lignine

	% C	% H	% O	% N
Bois	50	6	44	< 1
Cellulose	44	6	50	-
Lignine	63-67	5.5-6	27-34	-

La proportion relative des différents constituants varie en fonction des essences de bois, de la localisation dans la paroi cellulaire, de son âge, de la saison de récolte et des conditions de récolte.

2.4.1. Cellulose

La cellulose est le constituant majoritaire du bois et celui presque unique du coton et des fibres textiles du type lin, chanvre, jute et ramie. C'est également le polymère naturel le plus abondant sur Terre puisqu'elle est présente dans presque toutes les espèces végétales.

Bien que la structure chimique de la cellulose soit bien connue, sa structure à l'échelle tertiaire, incluant sa structure cristalline et fibreuse, n'est pas complètement résolue.

La cellulose est une structure polymérique linéaire formée par des chaînes d'unités β -D-glucopyranose (résidu de glucose), liées entre elles par des liaisons glycosidiques du type β (1 $\rightarrow$ 4) (Figure 14). Ces chaînes linéaires ont tendance à faire des liaisons hydrogène inter et

intramoléculaire pour créer des fibrilles élémentaires. Ces fibrilles sont à leur tour agrégées en microfibrilles, qui présentent à la fois des régions cristallines et des régions amorphes. La conséquence immédiate de ces deux dernières caractéristiques structurales est que la cellulose est insoluble à la fois dans les solvants organiques classiques et dans l'eau. Pour solubiliser la cellulose, il est nécessaire d'utiliser des mélanges de type métal / solvants (hydroxyde de cupriéthylènediamine (CED), hydroxyde de cadmium éthylènediamine (Cadoxen) ou de cuprammonium).

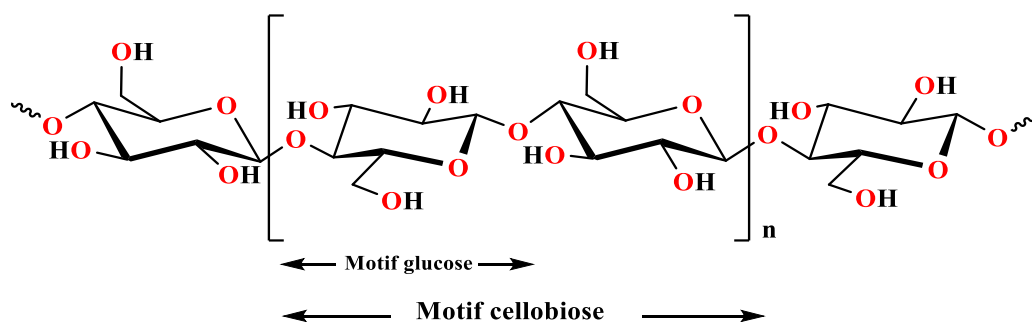


Figure 14: Représentation schématique de la molécule de cellulose

La cellulose est considérée comme le constituant du bois le plus stable chimiquement et thermiquement. Elle joue un rôle primordial dans la tenue mécanique de la paroi cellulaire des fibres du bois.

2.4.2. Hémicellulose

Les hémicelluloses sont des polysaccharides (polyosides) non cellulotiques omniprésents dans tous les végétaux, caractérisés par des masses moléculaires plus faibles que celle de la cellulose et par des structures moins régulières par la présence de différentes unités dans leurs chaînes. Le terme hémicellulose regroupe toute une famille de polyoses présents dans le bois avec une teneur comprise entre 20 et 30 %, où le composant majoritaire est le xylane. Les hémicelluloses ont en général une masse molaire relativement faible et sont amorphes comme les copolymères statistiques de synthèse. Les sucres constitutifs des hémicelluloses peuvent être divisés en quatre groupes : les pentoses, les hexoses, les acides hexuroniques et les désoxy-hexoses (Figure 15).

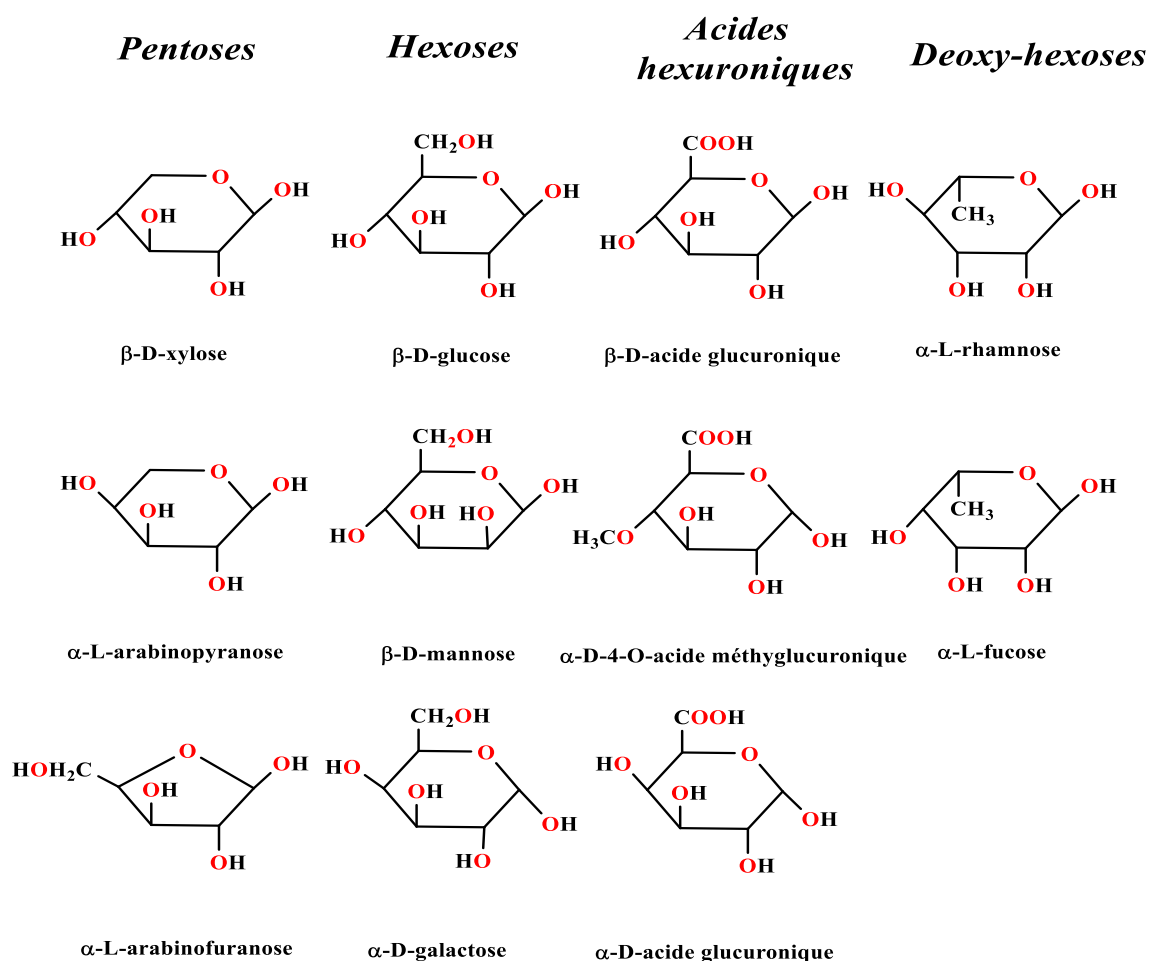


Figure 15: Principaux sucres constitutifs des hémicelluloses

Les hémicelluloses sont essentiellement utilisées pour la production de sucres. En effet, en milieu acide, l'hydrolyse de la plupart des hémicelluloses conduit aux monomères constitutifs tels que la xylose, le glucose, l'arabinose. La fermentation alcoolique ou enzymatique des sucres ainsi formés, les transforme en alcools (éthanol, butanol) et en acides organiques (butyrique, acétique, lactique ...).

2.4.3. Lignine

La lignine est le second composé organique renouvelable le plus abondant sur Terre après la cellulose. La lignine est le deuxième principal constituant du bois de l'ordre de 26 à 32 % de la masse sèche chez les résineux et de 20 à 25 % chez les feuillus [81]. La lignine est un polymère amorphe complexe composé d'unités phénylpropanoïdes constituées principalement d'alcools de coniféryle, de sinapyle et de p-coumaryle (Figure 16) [81].

- ❖ L'alcool paracoumarylique, appelé unité H (hydroxyphényle), sans groupe méthoxy ;

- ❖ L'alcool coniférylique, appelé unité G (guaïacyle), ayant un groupe méthoxy ;
- ❖ L'alcool sinapylique, appelé unité S (syringyle), ayant deux groupes méthoxy.

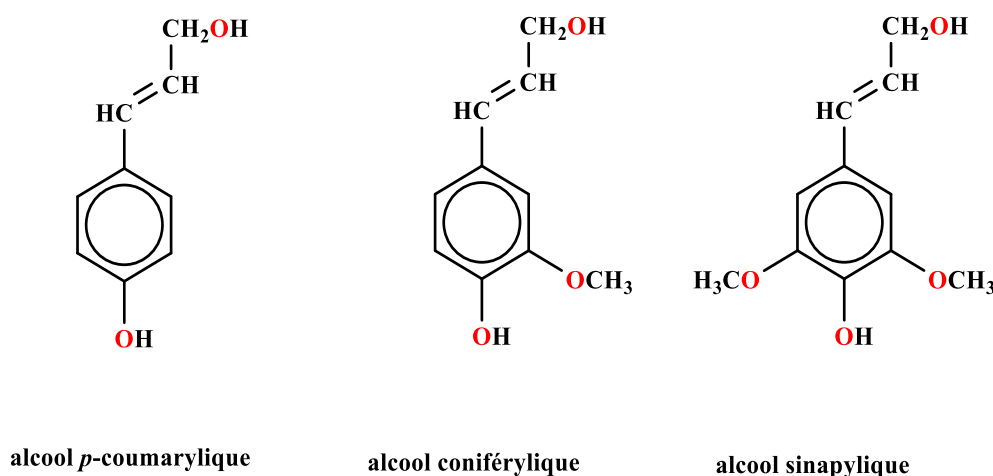


Figure 16: Monomères constitutifs de la lignine

La lignine a pour fonction de rigidifier la paroi cellulaire des végétaux. Elle est peu sensible à la dégradation biologique, elle crée une barrière morphologique à la pénétration et à la progression des agents pathogènes et contribue à la protection naturelle des végétaux contre certaines attaques parasitaires. La lignine est présente en concentration élevée dans la lamelle moyenne où elle joue le rôle de « colle » entre les fibres mais également en concentration plus faible dans la paroi secondaire.

3. Activité anti-oxydante

3.1. Généralités

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques, chimiques ou microbiennes [83]. Selon diverses études, de multiples facteurs peuvent induire le développement de cellules anormales chez l'homme comme le tabagisme [84], la nourriture [85], les infections microbiennes [86], certains produits chimiques [87], l'alcool [88], l'obésité [89], l'exposition aux rayonnements ionisants [90] et la pollution de l'environnement [91] etc. La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, du à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, à savoir : la production de radicaux dérivés de l'oxygène [92].

L'antioxydant, comme son nom l'indique est une substance chimique synthétique ou naturelle qui empêche ou inhibe les réactions d'oxydation de type radicalaire. Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des

conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies [93].

3.2. Radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non apparié [94]. Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre [95]. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie, appelés les radicaux primaires, à savoir : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($HO^{\cdot}$), le monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$), le radical peroxyde ($ROO^{\cdot}$) et le radical alkoxyde ($RO^{\cdot}$). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires tels que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [96].

3.3. Stress oxydatif

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre entraîne une agression appelée « stress oxydatif » [97]. Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN [98,99]. Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies [100]. Parmi ces maladies, nous citons, les maladies d'Alzheimer [101], de Parkinson [102] de Creutzfeldt Jacob et les méningo-encéphalites [103], des maladies cardiovasculaires [104], les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau [105] et même le cancer en cas extrême [103].

3.4. Antioxydants

3.4.1. Définition

D'après Halliwell [106], un antioxydant est toute molécule endogène ou exogène, présente en faible concentration, qui est capable de prévenir, de retarder et de réduire l'ampleur de la destruction oxydante des biomolécules.

3.4.2. Classes des antioxydants

3.4.2.1. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants phénoliques synthétiques (SPA) tels que l'hydroxyanisolebutylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroquinone tertiobutylique (TBHQ) et le gallate de propyle (PG) (Figure 17) sont étroitement liés à la vie humaine en raison de leurs utilisations étendues, et des préoccupations croissantes ont été exprimées, soulevées sur leur biosécurité [107]. Des études antérieures ont montré que certains antioxydants synthétiques et produits de transformation associés présentaient des effets de toxicité, notamment une toxicité hépatique, des effets perturbateurs endocriniens et même une cancérogénicité [108,109]. Récemment, il y a eu un intérêt considérable pour trouver des antioxydants naturels à partir de ressources naturelles telles que les plantes médicinales pour remplacer les synthétiques et pour trouver plus d'informations sur le potentiel antioxydant des plantes [110].

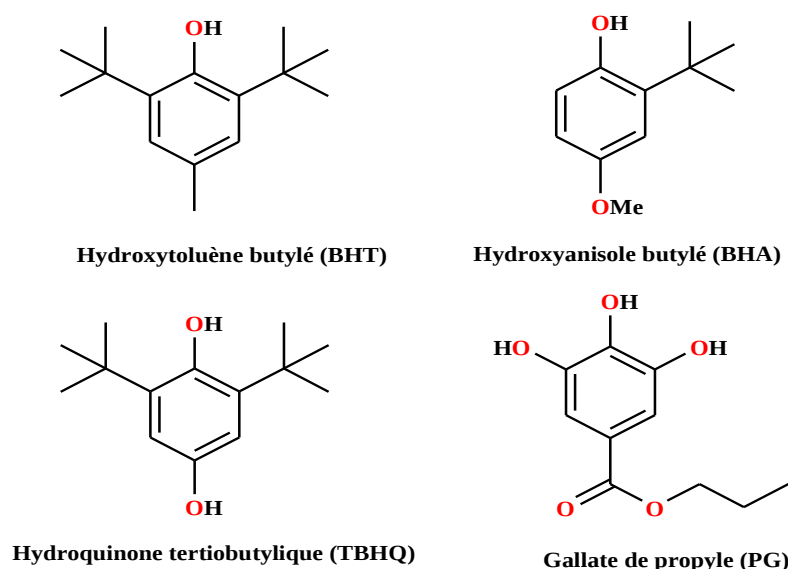


Figure 17: Structures moléculaires des antioxydants synthétiques

3.4.2.2. Antioxydants d'origines naturelles

Les antioxydants naturels apportés d'alimentation comprennent, généralement, de l'ascorbate, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs [111]. Les bénéfices santé des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydants présentées par un grand nombre de composés phyto-chimiques. Il est bien évident qu'une alimentation saine et équilibrée assure un apport considérable d'antioxydants naturels pour le bon fonctionnement de l'organisme, surtout à travers la consommation de fruits, de végétaux, de céréales, de la

viande et du poisson. Il existe d'autres sources de composés antioxydants bien intéressants, dont l'utilisation peut s'étendre à des domaines comme la pharmacologie, la microbiologie médicale et clinique, la phytopathologie et la conservation des aliments [112].

3.5. Méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante

Diverses méthodes de dosage de l'activité antioxydante *in vitro* induisent la mesure de l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines. Celles-ci ne seront pas abordées, ni celles mesurant le pouvoir antioxydant *in vivo* sur le modèle animal ou chez l'Homme. Cette étude se focalisera sur les méthodes témoignant de l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à piéger des radicaux libres – par transfert d'électron et/ou de proton -issus de phénomènes d'oxydations [113]. On parlera alors d'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante.

Seules les méthodes les plus utilisées, en particulier pour les tests *in vitro* chimiques, seront représentées ici, en mettant en avant le mécanisme réactionnel de la méthode (Tableau 3).

Tableau 3:Description de quelques tests antioxydants *in vitro* chimiques

Tests	Mécanismes réactionnels	Références
ORAC (capacité d'absorption des radicaux d'oxygène)	Transfert de proton	[114]
FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique)	Transfert d'électron	[115]
CUPRAC (capacité antioxydante de réduction cuivrique)	Transfert d'électron	[116]
ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid))	Transfert d'électron et de proton	[117]
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	Transfert d'électron majoritaire	[118]

Les résultats d'activité antioxydante sont généralement exprimés en fonction d'une molécule de référence possédant de forte propriété antioxydante connue comme de L'acide ascorbique (La vitamine C) (Figure 18).

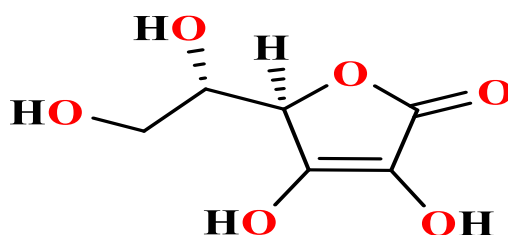


Figure 18: Structures chimique de l'acide ascorbique (Vitamine C)

Remarque : DPPH et FRAP sont les méthodes qui seront utilisées dans ce travail vu la disponibilité des réactifs.

4. Activité antibactérienne

4.1. Généralités

L'utilisation des antibiotiques pour lutter contre des micro-organismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérogènes, leur toxicité aiguë et leur danger potentiel pour l'environnement en plus du problème de résistance bactérienne à cette classe thérapeutique. Plus récemment, la prévalence de la résistance aux antimicrobiens a incité les chercheurs à rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes pour inhiber les diverses bactéries pathogènes humaines [119]. À cet égard, l'exploitation des huiles essentielles pour contrôler l'épidémie des bactéries pathogènes peut être utile pour lutter contre diverses maladies infectieuses [120]. L'impact antimicrobien des huiles essentielles et de leurs composants chimiques est démontré par plusieurs études [121,122,123].

L'action des huiles essentielles s'exerce sur un large spectre de bactéries, incluant les bactéries à Gram positives et les bactéries à Gram négatives. En particulier, l'activité antimicrobienne des huiles et des extraits de plantes ont formé la base de beaucoup d'applications, y compris, pharmaceutiques, médecine, thérapie naturelle et la conservation des aliments.

4.2. Techniques de détermination de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité d'un produit sur une souche bactérienne consiste à le mettre en contact tout en observant les conséquences sur le développement et la survie de la culture bactérienne. Beaucoup de techniques ont été mises en évidence aussi bien en milieu liquide qu'en milieu solide.

4.2.1. Technique en milieu liquide

Cette technique consiste à distribuer dans des tubes à essai contenant un certain volume nutritifensemencé du germe à tester, différentes concentrations du produit à tester (antibiotique, huile essentielle, extrait d'une plante, substance synthétisée...).

Après la durée de l'incubation des subcultures s'effectuent afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices de la croissance microbienne (Figure 19).

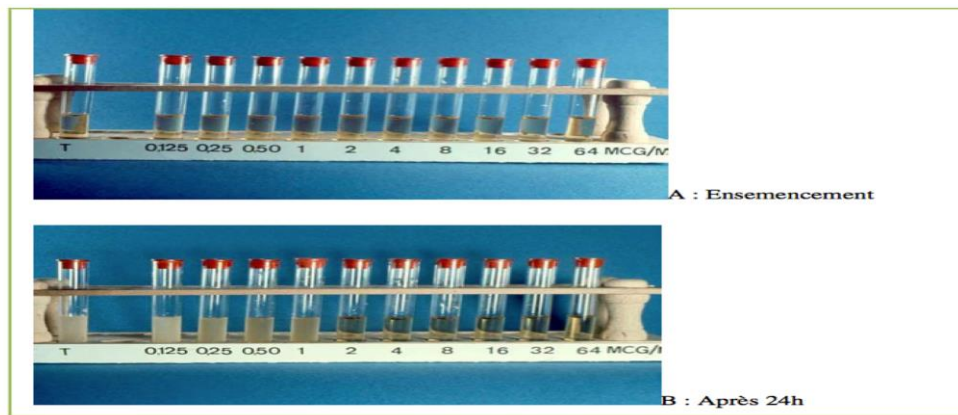


Figure 19:Détermination directe de la CMI en milieu liquide [124]

4.2.2. Technique en milieu solide

Appelée aussi technique de l'antibiogramme. Dans cette technique on utilise des disques de papier filtre imprégnés du produit à tester en solution et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface avec une suspension bactérienne. On incorpore l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm (Figure 20).



Figure 20:Antibiogramme de quelques antibiotiques [124]

Une variante de cette technique consiste en l'aménagement dans la gélose coulée et solidifiée en boîte de Pétri. On remplit cette cavité d'un volume donné du produit à tester qui va diffuser dans la gélose, la lecture se fait après incubation en mesurant le diamètre d'inhibition.

Remarque : Dans notre travail, nous avons procédé pour déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de sciure de *T. articulata* par la technique en milieu solide, et pour la détermination de la CMI de l'huile essentielle la technique en milieu liquide.

5. Activité insecticide

5.1. Généralités

Depuis que les grains sont stockés par l'homme, le problème de leur conservation est posé. Un stock de céréales est une entité constituée d'une part du grain à stocker et d'autre part du milieu dans lequel il évolue et où il est exposé à diverses agressions [124].

Ces attaques se répartissent en quatre groupes principaux :

- * Les attaques mécaniques sont causées par des chocs qui provoquent des fissures ou des cassures.
- * Les attaques d'origine chimique et biochimique sont très diverses : réaction de Maillard, dénaturation des protéines, hydrolyse et destruction des amidons.
- * Les attaques enzymatiques sont causées par des enzymes hydrolytiques qui réduisent les réserves biochimiques du grain.
- * Attaques d'origine biologique causées par des organismes vivants (rongeurs, oiseaux, insectes, acariens, micro-organismes). Les insectes et les mites en particulier causent le plus de dommages aux aliments stockés.

Remarque : Au Maroc, les principales espèces ravageuses des denrées stockées appartiennent aux *Coléoptères* et aux *Lépidoptères*.

Dans ce travail on a étudié l'effet insecticide de l'huile essentielle de sciure de *T. articulata* sur l'insecte suivant : *Sitophilus granarius* (Charançon du blé). Cette étude et ce choix ont été guidés par l'importance des dégâts qu'engendrent ce ravageur et aussi leur large répartition.

5.2. Généralités sur l'insecte étudié (*Sitophilus granarius*)

Les charançons (curculionidés) sont bien connus comme d'importants ravageurs primaires de grains entreposés, caractérisés par la présence d'un rostre prononcé (rigide), portant des antennes à sa base, ils attaquent la plus part des cultures céréalières, notamment le blé, l'orge, l'avoine et le seigle. L'œuf est caractérisé par une forme opaque, avec une couleur blanche brillante, ovoïde, avec une longueur 0,6 au 0,8mm [125]. La larve apode et blanchâtre, mesure de 2 à 4 mm, avec une tête foncée, elle se nourrit à l'intérieur des grains puis s'y chrysalide [126]. La couleur de la nymphe se passe du blanc au brun, se caractérise par sa forme

cylindrique et de 3 à 4 mm de long L'adulte mesure environ 4 mm de long, de couleur brun foncé, ovale, avec des longues pattes et une tête prolongée par un long rostre [127].



Figure 21: Œuf, larve, nymphe, adulte de *S.granarius* [128]

5.3. Lutte contre les insectes des denrées stockées

Le contrôle des insectes repose fortement sur les insecticides synthétiques, et l'utilisation excessive d'insecticides synthétiques a entraîné des problèmes tels que la pollution de l'environnement, la toxicité pour l'homme et le développement généralisé de la résistance aux insecticides [129]. Compte tenu des effets négatifs des insecticides synthétiques traditionnels, il existe une impulsion considérable pour développer des insecticides plus efficaces et plus sûrs. Par conséquent, les efforts se poursuivent pour rechercher des produits végétaux naturels comme alternatives aux insecticides chimiques synthétiques, en raison de leur faible toxicité pour l'homme, de leur moindre persistance dans l'environnement et de leur large acceptation par le public. Ces dernières années, l'exploration des huiles essentielles ayant des activités insecticides a fait l'objet d'une attention croissante [130].

En raison de son efficacité, elle doit être appliquée avec discernement pour limiter les risques qu'elle peut faire courir aux consommateurs des denrées. Deux types de technique sont généralement employés :

- **Traitement par contact** : Il consiste à recouvrir les grains, l'emballage ainsi que les locaux de stockage d'une pellicule de produit insecticide qui agit par contact sur les déprédateurs, dont l'effet est plus ou moins rapide avec une persistance d'action plus longue.

- **Traitement par fumigation** : La fumigation consiste à traiter les grains à l'aide d'un gaz toxique, qu'on appelle fumigant. L'intérêt majeur de la fumigation est de faciliter la

pénétration des gaz à l'intérieur du grain et donc de détruire les oeufs, larves et nymphes qui s'y développent [131].

6. Adsorption

6.1. Généralités

L'eau est à l'origine de la vie sur terre. Pourtant, sa contamination est un problème qui se pose avec acuité de nos jours. Elle est le résultat de l'utilisation massive de polluants organiques et minéraux d'origine agricole, urbaine et industrielle. Ainsi, les colorants synthétiques employés dans l'industrie textile, les métaux lourds, le phénol et les pesticides, représentent ce type de contaminants. Dans ces conditions, la contamination est essentiellement due à leurs rejets dans les rivières ou dans les milieux naturels. Par conséquent, la dégradation de l'environnement suscite à l'heure actuelle un intérêt particulier afin de préserver et d'améliorer la qualité des eaux. Des techniques de traitements classiques ont déjà été mises en oeuvre. Elles sont de types biologiques, thermiques, chimiques ou physiques. Nous citons à titre d'exemple l'oxydation, la précipitation chimique, l'échange d'ions, la coagulation-floculation,... Mais, la plupart d'entre eux présentent des inconvénients comme le coût élevé, le recours aux substances chimiques et l'élimination incomplète des polluants. Il est alors nécessaire d'avoir recours au procédé d'adsorption. C'est l'un des processus les plus efficaces pour l'élimination de polluants organiques et/ou inorganiques en solution aqueuse d'un point de vue technique et économique [132].

6.2. Nature et origine de la pollution de l'eau

Il existe plusieurs manières de classer la pollution. Selon le type de polluant, elle est classée en trois catégories : pollution physique, chimique et biologique. La pollution peut aussi être classée selon son origine, nous distinguons alors quatre catégories : pollution domestique, urbaine, agricole et industrielle [133]. Les eaux usées englobent des matières en suspension, des flottants et des matières dissoutes. Ces polluants sont regroupés en deux types, polluants organiques et inorganiques. Les polluants les plus connus qui sont les métaux lourds, les colorants, les phénols et les pesticides.

Remarque : Dans ce travail, nous avons testé l'adsorption du colorant « bleu de méthylène » sur la lignine extraite. Parce qu'il fait partie des colorants organiques (polluants résiduels) les plus utilisés dans l'industrie.

6.3. Méthodes de dépollution

Comme nous avons pu le voir dans les paragraphes précédents, ces rejets organiques sont toxiques et nécessitent une technique de dépollution adaptée. Les différentes méthodes de dépollution peuvent être classées en fonction de la nature des procédés employés, à savoir les procédés biologiques, chimiques, physiques et physico-chimiques [134,135]. Cependant, l'adsorption reste la méthode la plus fréquemment utilisée en raison de son efficacité, de sa capacité et de son application à grande échelle. Elle présente de nombreux avantages. Parmi lesquels, l'élimination d'une large gamme de polluants, dont différents types de colorants, mais aussi d'autres polluants organiques et inorganiques, tels que les phénols, les ions métalliques, les pesticides, les substances humiques, les détergents, ainsi que les composés responsables du goût et de l'odeur.

Il existe plusieurs types d'adsorbants tels les argiles, les apatites, la silice, l'alumine, les zéolithes, et quelques roches ; mais le charbon actif reste de loin le plus utilisé dans l'industrie.

6.4. Phénomène d'adsorption

L'adsorption est une méthode de surface par lequel des ions, des atomes ou des molécules d'un gaz ou d'un liquide, dit adsorbé ou adsorbat, se fixent sur la surface solide d'un substrat appelée adsorbant selon divers processus.

6.4.1. Mécanisme d'adsorption

Le processus d'adsorption consiste à transférer l'adsorbat de la phase liquide vers les sites actifs de la phase solide appelé adsorbant. Il peut être décomposé principalement en quatre étapes (Figure 22):

Etape 1: Diffusion de l'adsorbat de la phase liquide externe vers la couche limite située au voisinage de la surface de l'adsorbant (Très rapide).

Etape 2: Diffusion du soluté à travers le film liquide vers la surface d'adsorbant (Rapide).

Etape 3: Transfert intragranulaire de la matière qui est un transfert de la matière dans la structure poreuse de la surface extérieure des grains vers les sites actifs (Lente).

Etape 4: Interaction d'adsorbat au contact des sites actifs, une fois adsorbée, la molécule est considérée comme immobile (Très rapide).

- 1: Diffusion au sein de la phase liquide
- 2: Transfer à travers le film externe liquide
- 3: Diffusion intra-particulaire
- 4: adsorption sur les sites actifs

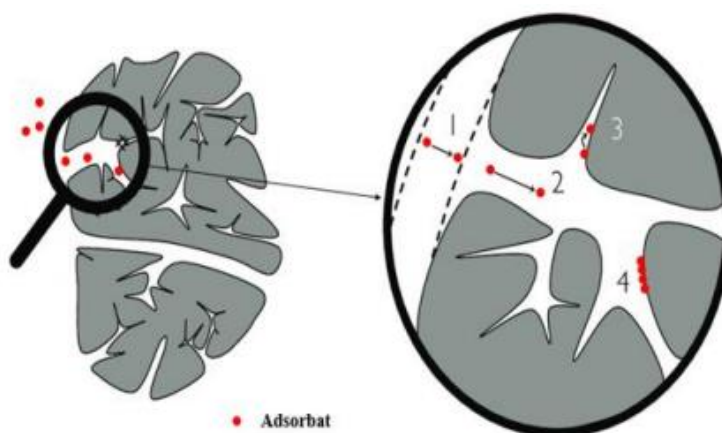


Figure 22: Mécanisme de l'adsorption sur les solides poreux [136]

6.4.2. Facteurs influençant le processus d'adsorption

Parmi les facteurs qui peuvent influencer sur l'efficacité de l'adsorption entre l'adsorbant et l'adsorbat [137], nous pouvons citer :

- Effet du pH: La variation du pH entraîne une variation du degré d'ionisation de la molécule d'adsorbat et des propriétés de surface de l'adsorbant.
- Effet de la taille des particules: L'augmentation de la taille des particules diminue la diffusion de l'adsorbat à la surface d'adsorbant. Par contre, la diminution de la taille de la particule de l'adsorbant implique une surface beaucoup plus grande avec une diffusion plus grande de l'adsorbat à l'intérieur de la surface d'adsorbant et une efficacité d'adsorption beaucoup plus grande par rapport à la même masse de particules plus grosses.
- Effet de la concentration initiale de soluté: Le taux d'adsorption d'un soluté dépend fortement de la concentration initiale du soluté. L'effet de la concentration initiale de l'adsorbat dépend de la relation immédiate entre la concentration d'adsorbat et les sites disponibles sur la surface d'adsorbant. En général, le pourcentage d'élimination du soluté diminue avec l'augmentation de sa concentration initiale, dû probablement à la saturation des sites d'adsorption à la surface de l'adsorbant. D'autre part, l'augmentation de la concentration initiale d'adsorbat entraîne une augmentation de la capacité de l'adsorbant, dû à l'augmentation de la force motrice du transfert de masse.
- Effet de la quantité d'adsorbant: Le pourcentage de fixation du soluté augmente avec la concentration d'adsorbant, du fait de l'augmentation du nombre de sites de sorption actifs disponibles à la surface de l'adsorbant.

- Effet de la température: L'influence de la température est un indicateur pour évaluer la nature de l'adsorption, qu'il s'agisse d'un processus endothermique ou exothermique.
- Temps de contact: Le suivi de l'évolution du temps de contact et la détermination du temps d'équilibre renseignent sur l'interprétation du mécanisme d'adsorption.
- Nature des groupements fonctionnels: En plus des paramètres et des caractéristiques précédemment cités, les groupements fonctionnels présents à la surface de l'adsorbant ont une grande influence sur l'adsorption. Les groupements fonctionnels sont des sites oxygénés et des sites aminés dont l'affinité est étroitement liée à la nature de l'adsorbat.

L'étude de ces effets sur la capacité d'adsorption permet d'optimiser et de minimiser le coût d'adsorption.

Partie III : ETUDE EXPÉRIMENTALE

1. Huiles essentielles

1.1. Matière végétale

Récolte : Les échantillons de la plante *T. articulata* ont été récoltés au mois de mars 2017 dans la région de Khemisset (Feuilles, Cônes et Sciure) (Figure 23).

Khemisset est située à une altitude de 409 mètres et bénéficie d'un climat méditerranéen chaud avec des étés secs, des hivers froids et partiellement nuageux. Au cours de l'année, la température oscille généralement entre 5°C et 33°C et rarement en dessous de 2°C ou au-dessus de 39°C.



Figure 23: Situation géographique de Khemisset

Séchage : Le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante.



Figure 24: Matières végétales (Feuilles, Cônes et Sciure)

1.2. Préparation des HE

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger [138]. A chaque fois une masse de la plante sèche est introduite dans un ballon de trois litres remplis au 2/3 d'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant 6 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant le réfrigérant se condensent et chutent dans l'appareil Clevenger (Figure 25). L'eau et l'huile se séparent par différence de densité et les huiles sont récupérées par une micropipette dans des petits flacons opaques puis séchées par sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et pesées afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse initiale séchée du matériel végétal. Ces huiles sont ensuite stockées à 4°C de température.



Figure 25: Montage de l'hydrodistillation au laboratoire (Clevenger)

Nous pouvons déterminer le rendement de différentes parties de la plante en HE en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rendement}(\%) = \frac{\text{Huile essentielle (g)}}{\text{Matière végétale (g)}} \times 100$$

1.3. Analyse des HE par (GC) et (GC/MS)

Le dispositif de chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (GC / MS) est de type Elmer Clarus TM GC-680 avec Q-8 MS. Il est équipé d'un auto-échantillonneur, qui donne accès à l'injection automatique d'échantillons dans l'injecteur et d'une colonne capillaire de type RxiR-5Sil MS traversée par du gaz Hélium. Le spectromètre de masse est alimenté

par une source d'ionisation électronique SMART. Cette source peut ioniser et vaporiser les différentes molécules ainsi qu'un filtre quadripolaire pour séparer les différents ions dans leur rapport m/z . Le système GC / MS est contrôlé par ordinateur avec le logiciel Turbomass (TM), qui permet la programmation de méthodes analytiques ainsi que l'identification qualitative et quantitative des espèces détectées.

Les paramètres d'analyse sont les suivants : temps d'analyse: 2 heures, débit de gaz vecteur: 1 mL / min, énergie d'ionisation: 70 eV, température de l'injecteur: 260 ° C, température du four: 40 ° C pendant 2 minutes, puis remontée de 10 ° C / min à 290 ° C, et le volume injecté est de 0.5 µL.



Figure 26: Instrument GC / MS (Perkin Elmer Clarus TM GC-680 avec Q-8 MS)

2. Extraits organiques

2.1. Matières végétales

Les déchets de bois du *T. articulata* ont été collectés en mars 2017 dans l'industrie du bois dans la région de Khemisset au Maroc. Le matériau de sciure est protégé de l'humidité et mis à température ambiante avant l'extraction.

2.2. Préparation des extraits

Les extraits organiques ont été préparés à l'aide des solvants organiques, en utilisant le Soxhlet, la macération, le chauffage à reflux ou l'extraction liquide sous pression (ASE) comme équipements d'extraction. Ces techniques présentent des avantages en termes de durabilité, de répétabilité et de respect de l'environnement, de rapidité et d'automatisation.

2.2.1 Extraction par Soxhlet

L'originalité de cette technique permet généralement d'utiliser des petites quantités de solvants ce qui est avantageux. Dans un premier temps, 40 g de sciure de bois du Thuya

broyés sont prélevés puis mis en cartouche avant de l'extraire à l'aide d'un solvant (méthanol ou éthanol) en utilisant le Soxhlet comme appareil d'extraction [139] (Figure 27). Le système est chauffé à reflux pendant 6 heures, jusqu'à la décoloration de la matière végétale. L'extrait obtenu est évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide puis conservé à 4°C.



Figure 27: Montage d'extraction par Soxhlet utilisé au laboratoire LMNE

2.2.2 Extraction par liquide pressurisé (ASE)

C'est une nouvelle technique utilisée qui fait encore l'objet de nombreuses recherches. L'extraction a été effectuée avec 2.5 g de sciure de bois dans un récipient en acier inoxydable de 22 mL à l'aide d'un système ASE 200 (Dionex ASE 200) (Figure 28). Le volume stagnant de chaque récipient a été rempli de 1 g de SiO₂ et l'extraction a été réalisée avec du solvant hexane puis de l'éthanol, des températures de 65 ° C et des temps de 5 min à une pression élevée de 1500psi.

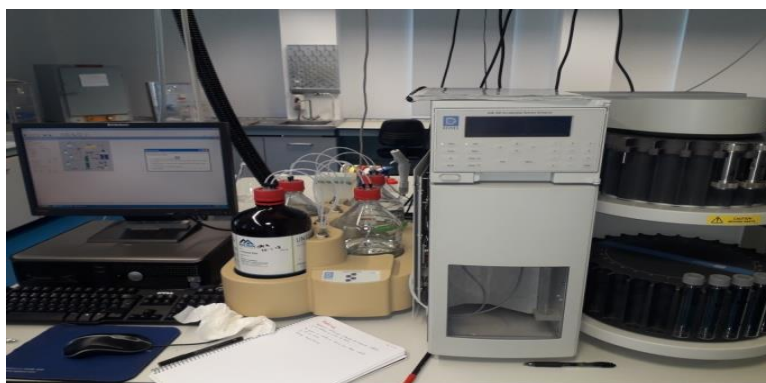


Figure 28: Montage d'extraction par liquide pressurisé (Dionex ASE 200)

2.2.3 Extraction des flavonoïdes

10 g de sciure en poudre ont été macérés dans (200 mL) d'alcool pendant 24 h. Après filtration, la solution alcoolique est évaporée via Rota-vapeur. Le résidu sec obtenu est lavé avec de l'acétate d'éthyle + eau distillée (volume / volume). Après extraction liquide-liquide, les flavonoïdes sont obtenus par ajout de n-butanol à la phase aqueuse (10 mL). Après agitation, la phase butanol est évaporée à 60 °C [140].

2.2.4 Extraction des alcaloïdes

10 g de poudre de sciure de Thuya ont été extraits avec (150 mL) d'éthanol pendant 5 h à l'aide d'un appareil Soxhlet. L'extrait éthanoïque a été évaporé via Rota-vapeur. Le résidu sec a été repris avec un volume = 20 mL de chloroforme et acidifié avec HCl (5%, pH 3). A température ambiante, les alcaloïdes sont obtenus par extraction liquide-liquide par addition de chloroforme d'un volume de 20 mL, basifié avec NaHCO₃ (5%) à pH 9 [141]. La phase chloroformique est évaporée à 40 °C.

Enfin, les extraits séchés ont été stockés à 4 °C pour des études complémentaires. Pour toutes les méthodes d'extraction. Le rendement des extractions (%) a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement}\% = \frac{\text{Extrait}(g)}{\text{Matière végétale}(g)} \times 100$$

2.3. Caractérisation des extraits

Nous avons réalisé des tests phytochimiques afin de mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires qui composent la plante, nous permettant de nous faire une bonne idée de ses activités.

2.3.1. Analyse qualitative

Le criblage phytochimique consiste à détecter quelques familles de métabolites secondaires existant dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation, de complexation ou de coloration par des réactifs spécifiques.

a. Détection des flavonoïdes

On traite 1mL de l'extrait méthanolique avec quelques gouttes d'HCl concentré, puis on ajoute quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rose à rouge orange [142].

b. Détection des alcaloïdes

On introduit 100 mg de l'extrait dans un tube à essai contenant 3 mL d'acide sulfurique 1%. L'ensemble est porté à ébullition au bain-marie (100°C) pendant 5 min. Après refroidissement et filtration, 5 gouttes de réactif de Meyer sont ajoutées. La formation d'un précipité blanc indique la présence des alcaloïdes [143].

Les alcaloïdes ont la capacité de former des complexes insolubles (précipités) avec des métaux lourds : Bi, Hg, Pt, W, et/ou des métalloïdes; La présence des alcaloïdes est établie par la précipitation de sels en utilisant le réactif de Mayer comme révélateur.

c. Détection des tanins

Dans un tube à essai on dissout quelques mg de l'extrait à étudier dans de l'eau distillée et on ajoute quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) 1% [144].

- L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence des tanins galliques.
- L'apparition d'une coloration vert-noirâtre indique la présence des tanins catéchiques.

d. Détection des saponosides

On mélange 1mL de l'extrait avec 2mL de l'eau distillée chaude et on agite pendant 15 secondes puis sont laissés au repos pendant 10 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1cm indique la présence de saponosides [145].

e. Détection des stérols et polyterpènes

L'extrait est dilué dans 2mL d'anhydride acétique. L'ajout de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré permet l'apparition d'une coloration violette qui indique la présence des stérols et polyterpènes [142].

2.3.2. Analyse quantitative

Les études quantitatives permettent de déterminer la concentration des différentes substances recherchées. Elle est complémentaire de l'analyse qualitative où l'on cherche uniquement à déterminer si une substance est présente ou non. Il s'agit de réactions chimiques au cours desquelles une détermination de la teneur en composés est effectuée par spectrophotomètre UV/Visible (Figure 29).



Figure 29: Spectrophotomètre UV/Visible (LLG-uniSPEC UV/VIS)

2.3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

a. Principe

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu [146]. Cette méthode est basée sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro-polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu [147].

b. Mode opératoire

On ajoute 800 μL de la solution de Na_2CO_3 (7.5 %) ou de référence (acide gallique) à 200 μL . Après agitation (5min), on ajoute à l'ensemble, 1mL de la solution de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée 1/10), après 2 h d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait. Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

c. Expression des résultats

Le taux de polyphénols totaux dans notre extrait, est calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = ax + b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (40-140 $\mu\text{g/mL}$) utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait).

2.3.2.2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe

Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur rose dont l'intensité est mesurable à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV.

b. Mode opératoire

La détermination des flavonoïdes dans nos expériences est réalisée par la méthode [148]. Dans des tubes à essai 1 mL d'extrait méthanolique et 1 mL de solution méthanolique de chlorure d'aluminium (2%). Après 15 min d'incubation à température ambiante, les absorbances sont lues à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à 430 nm contre un blanc (méthanol ajouté à AlCl_3). Le même protocole est réalisé en utilisant la quercétine (standard) à différentes concentrations (0-300 $\mu\text{g/mL}$) au lieu de l'extrait, pour tracer la courbe d'étalonnage. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

c. Expression des résultats

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans l'extrait méthanolique de *T. articulata* sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en μg équivalent en quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

3. Evaluation de l'activité anti-oxydante

Dans cette étude, deux méthodes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* du *T. articulata* huile essentielles et extraits organiques, à savoir la méthode DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) et la méthode de réduction du fer (FRAP).

3.1 Test de DPPH

a. Principe

Pour évaluer l'activité antiradicalaire, nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence des composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Le DPPH réagit avec un antioxydant par arrachement d'un hydrogène, il se forme alors le 2,2-diphénylhydrazine DPPH-H (Figure 30) [149].

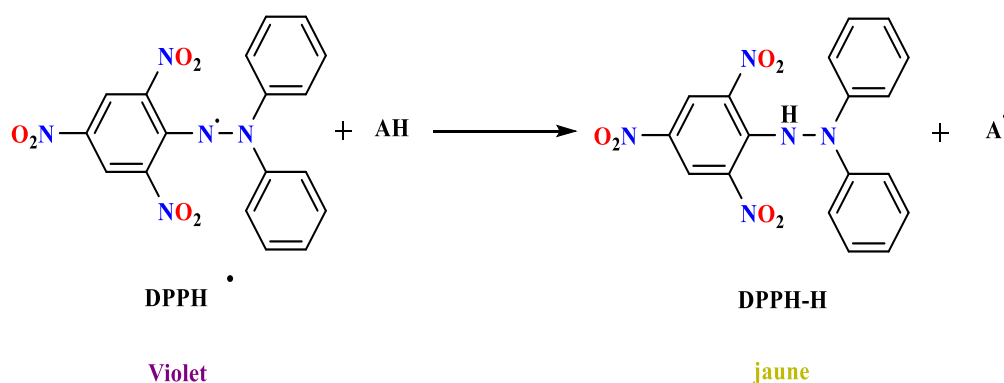


Figure 30: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH

b. Mode opératoire

L'activité du balayage du radical DPPH est mesurée selon le protocole décrit par [150]. Une solution méthanolique de 0.3 mM de DPPH est mélangée avec différentes concentrations des HE et des extraits de *T. articulata* (40, 120, 250, 300, 350 µg/mL). Dans un tube à essai, 2.5 mL de solution échantillons et témoins (acide ascorbique) sont ajoutées à 1mL de la solution méthanolique de DPPH, après incubation pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre un blanc qui contient du méthanol pur.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique. Le contrôle négatif est composé de 1 mL de la solution méthanolique au DPPH et de 2.5 mL de méthanol.

c. Expression des résultats

Les résultats peuvent être exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire (AA) ou par pouvoir de neutralisation des radicaux libres exprimé en pourcentages (I %) en utilisant l'équation suivante :

$$\% I = [\text{Abs}_C - \text{Abs}_E / \text{Abs}_C] \times 100 \quad (1)$$

Abs C : Absorbance du contrôle négatif ;

Abs E : Absorbance de l'échantillon (HE, extrait ou acide ascorbique).

Les résultats sont exprimés par la moyenne de deux mesures. Le paramètre IC₅₀ est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la neutralisation de 50% de radicale DPPH[•], plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus l'échantillon dispose d'un fort pouvoir antioxydant.

3.2 Test de FRAP

a. Principe

Cette technique est basée sur la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) à un pH de 6.6 pour maintenir la solubilité du fer (Figure 31). En d'autres termes, ce test permet de définir la capacité d'un antioxydant à inhiber l'initiation des réactions radicalaires par les ions métalliques [151].

Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe bleu intense qui est suivi spectrophotométriquement.

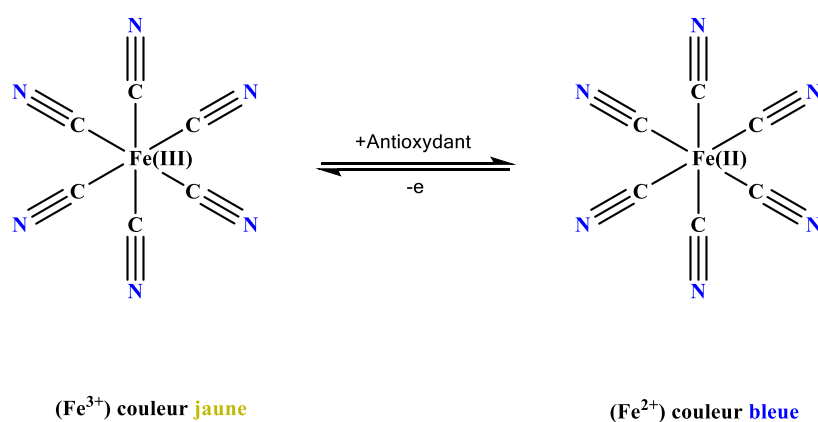


Figure 31: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP

b. Mode opératoire

Elle consiste à mélanger 1 mL de l'extrait à différentes concentrations avec 2.5 mL de tampon phosphate (0.2 M ; pH=6.6) et 2.5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le mélange obtenu est incubé à 50°C pendant 20 min. Puis 2.5 mL d'acide trichloracétique (CCl_3COOH) à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 min à température ambiante. A 2.5 mL du surnageant sont additionnés 2.5 mL d'eau distillé et 0.5 mL de chlorure de fer (FeCl_3) à 0.1%. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm [152].

c. Expression des résultats

Lorsque l'absorbance augmente dans le milieu réactionnel, cela indique une augmentation du pouvoir réducteur des extraits [153]. La concentration EC_{50} est définie comme étant la concentration effective à laquelle l'absorbance est égale à 0.5, est un indice utilisé pour

comparer et exprimer la puissance des capacités réductrices des substances bioactives. L'activité de l'extrait est enfin comparée à celle de l'acide ascorbique.

4. Analyses statistiques

4.1. Matrice de corrélation

Dans cette partie, l'analyse en composante principale vise à établir l'apparition des corrélations existantes entre les composés bioactifs (polyphénols et flavonoïdes) et le pouvoir antioxydant par les deux méthodes DPPH et FRAP. Cette méthode permet d'interpréter la variation du contenu phénoliques chez 3 extraits ; extrait méthanol brute, extrait à l'éthanol (Sox) et extrait à l'éthanol (ASE) ces dernières ont été extraites par des méthodes d'extraction différentes.

4.2. Analyse en composantes principales (ACP) et de cluster hiérarchique (ACH)

Les corrélations de Pearson entre les tenures en polyphénols, flavonoïdes, et la capacité antioxydante par deux tests FRAP et DPPH ont été réalisées par ACP. Dans laquelle ACP avait exprimé les 3 échantillons en fonction de leurs teneurs en composés bioactifs dans un graphique afin de faciliter la compréhension des variations de données en fonction de la nature du solvant ou la méthode d'extraction. ACH a été fait pour rechercher l'interdépendance entre les extraits d'un cluster caractéristique ; de plus, le dendrogramme a été déterminé par le cluster technique de Ward et la distance euclidienne au carré, qui sont considérés comme des coefficients de similarité [154].

4.3. Analyse des données

La corrélation entre tous les résultats des variables des extraits de cette étude a été faite par la corrélation de Pearson. L'association des variables avec les extraits de cette étude a été réalisée par ACP sous forme de représentation graphique par le logiciel XLSTAT 2014. L'analyse de la variance a été effectuée pour la vérification de la signification statistique par le test de Tukey à un niveau de confiance de 95,0 %, ainsi que les données ont été présentées sous forme de moyennes $\pm$ erreur standard de la moyenne à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 21.

5. Evaluation de l'activité antibactérienne

5.1. Préparation de souches bactériennes

Les micro-organismes testés comprenaient les bactéries suivantes : bactéries Gram+ : *Listeria monocytogenes* (CECT4032) et *Bacillus cereus* (CECT4094) et bactéries Gram- : *Escherichia*

coli (CECT515), *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (CECT4300) et *Cronobacter sakazakii* (ATCC6529). Nous avons opéré nos recherches sur ces souches compte tenu de leurs fréquentes rencontres dans le quotidien.

5.2. Méthode de diffusion sur disque

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour la détermination des activités antimicrobiennes des huiles essentielles de Thuya. Des disques de papier filtre stérile (6 mm de diamètre) ont été imprégnés de 10 µL d'huile pure ou 10 µL de chaque concentration d'échantillon (10, 20 et 50 mg/mL) et ont été placés sur les plaques de Petri inoculé qui ont ensuite été incubées pendant 24 h à 37°C [155]. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres. Tous les tests ont été effectués en triple. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antibiotique standard qui est l'ÉRYTHROMYCINE et le contrôle négatif est représenté par l'éthanol.

5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La méthode de dilution en bouillon a été utilisée pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI). Une gamme de concentrations d'huiles essentielles de 3.125 ; 6.25 ; 12.5 ; 25 et 50 µg/mL ont été utilisées pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle, qui est la quantité minimale de concentrations à laquelle les bactéries ne se sont pas développées (CMI) après 24 h à 37°C, cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique [156]. Les tests ont été réalisés dans des tubes à essai. L'huile essentielle a été dissoute dans le milieu de culture et transférée dans des tubes pour obtenir une dilution en série. Les tubes ont été inoculés avec 1 mL de suspensions microbiennes dans chaque tube. Ce test a été réalisé en double.

6. Evaluation de l'activité insecticide

L'étude a porté sur une Coléoptère : *Sitophilus granarius*. Les tests ont été réalisés au laboratoire LMNE de département de Chimie à la faculté des sciences de Rabat.

6.1. Position systématique

S.granarius a été décrit scientifiquement par Linné en 1758 comme *Curculio granarius*, puis Schoen-herr lui a donné le terme *Sitophilus granarius* en 1838 [157]. D'après Longstaff [158] sa classification est la suivante :

Tableau 4:Position systématique de *Sitophilus granarius* (L.)

Classification :	
Règne : <i>Animalia</i>	
Embranchement : <i>Arthropoda</i>	
Classe : <i>Insecta</i>	
Ordre : <i>Coleoptera</i>	
Famille : <i>Curculionidae</i>	

6.2. Biologie de *Sitophilus granarius* (L.)

S. granarius est un charançon aux mœurs essentiellement nocturne, se montre plus actif la nuit que le jour. Il peut vivre en permanence dans l'obscurité complète, son déplacement est relativement rapide [159]. La femelle de *S. granarius* dépose les œufs à l'intérieur des grains dans un trou qu'elle fore par son rostre, ce trou est ensuite rebouché par du mucilage [160]. Une fois éclos, la larve se développe à l'intérieur du grain qu'il va ainsi évider entièrement, et s'y nymphose pour ne sortir du grain que sous forme d'adulte parfait. Le nombre d'œufs déposés par une femelle pouvant atteindre 250 œufs [161].

Une température de 30°C et une humidité relative de 70% sont nécessaires pour son développement [162]. Les adultes vivent sept à huit mois dans les silos de stockage, se déplaçant autour de la masse de grains tout au long de la journée [163].

6.3. Elevage de masse

L'élevage de masse consiste à mettre dans un sachet une quantité de blé sain, auquel est ajouté du blé contaminé par *S. granarius*.

Ces sachets ont été hermétiquement fermés, et laissés pendant un mois à une température ambiante jusqu'à l'émergence des adultes. L'objectif de cet élevage étant de produire une masse suffisante d'individus.

6.4. Test de l'activité insecticide par contact

Ce test est réalisé pour évaluer le pourcentage de mortalité de l'insecte influencé par l'huile essentielle, en utilisant la méthode d'application [164] avec quelques modifications.

Dans une surface de 23.746 cm², des doses de 25 ; 50 et 100µL sont diluées respectivement dans 100µL d'acétone pour que la répartition soit homogène sur le papier filtre.

La solution huile + acétone est uniformément répartie sur un disque du papier filtre et un témoin reçoit 100µL d'acétone uniquement.

Cinq individus adultes de l'insecte sont déposés sur le papier filtre au milieu des boîtes de pétri. Le contrôle de mortalité s'est fait par dénombrement d'insectes morts du premier jour de traitement jusqu'à la mort de tous les individus. Chaque expérience a été répliquée deux fois. La mortalité a été calculée à 24 h après le traitement avec l'équation suivante : taux de mortalité = $A/B \times 100 \%$. B désigne le nombre total d'insectes testés et A représente le nombre d'insectes morts traités avec les échantillons.

$$\%MM \text{ (la moyenne de mortalité)} = \frac{A \text{ (Nombre de morts pour chaque dose)}}{B \text{ (Nombre total utilisé par dose)}} \times 100$$

6.5. Test de l'activité insecticide par fumigation

L'activité bio insecticide a été déduite à partir d'un test de fumigation effectué contre les insectes des denrées alimentaires [165]. Ces insectes (au nombre de 5) ont été mis dans un crachoir de Volume 69.08 cm³, dont le couvercle contient un papier filtre imbibé d'huile essentielle à différentes doses (25 ; 50 et 100µL). Le témoin n'a pas reçu d'huile. Le contrôle de mortalité s'est fait par dénombrement d'insectes morts du premier jour de traitement jusqu'à la mort de tous les individus.

Chaque expérience a été répliquée deux fois. Le taux de mortalité a été calculé chaque jour après fumigation en utilisant la même méthode que celle utilisée pour l'essai de toxicité par contact.

7. Lignine

Les ressources de biomasse naturelle de la sciure du bois Thuya (*T. articulata*) a été collectée en mars 2017 auprès de l'industrie du bois d'artisanat au Maroc (région de Khemisset).

7.1. Extraction de la lignine

La lignine a été isolée par procédé Klason, la sciure de bois réduite en poudre à l'aide d'un micro-broyeur, puis 15 g de cette poudre sont traités au Soxhlet en utilisant un mélange toluène-éthanol (2: 1, volume / volume). Le résidu est hydrolysé avec de l'acide sulfurique concentré à 72% pendant 2 heures à température ambiante. Après dilution avec de l'eau jusqu'à une teneur en acide sulfurique à 5%, le mélange obtenu a été porté au reflux pendant 4

heures. Le résidu insoluble, récupéré par filtration, est ensuite lavé jusqu'à neutralité du filtrat avec de l'eau distillée, puis il est séché à l'étuve pour peser et analyser [166].

Le rendement de la lignine dans le bois (%) a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$R \% = \frac{\text{Lignine (g)}}{\text{Matériel en bois (g)}} \times 100$$

7.2. Caractérisations de la lignine

7.2.1. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR)

Le spectre FTIR de l'échantillon de lignine a été mesuré par transmission directe en utilisant la technique des pastilles KBr. En spectroscopie infrarouge équipée d'un accessoire ATR (Attenuated Total Reflectance), l'échantillon est pressé en contact étroit avec un prisme. Au cours de la réflexion interne totale de la lumière infrarouge dans le prisme, une petite quantité de la lumière infrarouge pénètre dans l'échantillon, ce qui permet d'obtenir un spectre infrarouge. La profondeur de pénétration étant de l'ordre de quelques μm , ce procédé livre uniquement des informations sur la surface de l'échantillon. L'appareil utilisé est un spectromètre FTIR-ATR JASCO 4600 (Figure 32) qui permet un balayage de 4000 à 400 cm^{-1} avec une résolution de 0.964233 cm^{-1} . Il est muni d'un cristal en diamant, transparent en IR et d'indice de réfraction élevé. Le faisceau IR est réfléchi à l'interface échantillon-cristal puis dirigé vers un détecteur de type Pro One. L'ensemble est piloté par un logiciel spécifique "Spectra Manager" qui permet de faire le traitement des données et résultats. Les bandes caractéristiques de la lignine ont été attribuées selon la littérature.



Figure 32:Spectromètre infrarouge (FTIR-ATR JASCO 4600)

7.2.2. Analyse de diffraction des rayons X (DRX)

L'étude de diffraction des rayons X a été réalisée dans un diffractomètre à rayons X sur poudre (LABXXRD-6100 SHIMADZU) (Figure 33), en utilisant une longueur d'onde Cu-K α 1 de $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$. L'angle de balayage (2θ) était compris entre 5° et 70° avec un pas de 0.02° . L'identification des phases minérales dans l'échantillon a été réalisée en comparant le diagramme RX obtenues avec ceux de la base de données JCPDS-ICDD (Joint Committee on Powder Diffraction Standards – International Center for Diffraction Data).



Figure 33: Diffractomètre à rayons X sur poudre (LABXXRD-6100 SHIMADZU)

7.2.3. Analyses thermogravimétriques et thermiques différentielles (ATG-ATD)

Les analyses thermogravimétriques et thermiques différentielles (ATG-ATD) de la lignine extraite ont été réalisées sur un analyseur thermique simultané de type «LabsysTMEvo (1F)» et de marque SETARAM (Figure 34), qui permet d'effectuer les analyses en simultanées (ATG/DTG et ATD). Il est composé d'une structure intégrante :

- Une canne comportant deux creusets (Référence et Echantillon)
- Une balance TG associé à un capteur ATD (module de pesée)
- Un four à résistances métalliques pouvant monter jusqu'à 1600°C
- Un système d'introduction de gaz de balayage (N_2 , Air, He...)
- Un logiciel "Calisto" multitâche pilotant les différents modules (ordinateur)

Une circulation d'eau d'un débit de deux litres/min est maintenue en permanence dans le four de l'appareil pendant l'essai et le refroidissement. De même, un circuit du gaz de balayage est nécessaire pour conduire la plupart des réactions. Ce circuit a quatre objectifs principaux :

1. Protéger le creuset et l'échantillon de l'oxydation.

2. Protéger les capteurs de l'oxydation lorsque la température excède 500°C.
3. Evacuer l'air résiduel du four.
4. Choisir et imposer une atmosphère particulière pour faire réagir l'échantillon.

Lors de l'analyse thermique pondérale (Thermogravimétrie), la variation de la masse se distingue sur le thermogramme soit par une perte de masse (diminution de la masse) ou par un gain de masse. Conventionnellement, on oriente les pertes de masse vers le bas du thermogramme et les gains de masse vers le haut. Les pertes ou gains de masse sont déterminés en utilisant une fonction mathématique "variation de masse" du logiciel Calisto. A partir de la courbe TG enregistrée, le logiciel permet également de tracer la courbe dérivée DTG avec différents filtrages selon le niveau de bruit de fond de la courbe TG obtenue. Dans le cas de l'analyse thermique différentielle (ATD), le thermo-gramme se présente sous l'allure des pics orientés vers le haut ou vers le bas selon que la réaction est endothermique ou exothermique. Nos essais sont réalisés de la température ambiante à 800 ° C avec une vitesse de montée en température de 20 ° C / min et un débit d'air de 30 cm³ / min. La masse initiale des échantillons est d'environ 8 mg. Trois répliques ont été utilisées pour les analyses thermogravimétriques et thermiques différentielles.

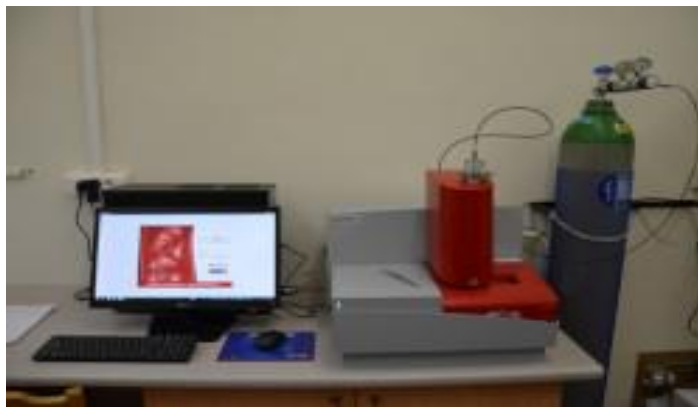


Figure 34:Appareil thermique LABSYSTM EVO (SETARAM)

7.2.4. Calorimétrie à balayage différentielle (DSC)

Le calorimètre différentiel à balayage (DSC) utilisé est un appareil de type SETARAM 121 (Figure 35) qui est constitué par un bloc calorimétrique traversé par deux tubes en alumine. La section intérieure des tubes est entièrement extrémité par une embouchure qui permet de connecter un système de circulation de gaz d'argon. Le cœur du bloc calorimétrique comporte deux cavités dans lesquelles sont disposés les détecteurs calorimétriques (deux thermopiles). Les détecteurs entourent la partie médiane des tubes formant ainsi les cellules laboratoire et témoin. Les deux ensembles thermopile + tube sont entourés par un four à effet Joule qui est

placé dans un bloc métallique, lui-même entouré d'une circulation d'eau. Deux sondes (résistances de platine) sont utilisées pour les mesures de la température de régulation du four et celle de l'échantillon. Les bornes des thermopiles sont reliées à un amplificateur, lui-même associé à un convertisseur analogique/numérique. Par ce biais, les variations de f.é.m. (force électromotrice) aux bornes des thermopiles sont transmises à un ordinateur qui offre des possibilités de visualisation graphique des phénomènes thermiques. Les essais sont réalisés de la température ambiante à 500 ° C, sous argon avec un débit de 10 cm³ et une vitesse de montée en température de 5 ° C.min⁻¹. La masse initiale de l'échantillon est d'environ 10 mg.



Figure 35: Calorimètre différentiel à balayage (SETARAM 121)

7.2.5. Analyse morphologique (MEB-EDX)

Des analyses MEB ont été effectuées avec un microscope Thermo Scientific Quattro S (Figure 36) pour observer la morphologie de la lignine extraite. Avant l'imagerie, l'échantillon a été séché à l'air et recouvert d'une couche de carbone pour augmenter sa conductivité. Le microscope a été fixé à une unité d'analyse aux rayons X à dispersion d'énergie (EDX). L'image de l'échantillon a été examinée en utilisant une tension d'accélération de 20 kV.



Figure 36: Microscope électronique à balayage (Thermo Scientific Quattro S)

8. Etude de l'adsorption du bleu de méthylène sur la lignine

Le bleu de méthylène est un colorant basique, aromatique et hétérocyclique avec la formule chimique brute suivante : $C_{16}H_{18}ClN_3S$ (Figure 37) et de masse moléculaire 373,9 g/mol. D'après la nomenclature IUPAC, le nom du composé chimique correspondant au bleu de méthylène est le : chlorure de bis-(diméthylamino)- 3,7 phénazathionium. A température ambiante le bleu de méthylène est une poudre inodore de couleur vert foncé [167,168].

Ce colorant est utilisé en biologie ou en chimie. De plus, il est couramment employé comme indicateur redox en chimie analytique. Sa présence dans des solutions aqueuses donne des colorations bleues dans un environnement oxydant, mais deviennent incolores quand elles sont exposées à un agent réducteur. Les solutions aqueuses du bleu de méthylène absorbent à des longueurs d'onde maximales de 664 nanomètres. Cette propriété est exploitée, car elle est particulièrement intéressante en raison de sa simplicité [168]. En médecine il est utilisé fréquemment comme marqueur afin de tester la perméabilité des structures, mais aussi comme traitement d'essai de la maladie d'Alzheimer en phase 2.

Malgré de nombreux avantages, ce colorant reste dangereux car il peut entraîner des désordres aigus ou chroniques, ou même la mort après inhalation, ingestion, pénétration ou adsorption par voie cutanée ou systématique à des concentrations bien déterminées. En outre, il est cancérogène, et peut perturber la reproduction et altérer la fertilité. Un grand nombre d'expériences utilisant ce colorant pour des études de la cinétique d'adsorption des matériaux fibreux [169].

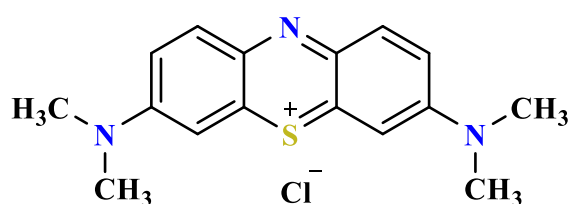


Figure 37: Structures chimique du Bleu de méthylène (BM)

Ce colorant très répandu est soluble dans l'eau et légèrement soluble dans l'éthanol et est utilisé dans divers domaines. Il s'agit d'un colorant cationique $C_{16}H_{18}N_3S^+$ adsorbé préférentiellement par les sites acides des adsorbants. Ce colorant est choisi comme modèle représentatif des polluants organiques de taille moyenne. Une courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration de colorant est tracée. Les

concentrations choisies à cet effet sont de 2 ; 4 ; 6 et 8 mg/L obtenues par dilution d'une solution mère aqueuse à une concentration de 10 mg/L.

Les isothermes d'adsorption du bleu de méthylène MB ont été établies à partir d'un ensemble de solutions aqueuses avec des concentrations variant dans une plage de 4.10^{-6} à $6.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (soit 1.28 mg.L⁻¹ à 19.19 mg.L⁻¹). Après adsorption, les concentrations en MB résiduel ont été déterminées par spectrophotométrie UV-visible via la loi de BEER-LAMBERT.

8.1. Temps d'équilibre

La cinétique d'adsorption fournit des informations sur les différentes étapes du processus d'adsorption entre les molécules et les particules adsorbantes en fonction du temps. C'est un critère important pris en considération lors du choix d'un adsorbant. Une adsorption rapide est recommandée pour les méthodes de traitement utilisant l'adsorption comme processus de purification.

La lignine extraite (0.05 g) a été placée dans 20 mL d'une solution de $6.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (19.19 mg.L⁻¹) MB. Ce système a été maintenu sous agitation à température ambiante. La concentration résiduelle de MB a été déterminée pour différents temps de contact de (0 à 180 min) afin que le temps d'équilibre puisse être évalué.

La quantité de colorant fixée au temps t est donnée par la relation suivante :

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_r) \times V}{m}$$

Avec : Q_t : quantité adsorbée de colorant en mg/g à l'instant t ;

C_0 : concentration initiale du colorant mg/L ;

C_r : concentration restante à l'instant t en mg/L ;

m : la masse du support adsorbant en g ;

V : volume de la solution en L.

8.2. Isothermes d'adsorption

L'isotherme d'adsorption est importante pour expliquer comment l'adsorbant va interagir avec l'adsorbat et donner une idée sur la capacité d'adsorption. Elle joue un rôle important dans la compréhension du mécanisme d'adsorption. Pour établir les isothermes d'adsorption, des solutions aqueuses de MB ont été préparées, dans une gamme de concentration de 4.10^{-6} à $6.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Une fois l'équilibre atteint, la quantité de colorant adsorbé, ainsi que la

concentration résiduelle de colorant en solution, ont été évaluées. Cet ensemble de valeurs donne un point de l'isotherme.

Plusieurs modèles d'isothermes d'adsorption sont donnés dans la littérature. Les modèles les plus utilisés sont les modèles de *Langmuir* et de *Freundlich*.

8.3. Paramètres thermodynamiques

Il s'agit de suivre les variations thermodynamiques qui se produisent lors d'une réaction d'adsorption ou de désorption et la détermination des différents paramètres thermodynamiques qui interviennent dans le processus d'adsorption. Les paramètres thermodynamiques sont la variation de l'enthalpie standard (ΔH°), la variation de l'entropie standard (ΔS°) et la variation d'énergie libre de Gibbs (ΔG°). Pour cela nous avons étudié l'influence de la température sur l'adsorption du MB sur la matière lignine. Pour cette série d'expériences, la quantité maximale adsorbée par 0.05 g de substrat en contact avec une solution aqueuse de MB à $6.10^{-5}\text{mol.L}^{-1}$ (19.19 mg.L^{-1}) a été déterminée dans une plage de température de 30 à 60 ° C.

Partie IV : RESULTATS ET DISCUSSION

**Chapitre I: Composition
chimique et activité
antioxydante des huiles
essentielles de différentes
parties de *T. articulata***

L'objectif de ce chapitre est l'évaluation de certaines caractéristiques biologiques des huiles essentielles de différents parties de la plante *T. articulata* collectées dans la région Khemisset du Maroc. Par l'extraction des HEs de la plante, l'identification des huiles essentielles par CPG-SM, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante des HE par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et la méthode de réduction de fer FRAP.

I.1. Détermination du rendement en HE

Dans le but de déterminer le temps optimal pour extraire le max de l'huile essentiel de sciure de bois ; nous avons effectué des extractions pendant 4, 6, 9 et 12 h ; les résultats obtenus sont regroupé dans le tableau suivant (Tableau 5).

Tableau 5:Évolution du rendement en HE de la sciure en fonction du temps d'extraction

Temps d'extraction	4h	6h	9h	12h
Rendement %	1.45±0.22	2.19±0.10	2.01±0.06	1.83±0.09

Ce tableau (Tableau 5) regroupe les résultats de l'étude du rendement en fonction du temps pour la sciure de *T. articulata* collectées dans la région de Khemisset. Le rendement moyen en huile essentielle obtenue par hydrodistillation varie entre 1.45 % et 2.19 %. Les rendements maximaux ont été obtenus entre 6 et 9 heures (2.19-2.01%), après ces temps le rendement diminue légèrement jusqu'à 1.83% en raison de l'évaporation de l'huile essentielle compte tenu que l'extraction n'est pas effectuée dans un système totalement fermé. De ces résultats nous constatons que le rendement optimal en huile essentielle est obtenu après 6 heures d'extraction, pour cela les prochaines extractions se font pendant 6h.

Les résultats de rendement obtenus en HE des différentes parties de la plante de *T. articulata* collectées dans la région Khemisset sont indiqués dans le tableau 6 :

Tableau 6:Rendements obtenus en HE des différentes parties de *T. articulata*

Rendement de l'extraction (%)	Feuilles	Cônes	Sciures
HE	0.46±0.03	0.33 ± 0.05	2.19±0.10

Le rendement moyen en huiles essentielles de feuilles de graines et de sciures, calculé après 6h d'extraction à partir de la matière végétale sèche en utilisant l'extracteur Clevenger, est de l'ordre de 0.46, 0.33 et de 2.19 %, respectivement. Le plus important est celui obtenu par

sciure (2.19%). Des rendements différents sont présents dans la littérature, en particulier au Maroc. Il a été rapporté que le rendement en HE extraite de feuilles de *T. articulata* de la région de Tétouan (Maroc) a été de l'ordre de 0.70 % [25], et celui de Khemisset de 0.22% [40]. Le rendement moyen en HE de sciures de *T. articulata*, prélevés dans la région de Khemisset en 2007 a été de l'ordre de 1.63 % [170], ce rendement étant inférieur au nôtre (2.19 %).

Pour les cônes ces résultats sont proches de 0.31% trouvés par Buhagiar et al [171], ont étudié les cônes d'huiles essentielles d'un peuplement cultivé de *T. articulata* (Vahl) Masters poussant à Malte. Différents rendements sont présents dans la littérature, notamment en Algérie. Il a été rapporté que le rendement en HE extrait des cônes frais de *T. articulata* de la région Hammam Melouan était de 0.80% et celui de la région Tipaza était de 1.60% [28]. De plus, le rendement en HE recueilli dans la région d'Ain-Defla était de l'ordre de 0.52% [35].

Nous obtenons des rendements d'extraction variant considérablement entre les différentes parties de la plante, comme il est connu dans la littérature. Ces variations sont également le résultat des facteurs suivants: la provenance de la plante (facteurs climatiques), les techniques d'extraction, le cycle végétatif, le temps de séchage de la plante, etc [172].

I.2.Composition chimique des HE

L'analyse de différents HE a permis d'identifier 22 composés dans l'HE de sciure de *T. articulata* de la région de Khemisset, représentant 87.25% de la composition totale, et 23 composés dans celle des cônes (92.93%) et 6 composés dans celle de feuilles de Khemisset représentent 97.89% de la composition globale.

I.2.1.Composition chimique d'huile essentielle des feuilles

Le spectre d'analyse CPG-SM obtenu par l'HE des feuilles est représenté dans la figure 38.

Nous avons identifié presque 97.89% des composés.

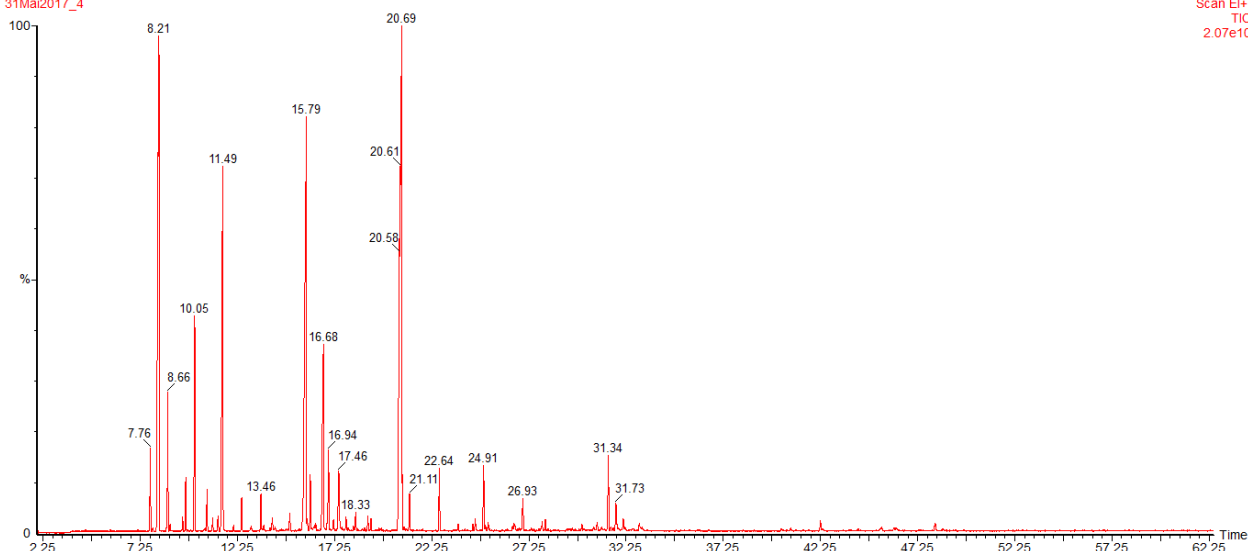


Figure 38:Chromatogramme d'analyse CPG-SM de l'huile essentielle des feuilles

Les résultats d'analyses CPG-SM sont indiqués dans le tableau 7. Ces résultats ont permis d'identifier 6 composés dans l'HE représentant 97.89% de la composition totale, nous remarquons que les composants de cette huile extraite du feuilles sont l'acétate de bornyle (39.95%), α - pinène (32.75%), D-limonène (16.84%), le bornéol (3.17%), β -myrcène (3.02%) et le camphre (2.16%) (Figure 39).

Tableau 7:Composition chimique de l'HE dans les feuilles de *T. articulata*

Composés	Temps de rétention	Pourcentages %
α - pinène	4.033	32.75
β - myrcène	4.806	3.02
D- limonène	5.415	16.84
Camphre	7.269	2.16
Bornéol	7.592	3.17
Acétate de bornyle	9.408	39.95
---inconnu --	10.303	2.12
Hydrocarbures monoterpéniques		52.61
Monoterpènes oxygénés		45.28
Hydrocarbures sesquiterpéniques		-
Sesquiterpènes oxygénés		-
Autres		-
Total		97.89

Pour l'HE des feuilles étudiées, Ces résultats sont proches de celles trouvés par Bourkhiss et al, ayant étudié les huiles essentielles des feuilles de *T. articulata* de la région de Khemisset (Maroc) en 2007 : ils ont signalé l'acétate de bornyle (30.74%), l' α -pinène (23.54%), le camphre (17.27%) et le limonène (23.31%) comme composés majoritaires [40]. Aussi proches des résultats trouvés par Toumi et al, qui ont examiné la composition chimique de trois HE des feuilles de *T. articulata* collectées dans trois régions différentes d'Algérie [173]. Les études comparatives réalisées dans la littérature sur l'HE de *T. articulata* des différentes provenances du Maroc révèlent néanmoins une hétérogénéité des composés majoritaires. En effet Barrero et ses collaborateurs ont identifié le camphre (19.10%), l'acétate de bornyle (16.50%) et le bornéol (9.60%) comme constituants majoritaires de l'HE des feuilles de *T. articulata* collecté dans la région de Tétouan du Maroc [25].

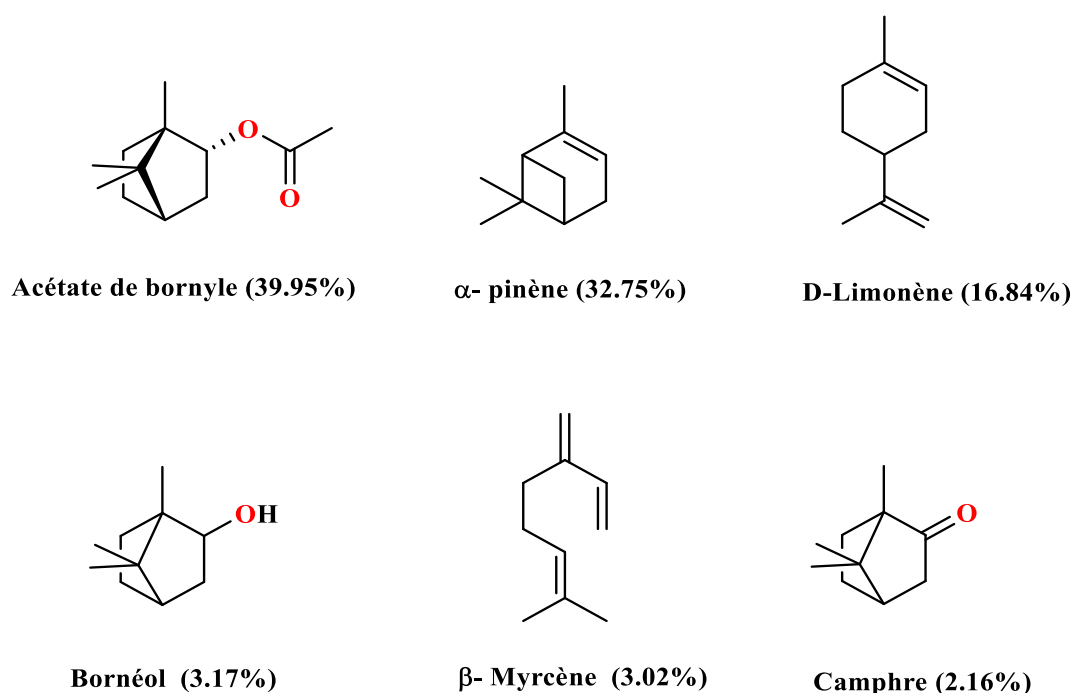


Figure 39: Structure des principaux composés identifiés dans l'HE des feuilles du Thuya

I.2.2.Composition chimique d'huile essentielle des cônes

Le profil chromatographique des analyses quantitatives et qualitatives (CPG-SM) de l'HE des cônes est représenté par la figure 40. Les composés identifiés de ces analyses sont rapportés dans le tableau 8.

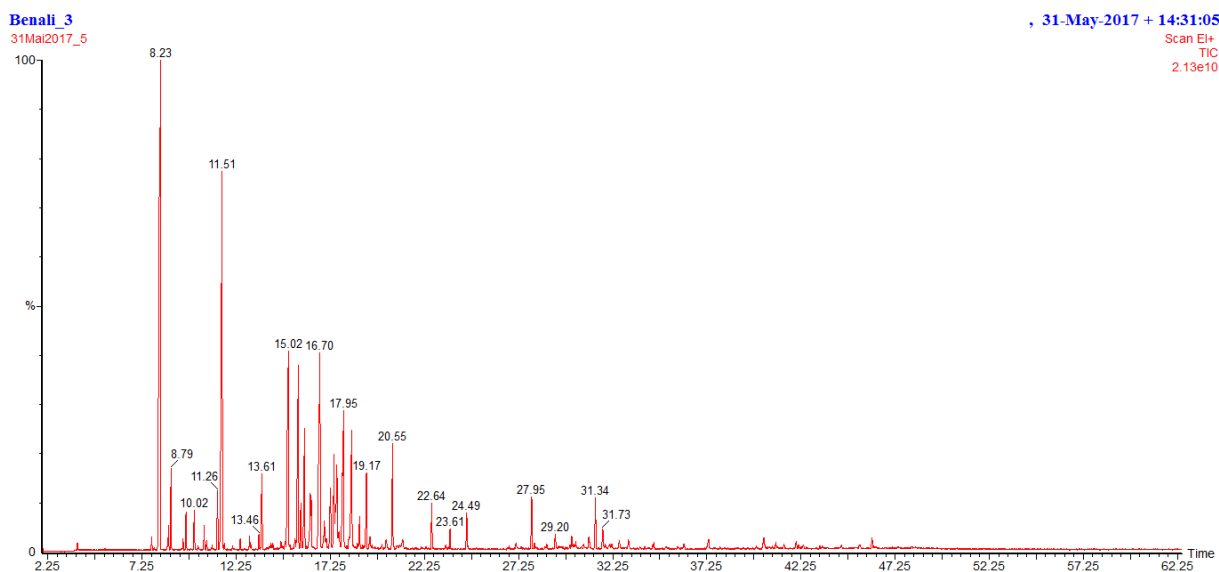


Figure 40: Chromatogramme d'analyse CPG-SM de l'huile essentielle des cônes

L'analyse CPG-MS d'HE des cônes de *T. articulata* a révélé la présence de 23 composés volatils avec un pourcentage total de (92.23%), les composés identifiés sont rapportés dans le tableau 8. Ces composés appartiennent à différentes classes, dont les monoterpènes oxygénés (52.44%) et les hydrocarbures monoterpènes (27.78%). De ces résultats, on note que cet HE est principalement composé d' α -pinène (18.33%), de Cis-verbenone (10.02 %), L-pinocarvéol (8.32%), Bicyclo [4.1.0] hept-2-ène (6.76%), α -campholénal (6.10%) et D-limonène (5.75%) (Figure 41).

L'étude comparative menée dans la littérature sur l'HE de cônes de *T. articulata* révèle une homogénéité des principaux composés. En effet, Buhagiar et ses collaborateurs ont identifié l' α -pinène (68.2%), le limonène (16.6%) [171]. Djouahri, qui a travaillé sur *T. articulata* comme plante antimicrobienne et anti-inflammatoire, a cité l' α -campholène (16.34%); trans-pinocarvéol (15.45%); verbénone (13.36%); cis-verbénol (12.36%) [35]. Dans une autre étude, Chikhoun et al, ont rapporté une composition chimique dominée par l' α -pinène; le β -myrcène; le limonène pour deux HE des cônes étudiés [28]. Ces résultats sont proches des résultats de Boussaïd et al, qui ont examiné la composition chimique de six HEs de *T.articulata* cônes collectés dans six régions différentes d'Algérie avec une différence quantitative [174].

Tableau 8 : Composition chimique de l'HE dans les cônes de *T. articulata*

Composés	Temps de rétention	Pourcentages %
α -pinène	4.033	18.33
2,4-thujadiene	4.325	1.99
p-xylène	5.045	0.66
o-cymène	5.347	1.71
D-limonene	5.410	5.75
Styrene, 2,5-dimethyl-	3.353	2.11
Linalool	6.474	0.85
α -campholenal	6.940	6.10
L-Pinocarveol	7.168	8.32
Cis-verbenol	7.232	2.96
3-Methylenecyclohexene	7.301	3.18
D-Pinocamphone	7.502	2.15
Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene	7.571	6.76
Terpinen-4-ol	7.745	1.26
Thymol	7.846	2.53
α -terpinéol	7.941	1.60
Myrtenal	8.052	5.22
cis-Verbenone	8.259	10.02
trans-2-Caren-4-ol	8.360	5.01
cis-Carveol	8.540	0.94
D-Carvone	8.757	2.62
Acétate de bornyle	9.387	2.18
Terpinyl acetate	10.292	0.68
Hydrocarbures monoterpéniques		27.78
Monoterpènes oxygénés		52.44
Hydrocarbures sesquiterpéniques		-
Sesquiterpènes oxygénés		-
Autres		12.71
Total		92.93

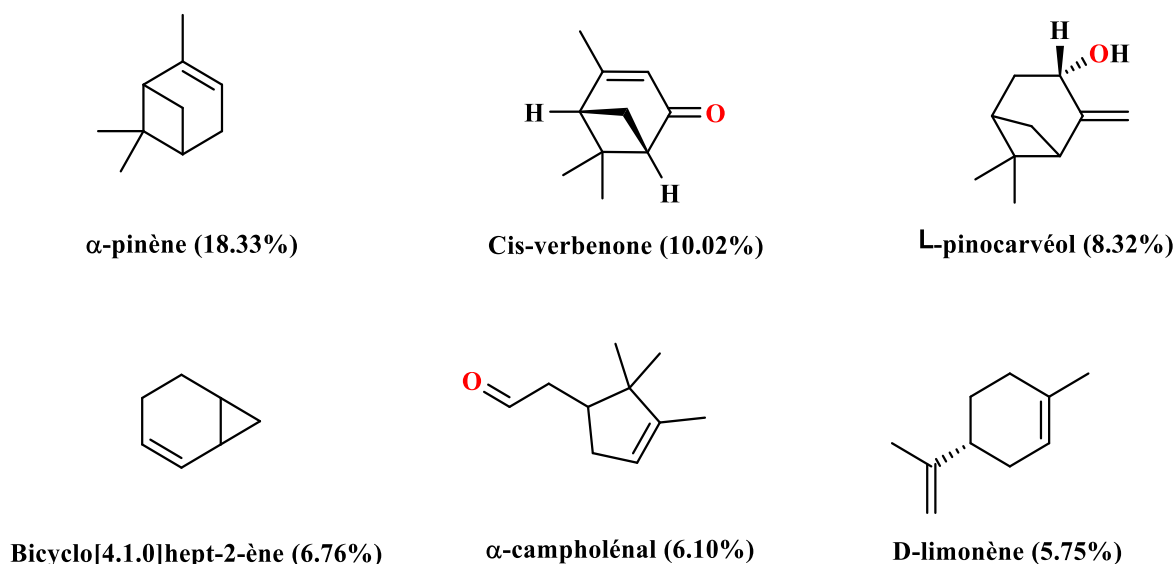


Figure 41: Structure des principaux composés identifiés dans l'HE des cônes de Thuya

I.2.3.Composition chimique d'huile essentielle de sciure de bois

La figure 42 montre le profil chromatographique des analyses CPG-SM de l'HE de sciure de bois. Les résultats de ces analyses sont indiqués dans le tableau 9.

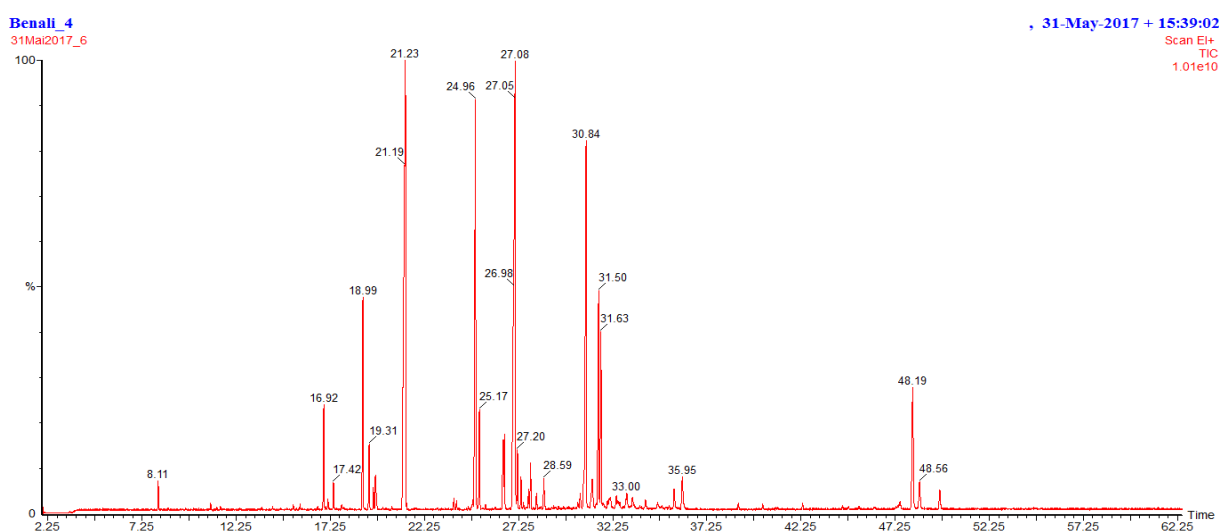


Figure 42: Chromatogramme d'analyse CPG-SM de l'huile essentielle de sciure

L'analyse GC-MS de TAHE de sciure a révélé la présence de 22 composés volatils représentant 87.25%. Ces composés appartiennent à différentes classes, y compris les monoterpènes oxygénés (49.2%), les hydrocarbures sesquiterpéniques (22.38%), les sesquiterpènes oxygénés (10.30%) et les hydrocarbures monoterpéniques (2.12%) (Tableau 9). Les principaux composés de cette HE sont le carvacrol (20.59%), l'acétoveratrone (17.47%), le cédrool (10.30%) et l' α -cédrène (8.99%) (Figure 43).

Tableau 9:Composition chimique de l'HE dans la sciure de *T. articulata*

Composés	Temps de rétention	Pourcentages %
Terpinène-4-ol	7.745	1.56
2-carène	7.941	0.44
Thymyl methyl ether	8.725	3.86
Thymoquinone	8.836	0.89
Carvenone	8.969	1.21
Carvacrol	9.588	20.59
α -Cédrène	11.309	8.99
α -copaène	11.436	1.87
Acoradiène	11.992	2.65
Acetoveratrone	12.162	17.47
2,5-Dimethoxyacetophenone	12.267	1.86
p-Crésol	12.405	0.69
α -Curcumène	12.564	0.44
γ -Pyronène	12.622	1.02
Cédrol	13.877	10.30
Pipéronylamine	14.041	0.8
Cedr-9-ène	14.184	4.88
β -curcumène	14.232	3.55
allo-ocimène	15.990	0.66
Isopropylphénol	16.181	1.07
Totarol	21.836	1.28
Carbofuran	22.667	1.83
Hydrocarbures monoterpéniques		2.12
Monoterpènes oxygénés		49.2
Hydrocarbures sesquiterpéniques		22.38
Sesquiterpènes oxygénés		10.30
Autres		3.91
Total		87.25

Nos résultats diffèrent considérablement de ceux rapportés dans la littérature. En effet, Barrero et al, ont identifié le cédrol, le 1,7-di-épi-cédrol et le 1,7-di-épi-isocédrol comme les composés les plus abondants dans l'huile de sciure [25]. Dans une autre étude, Zrira et al, ont rapporté une composition chimique de l'huile de sciure dominée par le carvacrol, l' α -cédrène, le cédrol et le terpinen-4-ol [175]. D'autres auteurs ont identifié d'autres composés majeurs comme le carvacrol, le cédrol, le para-méthoxythymol et la thymohydroquinone [176]. Dans l'huile essentielle de sciure de Khemisset produite en 2007, M'barek et al, ont signalé la présence d' α -acorénol (20.9%), de cédrol (17,9%), de totarol (8,8%), d' α -cédrène (8.7%) et le β -acorénol (7.4%) comme constituants principaux [170]. Satrani a cité la 2,5 diméthoxy-acétophénone (22.5%), le β -acorénol (20.4%) et le cédrol (12.2%) comme composés majoritaires dans l'huile essentielle de sciure collectée au Maroc [177]. Les études comparatives menées dans la littérature du *T. articulata* révèlent une hétérogénéité des composés majoritaires.

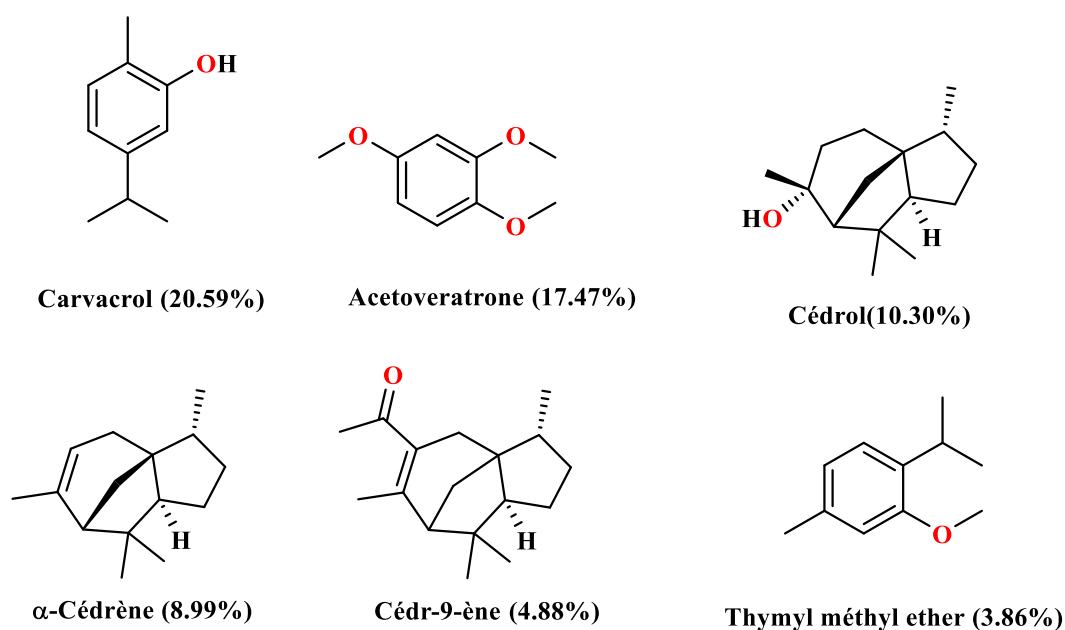


Figure 43: Structure des principaux composés identifiés dans l'HE de sciure de Thuya

I.2.4. Étude comparative

Généralement la composition chimique et les composés majoritaires précisément des huiles essentielles varient quantitativement et qualitativement sous l'effet de plusieurs facteurs les conditions écologiques, l'origine géographique, la partie analysée de l'espèce, le mode d'extraction, etc. [178].

L'examen des investigations a montré que *T. articulata* de différentes régions (Maroc, Algérie, Tunisie) contient de nombreux terpénoïdes [15]. De cet aperçu de la littérature, il ressort que la composition chimique varie quantitativement et qualitativement en raison de plusieurs facteurs tels que les conditions environnementales, l'origine géographique, la partie utilisée, la méthode d'extraction, etc [15].

La partie de la plante utilisée, la zone et la saison de récolte des plantes, la procédure d'extraction, le rendement obtenu et la composition majoritaire ont été comparés avec d'autres travaux rapportés dans la littérature listés dans le tableau 10.

Tableau 10: Comparaison de la composition chimique de *T. articulata*

Partie	Région (Pays)	Saison de récolte	Mode opératoire	R%	Composition chimique majoritaire	Références
Feuilles (séchées)	Khémisset (Maroc)	Mars (2017)	HD (6h)	0.46	Acétate de bornyle (39.95%) ; α - pinène (32.75%) ; D- limonène (16.84%).	Cette étude
Cônes (séchés)	Khémisset (Maroc)	Mars (2017)	HD (6h)	0.33	α -Pinène (18.33%) ; de Cis-verbenone (10.02 %) ; L- pinocarvéol (8.32%).	
Sciure (séchée)	Khémisset (Maroc)	Mars (2017)	HD (6h)	2.19	Carvacrol (20.59%) ; acétoveratrone (17.47%) ; cédrol (10.30%).	
Sciure (séchée)	(Malta)	Juillet	HD (2h)	1.53	α -Pinène (31%); acétate de bornyle (19,1%); camphre (18,1%).	[171]
Feuilles (séchées)		Novembre		1.20	α -Pinène (46,4%); acétate de bornyle (19,9%); camphre (7,3%).	
Cônes (mûrs séchés)		Octobre		0.31	α -Pinène (68,2%); limonène (16,6%); α -terpinéol (4,9%).	
Graines (séchées)		Octobre		0.55	α -Pinène (46,3%); limonène (25,3%); gennacrèneD (5,0%).	
Feuilles (séchées)	Tétouan (Maroc)	Avril (1998)	HD (6h)	0.7	Camphre (19,1%); acétate de bornyle (16,5%) ; bornéol (9,6%).	[25]
Sciure (séchée)				1.3	Cédrol (28,2%); 1,7-di-épi-cédrol (17,9%); 1,7-di-épi-isocédrol (5,4%).	
Sciure	Khémisset (Maroc)	-	HD (3h)	1.9	Carvacrol (25,9-35,1 %) ; α -cédrene (10,2-11,3%); terpinène-4-ol (2,8-3,5%).	[175]
	Aoulouz (Maroc)	-		3.75	Carvacrol (21,3-36,4 %) ; α -cédrene (10,1-13,1 %) ; inconnu (6,2-10,3%).	
Feuilles (séchées)	Khémisset (Maroc)	Février (2005)	HD (3h)	0.22	Acétate de bornyle (30,74 %) ; α -pinène (23,54%); camphre (17,27%).	[40]
Feuilles (séchées)	Marrakech (Maroc)	22 Décembre (2003)	SD (4 h)	0.28	Acétate de bornyle (36,4%) ; α -pinène (23,0%) ; limonène (9,7%).	[60]
Feuilles (Fraîches)	Marrakech (Maroc)	22 Décembre (2003)	SD (4 h)	0.06	α -Pinène (41,0%) ; acétate de bornyle (20,6 %) ; camphre (6,9%).	

Sciure	Khémisset (Maroc)	Mars (2007)	HD (3h)	1.63	α -Acorénol (20,9 %) ; cédrol (17,9%); totarol (8,8%).	[170]
Feuilles				0.22	Acétate de bornyle (30,6%); camphre (18,6%); α -pinène (16,8%).	
Feuilles	Khémisset (Maroc)	Mars (2007)	HD (3h)	0.22	Acétate de bornyle (30,6%); camphre (18,6%); α -pinène (16,8%).	[26]
Rameaux				0.41	α -Pinène (30,22%); limonène (22,29%); widdrol (5,41%).	
Tronc				1.63	α -Acorénol (20,9 %) ; cédrol (17,9 %) ; totarol (8,8%).	
Sciure (séchée à 105±2°C)	Oulmes (Maroc)	-	HD (3h)	2	α -Cédrène (22,69%); thymol (21,59 %) ; 3-tert-butyl-4-méthoxyphénol (19%).	[179]
Feuilles (séchées)	El Hacaiba (Algérie)	Juin (2008)	HD (3h)	0.75	Camphre (31,60%); acétate de bornyle (17,12%); bornéol (14,27%).	[173]
	Ouled Mimoun (Algérie)			0.78	Camphre (26,67%); acétate de bornyle (25,79 %) ; bornéol (12,76%).	
	Frenda (Algérie)			0.35	Acétate de bornyle (24,59%); camphre (23,41%); α -pinène (11,34%).	
Feuilles (séchées)	Tlemcen (Algérie)	Avril (2008)	HD (3h :30 min)	0.33	Acétate de bornyle (52,1%); caryophyllène (7,51%); acétate (6%).	[43]
Feuilles (séchées)	Hammam Melouane (Algérie)	Juillet (2009)	HD (3h)	0.40	Acétate de bornyle (40,2%); α -pinène (24,9%); limonène (9,6%).	[28]
	Tipaza (Algérie)			0.65	Acétate de bornyle (59,2%); α -pinène (19,8%); limonène (5,9%).	
Cônes (Frais)	Hammam Melouane (Algérie)			0.80	α -Pinène (57,5%); limonène (20,9%); β -caryophyllène (5,9%).	
	Tipaza (Algérie)			1.60	α -Pinène (75%); β -myrcène (10,6%); limonène (10,6%).	
Feuilles (séchées)	Boukornine (Tunisia)	Septembre (2011)	HD (by hexane)	-	Acétate de bornyle (31,4%) ; α -pinène (24,5%) ; camphre (20,3%).	[47]
Feuilles (Fraîches)	(Grèce)	Juin (2011)	HD (3h)	-	α -Pinène (26,4%); acétate de bornyle (25,3%); camphre (9,5%).	[55]
Partie aérienne	Tlemcen (Algérie)	Juin (2011)		0.31	α -Pinène (32,0%); cédrol (11,0 %) ; 3-carène (9,6%).	[44]
Rameaux feuillés (séchées)	M'rirt (Maroc)	Juin (2012)	SD (3h)	0.57	Acétate d'isobornyle (58,32%); α -pinène (9,31 %) ; camphre (9,23%).	[180]
Cônes (Frais)	Ain-Defla (Algérie)	Mars (2013)	(MAHE)	0.52	α -Campholénal (16,34 %) ; trans-pinocarvéol (15,45%); verbénone (13,36%).	[35]
Feuilles (séchées)	Sidi Bel Abbes (Algérie)	Janvier (2013)	HD (3h)	0.11	Camphre (19,6%) ; acétate de bornyle (18,7 %) ; germacrène D (7,6%).	[181]
Feuilles et fleurs	Tlemcen (Algérie)	Mars (2014)	HD (2h:30 min)	-	α -Pinène (23,6%) ; acétate de bornyle (20,7%) ; camphre (17,3%).	[182]
Cônes	Sabra (Algérie)	Septembre (2014)	HD (2h:30)	-	α -Pinène (62,4%) ; myrcène (11,6%) ; limonène (9,2%).	[174]

	Sabra (Algérie)		min)	-	α -Pinène (47,1%) ; limonène (6,9 %) ; (E)- β -caryophyllène (6,3%).	
	Ain Kebira (Algérie)			-	α -Pinène (73,6%); limonène (8,7%); myrcène (4,8%).	
	Ghazaouet (Algérie)			-	α -Pinène (55,9 %) ; limonène (21,6%) ; (E)- β -caryophyllène (2,6%).	
	Honaïne (Algérie)			-	α -Pinène (55,9 %) ; limonène (11,5%) ; myrcène (4,2%).	
	Sebdou (Algérie)			-	α -Pinène (68,4%) ; limonène (7,5%) ; α -campholénal (2,4 %).	
Sciure (séchée à 105±2 °C)	Khémisset (Maroc)	-	HD (3h)	2.2	3-tert-butyl-4-méthoxyphénol (35,02 %) ; thymol (22,83 %) ; cédrénol (13,60 %).	[41]
Feuilles (Fraîches)	Mostaganem (Algérie)	-	HD (3h)	0.68	α -Pinène (36,1%) ; acétate de bornyle (18,3%) ; limonène (2,9%).	[45]
Feuilles (séchées)		-		0.96	α -Pinène (44,1%) ; camphre (20,1%) ; limonène (5,0%).	
Feuilles (Fraîches)	Nabeul (Tunisie)	Octobre (2014)	HD (3h)	0.93	α -Pinène (56,21%) ; 1,8-cinéole (9,91 %) ; acétate d'isobornyle (7,46%).	[46]
Branches	Tafoughalt- zegzel (Maroc)	Avril (2016)	HD (3h)	0.84	α -Pinène (38,75%) ; limonène (13,24%) ; acétate de bornyle (8,78%).	[183]
Feuilles (Fraîches)	Ain- Defla (Algérie)	Juin (2011)	HD (3h)	-	α -Pinène (29,0%) ; acétate de bornyle (25,5%) ; camphre (16,6%).	[54]
Partie aérienne	Tlemcen (Algérie)	Juin (2014)	- (5h)	0.52	α -Pinène (32,0%) ; cédrool (11,0 %) ; 3-carène (9,6%).	[184]
Partie aérienne (séchée)	Immouzzrer (Maroc)	entre Mars et Mai (2016)	HD (4h)	-	Acétate de bornyle (43,78%) ; α -pinène (20,3%) ; bornéol (12,45%).	[185]
Feuilles (séchées)	Benslimane (Maroc)	Janvier (2018)	SD	0.5	Acétate de bornyle (35,05%) ; camphre (11,17%) ; α -pinène (10,84%).	[31]

I.3. Pouvoir antioxydant des HE

I.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante des HE (Test de DPPH)

L'activité antioxydante est réalisée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH) qui, comme nous l'avons expliqué avant, est une méthode fréquemment utilisée pour sa simplicité. Cette méthode est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée.



Figure 44: Evaluation de l'activité antioxydante par test DPPH

Le pouvoir de neutralisation du radical DPPH est en fonction de la concentration des différents échantillons utilisés.

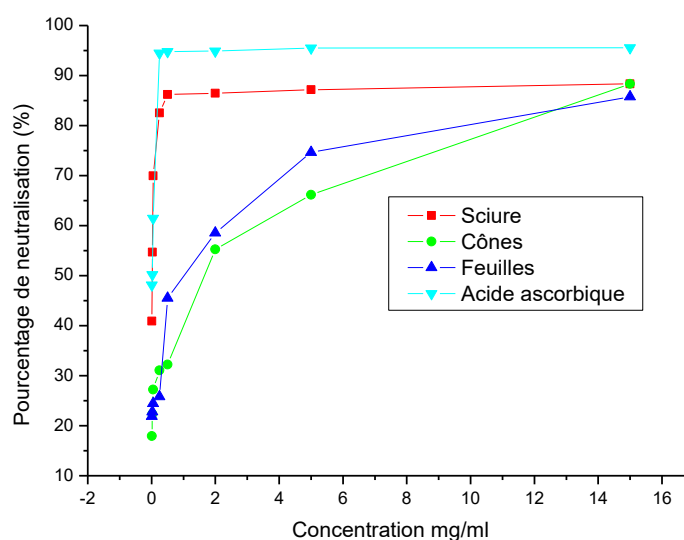


Figure 45: Evolution du pourcentage de neutralisation (%) obtenus par le test de DPPH pour les HE et l'acide ascorbique

D'après la figure 45, il est bien clair que les pourcentages de neutralisation des radicaux de DPPH augmentent avec l'augmentation de la concentration des HE et d'acide ascorbique utilisé comme antioxydant de référence. L'activité antioxydante des HE est exprimée en IC_{50} , ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour interpréter leurs résultats [186]. Il définit la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. En outre, plus les valeurs d' IC_{50} sont faibles, plus le pouvoir antioxydant est fort. Les IC_{50} sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés précédemment (Figure 45).

Tableau 11: Valeurs de (IC₅₀) pour le test DPPH dans le cas des HE

Échantillons	IC ₅₀ (mg/mL)
Feuilles	1.0615 ± 0.015
Cônes	1.677±0.026
Sciure	0.0144 ± 0.002
Acide ascorbique	0.0184±0.001

Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition (IC₅₀) calculées à partir des courbes de la figure 45, sont regroupées dans le tableau 11 où on constate que :

- Les valeurs d'IC₅₀ calculées pour nos huiles ont confirmé la réactivité de ces échantillons par rapport au DPPH.
- Les résultats obtenus ont démontré que de l'HE de la sciure possède une activité antioxydante plus importante que les autres huiles sur toute la gamme des concentrations étudiées avec une IC₅₀ = 0.01444 mg/mL, suivi par l'HE de feuilles qui contient aussi une inhibition importante (IC₅₀ = 1.0615 mg/mL), suivis par l'HE de cônes (IC₅₀ = 1.677 mg/mL).
- Nous pouvons classer la puissance de réduction du DPPH de différentes HE étudiées comme suit : sciure > feuilles > cônes.
- En comparaison à l'antioxydant de référence (AA), l'HE obtenue à partir de la sciure de bois est plus active (IC₅₀ = 0.01444 mg/mL) que l'antioxydant de référence dont l'IC₅₀ est inférieur à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 0.0184mg/mL), alors qu'elle est supérieure pour les autres HE. Cette forte activité de neutralisation des radicaux DPPH de l'HE de sciure peut être attribuée au pourcentage supérieur du carvacrol qui représente 18.78 % de l'huile totale, car ce composé est reconnu dans la littérature par son pouvoir antioxydant élevé [187,188].

On note que les sciures sont juste des déchets provenant de la transformation du bois et de la fabrication de panneaux et de meubles.

En comparaison avec la littérature, les valeurs obtenues sont supérieures à celles obtenues dans les travaux réalisés par El Jemli et ses collaborateurs sur l'HE des feuilles de *T. articulata* de la région de Marrakech (IC₅₀ = 12.05 ± 0.24 mg/mL) [59]. Les valeurs obtenues sont aussi supérieures à celles obtenues dans l'huile de bois des trois régions d'Algérie à

savoir : Zeddine ($IC_{50} = 113.47 \pm 4.19 \mu\text{g/ml}$), Mansoura ($IC_{50} = 125.75 \pm 3.33 \mu\text{g/ml}$) et Tazoult ($IC_{50} = 252.49 \pm 6.14 \mu\text{g/ml}$) [29].

I.3.2. Evaluation de l'activité antioxydante des HE (Test de FRAP)

Pour ce test, une gamme de concentration a été préparée pour chaque HE. Les valeurs des densités optiques obtenues montrent une augmentation proportionnelle du pouvoir réducteur en fonction des concentrations.



Figure 46: Evaluation de l'activité antioxydante par test DPPH

Ces résultats ont permis de tracer des courbes en évolution d'absorbance (Figure 21).

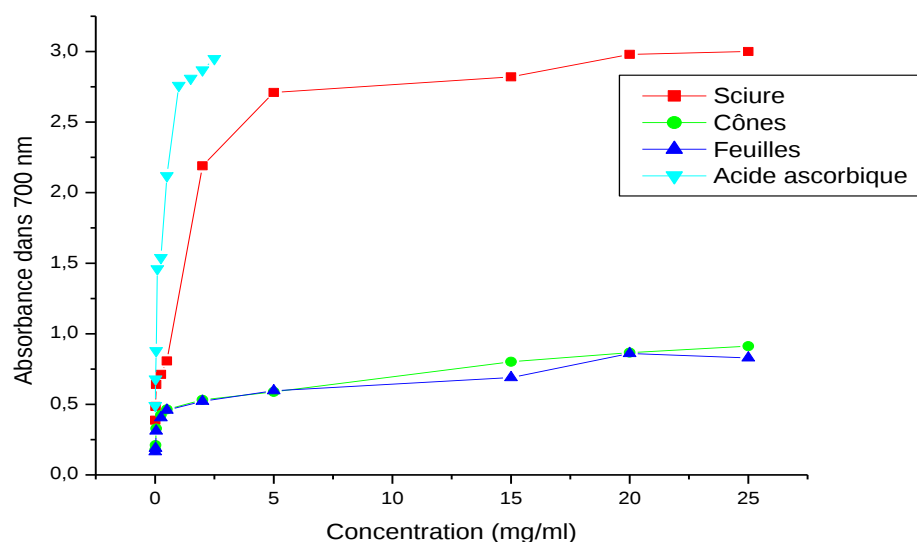


Figure 47: Evolution d'absorbance obtenus par le test de FRAP pour les HE et l'acide ascorbique

D'après cette figure 47, l'exploration des résultats se fait dans le tableau 12 par le suivi de l'évolution de l'absorbance en fonction de différentes concentrations de chaque huile étudiée.

Tableau 12: Valeurs de (EC_{50}) pour le test FRAP dans le cas des HE

Échantillons	EC_{50} (mg/ml)
Feuilles	1.4968 ± 0.011
Cônes	1.3261 ± 0.012
Sciure	0.0291 ± 0.001
Acide ascorbique	0.0106 ± 0.001

Les résultats représentés dans le tableau 12, montrent que le pouvoir réducteur (FRAP) des huiles essentielles de *T. articulata* augmente avec l'augmentation de la concentration. Ainsi, l'huile de sciure est la plus active ($EC_{50}=0.029\text{mg/mL}$), suivie de celle de cônes ($EC_{50}=1.326\text{ mg/mL}$) et de feuilles ($EC_{50}=1.496\text{mg/mL}$). Dans cette méthode les activités de réductions révélées pour les différentes HE sont inférieures à celles de l'antioxydant de référence (acide ascorbique $EC_{50}=0.01\text{ mg/mL}$).

Conclusion

L'examen des résultats de la composition chimique des HE de chaque partie de la plante Thuya, (feuilles, cônes et sciure) montre que chacune se distingue par sa composition tant du point de vue qualitatif que quantitatif, d'une région à l'autre et d'une espèce à l'autre. En comparant nos résultats à la littérature, la composition d'une huile essentielle dépend donc fortement de son origine. La variabilité de la composition chimique et la concentration relative de chaque constituant entre les différentes huiles peuvent être due à plusieurs facteurs. Les études de l'activité antioxydante selon la méthode de DPPH et celle de FRAP, réalisées sur les huiles essentielles de *T. articulata* dans la région de Khemisset ont conduit à la détermination de la IC_{50} et EC_{50} de ces huiles. Les résultats révèlent que ces HE ont une forte activité antioxydante, en particulier l'huile de sciure de bois. Cette étude peut trouver une application importante dans l'industrie pharmaceutique et l'industrie alimentaire.

Chapitre II : Evaluation de l'activité insecticide et antibactérienne de l'huile essentielle de sciure de Thuya

Dans le but de la valorisation l'huile essentielle de sciure de bois de la plante *T. articulata* collectée dans la région de Khemisset au Maroc. L'objectif de ce chapitre est l'évaluation de certaines caractéristiques biologiques par l'activité antibactérienne *in vitro* contre 5 bactéries : *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *C. sakazakii* et *S. Enteritidis* par méthode de diffusion sur disque et détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (MIC). Ainsi que l'étude de l'activité insecticide par la méthode de contact et la méthode de fumigation contre l'insecte *S. granarius*.

II.1. Pouvoir antibactérien de l'HE de sciure

II.1.1. Méthode de diffusion sur disque

La lecture des résultats obtenus se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après incubation. Les résultats du test de diffusion sur disque indiquent que l'huile essentielle de sciure de bois a montré un degré différent d'inhibition de la croissance pour chaque organisme (Figures 48, 49, 50, 51, 52) ;

II.1.1.1. Résultat de l'activité antibactérienne de l'huile de sciure de Thuya sur les souches à Gram positif

- ❖ *B. cereus* est une bactérie Gram-positive du sol ubiquitaire responsable de deux types de maladies gastro-intestinales associées aux aliments. Alors que le type émétique, une intoxication alimentaire, se manifeste par des nausées et des vomissements, les infections alimentaires par des souches entéropathogènes provoquent des diarrhées et des douleurs abdominales [189].

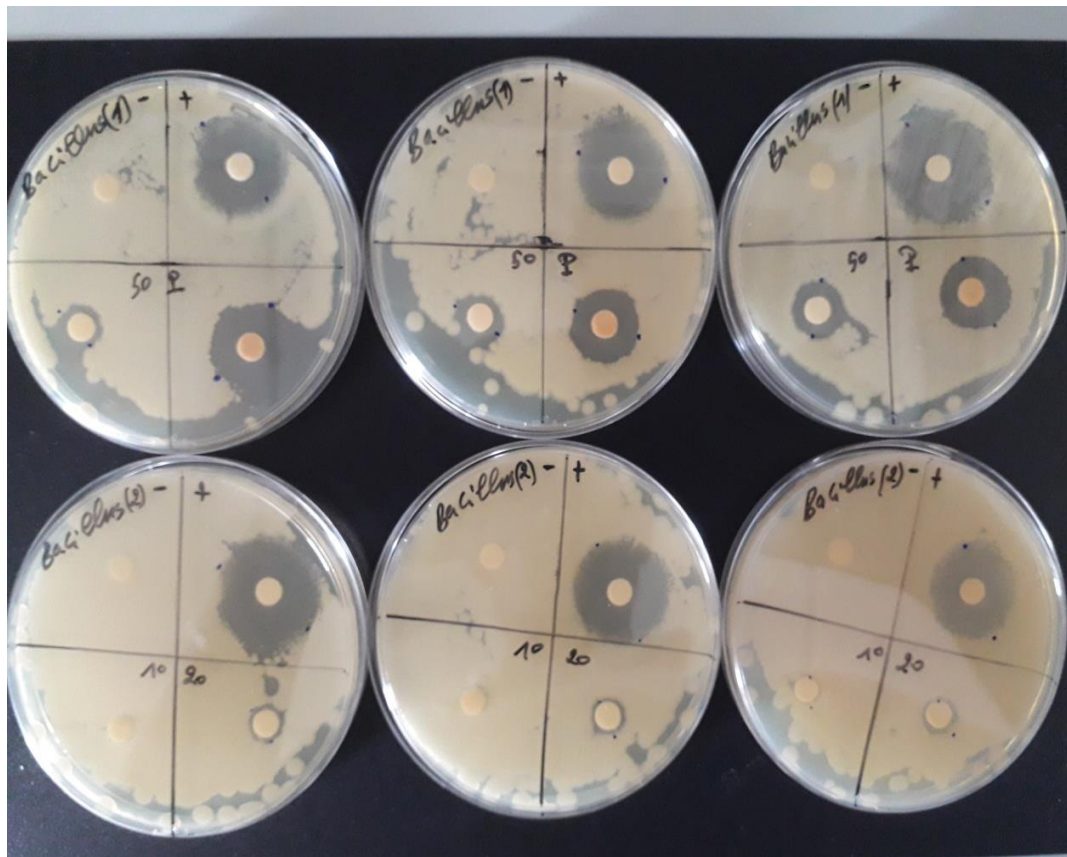


Figure 48:Résultat pour *B. cereus*

- ❖ *L. monocytogenes* est une bactérie Gram-positive de l'environnement responsable d'une zoonose appelée listériose, qui est souvent utilisée pour étudier la réponse immunitaire des mammifères à l'infection car elle est facile à cultiver, est relativement sûre à travailler et provoque une infection hautement prévisible chez les souris de laboratoire [190]. Cette bactérie peut être également responsable de gastro-entérites [191].

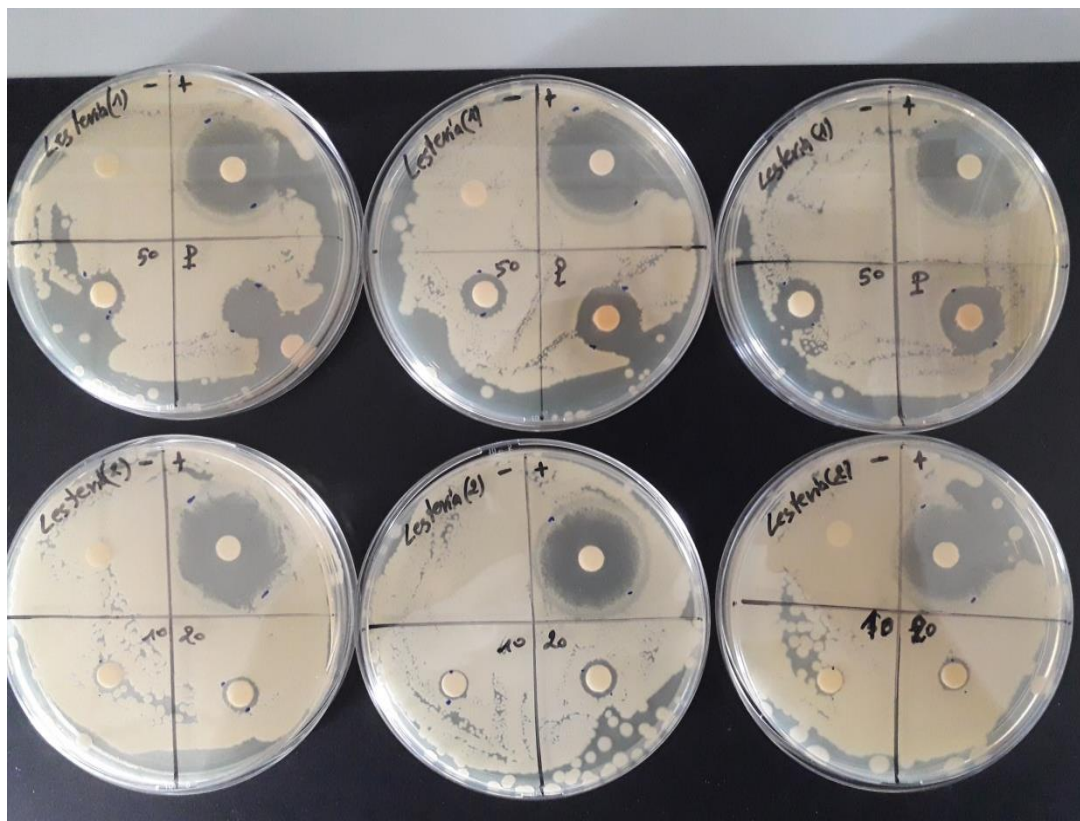


Figure 49: Résultat pour *L. monocytogenes*

II.1.1.2. Résultat de l'activité antibactérienne de l'huile de sciure de Thuya sur les souches à Gram négatif

- ❖ *E. coli* est une bactérie intestinale (Gram négatif) reste l'une des causes les plus fréquentes de plusieurs infections bactériennes courantes chez l'homme et l'animal. *E. coli* est la principale cause d'entérite, d'infection des voies urinaires, de septicémie et d'autres infections cliniques, telles que la méningite néonatale [192].

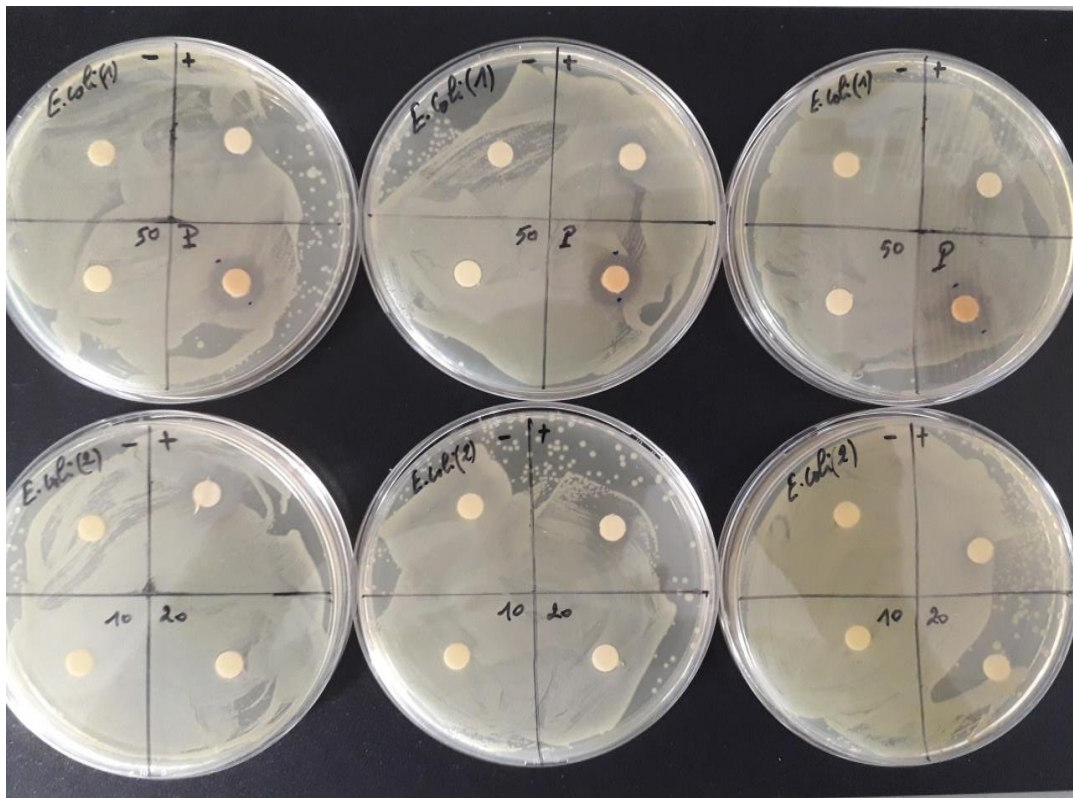


Figure 50: Résultat pour *E. coli*

- ❖ *C. sakazakii* est une bactérie à Gram-négatif, est un pathogène opportuniste qui peut provoquer des infections telles que l'entérocolite nécrosante, la bactériémie, la méningite et les abcès/lésions cérébraux [193].

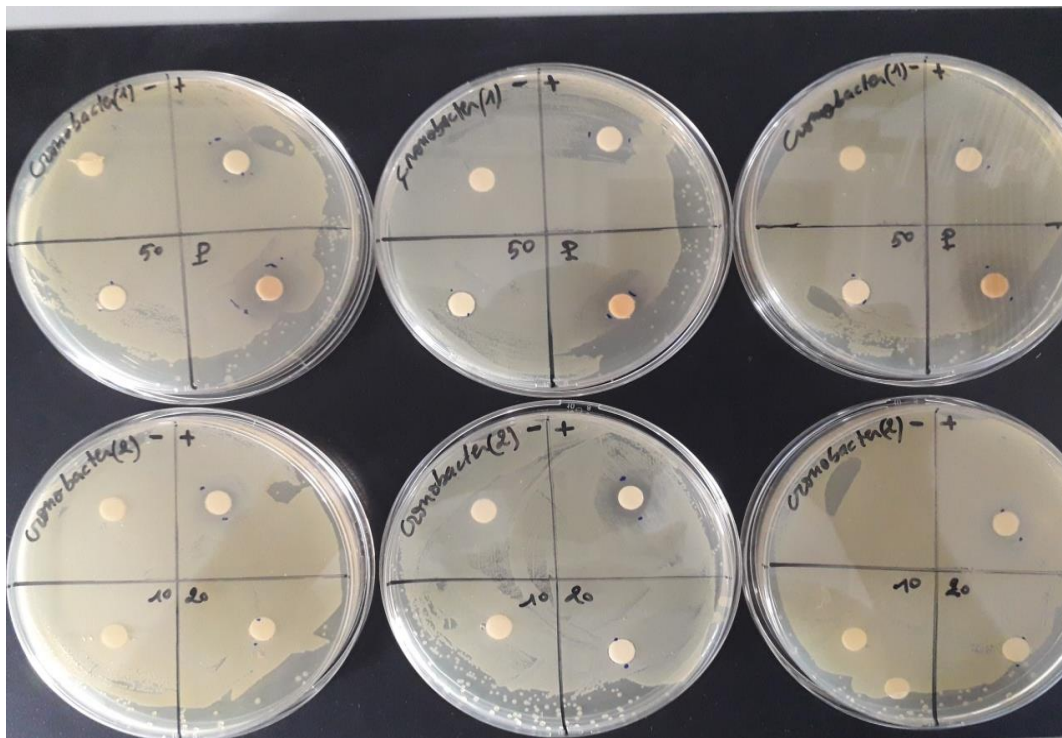


Figure 51: Résultat pour *C. sakazakii*

- ❖ **S. Enteritidis** est une cause fréquente de salmonellose chez l'homme. La volaille est considérée comme le réservoir naturel de *S. enteritidis*, et la bactérie est transmise aux humains par une mauvaise manipulation des produits de volaille [194]. Une cause majeure d'intoxication alimentaire, peut être transmise à l'homme par des œufs de poule intacts lorsque le contenu n'a pas été bien cuit. L'infection chez les poulets est asymptomatique ; par conséquent, des méthodes de détection simples, sensibles et spécifiques sont cruciales pour les efforts visant à limiter l'exposition humaine [195].

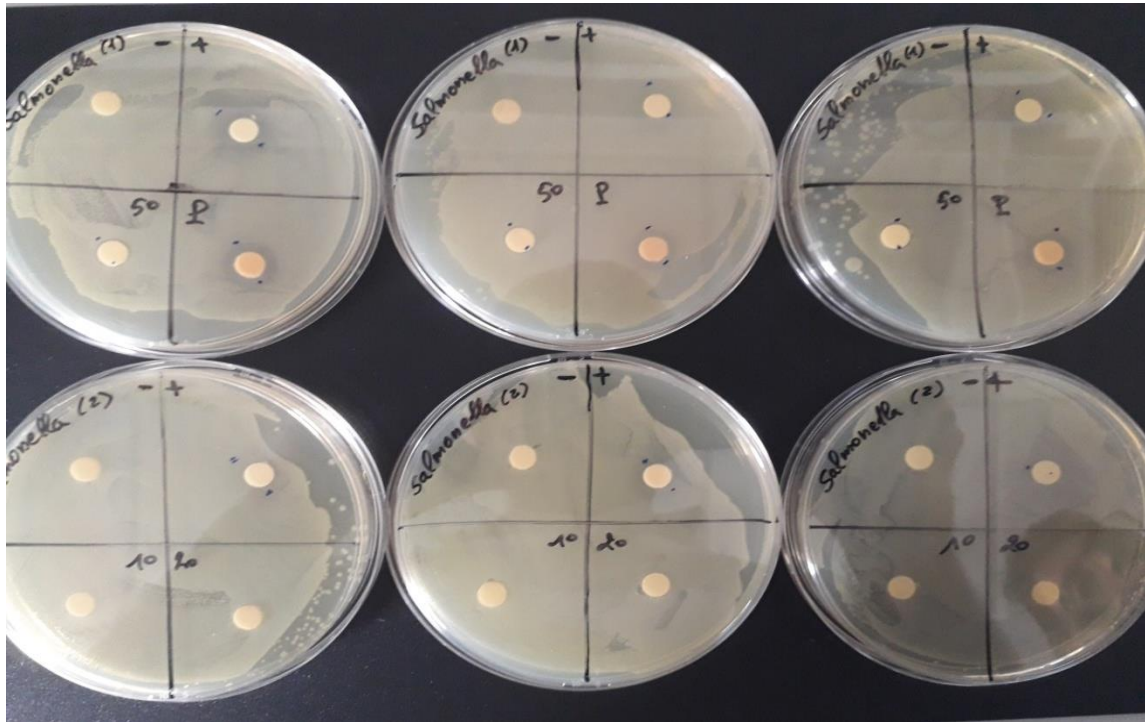


Figure 52: Résultat pour *S. Enteritidis*

Les diamètres d'inhibitions obtenus lors de criblage de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 13: Activités antibactériennes des huiles essentielles en utilisant la méthode de diffusion sur disque

Les micro-organismes testés (Bactéries)		Diamètres d'inhibition à différentes concentrations (mm)				
		10 mg/mL	20 mg/mL	50 mg/mL	Pure	Antibiotique
Gram ⁺	<i>B. cereus</i>	0.00±0.00	8.33±0.66	13±00	19±0.57	24.33±0.66
	<i>L. monocytogenes</i>	7.66±0.66	9.66±0.33	11.33±0.66	15.66±1.33	26.66±0.88
Gram ⁻	<i>E. coli</i>	0.00±0.00	2.33±2.33	8.00±0.00	12.66±0.33	13.33±0.88
	<i>C. sakazakii</i>	0.00±0.00	2.66±2.66	8.66±0.33	16.33±1.76	20.00±1.15
	<i>S. Enteritidis</i>	0.00±0.00	0.00±0.00	7.00±0.00	10.33±0.33	10.33±0.88

D'après les résultats trouvés, il apparaît que l'huile essentielle de la sciure du bois de Thuya a manifesté une activité. On remarque que toutes les souches bactériennes sont sensibles avec un diamètre d'inhibition considérable ; les souches Gram positives ont un diamètre d'inhibition avec une moyenne de l'ordre de 15.66-19 mm ; pour les souches Gram négatives on a observé une diminution de la zone d'inhibition par rapport à la concentration pure en huile essentielle avec un diamètre d'inhibition d'une moyenne de l'ordre de 10.33-16.33 mm. On trouve toujours pour chaque essai que le diamètre d'inhibition est proportionnel à la concentration en huile essentielle.

Les valeurs de diamètres d'inhibition obtenus dans le cas des concentrations sont généralement faibles par rapport à ceux obtenus dans le cas de l'huile essentielle pure. L'inhibition maximale a été enregistrée contre les bactéries Gram⁺. De plus, *S. Enteritidis* était plus résistante à l'huile étudiée que *E. coli* et *C. sakazakii*. Dans le cas de *B. cereus* et *L. monocytogenes*, elles révèlent un faible niveau de résistance à l'huile. Cependant, les bactéries à Gram négatif semblent moins sensibles à son action et cela serait directement lié à la structure de leur paroi cellulaire [196].

II.1.2. Concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles a été étudiée par la méthode de dilution en tube contre les cinq organismes testés (Figure 53).



Figure 53: Méthode de dilution en tube pour déterminer (CMI)

Le screening de l'activité antibactérienne de notre huile présente une activité antibactérienne élevée contre les 5 souches de bactéries testées (CMI varie de 3.125 à 6.25 µg/mL) (Tableau 14).

Tableau 14: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HE de sciure de Thuya contre 5 souches bactériennes

	Bactéries Gram⁺		Bactéries Gram⁻		
Concentration en HE (µg/mL)	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. sakazakii</i>	<i>S. Enteritidis</i>
1,562	+	+	+	+	+
3,125	-	+	-	-	+
6,25	-	-	-	-	-
12,5	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
CMI (µg/mL)	3.125	6.25	3.125	3.125	6.25

(+) = Croissance; (-) = inhibition

Notre huile essentielle de sciure de bois de *T. articulata* a montré un effet inhibiteur significatif contre les micro-organismes étudiés. Toutes les souches microbiennes ont été inhibées à la concentration de 6.25 µg/mL. Les microorganismes les plus sensibles à l'huile essentielle sont *B. cereus*, *E. coli* et *C. sakazakii* à la faible concentration de 3.125 µg/mL par contre *L. monocytogenes* et *S. Enteritidis* présentant une CMI de 6.25 µg/mL.

Certaines espèces microbiennes pathogènes deviennent moins sensibles aux antibiotiques et développent des résistances multiples. L'utilisation d'huiles essentielles est un substitut important aux antibiotiques. Dans ce contexte, nos résultats sur l'huile essentielle de sciure de Thuya (*T. articulata*) de la région de Khemisset au Maroc ont présenté des caractéristiques antibactériennes très intéressantes sur les microorganismes testés. Ceci est cohérent avec les recherches qui ont montré que l'espèce *T. articulata* a une activité antimicrobienne significative [41,196,197].

L'activité antibactérienne de l'huile de sciure de bois de loupe de *T. articulata* a été évaluée *in vitro* contre 4 souches bactériennes à savoir *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* et *Streptococcus*. Les résultats ont indiqué un bon effet antimicrobien contre *E. coli* (MIC=MBC=10 µl/mL), *Streptococcus* (MIC=MBC=10 µl/mL µg/mL), *K. pneumoniae* (MIC=MBC=10 µl/mL), tandis que *E. faecalis* était la bactérie la plus sensible avec MIC=MBC=5 µl/mL [41].

Djouahri et ses collaborateurs, ont étudié l'effet inhibiteur des huiles essentielles de cônes de *T. articulata* (Vahl) Masters contre *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus enterica*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* en utilisant des méthodes de diffusion sur disque et de microdilution en bouillon [35]. Selon cette étude, l'huile essentielle présentait un large spectre antibactérien contre les bactéries testées, dont la plus grande zone inhibitrice était de 17.50 mm contre *S. aureus*, tandis que la plus petite zone inhibitrice était de 10.50 mm contre *K. pneumonia* [35]. Dans une autre étude, Djouahri et al, ont montré que les huiles essentielles de feuilles et tiges de *T. articulata* récoltées au stade de la fructification ont la meilleure activité antimicrobienne contre les microorganismes testés (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. enterica*, *E. coli*, *K pneumoniae*, *P. aeruginosa*), que des parties de plantes récoltées aux stades floraison et végétative [42]. De plus, Djouahri et al, ont démontré que les feuilles de l'huile essentielle de *T. articulata* (Vahl) Masters exercent une activité antimicrobienne substantielle contre *S. aureus* [42]. Les activités antimicrobiennes des huiles essentielles des feuilles et des cônes de *T. articulata*

sauvage (Vahl.), en utilisant les techniques de diffusion sur disque et de dilution en gélose, ont été testées sur *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* et *E. coli*, tous les micro-organismes testés ont été inhibés par des échantillons d'huiles essentielles et les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) se situaient entre 0.2 et 1.0 g/mL [28].

Cependant, M. Bourkhiss et al, ont montré que l'huile essentielle était très active *in vitro* contre quatre souches bactériennes à savoir *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Micrococcus luteus*, et surtout *S. aureus* qui ont montré une sensibilité élevée [198]. Sadiki et al, ont évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de branches de *T. articulata*. Les résultats ont montré que l'huile essentielle présentait un pouvoir antibactérien prometteur contre les souches testées ; *E. coli* (MIC=MBC=2.5 µl/mL), *Klebsiella pneumoniae* (MIC=MBC=80 µl/mL), *Acinetobacter baumannii* (MIC=2.5 µl/mL) et *S. aureus* (MIC=40 µl/mL) [184].

Dans une autre étude, l'huile essentielle de feuilles de *T. articulata* (Vahl), récoltée dans le Moyen Atlas-Maroc, a été testée contre trois souches bactériennes cliniques. Il a été montré que cette huile était capable d'inhiber la croissance de *E. coli*, *S. aureus* et *K. pneumoniae* à respectivement 1.2 ; 2.4 et 9.7 µl/mL [199]. Le potentiel antibactérien des huiles essentielles de *T. articulata* (du Moyen Atlas-Maroc) a été évaluée contre trois souches Gram-positives et cinq Gram-négatives par Ibrahim et al, le résultat de cette étude a montré que les huiles essentielles de *T. articulata* inhibaient la croissance de toutes les bactéries Gram-négatives testées avec des valeurs MIC₉₀ comprises entre 46 et 913.1 ± 470 µl/mL. De plus, les huiles essentielles ont montré des activités bactéricides contre toutes les bactéries Gram-positives [200].

Pour notre étude, il ressort des résultats obtenus que l'huile essentielle de sciure de *T. articulata* de la région Khemisset procède une activité inhibitrice sur l'ensemble des bactéries testées aussi bien Gram négatives que Gram positives.

II.2. Pouvoir insecticide de l'HE de sciure

Les résultats trouvés vont être présentés sous forme d'histogrammes. Chaque test regroupe les pourcentages de mortalité des insectes traités par différentes doses de l'huile essentielle testée.

Remarque : Les insectes se trouvant dans la boîte pétri témoin n'enregistraient aucun mort. Nous avons gardé cette boîte de pétri avec les insectes plusieurs jours dans notre laboratoire et aucun mort n'a été signalé.

II.2.1. Evaluation de l'activité insecticide par contact

Pour tester l'activité insecticide de l'huile étudiée, nous avons adopté un test de contact dans lequel les insectes sont déposés sur du papier filtre au milieu de boîtes de Petri imbibées d'huile essentielle à différentes doses (Figure 54).

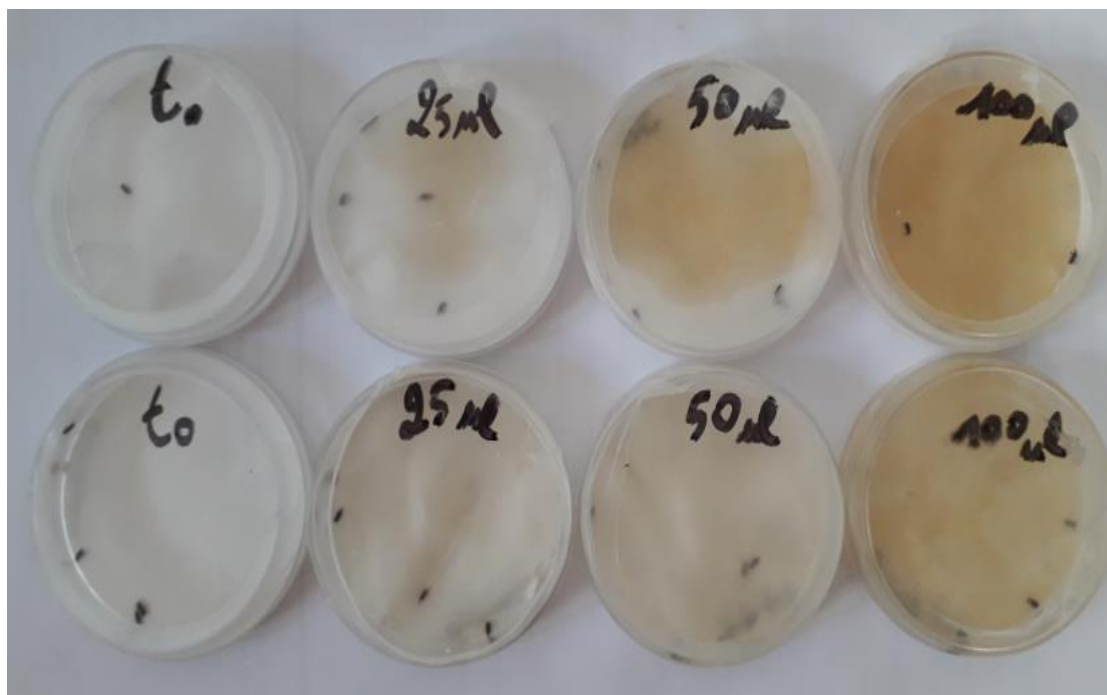


Figure 54:Test de l'insecte *S. granarius* par contact

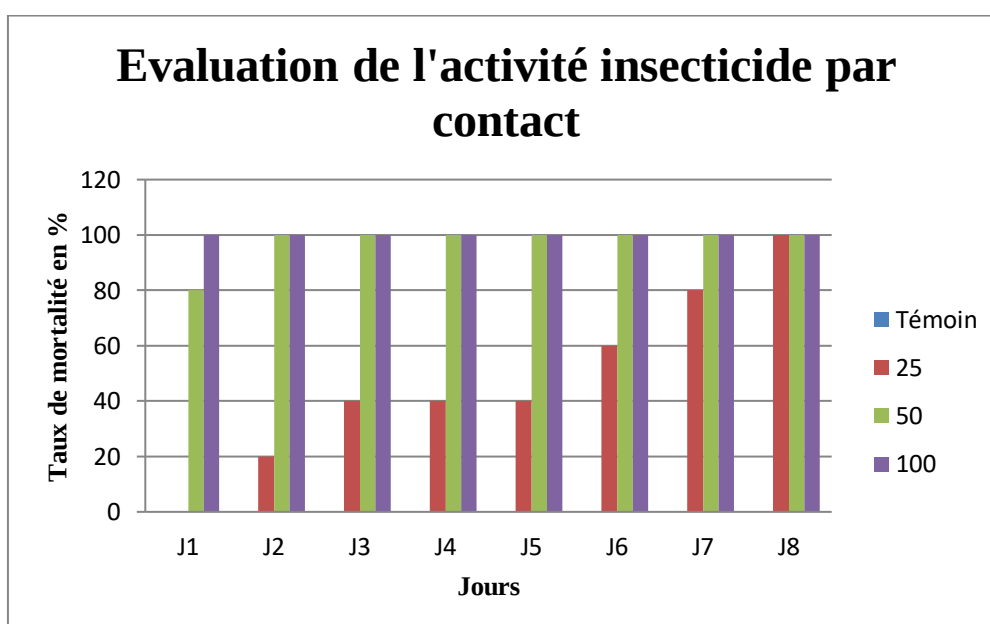


Figure 55:Pourcentage de mortalité de l'insecte *S. granarius* après traitement par contact

D'après les résultats présentés dans la figure 55, les taux de mortalité de *S. granarius*, augmentent en fonction des doses d'huiles utilisées et la durée d'exposition par contact. L'HE utilisées aux doses 100 et 50 μ L, ont montré des taux de mortalité plus élevés et même dès le premier jour du test.

Selon ces résultats nous pouvons conclure que l'HE de sciure de *T. articulata* est efficace, quelle que soit la concentration utilisée, puisque la mortalité des insectes était totale et cela dans la première semaine qui suivi le traitement.

Notre HE est révélée toxique pour cette espèce de *Coléoptères*, le pourcentage de mortalité est de 100% respectivement pour les doses de 50 et 100 μ L. Pour la dose 25 μ L, nous avons observé une toxicité aiguë provoquant la mortalité d'environ 20% dans le premier jour de traitement alors qu'elle a atteint 100% le huitième jour.

Les insectes subissant le traitement par une dose de 25 μ L ont montré une résistance qui n'a pas duré plus d'une semaine puisqu'on a pu atteindre la mortalité totale au bout du huitième jour. L'absence de mortalité au niveau du témoin (t_0) montre que notre test reste fiable pour l'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle testée.

II.2.2. Evaluation de l'activité insecticide par fumigation

L'activité insecticide a été étudiée cette fois au moyen d'un test de fumigation, où les insectes ont été placés dans un crachoir avec un papier filtre sur son couvercle imbibé d'huile essentielle à différentes doses (Figure 56).

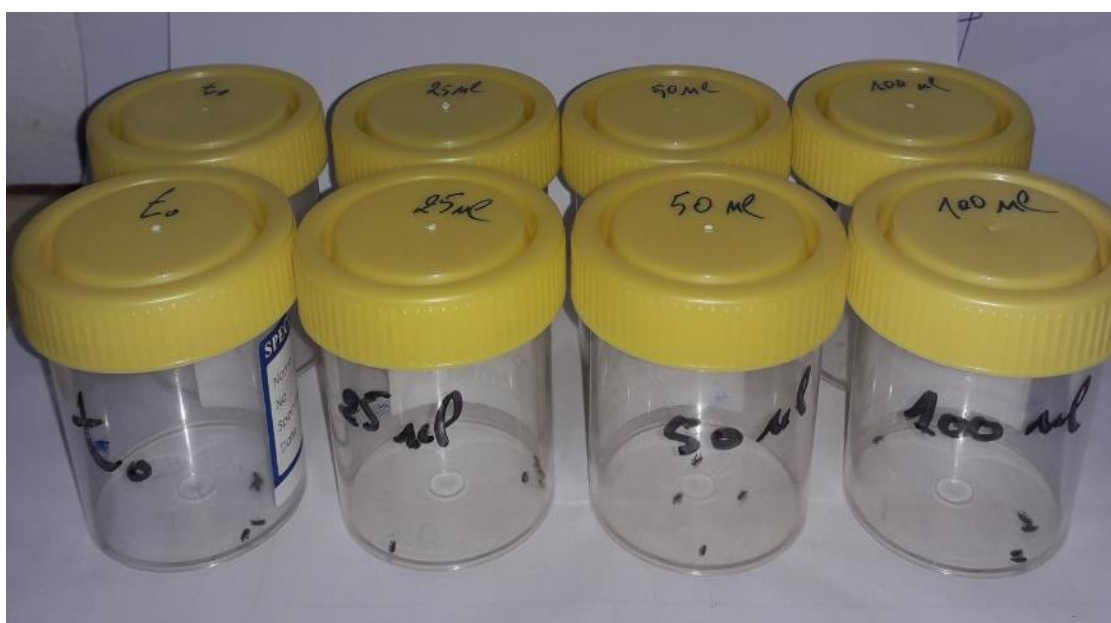


Figure 56: Test de l'insecte *S. granarius* par fumigation

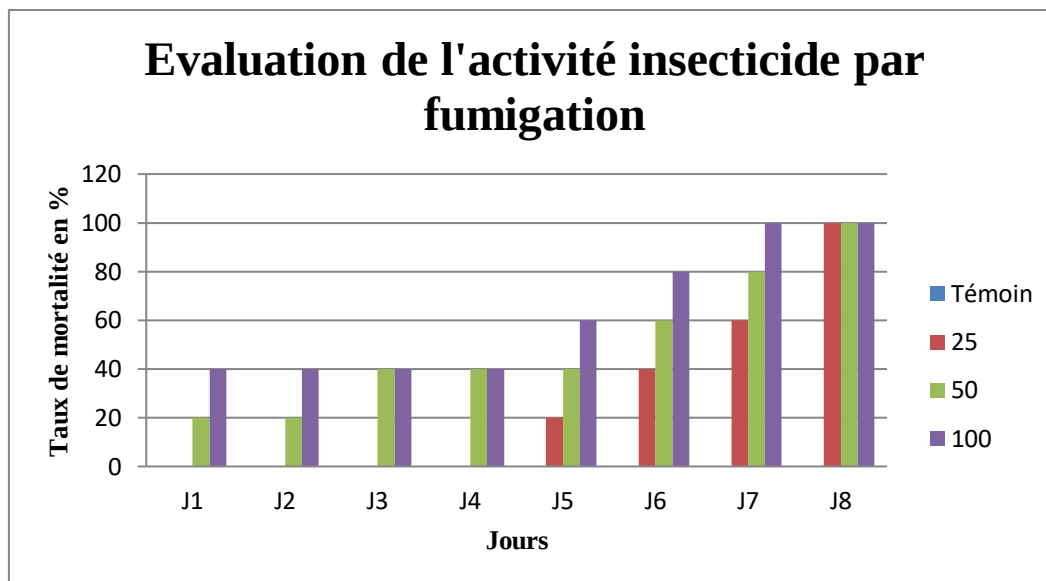


Figure 57: Pourcentage de mortalité de l'insecte *S. granarius* après traitement par fumigation

L'activité insecticide de l'huile essentielle de ces plantes ne nécessite pas beaucoup de temps pour se manifester, la mortalité maximale (100%) étant enregistrée le huitième jour post traitement avec une dose de 25 μL .

L'évaluation de l'activité insecticide d'HE a montré une différence significative en se basant sur le calcul des doses létales 10 et 50 (DL_{10} et DL_{50}) qui représentent la concentration marquant 10% et 50% respectivement de la mortalité des insectes (Tableau 15).

Ces deux paramètres ont été déterminés graphiquement à partir des allures représentant les taux de mortalité après 24 h d'exposition des insectes aux huiles essentielles en fonction des concentrations et ils sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 15: Doses létales 10 et 50 de l'huile essentielle testée

	Contact ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)	Fumigation ($\mu\text{L}/\text{cm}^3$)
DL_{10}	28.125 $\pm$ 0.003	38.910 $\pm$ 0.01
DL_{50}	40.625 $\pm$ 0.003	>100

D'après les résultats obtenus l'effet de l'huile essentielle de sciure de Thuya a été avérée plus toxique par contact que par fumigation, sur l'insecte des denrées stockées : *S. granarius*. La mortalité totale des insectes n'a atteint 100% qu'après 7 jours post traitement.

Tous ces tests effectués peuvent confirmer que le traitement des denrées alimentaires par l'huile essentielle issue des plantes aromatiques et médicinales peut être très efficace pour lutter contre les ravageurs de denrées alimentaires stockées. Cette huile contient des produits chimiquement très intéressants. Concernant l'huile testée riche en monoterpènes oxygénés et qui présente comme composé majoritaire le carvacrol (20.59%), acetoveratrone (17.47%) et le cédrol (10.30%) qui peuvent être responsable de cette activité bio-insecticide, cependant des auteurs ont mentionné que l'attribution de l'effet insecticide d'une huile essentielle à un ou quelques composés actifs qui lui sont caractéristiques est très difficile car tous les composés devraient contribuer à l'activité de l'huile [201].

L'activité insecticide des plantes médicinales a été évaluée par de nombreuses études. Dans ce contexte, les propriétés larvicides et insecticides de *T. articulata* contre de nombreux vecteurs ont été rapportées dans plusieurs études [38,55,56].

L'application des produits naturels peut présenter beaucoup d'avantages pour la santé de l'être vivant et pour son environnement par rapport aux produits de synthèse chimique qui contaminent globalement la biosphère.

L'obtention de ces produits naturels (huiles essentielles) nécessite beaucoup de professionnalisme et sans doute des dépenses élevées puisque pour avoir quelques microlitres d'huile essentielle il faut des quantités considérables de la matière végétale qui est devenue pourtant de plus en plus demandée sur le marché mondial. Mais les meilleurs résultats que l'on peut obtenir à court ou à long terme encouragent à préparer des produits naturels à ses fins. Il convient de noter ici que les sciures de bois ne sont que des déchets.

Conclusion

L'activité antibactérienne de l'huile a été évaluée in vitro contre 5 bactéries : *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *C. sakazakii* et *S. enteritidis* par la méthode de diffusion sur disque et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (MIC). Les résultats présentés ici ont indiqué que l'huile essentielle de sciure de bois de *T. articulata* avait un excellent effet inhibiteur contre les bactéries testées. De plus, l'activité insecticide de l'huile est sensible contre l'insecte *S. granarius*. Les résultats obtenus permettent de mettre en évidence le potentiel de valorisation de l'HE de la plante étudiée pour son utilisation dans la production. Notamment pour le développement de composés alternatifs pour traiter les infections causées par les agents pathogènes étudiés et comme source potentielle d'insecticide naturel respectueux de l'environnement.

Chapitre III: Extraits organiques

Dans le but toujours de valoriser le déchet des industries de bois ce chapitre a été consacré spécialement à l'étude par criblage phytochimique, la détermination des teneurs phénoliques et flavonoïdes, ainsi que l'activité antioxydante des extraits organiques à partir de différents solvants (éthanol ou méthanol) et des familles (flavonoïdes et alcaloïdes) de la sciure de *T. articulata* collectée dans l'industrie des déchets de bois dans la région de Khemisset au Maroc. On étudie l'effet de solvant d'extraction, méthode d'extraction et les fractions (flavonoïdes, alcaloïdes). L'objectif principal de ce travail est de contribuer à une meilleure valorisation de ces déchets.

III.1. Tests phytochimiques

Avant de calculer les rendements des flavonoïdes et des alcaloïdes dans la sciure de Thuya, on a d'abord vérifié leur présence ou leur absence au sein de notre échantillon. Les tests phytochimiques nous ont permis de détecter les différentes familles de composé par des réactions qualitatives.

III.1.1. Analyse qualitative

Un criblage phytochimique a révélé la présence ou l'absence de divers métabolites secondaires dans la sciure de Thuya, ces résultats sont présentés dans le tableau 16 suivant:

Tableau 16: Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques

Métabolites secondaires	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Tanins gallique	Tanins catéchiques	Saponosides	Stérols et polyterpènes
Observés	+++	++	-	-	-	+
						

(+++): Test fortement positive

(+): Test faiblement positive

(++): Test moyennement positive

(-): Test négative

Figure 58: Photos de certains tests de screening phytochimiques

Les analyses phytochimiques réalisées sur les extraits des végétaux est une étape préliminaire d'une grande importance puisqu'elle révèle la présence ou l'absence des constituants connus pour leurs activités biologiques et possédants des vertus médicinales [202]. Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques [203].

A partir de ces études phytochimiques, le tableau 15 montre que les flavonoïdes ont révélé une forte couleur rouge pour les extraits étudiés, ces résultats confirment la forte présence de ces composés flavonoïdes. Les alcaloïdes ont une présence positive, les stérols et les polyterpènes sont peu présents. Pour les saponosides, les tanins ; le gallique et le catéchiques sont totalement absents des extraits. La forte présence de flavonoïdes dans notre extrait est probablement responsable des effets de piégeage des radicaux libres observés. En effet, les flavonoïdes sont des composés phénoliques en plante médicinale qui sont reconnus pour leur potentiel antioxydant [204]. Pour les alcaloïdes, ils ont montré qu'ils exercent un large spectre d'activité antimicrobienne, anticancérogène et antimutagène [205].

III.2. Détermination du rendement en extraits

III.2.1. Rendements des fractions (flavonoïdes et alcaloïdes) et l'extrait brut Méthanol

Le rendement en extrait méthanolique brut est de 11.45%, les rendements obtenus en fraction riche en flavonoïdes est 2.45%, suivis de la fraction riche en alcaloïdes 2%. (Tableau 17). Ces extractions sont issues de déchets, il est important qu'ils soient valorisés.

Tableau 17: Rendements obtenus en extraits organiques bruts et des phases de la sciure de *T. articulata*

Extraits	R (%)
Extrait Méthanol	11.45 ± 1.04
Fraction riche en flavonoïdes	2.42 ± 0.50
Fraction riche en alcaloïdes	2 ± 0.27

Plusieurs auteurs ont montré que le méthanol reste le solvant le mieux choisi pour extraire les antioxydants d'une plante, en particulier les polyphénols [206].

III.2.2. Rendements des extraits éthanoïques (Soxhlet et ASE)

Les rendements en extraits éthanoïques (après délipidation) des appareils Soxhlet et ASE, sont de l'ordre de 4.098 % et 3.452 %, respectivement (Tableau 18). Ces extractions rapportent des déchets, il est important de les valoriser.

Tableau 18: Rendements obtenus en extraits éthanœiques de la sciure de *T. articulata*

Extraits d'éthanol	R (%)
Soxhlet	4.098 $\pm$ 0.19
ASE	3.452 $\pm$ 0.41

III.3. Analyse quantitative

La détermination des composés phénoliques (polyphénols totaux (PPT) et flavonoïdes totaux (FVT)) présents au niveau des différents extraits de la plante étudiée a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Pour cela deux courbes d'étalonnages ont été réalisées.

III.2.1 Détermination de la teneur phénolique (PPT)

La courbe d'étalonnage est établie en utilisant l'acide gallique comme référence, les teneurs en phénols des extraits (méthanolique et éthanœiques) ont ensuite été calculées à partir de cette courbe et les résultats sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG / mg).

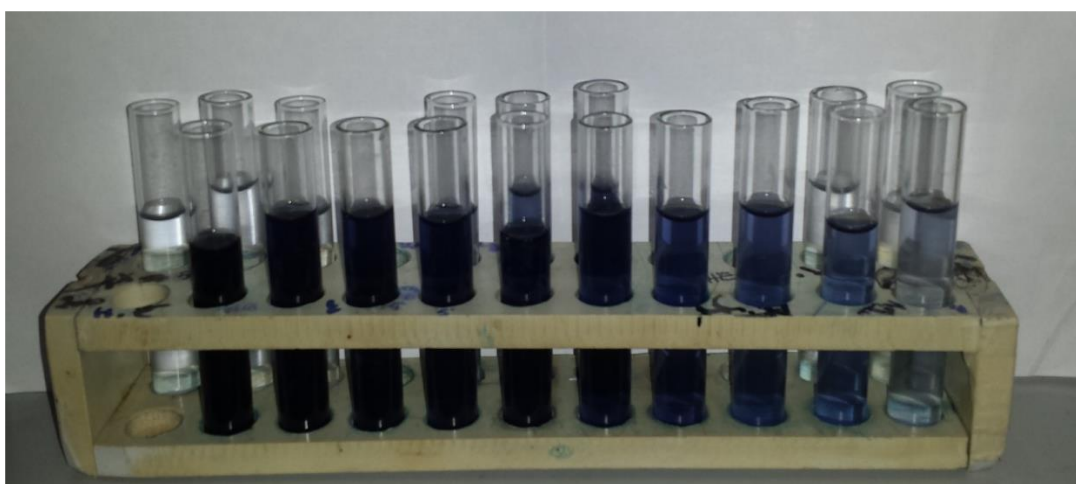


Figure 59: Evaluation de la présence des polyphénols

La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,996$ (Figure 60).

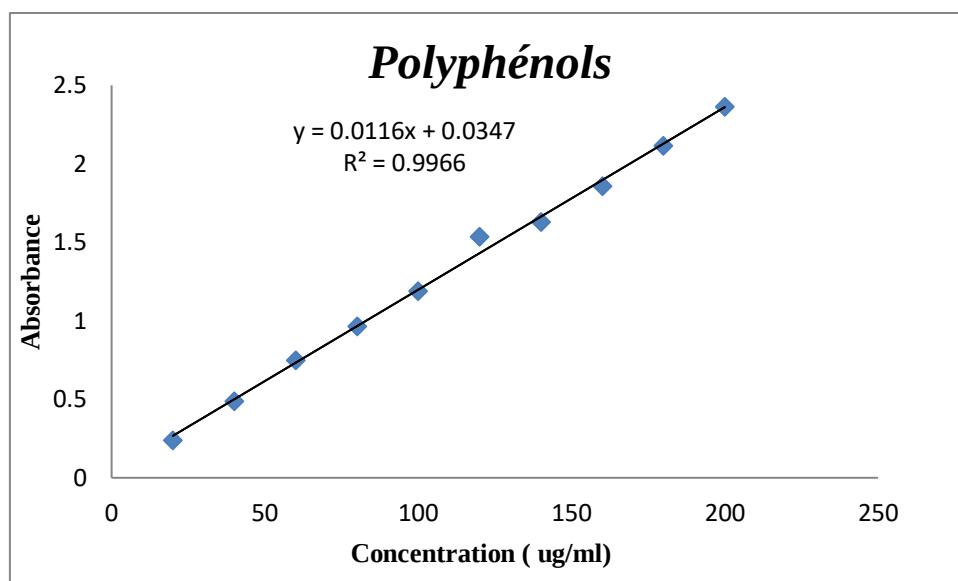


Figure 60: Courbe d'étalonnage pour l'acide gallique (A.G)

III.3.2 Détermination de la teneur en flavonoïdes FVT

La courbe d'étalonnage est tracée en utilisant différentes concentrations de quercétine. Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ} / \text{mg}$ d'extrait).

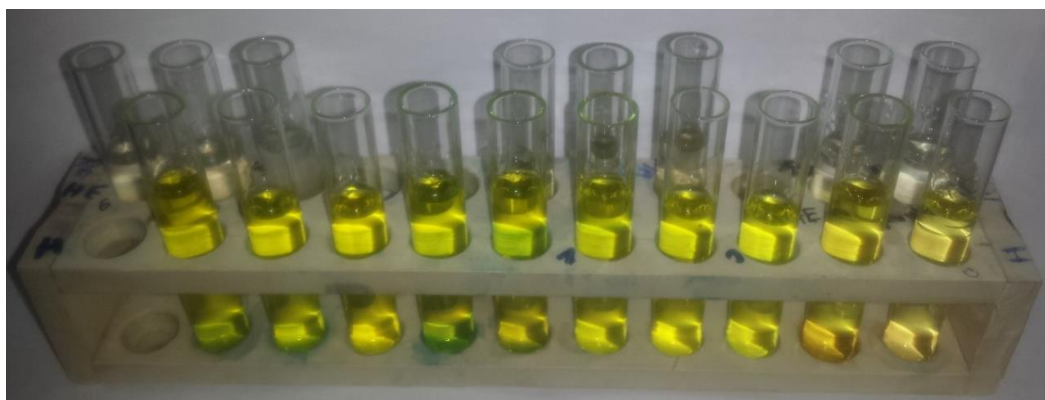


Figure 61: Evaluation de la présence des flavonoïdes

La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,998$ (Figure 61).

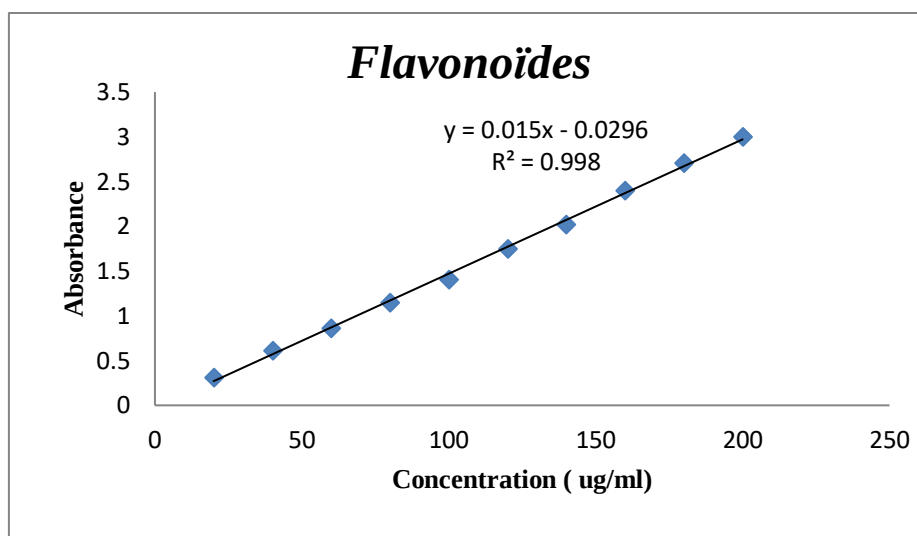


Figure 62: Courbe d'étalonnage de la quercétine (Q)

Tableau 19: Teneur totale en flavonoïdes et polyphénols des extraits organiques

	Extrait méthanol brute	Extraits à l'éthanol	
		Soxhlet	ASE
Polyphénols (µg EAG / mg d'extrait)	102.7 ± 0.9	151.33 ± 1.1	139.6 ± 1.8
Flavonoïdes (µg EQ / mg d'extrait)	60.09 ± 2.5	98.27 ± 0.3	87.18 ± 1.6

D'après ces résultats, les extraits ont montré des composés phénoliques et flavonoïdes élevés avec une très petite différence quantitative entre ces teneurs (Tableau 19). À partir de ces résultats, les extraits éthanoïques ont montré des composés phénoliques et flavonoïdes élevés. La forte teneur en phénols totaux a été enregistrée par l'extrait éthanol de Soxhlet avec une valeur de (151.33± 1.1µg EAG/mg et 98.27± 0.3 µg QE / mg). Suivi par l'extrait éthanol d'ASE (139.6± 1.8µg EAG/mg et 87.18± 1.6µg QE / mg). Enfin l'extrait brut méthanol (102.7± 0.9µg EAG/mg et 60.09± 2.5 µg QE / mg). Il est à noter que les extraits éthanoïques ont déjà subi un délipidation. Au terme de ces résultats, on observe que les solvants polaires (alcools) constituent les solvants idéals pour extraire les composés phénoliques de *T. articulata*.

Plusieurs études ont montré des teneurs élevées en phénols dans les extraits de différents organes de *T. articulata* [26,50,33,35,30,207]. De plus, d'autres études ont indiqué que les

extraits étaient riches en tanins condensés, en composés phénoliques et en flavonoïdes [47,48,208].

III.4. Pouvoir antioxydant des extraits organiques (tests de DPPH et FRAP)

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. En effet, de nombreuses recherches scientifiques se sont intéressées aux polyphénols, qui sont des composés naturels largement répandus dans le règne végétal et qui présentent de nombreuses propriétés, dû à leur pouvoir antioxydants, à savoir : l'anti-apoptotique, l'antivieillessement, l'anti-carcinogène, l'anti-inflammatoire et la protection contre les maladies cardiovasculaires [209]. La structure des polyphénols leur confèrent une activité antioxydante importante. En effet, leurs groupes hydroxyle sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogène ; ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote, en fin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu [210].

III.4.1. Pouvoir antioxydant des fractions (flavonoïdes, alcaloïdes) et l'extrait brut

D'après les figures 63 et 64, il est clair que les pourcentages d'effet antioxydant augmentent avec l'augmentation de la concentration des échantillons. L'activité antioxydante des différents échantillons étudiés pour la DPPH est exprimée en IC_{50} . Il définit la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire de 50% des oxydants. De plus, plus la valeur de l' IC_{50} est petite plus l'échantillon a un fort effet antiradicalaire. Pour le test FRAP, les valeurs (CE_{50}) qui sont définies comme les concentrations efficaces auxquelles l'absorbance est égale à 0,5.

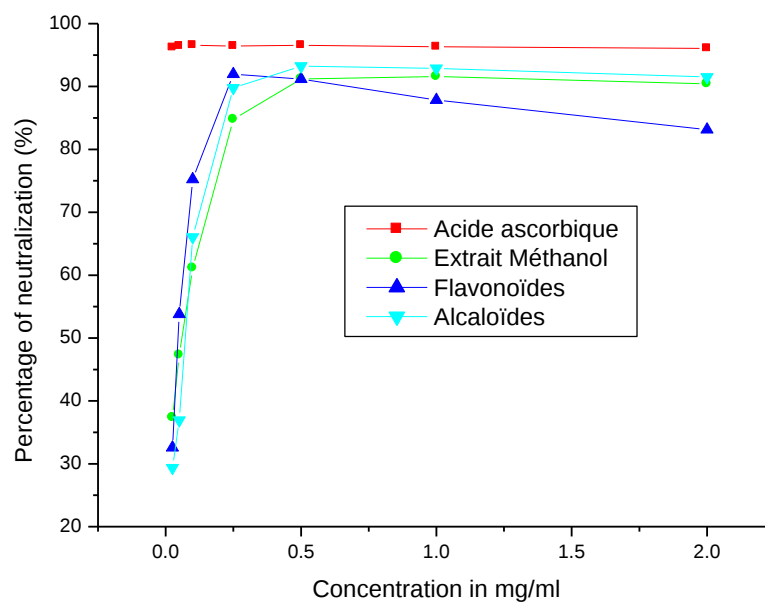


Figure 63: Evolution du % de neutralisation obtenu par le test DPPH pour les extraits et l'acide ascorbique

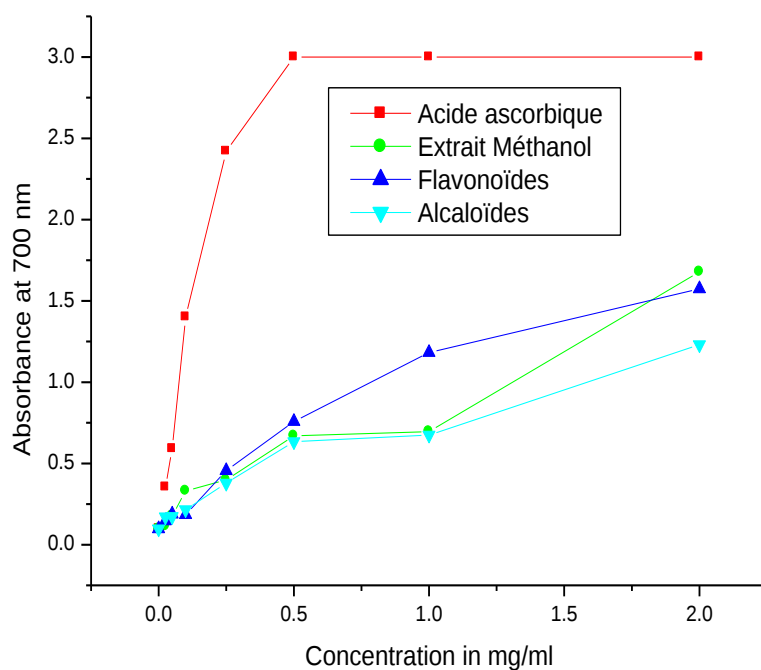


Figure 64: Evolution d'absorbance obtenu par le test de FRAP pour les extraits et l'acide ascorbique

Les valeurs IC_{50} et EC_{50} sont calculées graphiquement par la régression linéaire des graphiques tracés précédemment (Figures 63, 64). Les résultats qui fournissent des chiffres sont résumés dans le tableau 20, à partir duquel il ressort que:

Tableau 20: Valeurs (IC_{50}) et (EC_{50}) pour les extraits organiques

Échantillons	DPPH (IC_{50} mg/mL)	FRAP (EC_{50} mg/mL)
Acide ascorbique	0.0051 ± 0.0003	0.0473 ± 0.00085
Extrait Méthanol	0.0610 ± 0.005	0.3423 ± 0.001
Fraction riche en flavonoïdes	0.0495 ± 0.002	0.2999 ± 0.006
Fraction riche en alcaloïdes	0.0762 ± 0.001	0.3757 ± 0.002

Les valeurs IC_{50} et EC_{50} calculées pour nos extraits ont confirmé la réactivité de ces échantillons vis-à-vis des oxydants. Ce résultat obtenu a démontré que nos extraits de ces déchets de sciure de bois de Thuya ont une plus grande activité antioxydante. Nos résultats montrent que la sciure de Thuya a un pouvoir antioxydant important.

Le pouvoir antioxydant diffère selon les extraits ($0.0762 \leq IC_{50} \leq 0.0495$). En effet, l'extrait sélectif de flavonoïdes a une activité très élevée ($IC_{50} = 0.0495$ mg / mL; $EC_{50} = 0.2999$ mg/mL), suivi de l'extrait méthanolique brut ($IC_{50} = 0.061$ mg/mL; $EC_{50} = 0.3423$ mg/mL). Enfin l'extrait sélectif d'alcaloïdes révèlent le faible pouvoir anti radicalaire ($IC_{50} = 0.0762$ mg/mL; $EC_{50} = 0.3423$ mg/mL).

En comparaison avec l'antioxydant de référence acide ascorbique ($IC_{50} = 0.0051$ mg/mL ; $EC_{50} = 0.0473$ mg/mL), tous nos extraits sont moins puissants.

Nos valeurs montrent donc qu'il y a une corrélation entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante et confirment que les métabolites secondaires de la sciure de Thuya sont en synergie. En effet les extraits végétaux contenant plusieurs familles métabolites secondaires (pour notre cas il s'agit de l'extrait brut méthanol) présentent une activité antioxydante intéressante, suggérant qu'une majeure partie de cette activité est due à la combinaison de plusieurs substances.

Ce résultat est similaire à celui rapporté par Lahcen et al, les valeurs d'activité antioxydante obtenues par les flavonoïdes des feuilles de ciste sont plus fortes que celles de l'extrait brut et de l'alcaloïde [204].

III.4.2. Pouvoir antioxydant des extraits éthanoïques (Soxhlet et ASE)

D'après les figures 65 et 66, il est clair que les pourcentages d'effet antioxydant augmentent avec l'augmentation de la concentration des échantillons.

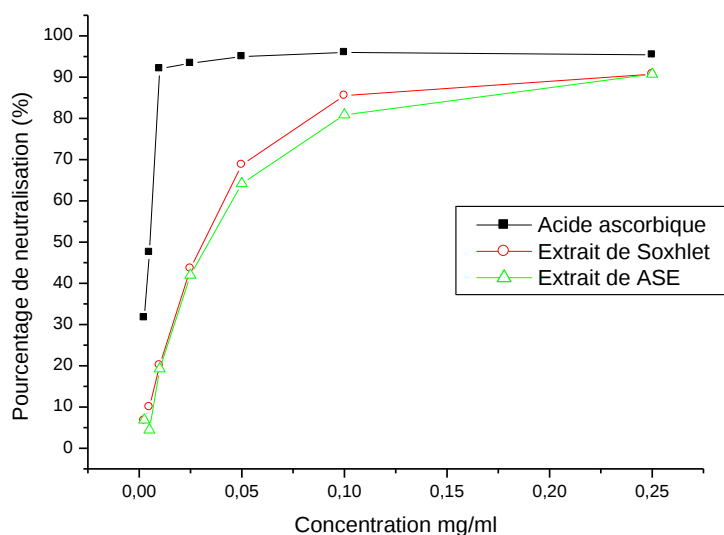


Figure 65: Evolution du pourcentage de neutralisation (%) obtenu par le test DPPH pour les extraits éthanoïques et l'acide ascorbique

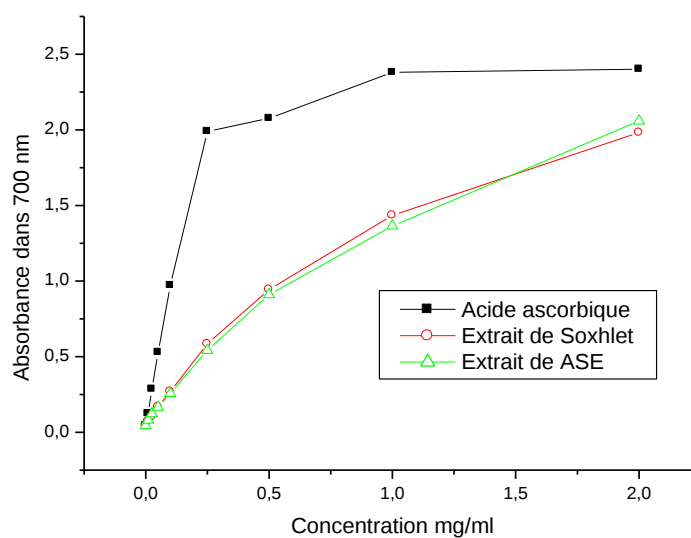


Figure 66: Evolution d'absorbance obtenus par le test de FRAP pour les extraits éthanoïques et l'acide ascorbique

Les valeurs IC_{50} et EC_{50} sont calculées graphiquement à partir des figures 65 et 66. Les résultats chiffrés sont résumés dans le tableau 21, d'où il ressort que :

Tableau 21: Valeurs (IC_{50}) et (EC_{50}) pour les extraits éthanoïques

Échantillons	DPPH (IC_{50} mg/mL)	FRAP (EC_{50} mg/mL)
Acide ascorbique	0.0051 ± 0.0003	0.0473 ± 0.00085
Extrait de Soxhlet	0.0315 ± 0.00025	0.2107 ± 0.002
Extrait de ASE	0.0343 ± 0.00005	0.2285 ± 0.0014

D'après les résultats résumés dans le tableau 21, on constate que :

Les valeurs IC_{50} et EC_{50} calculées pour nos extraits éthanoïques ont confirmé la réactivité de ces échantillons vis-à-vis des oxydants. Ces résultats obtenus ont démontré que les extraits à l'éthanol de ces déchets Sciure de Bois de Thuya ont une grande activité antioxydante.

Par rapport aux méthodes d'extraction, l'extrait de Soxhlet obtenue est un peu plus actif que l'extrait d'ASE. Le pouvoir réducteur (FRAP) des extraits éthanoïques de *T. articulata* augmente avec l'augmentation de la concentration. Ainsi, l'extrait de Soxhlet est le plus actif ($IC_{50} = 0.0315$ mg/mL; $EC_{50} = 0.2107$ mg/mL), suivi de celui d'ASE ($IC_{50} = 0.0343$ mg/mL; $EC_{50} = 0.2285$ mg/mL). Dans toutes ces méthodes, les tests d'activités anti-oxydantes ont révélé que les extraits d'éthanol de sciure de bois sont inférieurs à ceux de l'antioxydant de référence (acide ascorbique $IC_{50} = 0.0051$ mg/mL; $EC_{50} = 0.0473$ mg/mL).

En comparaison avec l'antioxydant de référence (acide ascorbique) tous nos extraits sont moins puissants. Nous observons une bonne corrélation entre les essais DPPH et FRAP. De plus, de nombreux auteurs ont également attribué la forte activité antioxydante des extraits de plantes à leurs niveaux élevés de composés phénoliques [211].

III.5. Corrélation entre la teneur en phénols totaux et l'activité antioxydante des extraits

III.5.1. Matrice de corrélation

Les coefficients de corrélation pour les polyphénols, flavonoïdes, et la capacité antioxydante par deux tests FRAP et DPPH sont présentés dans le tableau 22. Ensuite, DPPH ($1/DPPH$ IC_{50}) et FRAP ($1/FRAP$ IC_{50}) représentent le pouvoir d'inhibition.

Tableau 22: Coefficients de la matrice de corrélation de Pearson entre la capacité antioxydante, et les composés bioactifs

Variables	Polyphénols	Flavonoïdes	DPPH (1/DPPH IC ₅₀)	FRAP (1/FRAP IC ₅₀)
Polyphénols	1			
Flavonoïdes	0.999	1		
DPPH (1/DPPH IC ₅₀)	0.997	0.992	1	
FRAP (1/FRAP IC ₅₀)	0.999	0.996	0.999	1

Comme on peut le voir dans les tableaux 22 et 23, l'analyse de corrélation de Pearson entre l'activité antioxydante et les teneurs en composés bioactifs ont révélé que les polyphénols et les flavonoïdes avaient de fortes corrélations positives (valeur $p < 0,05$) avec l'activité antioxydante. Les données de corrélation des polyphénols étaient respectivement de 0.997 et 0.999 avec l'effet de piégeage des radicaux libres DPPH et le pouvoir antioxydant réducteur ferrique, cela indique que la teneur en polyphénols de ces extraits contribue à leurs capacités de don d'électrons d'hydrogène.

Cela signifie que la capacité antioxydante des extraits peut être attribuée à la présence de polyphénols. La corrélation linéaire positive entre les polyphénols et la capacité antioxydante a également été rapportée par plusieurs auteurs [212,213]. Il y avait également une corrélation positive significative élevée ($p < 0,05$) entre les flavonoïdes et l'activité antioxydante DPPH ($r^2 = 0.992$) et FRAP ($r^2 = 0.996$). Par conséquent, ces fortes corrélations indiquent que les composés antioxydants, qui contribuent au pouvoir réducteur du fer par FRAP, sont eux-mêmes ceux qui fournissent le pouvoir de piégeage des radicaux libres par DPPH.

De plus, la matrice de corrélation a montré une forte corrélation entre FRAP et DPPH ($r^2 = 0.999$). Ensuite, les composés antioxydants de ces extraits, subissent deux mécanismes de réaction.

Pour le test DPPH, ce radical est neutralisé par balayage radicalaire par transfert d'un atome d'hydrogène, également, par réduction directe par transfert d'électrons, puis pour le test FRAP, il se fait par réduction de Fe (III), basée sur le transfert d'électrons.

Tableau 23: Valeurs p du coefficient de la matrice de corrélation entre toutes les variables

Variables	Polyphénols	Flavonoïdes	DPPH (1/DPPH IC ₅₀)	FRAP (1/FRAP IC ₅₀)
Polyphénols	0			
Flavonoïdes	0.034	0		
DPPH (1/DPPH IC ₅₀)	0.048	0.081	0	
FRAP (1/FRAP IC ₅₀)	0.026	0.059	0.022	0

III.5.2. Analyses des données par ACP

Les différents extraits utilisés et les teneurs en composés phénoliques sont considérés comme des variables. Ils sont projetés par l'ACP dans le plan factoriel des figures 67 et 68 (F1-F2). La première composante essentielle (F1) montre 99.7% de l'information et la deuxième composante essentielle (F2) explique 0.23%. Le pourcentage cumulé des deux premières composantes essentielles était de 100.00%, par conséquent, sa combinaison linéaire est bien représentative des variables, car elle est supérieure à 50%. Par conséquent, les deux premiers axes sont adéquats pour expliquer l'ensemble des informations. La corrélation entre les variables est représentée sur la figure 67 par le plan construit par les axes F1 et F2. L'axe F1 est en grande partie formé par la corrélation positive entre les tests des polyphénols et les flavonoïdes d'une part, et entre ces composés bioactifs et leurs pouvoirs antioxydants d'autre part.

La figure 68 représente 3 individus (extraits), qui sont répartis (extraits) en 2 groupes.

Le groupe I est composé de 2 extraits (Extrait à l'éthanol (Soxhlet) et extrait à l'éthanol (ASE)), la capacité antioxydante de ce groupe est significativement forte par rapport au groupe II par les deux méthodes DPPH et FRAP, également l'activité antioxydante de ce groupe dépend de leur contenu phénolique car ils se caractérisent par des teneurs très élevées en polyphénols et en flavonoïdes. Nous avons les deux méthodes d'extraction Soxhlet et ASE qui peuvent extraire des teneurs très importantes en composés bioactifs.

Le groupe II est composé de 1 individu (Extrait méthanol brut), il est caractérisé par sa faible teneur en polyphénols et une teneur moyenne en flavonoïdes. Par conséquent, il est caractérisé faible pouvoir antioxydant par les deux méthodes utilisées. Ce qui montre que l'extrait brut a

des teneurs plus faibles en composés phénoliques par rapport aux extraits qui ont été extraits par les méthodes d'extractions Soxhlet et ASE.

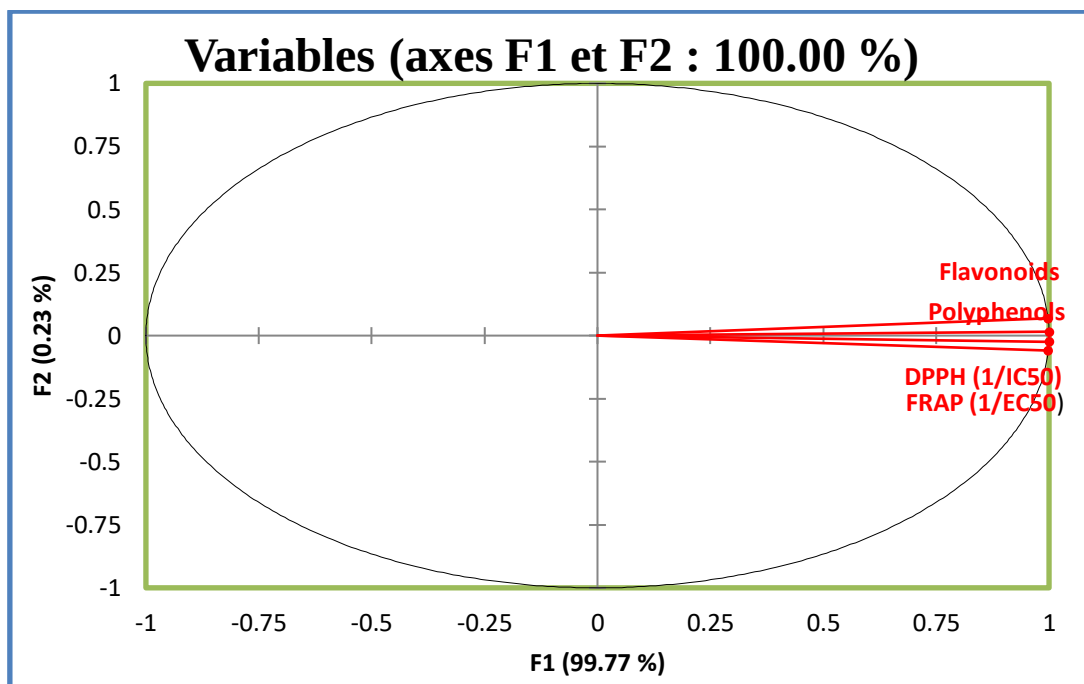


Figure 67: Plan factoriel d'analyse en composantes principales

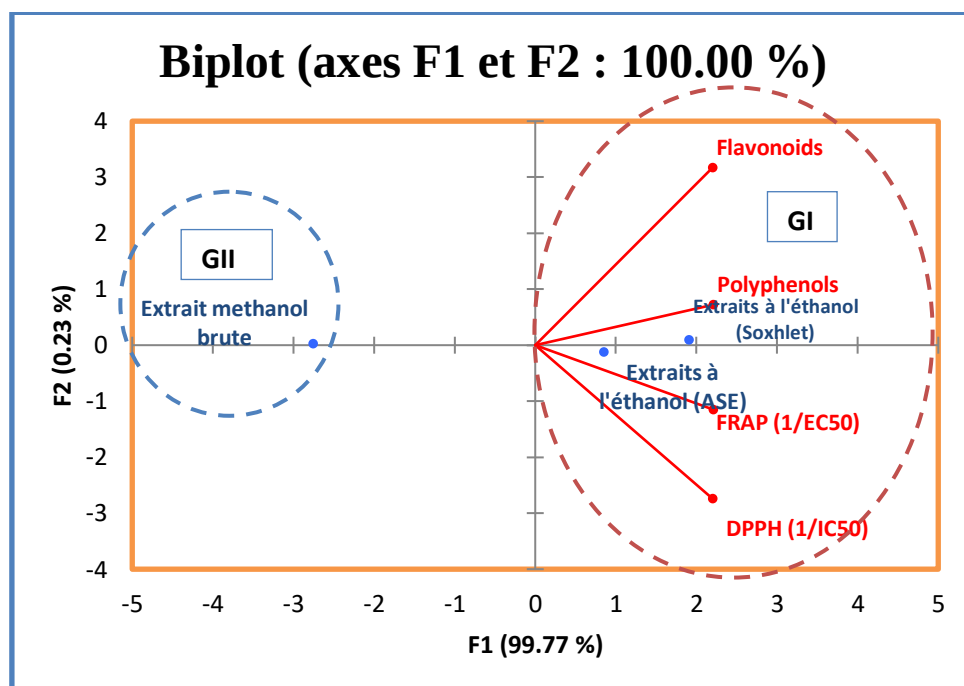
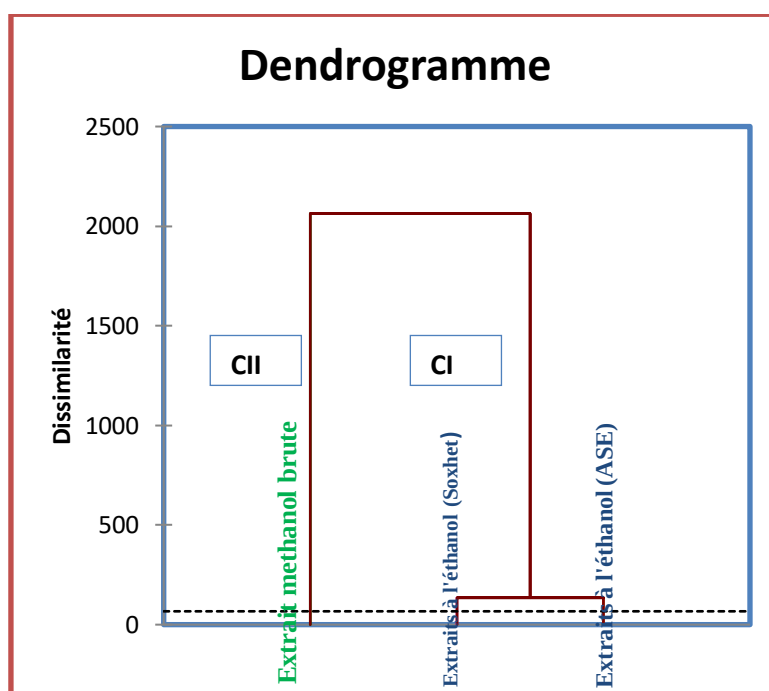


Figure 68: Projection sur le plan factoriel ($F1 \times F2$) du variable de l'individu

III.5.3. Analyse de cluster hiérarchique ACH

Selon ACH, les extraits ont été classés par la méthode Euclidienne au carré et de Wards pour estimer la mesure de similarité. ACH a été utilisé pour évaluer la corrélation entre les extraits et pour présenter les similitudes de 3 extraits selon les données de teneur en antioxydants et d'activité antioxydante, comme indiqué dans le dendrogramme (Figure 69). Selon les teneurs en composés bioactifs, les trois extraits ont été regroupés en 2 clusters. Le cluster I contient 2 extraits (Extrait à l'éthanol (Soxhlet) et extrait à l'éthanol (ASE)) représentant 66.66% des extraits caractérisés par une moyenne élevée respectivement, en polyphénols et en flavonoïdes (145.46 mg GAE/g d'extrait ; 92.97 mg QE/g d'extrait), ainsi qu'ils avaient une capacité antioxydante plus forte que le cluster II. Cluster II formé à partir d'un seul extrait, nommé Extrait méthanol brut représente et 33.33 % de l'extrait ; cet extrait avait la valeur moyenne la plus basse respectivement, en polyphénols et en flavonoïdes 102.7 mg d'extrait GAE / g, et 60.09 mg QE / g d'extrait. En outre, il est caractérisé par une faible activité antioxydante par les deux méthodes DPPH et FRAP. Ces résultats sont en accord avec les données de l'ACP, dans lequel la distribution de tous les extraits sur le graphique de score indique une tendance similaire. De plus, les résultats de l'ACP étaient cohérents avec ceux de l'ACH.



CI: groupe I; CII: groupe II;

Figure 69: Dendrogramme des extraits testés fondés par HCA

Conclusion

Les résultats de notre étude ont montré une grande valeur de ces déchets industriels à utiliser en pharmacologie. De par ces résultats, nous concluons que la sciure de bois de *T. articulata* est une source naturelle des substances antioxydantes de grande importance. Il convient de la considérer comme une source précieuse de molécules bioactives pouvant remplacer les antioxydants synthétiques suspectés de toxicité dont certains représenteraient des effets cancérogènes selon différentes études. Le screening phytochimique nous a permis de caractériser quelques familles de composés chimiques existantes dans les extraits étudiés. La quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu et en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus ont montré que les extraits de sciure de thuya possèdent des teneurs élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes. Les extraits manifestent un plus grand pouvoir d'extraction et la corrélation entre la haute teneur en phénols et le pouvoir antioxydant signifie une forte activité antioxydante.

Chapitre IV: Lignine

Dans ce chapitre, le processus de délignification a été mis en place pour isoler la lignine de Klason à partir de la sciure de l'industrie du bois (Thuya), la lignine de Klason est le résidu obtenu à l'aide d'un traitement d'acide sulfurique (72%). Ensuite, la lignine obtenue a été soigneusement caractérisée par plusieurs techniques telles que la Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR), Diffraction de Rayons X (DRX) et la Microscopie Electronique à Balayage couplée à une sonde (MEB-EDX), aussi des analyses thermiques par l'analyse thermogravimétrique (ATG, DTG) et Calorimétrie différentielle à balayage (DSC), et pour valoriser ce matériau on a étudié sa capacité d'adsorption vers un colorant actuel à savoir le 3,7-bis (Chlorure de diméthylamino) -phénothiazine-5-ium (bleu de méthylène MB), en faisant varier les conditions expérimentales telles que le temps de contact, concentration et température. Ensuite les paramètres cinétiques et thermodynamiques tel que l'enthalpie ΔH° , l'entropie ΔS° et les énergies libres de Gibbs ΔG° de la réaction d'adsorption ont été déterminés.

IV.1.Extraction de la lignine

Le traitement par l'acide sulfurique (72%) de *T. articulata* a été utilisé pour extraire la lignine puisque la majeure partie de la biomasse et en particulier, tout polysaccharide sera hydrolysé dans des conditions acides [214].

Par conséquent, après le traitement à l'acide sulfurique, seule la lignine, le charbon et les minéraux devaient rester sous forme de solides [215]. Le rendement obtenu en lignine extraite dans cette étude est de 36%. Cette valeur est en parfaite cohérence avec la littérature qui rapporte que le bois de Thuya a une composition chimique très proche du résineux mais avec une teneur en lignine plus élevée (35 à 40%). La teneur en lignine des résineux communs est comprise entre 25 et 30 % [216]. En effet, Leopold & Malmstrom ont cité 31.8 % comme lignine Klason extraite de *T. articulata* (Vahl) [217]. Dans une autre étude, Creighton et al, ont rapporté 29.5 % de lignine Klason extraite de *T. articulata* [218].



Figure 70: Lignine extraite de Thuya

IV.2. Caractérisations de la lignine extraite

IV.2.1. Analyse par spectroscopie infrarouge (IR)

La lignine a été caractérisée par spectroscopie infrarouge afin de déterminé les bandes d'absorption dans un intervalle de nombre d'ondes : $4000\text{--}500\text{ cm}^{-1}$. Le spectre IR de la lignine est illustré dans la figure 71.

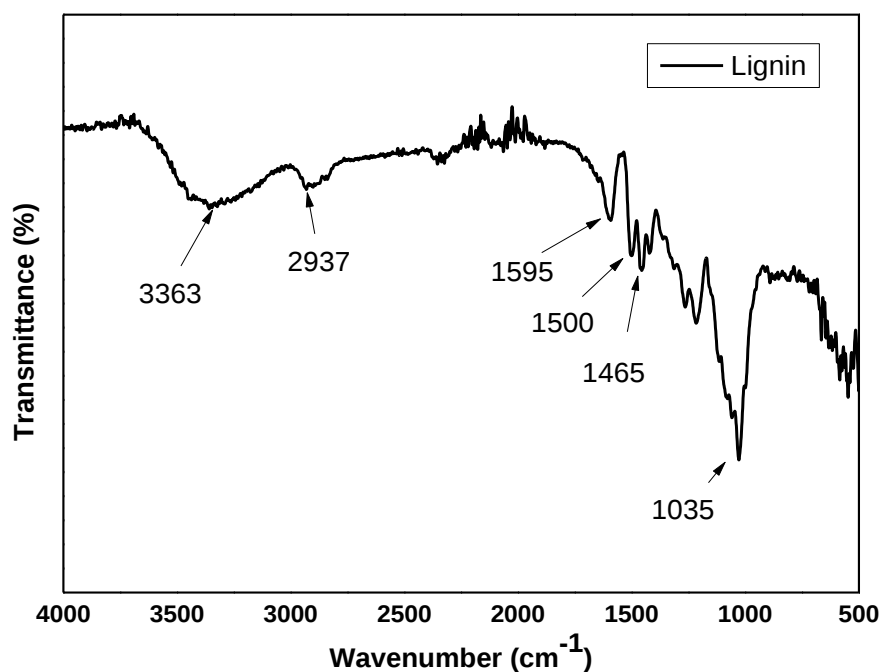


Figure 71: Spectre IR pour la lignine extraite de la biomasse de Thuya

Le spectre contient de nombreuses bandes d'absorption, Les attributions des vibrations fondamentales de la lignine sont présentées dans le tableau 24.

L'attribution des bandes de vibration a été faite sur la base des travaux antérieurs effectués sur des composés de la même famille et sur la base de l'interprétation du spectre infrarouge que nous avons effectuée.

Tableau 24: Attributions des bandes d'absorption FTIR (cm^{-1}) du composant de lignine extraite de la biomasse de Thuya

Numéro d'onde (cm^{-1})	Attribution /Groupe fonctionnel
1035	C–O, C=C, et C–C–O élongation
1215	C–C ; C–O élongation
1270	vibration de noyau aromatique
1327	C–O élongation noyau syringyle
1335	C–H vibration, O–H déformation dans le plan
1380	C–H déformation
1425	C–H déformation dans le plan
1440	O–H déformation dans le plan
1465	C–H déformation
1500	vibration de noyau aromatique
1595	Elongation vibrations $\nu(\text{C}=\text{C})$ dans les groupes aromatiques [219,220]
2840, 2937	C–H élongation [221]
3363	O–H élongation [222]

Vibrations des groupements (O-H)

Le spectre de la lignine présente une bande large entre 3675 et 3020 cm^{-1} (Figure 71). Elle est centrée à 3363 cm^{-1} et correspond aux vibrations de valence $\text{Vass}(\text{OH})$. Ces dernières proviennent des groupements hydroxyles alcooliques et phénoliques [223,224]. L'absorption fine et d'intensité moyenne observée à 1440 cm^{-1} est relative à la vibration de déformation dans le plan δ (O-H) des groupements hydroxyles phénoliques.

Vibrations des groupements (C-H)

Les bandes situées entre 3000 et 2807 cm^{-1} correspondent aux vibrations de valence $\nu(\text{C-H})$ des groupements méthoxyles aromatiques ($-\text{OCH}_3$) et des groupements méthylènes ($-\text{CH}_2$) des chaînes latérales [223]. Les vibrations de déformation dans le plan asymétrique et symétrique du groupement CH_3 sont situées respectivement à 1380 et 1465 cm^{-1} . La bande relevée à 1335 cm^{-1} peut aussi être attribuée à la vibration de déformation dans le plan du groupement CH_2 .

Vibrations de valence (C=C)

Les vibrations du squelette $\nu(\text{C}=\text{C})$ dans les cycles aromatiques, elles sont représentées par les quatre bandes situées à environ 1595cm^{-1} [225]. Ces dernières sont des bandes caractéristiques des lignines de type guaiacyl-syringyle [226].

Vibrations de valence (C-O)

L'absorption fine à 1327 cm^{-1} est attribuée à $\nu(\text{C-O})$ de l'alcool secondaire ($-\text{R}_2\text{CH-OH}$) et/ou à l'éther aliphatique [227]. Cette bande est rattachée à la vibration de respiration du noyau syringyle. Cependant, pour Faix, la présence de cette bande indique que la lignine est de type GSH [228]. Quant à l'absorption située à 1035 cm^{-1} , elle est assignée à $\nu(\text{C-O})$ de l'alcool primaire (R-OH).

D'après l'analyse ci-dessus, les principaux groupements oxygénés présents dans la lignine sont les éthers aliphatiques et cycliques, le carbonyle, les groupes méthoxyles, les groupes hydroxyles phénoliques, les groupes hydroxyles aliphatiques primaire et secondaire. De plus, cette lignine est constituée d'unités guaiacyl et syringyle. Ces unités sont les composantes principales des lignines des résineux.

Il existe une grande variation de structure de la lignine selon les différentes essences de bois [229]. La lignine guaiacyl (G), qui est principalement composée d'unités G et d'une petite quantité d'unités p-hydroxyphényl (H), est typique des fougères et des conifères des gymnospermes. Les lignines d'angiospermes contiennent en outre des unités syringyle (S), et cette forme est appelée lignine GS [230]. Cependant, certaines espèces, autres que les angiospermes, contiennent des unités S dans leurs lignines. Des proportions substantielles d'unités S sont présentes dans la lignine *T. articulata* Vahl (gymnospermes) [217,218,231].

Les différents groupements fonctionnels existant dans la lignine, situés au niveau de la chaîne latérale ou au niveau du noyau aromatique, peuvent former des sites acides, basiques ou neutres. L'aspect qualitatif de l'analyse infrarouge ne permet pas de préciser les sites prépondérants dans cette substance. Nous examinerons le comportement de la lignine comme adsorbant vis-à-vis du colorant cationique BM.

IV.2.2. Analyse de diffraction des rayons X (DRX)

Une analyse par diffraction des rayons X sur poudre (DRX) a été réalisée pour étudier plus en détail la morphologie de la lignine. Le diffractogramme DRX de la lignine a montré une large diffraction de halo amorphe avec un maximum à environ $2\theta = 20^\circ$ (Figure 72), ce qui confirme son caractère amorphe naturel. Cependant, des recherches antérieures ont démontré

que les différences de type de sources de lignines, de structures chimiques et de méthode d'isolement peuvent expliquer la variation constatée pour le pic maximal de lignine, par exemple, Selon Goudarzi et al le pic moyen pour les feuillus se situe à $2\theta = 21.2 \pm 0.15^\circ$ et pour les résineux il se situe à $2\theta = 19.35 \pm 0.18^\circ$ [232]. Kubo et al ont rapporté l'angle de diffraction de 22.7° pour la lignine d'acide acétique de bois dur (feuillu) [233], et Ansari et Gaikar ont rapporté $2\theta = 22.37^\circ$ pour la lignine de sucrerie [234].

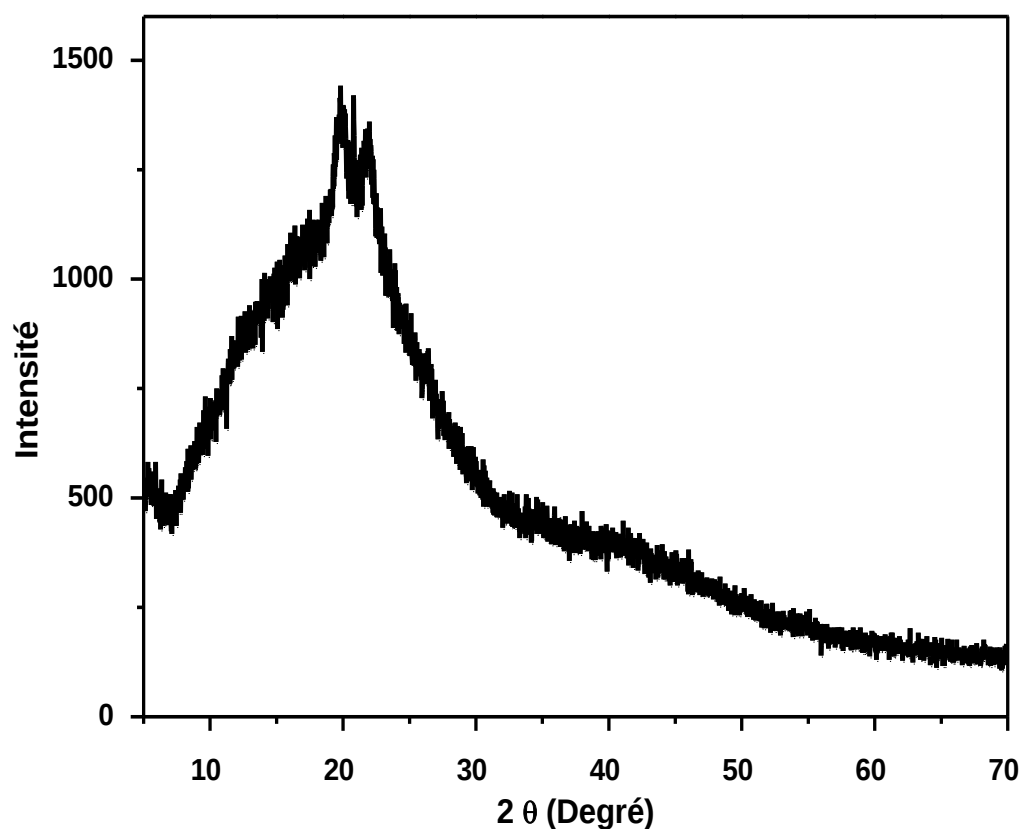


Figure 72:Diagramme de diffraction des rayons X pour la lignine extraite de la biomasse de Thuya

IV.2.3. Stabilité thermique

L'analyse thermique est une série de techniques permettant de déterminer les propriétés physiques et chimiques de matériaux polymères soumis à un profil de température. Ce travail décrit l'application d'ATG, DTG et DSC à notre lignine extraite de la biomasse de Thuya.

IV.2.3.1. Analyse thermogravimétrique (ATG -DTG)

Les courbes représentatives de l'ATG et la DTG obtenues par la combustion de la lignine sont présentées dans la figure 36, et les principales caractéristiques thermiques des courbes ATG-DTG, telles que la température de début de dégradation T_0 correspondant à une perte de masse de 3%, la température de perte de masse maximale T_{max} , et le pourcentage de résidus de carbone (% RC) à T_{max} et 400°C, sont résumées dans le Tableau 25.

En général, les courbes ATG-DTG de combustion de la lignine révèlent une perte de masse initiale attribuée à la déshydratation, une région de plateau à environ 150 °C, un écart diminué étendu à environ 520 °C où la perte de masse majeure a lieu, et une dégradation finale à 600 °C qui correspond à une perte de masse totale de près de 85%. Cette dégradation est attribuée à la décomposition thermique de la chaîne polymérique avec vaporisation de composés volatils.

Dans la première étape, la décomposition des composants de la biomasse (hémicellulose, cellulose et lignine) a lieu et l'étape suivante est la combustion d'une structure complexe et thermiquement stable [235,236,237,238].

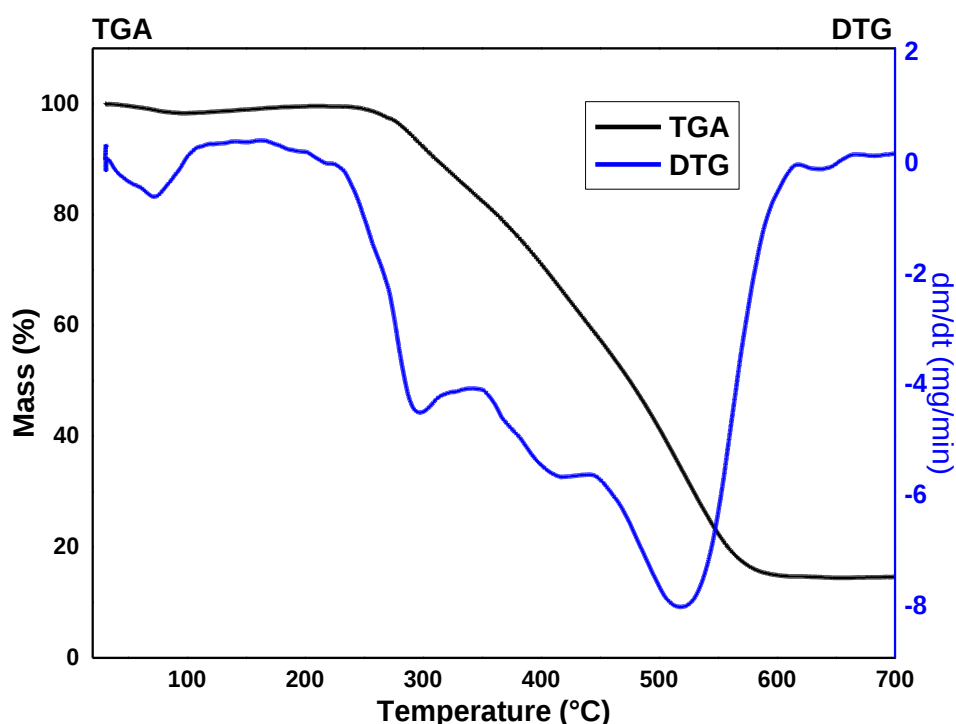


Figure 73: Analyse thermogravimétrique TGA-DTG pour la lignine extraite de la biomasse de Thuya

Tableau 25:Caractéristiques thermiques de la lignine extraite

Echantillon	T ₀ (°C)	T _{max} (°C)	RC ^a (%) (à T _{max})	RC ^b (%) (à 600 °C)
Lignine extraite	240	517	34	15

T₀ : température du début de la dégradation à 3% de perte de masse.

T_{max} : température de perte de masse maximale.

RC^a(%):pourcentage de résidu de carbone à T_{max}.

RC^b(%):pourcentage de résidu de carbone à 400 °C.

IV.2.3.2. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La courbe de l'analyse thermique différentielle de notre extrait de lignine de la biomasse de Thuya est donnée sur la figure 74.

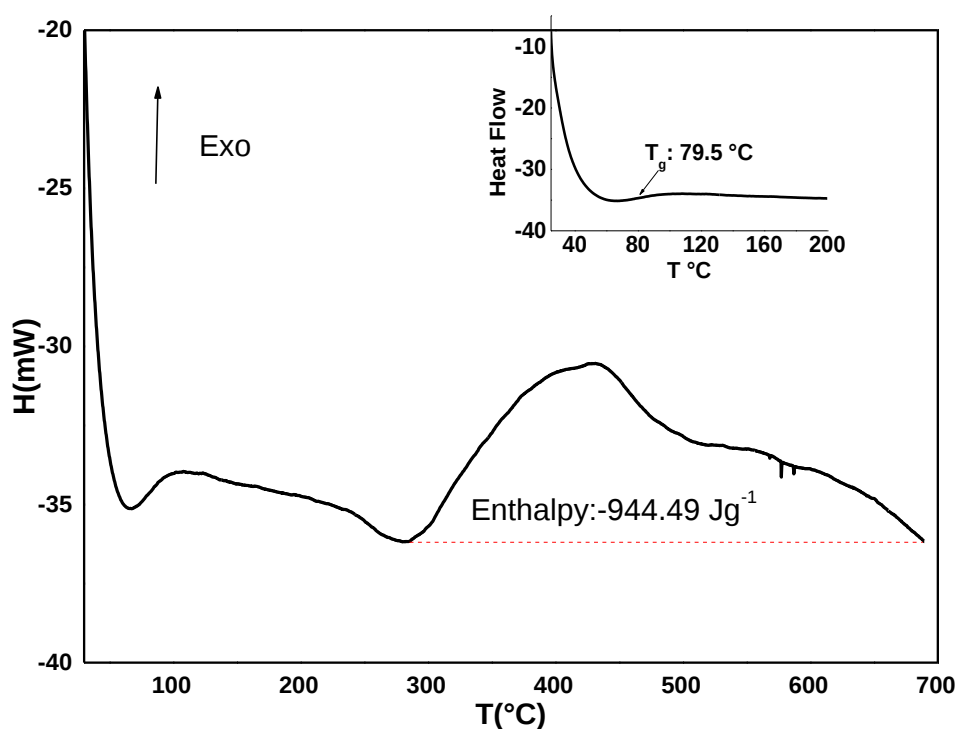


Figure 74: Thermogramme DSC de lignine extraite de la biomasse de Thuya

La courbe DSC de la lignine montre deux pics endothermiques suivis d'un pic exothermique. Le premier, en dessous de 100 °C correspond à la déshydratation, le second événement de perte de poids à 285 °C peut être dû aux traces de glucides ; lorsque la lignine n'est pas assez pure, la perte de masse qui se produit après la déshydratation est attribuée à la décomposition

des glucides [239]. Le pic exothermique est associé à la décomposition de la lignine. A partir de la courbe DSC (Figure 74), la valeur estimée de l'enthalpie associée à la pyrolyse de la lignine est de $-944,49 \text{ Jg}^{-1}$. Des recherches antérieures ont montré que l'enthalpie mesurée de la lignine dépend des ressources en biomasse et que la source des échantillons de lignine affecte les propriétés thermiques [240]. Les résultats suggèrent que plus d'énergie est nécessaire pour briser les liaisons dans les compositions de la lignine extraite de la biomasse de Thuya, produisant un biomatériau plus stable et ignifuge. La température de transition vitreuse (T_g) est l'un des paramètres thermodynamiques importants des biomatériaux, elle est fiable et pratique pour exposer le comportement de phase des macromolécules. Par conséquent, sur la base de la littérature, la valeur T_g était très large allant de ~ 120 à 190°C [241,242]. Cette large gamme peut s'expliquer par divers paramètres moléculaires, tels que les groupes phényle rigides, les liaisons hydrogène interchaînes, la densité de réticulation et la masse moléculaire [243], la T_g dépend également de la source végétale, des conditions d'extraction et de la différence entre les lignines en termes de flexibilité et de rigidité à des températures élevées, ce qui est important dans les applications industrielles.

La valeur $T_g = 79.5^\circ \text{C}$ obtenue pour la lignine extraite dans ce travail utilisant la méthode de Klason est inférieure aux autres valeurs rapportées dans la littérature. Kubo et Kadla, étudiant la lignine kraft commerciale de feuillus et de résineux, ont obtenu des valeurs de T_g de 93°C et 119°C , respectivement [233]. Tejado et al, ont trouvé des valeurs de T_g de 100°C et de 144°C pour les lignines à partir des méthodes d'isolement organosolv et kraft [244]. Par conséquent, la valeur numérique réelle n'a pas pu être considérée comme suffisamment fiable.

IV.2.4. Analyse morphologique (MEB)

L'étude de la morphologie de la lignine extraite de Thuya a été réalisée par un microscope électronique à balayage Thermo Scientific Quattro S équipé d'un système EDX. La figure 75 présente les images MEB de la structure morphologique de la lignine étudiée à différents grossissements $\times 100$ (a), $\times 1000$ (b), $\times 2000$ (c). Elle a montré que la lignine est apparue granulée avec des grains de structure compacte et de tailles différentes qui ont créé une agglomération plaquettaire et montré des espaces qui sont apparemment occupés par des bulles. Ainsi, on observe des microcavités à la surface de l'adsorbant (lignine), qui semblent indiquer une structure irrégulière très poreuse favorable à une bonne diffusion des molécules de colorant.

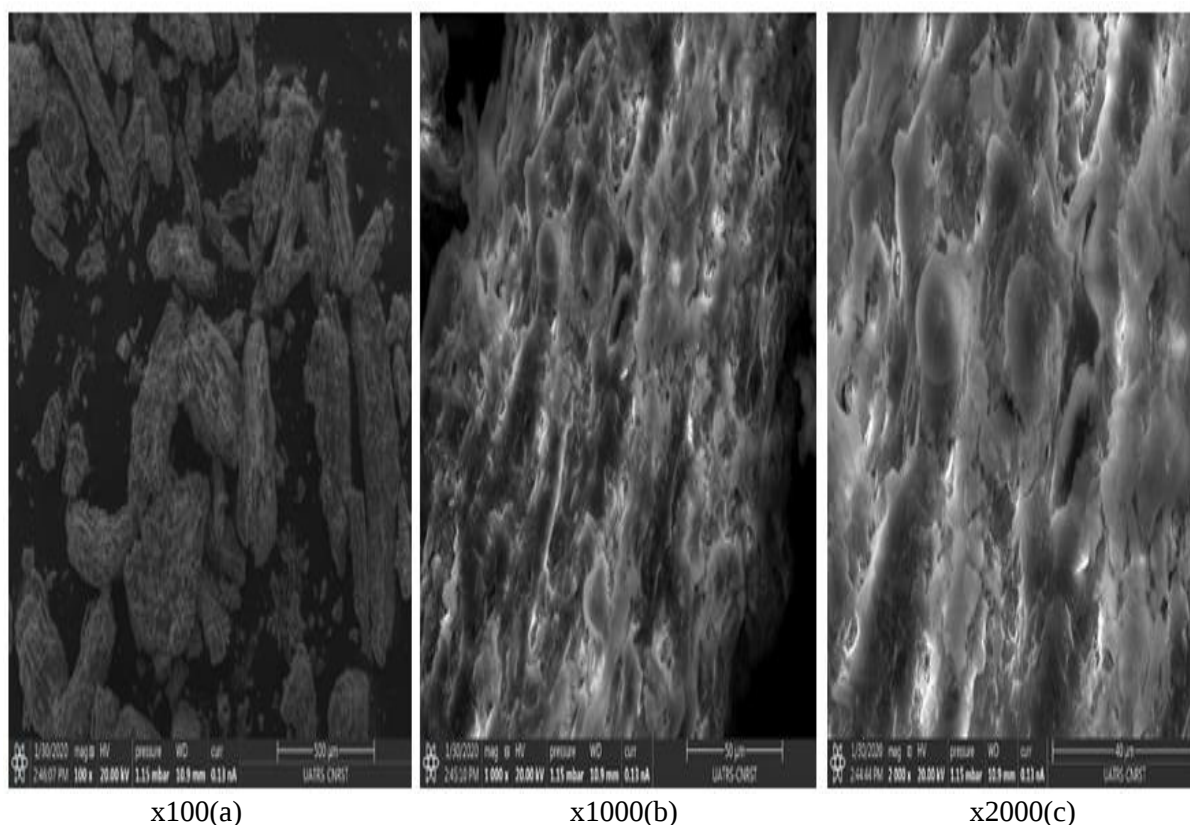


Figure 75: Microscopie électronique a balayage de l'échantillon de la lignine à différentes dimensions

IV.2.5. Analyse élémentaire

L'analyse EDX de ce biomatériau, montre la présence d'éléments majeurs tels que le carbone (53,54 %) et l'oxygène (45,77 %) et des traces de silicium (Si 0,37 %) et d'aluminium (Al 0,32 %) (Figure 76). Le carbone représente un élément principal essentiel pour les constituants structurels de la lignine, de la cellulose et de l'hémicellulose. La proportion plus élevée de carbone dans la lignine peut être corrélée à la quantité de carbones aromatiques des sous-unités de la lignine (p-hydroxyphényle, gäiacyl et syringyle). Aussi, la teneur en carbone plus élevée observée pour notre lignine peut donc s'expliquer par sa pureté plus élevée.

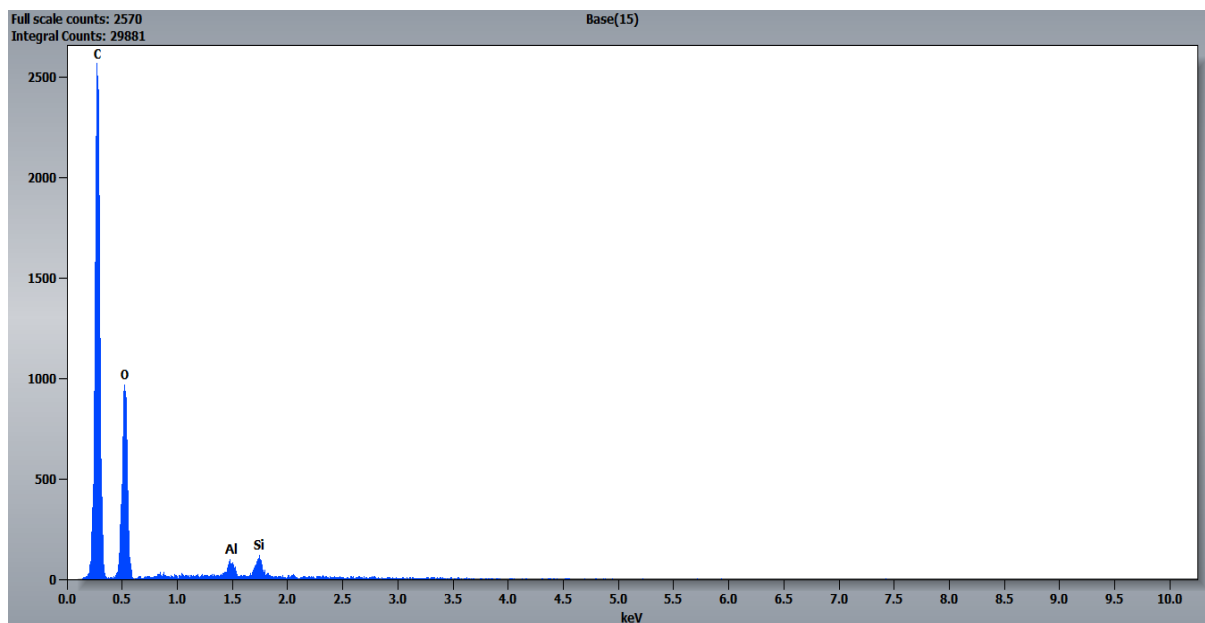


Figure 76:Analyse élémentaire de la lignine

La figure 76 montre les résultats de l'analyse en pourcentage réalisée sur l'extrait de lignine. Nous ne nous sommes intéressés qu'aux éléments C et O. Nous avons regroupé dans le tableau 26 les teneurs des différents éléments contenus dans notre échantillon.

Tableau 26:Analyse élémentaire de la lignine extraite

	Poids %	Atome %
C	46.12	53.54
O	52.52	45.77
Al	0.61	0.32
Si	0.75	0.37
	100.00	100.00

IV.3. Adsorption au bleu de méthylène

Les tests d'adsorption dans notre étude ont porté sur un polluant modèle, le bleu de méthylène en phase aqueuse (Figure 77). Dans un premier temps, la courbe d'étalonnage nécessaire pour connaître la concentration en polluant sera déterminée à l'aide des mêmes solutions (sans la lignine).



Figure 77: Stock de la solution aqueuse de bleu de méthylène

A partir du tracé d'étalonnage (Figures 78), nous avons vérifié que l'absorbance varie linéairement avec la concentration d'adsorbat, ce qui montre que la loi de Beer Lambert est vérifiée. La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9571$.

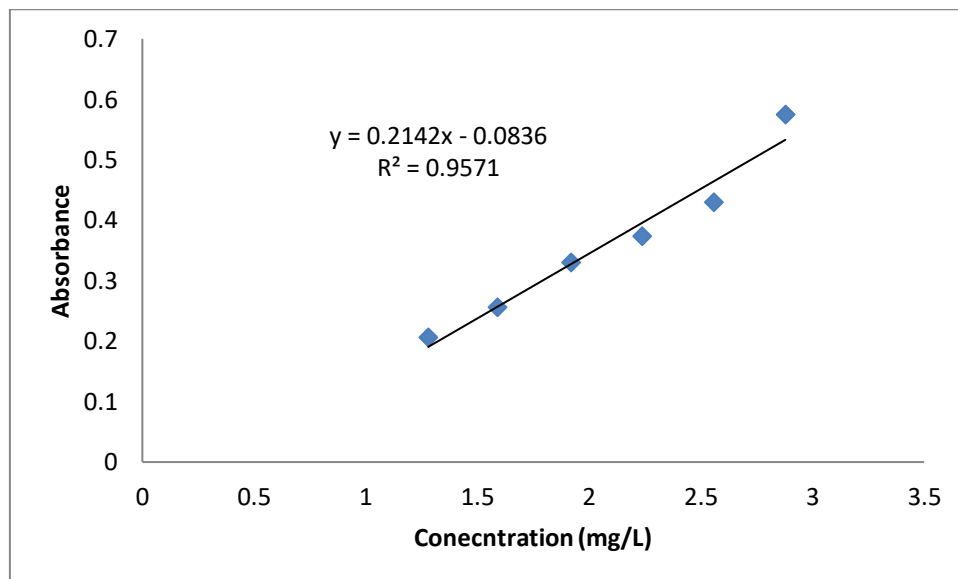


Figure 78: Courbe d'étalonnage du bleu de méthylène

Donc, pour chaque échantillon, la mesure de l'absorbance permet l'évaluation de la concentration résiduelle (C_e) en colorant dans la solution par conséquent de calculer la quantité de colorant adsorbé par le support.

IV.3.1. Études cinétiques

Plusieurs modèles mathématiques sont donnés dans la littérature pour décrire la cinétique d'adsorption. Tous ces modèles apportent des informations sur le taux d'adsorption et le mécanisme de l'adsorption. Ces formalismes ont été choisis parce qu'ils sont assez simples et donc couramment utilisés lorsqu'il s'agit de l'adsorption de composés organiques sur divers adsorbants. La figure 79 montre la cinétique d'adsorption du bleu de méthylène sur la lignine extraite. On constate que l'adsorption du bleu de méthylène est plus rapide, l'équilibre d'adsorption est atteint en 140 minutes et le taux d'adsorption est d'environ 3.55 mgg^{-1} . Cette vitesse d'adsorption rapide peut être due au nombre de sites actifs et à la structure irrégulière poreuse à la surface du matériau de lignine, et à l'interaction des groupes fonctionnels avec la surface de la lignine.

Comme on peut le voir ci-dessous, la lignine apparaît comme un sorbant très prometteur lié à leurs matériaux très peu coûteux, efficaces et disponibles localement. Il présente des caractéristiques relativement adsorbantes de molécules organiques toxiques à partir d'une solution aqueuse. Généralement, l'efficacité de l'adsorption augmente avec la surface de l'adsorbant, mais parfois, cette adsorption implique l'interaction entre la surface du matériau et des groupes fonctionnels de molécules organiques toxiques, y compris le partage d'électrons entre le polluant et la surface de l'adsorbant résultant en produits chimiques liés.

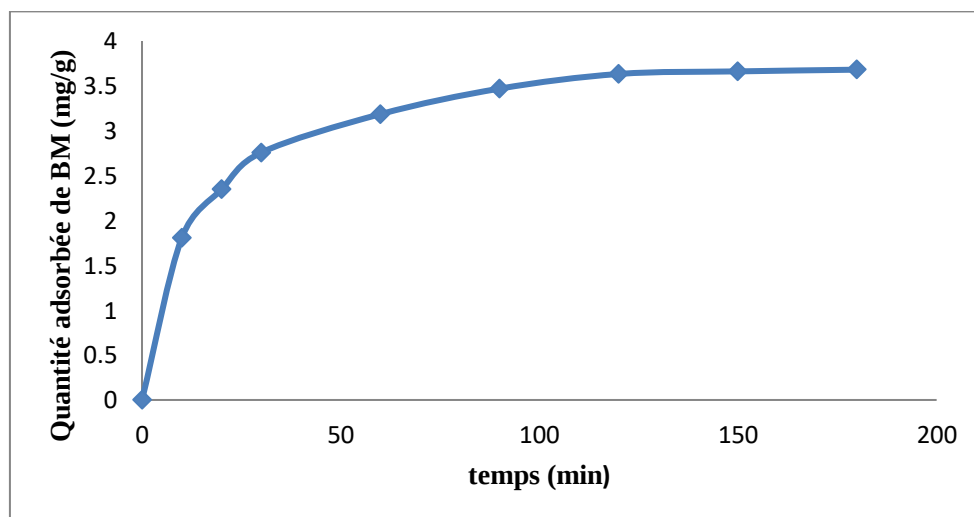


Figure 79: Effet du temps de contact sur l'adsorption du bleu de méthylène

Dans cette étude, nous avons appliqué différents modèles cinétiques pour décrire le mécanisme cinétique d'adsorption. Nous avons ainsi pu déterminer les constantes de vitesse d'adsorption à partir de modèles mathématiques simples, empiriques et qui ont été choisis

d'une part par leur simplicité et d'autre part parce qu'ils sont adaptés aux phénomènes d'adsorption des composés organiques sur différents adsorbants. Les trois modèles les plus utilisés dans la littérature sont les suivants : tels que le premier ordre [245], le pseudo second ordre et la réaction du second ordre [246,247].

Le modèle cinétique d'adsorption de *Lagergreen* [245] donne, pour réaction de premier ordre :

$$\log(Q_e - Q_t) = \log Q_e - K_1 \frac{t}{2,3} \quad (\text{Eq.1})$$

En portant $\log(Q_e - Q_t)$ en fonction de t , il faut obtenir une ligne droite dont la pente donne K_1 , la constante de rapport d'adsorption (min^{-1}). De cette figure 80 on peut extraire les valeurs des paramètres K_1 et Q_e et elles sont données dans le tableau 27.

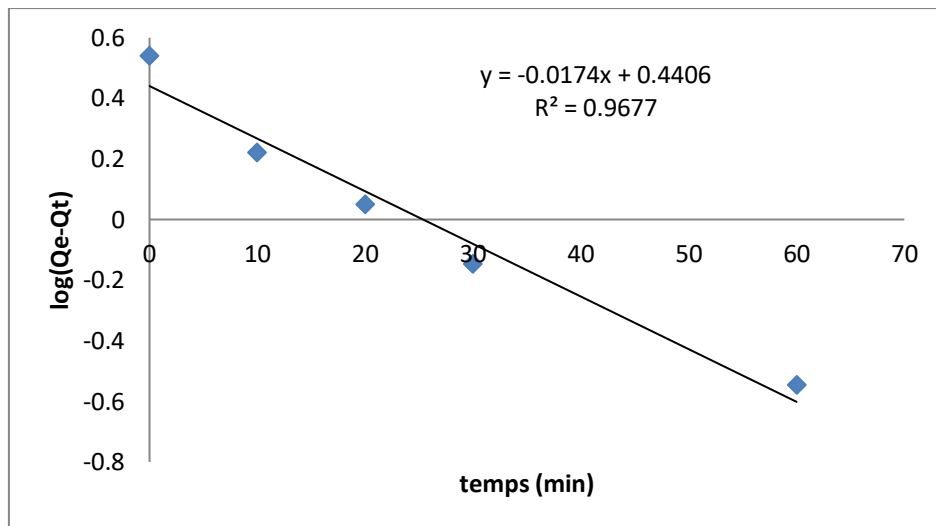


Figure 80: $\log(Q_e - Q_t)$ en fonction du temps selon le modèle cinétique du premier ordre

Après ce résultat, nous avons appliqué la réaction pseudo seconde pour ajuster les données expérimentales obtenues à partir des expériences cinétiques. La constante de vitesse K_2 est donnée par la relation suivante [246,247]:

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{2K_2Q_e^2} + \frac{t}{Q_e} \quad (\text{Eq.2})$$

Où Q_e et Q_t désignent respectivement la capacité d'adsorption (mg/g) à l'équilibre et au temps t . Une constante K_2 représente le taux d'adsorption constant ($\text{g/mg} \cdot \text{min}$).

Les paramètres Q_e et K_2 sont obtenus en représentant t / Q_t en fonction du t (Figure 81). Les valeurs obtenues pour ces paramètres sont rassemblées dans le tableau 27.

En traçant t / Q_t en fonction de t , les valeurs des paramètres K_2 et Q_e ont été obtenues et rassemblées dans le tableau 26.

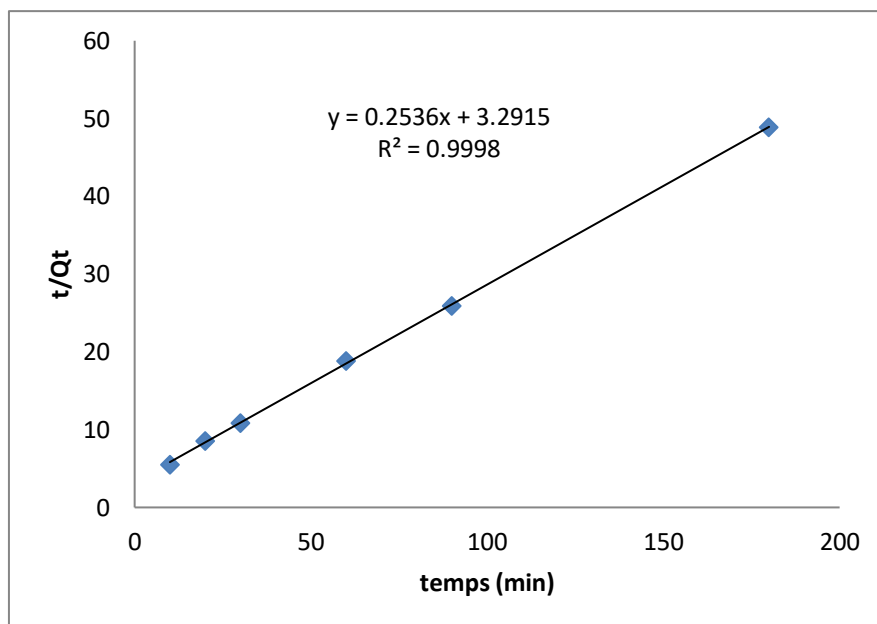


Figure 81: t / Q_t en fonction du temps selon le pseudo modèle cinétique du second ordre

Pour une réaction du second ordre, la constante de vitesse K_3 résulte de la relation suivante [246 ;247]:

$$\frac{1}{Q_e - Q_t} = \frac{1}{Q_e} + K_3 \times t \quad (\text{Eq.3})$$

Ainsi K_3 est déterminé à partir du graphique de $1 / (Q_e - Q_t)$ en fonction de t (Figure 81).

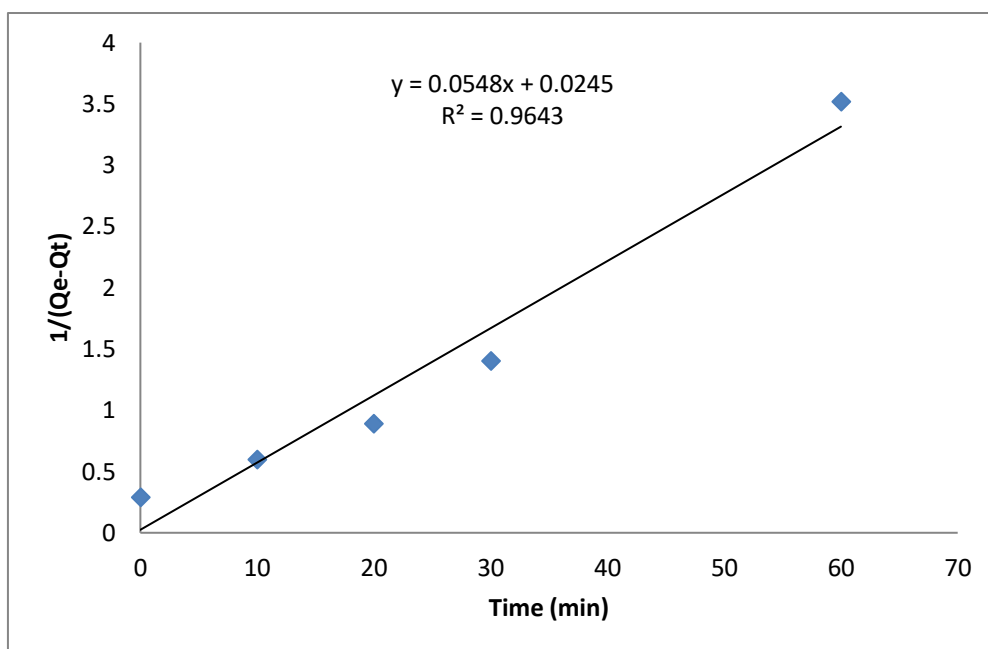


Figure 82: $1 / Q_e - Q_t$ en fonction du temps selon la réaction du second ordre

Dans toutes les relations qui précèdent, les termes employés correspondent à :

q_e : Quantité d'adsorbat à l'équilibre en (mg/g),

q_t : Quantité de colorant adsorbée à l'instant t en (mg/g),

t : temps de contact en min,

K_1 , K_2 , K_3 : Constantes de vitesse d'adsorption respectivement pour le premier ordre (min^{-1}), le pseudo second ordre ($\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$) et le second ordre ($\text{min}^{-1} \cdot \text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$).

La variation linéaire (Figure 81) de t / Q_t avec le temps suggère que le modèle du pseudo-second ordre décrit bien le comportement cinétique de l'adsorption de MB sur la lignine extraite. Les données expérimentales peuvent être ajustées avec l'équation: $t / Q_t = 0,2536t + 3,2915$, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9998$. L'analyse des données du tableau 27 a parfaitement montré que la capacité d'adsorption expérimentale Q_e est très proche de celle obtenue par la réaction de pseudo second ordre. Ainsi, selon ce dernier modèle, on peut affirmer que l'adsorption du bleu de méthylène sur la lignine implique le processus de chimisorption en plus de la physisorption. Il ressort clairement de l'analyse de $1 / Q_e - Q_t$ en fonction du temps (Figure 83) que l'adsorption du bleu de méthylène sur la lignine ne peut pas être décrite par la réaction du second ordre.

Tableau 27: Constantes cinétiques et capacités d'adsorption calculées pour différents modèles étudiés

$Q_e \text{ Exp}$ (mg/g)	Premier ordre			Pseudo deuxième ordre			Deuxième ordre		
	K_1	Q_e calc.(mg/g)	R^2	K_2	Q_e calc.(mg/g)	R^2	K_3	$Q_e \text{ calc.}$	R^2
3.55	0.0391	1.55	0.967	0.009	3.95	0.999	0.054	41.66	0.964

❖ Comparaison avec d'autres adsorbants

La concentration initiale de MB, le temps de réaction et la quantité d'adsorption (q_e) de MB par la lignine extraite a été comparée à d'autres adsorbants rapportés dans la littérature énumérée dans le tableau 28. Malgré de nombreux résultats rapportés dans la littérature, l'avantage de l'utilisation de Klason La lignine extraite de *T. articulata* réside dans leur abondance et sa facilité d'extraction. Ces propriétés, qui ne sont pas présentes pour tous les adsorbants sont essentielles à l'échelle industrielle et aux adsorbants à faible coût. On peut considérer que la lignine extraite de déchets de bois Thuya un biomatériau testé ici est efficace dans la suppression de la MB à partir de solutions aqueuses et peut en outre être utilisée comme alternative aux adsorbants commerciaux à coût élevé.

Tableau 28: Comparaison de la concentration initiale de MB, du temps de réaction et de quantité d'adsorption (q_e) de MB par la lignine extraite avec d'autres adsorbants

Adsorbant	Concentration initiale de MB (mg/L)	Temps de réaction (min)	Quantité adsorbée q_e , exp (mg/g)	Références
Cellulose pure	19.19	80	0.11	[248]
Cellulose modifiée	19.19	80	0.35	[248]
Lignine Thuya	19.19	140	3.55	Cette étude
Noyaux de dattes algériennes	100	60	4.9	[249]
Acide acétique lignine	50	60	24.6	[250]
Charbon actif $ZnCl_2$	6.0	180	29.968	[251]
Kaolin algérien	80	120	36.80	[252]
Lignine naturelle tunisienne	300	240	78	[253]

IV.3.2. Isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorption de MB sur des matériaux lignine ont été obtenues en traçant la quantité de colorant adsorbé par le substrat (Q_e) en fonction de la concentration résiduelle de colorant en solution à l'équilibre (C_e) à 25 ° C. Le temps de contact entre le colorant et l'adsorbant a été fixé à 3 heures, en supposant que l'équilibre est atteint et qu'il n'y a pas de variation significative de la concentration du colorant (140 minutes seulement ont été nécessaires avec une solution de MB à $6.10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ (19.19 mg. L^{-1}) comme mentionné précédemment).

Les isothermes d'adsorption décrivent la distribution du colorant MB entre la solution et l'adsorbant des matériaux de lignine lorsque le processus d'adsorption atteint un état d'équilibre. Il est très important et obligatoire, car il permet de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le processus d'adsorption. Il existe plusieurs modèles d'isothermes applicables, mais les deux modèles les plus couramment utilisés sont *Langmuir* [254] et *Freundlich* [255]. Le modèle de *Langmuir* est adapté pour décrire le comportement d'adsorption de surfaces homogènes. Elle repose sur les hypothèses suivantes : sites d'adsorption uniformes forts, pas d'interactions entre molécules adsorbées, l'adsorption se fait par la formation d'une monocouche d'adsorbat [256] (Figure 83). La forme linéaire de cette isotherme est représentée comme suit:

$$Q_e = Q_m - \left(\frac{1}{K_L} \right) \times \frac{Q_e}{C_e} \quad (\text{Eq.4})$$

Où Q_e (mg.g^{-1}) est la quantité de colorant adsorbé à l'équilibre, C_e (mg.L^{-1}) est la concentration à l'équilibre, K_L (l/g) est la constante de *Langmuir* et Q_m est la capacité d'adsorption monocouche.

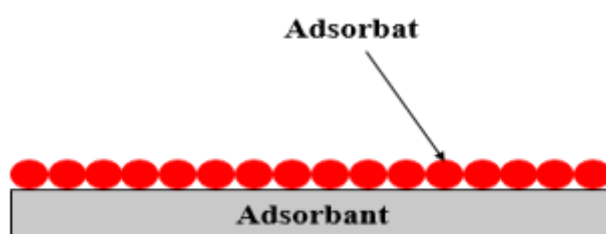


Figure 83: Adsorption monocouche

De plus, la caractéristique essentielle de l'isotherme de *Langmuir* peut être exprimée par un terme sans dimension appelé facteur de séparation R_L . Ce facteur est utilisé pour prédire si un

système d'adsorption est favorable ($0 < R_L < 1$), défavorable ($R_L > 1$), linéaire ($R_L = 1$) ou irréversible ($R_L = 0$). Il est défini comme [257]:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L \cdot C_0} \quad (\text{Eq.5})$$

Le modèle de *Freundlich* est basé sur une équation empirique qui exprime un changement d'énergie d'adsorption avec la quantité adsorbée [255]. Cette distribution s'explique par l'hétérogénéité des sites d'adsorption et ce modèle admet l'existence d'interactions entre molécules adsorbées [256]. Ce modèle est valable pour l'adsorption multicouche sur une surface contenant un nombre infini de sites actifs (Figure 84).

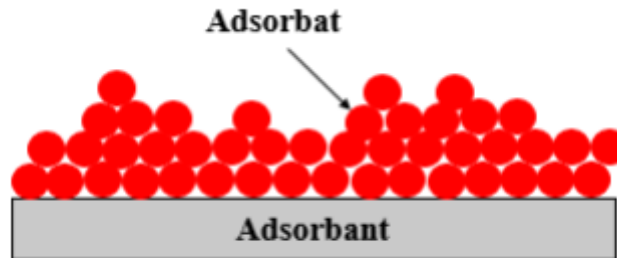


Figure 84: Adsorption multicouche

L'équation (6) représente l'isotherme de *Freundlich* ;

$$Q_e = K_F \times C_e^{1/n} \quad (\text{Eq.6})$$

Où Q_e est la quantité de soluté adsorbé par unité de poids d'adsorbant ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$), C_e est la concentration d'équilibre, K_F est la constante de *Freundlich* et (n) est le facteur d'hétérogénéité. La valeur K_F est liée à la capacité d'adsorption, tandis que la valeur de $(1 / n)$ est liée à l'intensité d'adsorption. Lorsque $n = 1$, l'adsorption est linéaire, ce qui signifie que les sites sont homogènes et qu'il n'y a pas d'interaction entre les espèces adsorbées; lorsque $1 / n < 1$, l'adsorption est favorable et la capacité d'adsorption augmente tandis que de nouveaux sites d'adsorption apparaissent. Lorsque $1 / n > 1$ l'adsorption n'est pas favorable, les liaisons d'adsorption s'affaiblissent et la capacité d'adsorption diminue [259].

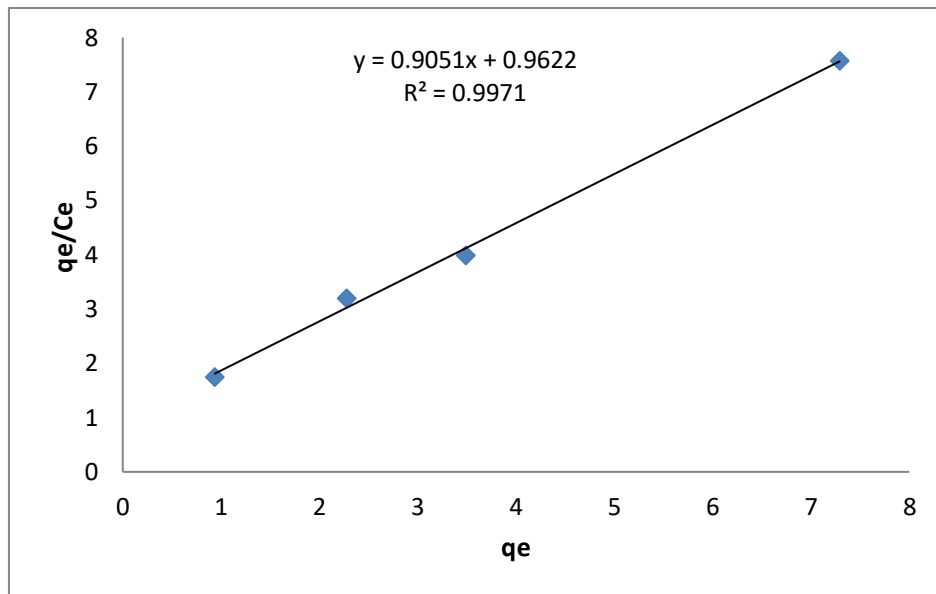


Figure 85: Isotherme de Langmuir pour l'adsorption de BM sur la lignine

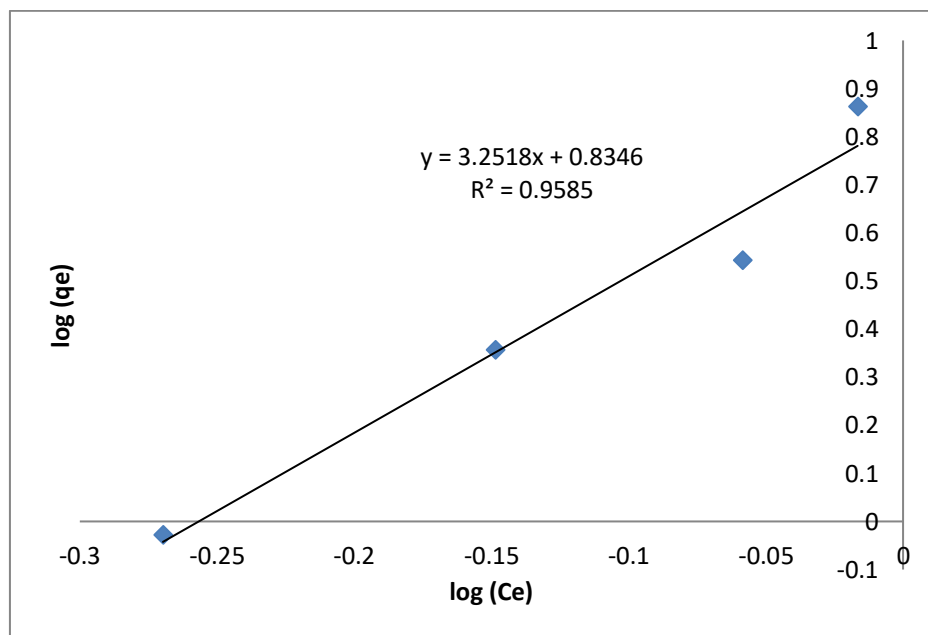


Figure 86: Isotherme de Freundlich pour l'adsorption de BM sur la lignine

Nos valeurs calculées sont résumées dans le tableau 29.

Tableau 29: Constantes des modèles de *Langmuir* et de *Freundlich*

Modèle d'adsorption <i>Langmuir</i>	Modèle d'adsorption <i>Freundlich</i>
$R^2=0.997$	$R^2=0.958$
K_L (l/mg)=1.104	K_f (l/Kg)=6.823
$R_L=0.239$	$1/n=0.307$

Considérons maintenant les modèles ci-dessus. L'équation isotherme de *Langmuir* (équation (4)) a été appliquée aux données d'adsorption pour quantifier la capacité d'adsorption de la lignine. Le graphique de *Langmuir* (Figure 85) des données a montré un bon ajustement linéaire et les paramètres Q_m et K_L dérivés de la pente et de l'intersection sont présentés dans le tableau 29. A partir de ce dernier, on peut constater que le coefficient de corrélation R^2 ($R^2 = 0,997$) est très proche de 1 et la capacité maximale d'adsorption est de 0.962 mg / g.

La valeur calculée de R_L est entre 0 et 1 ce qui indique que l'adsorption est favorable. Cette bonne corrélation entre les données et le modèle d'adsorption de *Langmuir* suppose une couverture monocouche de MB sur des sites homogènes de lignine, une énergie uniforme d'adsorption et aucune interaction entre les espèces de MB adsorbées sur les sites voisins.

En parallèle, les données d'adsorption ont également été tracées à l'aide du modèle de *Freundlich* dans les mêmes conditions expérimentales (Figure 86). Les valeurs numériques de K_f et $(1/n)$ calculées sont rassemblées dans le tableau 2. La valeur numérique de $1/n = 0,2$ indique que l'adsorption par sites hétérogènes est favorable. Néanmoins, sur la base des valeurs du coefficient de corrélation (R^2) dans la présente étude, l'isotherme de *Langmuir* fournit le meilleur ajustement pour les données expérimentales.

Les valeurs des coefficients de corrélation confirment le bon ajustement des données expérimentales avec le modèle isotherme de *Langmuir* plus qu'avec celui de *Freundlich*. Ces valeurs indiquent que le processus d'adsorption du bleu de méthylène par la lignine est décrit favorablement par l'isotherme de *Langmuir*. Ainsi, les résultats obtenus montrent que la lignine Klason extraite des déchets de sciure de bois de l'industrie du bois (*T. articulata*) est le support le plus efficace pour l'élimination du colorant MB, cela peut être dû à sa composition chimique et sa structure très poreuse.

IV.3.3. Paramètres thermodynamiques

La constante d'équilibre pour l'adsorption de MB sur un substrat est donnée par la relation:

$$K_c = \frac{(C_0 - C_e)}{C_e} \quad (\text{Eq.9})$$

Où C_0 : concentration initiale (mg.L⁻¹) et C_e : concentration d'équilibre (mg.L⁻¹).

K_c est lié à l'énergie de réaction de Gibbs (ΔG°) par $\Delta G^\circ = -RT \ln(K_c)$ et donc: $\ln(K_c) = -\Delta H^\circ / RT + \Delta S^\circ / R$ où ΔH° et ΔS° sont respectivement l'enthalpie et entropie standard

d'adsorption qui peuvent être évaluées en traçant $\ln(K_c)$ en fonction de $1/T$. Les résultats sont rapportés dans le tableau 30.

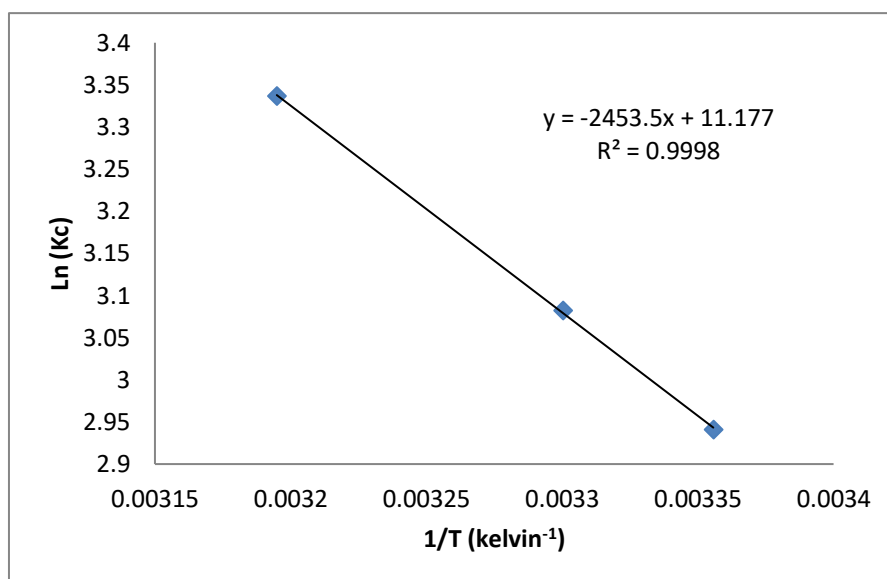


Figure 87: $\ln(K_c)$ versus $1/T$

Tableau 30: Paramètres thermodynamiques associés à l'adsorption

$\Delta H^\circ \text{ (KJ} \cdot \text{mol}^{-1}\text{) (25}^\circ\text{C)}$	$\Delta S^\circ \text{ (J} \cdot \text{K}^{-1}\text{mol}^{-1}\text{) (25}^\circ\text{C)}$	$\Delta G^\circ \text{ (Kj} \cdot \text{mol}^{-1}\text{)}$
20.39424	92.86738	-7.286601 (25°C)
		-7.765476 (30°C)
		-8.68295 (40°C)

Les paramètres thermodynamiques, tels que l'enthalpie de réaction ΔH° , l'entropie ΔS° et les énergies libres de Gibbs ΔG° ont été calculés comme indiqué par Albadarin et al [260], pour comprendre le processus d'adsorption en quantifiant l'énergie impliquée. Les valeurs de ΔH° , ΔS° et G° pour l'adsorption du MB sur la lignine extraite sont répertoriées dans le tableau 30. La valeur positive de ΔH° obtenue indique que le processus d'adsorption était de nature endothermique. La valeur ΔS° obtenue reflète l'affinité de l'adsorbant vers l'adsorbat, suggérant le caractère aléatoire accru à l'interface solide/solution lors du processus d'adsorption [261]. La valeur négative de l'énergie libre de Gibbs ΔG° indique que le processus d'adsorption est spontané et favorisé à basse température ; la diminution des valeurs

de ΔG° avec la température suggère que le processus est réalisable à des températures plus élevées [262].

IV.3.4. Mécanismes d'adsorption

En général, le mécanisme d'adsorption dépend de la surface de l'adsorbant et de la structure de la molécule de colorant. Il est important de comprendre le processus d'adsorption, qui peut être complexe et impliquer plus d'un mécanisme [263,264]. La figure 88 montre le mécanisme possible proposé pour l'adsorption du colorant MB à la surface de la lignine extraite de Thuya.

Dans cette étude, trois interactions possibles se sont produites lors de l'adsorption du colorant MB par la lignine. Premièrement, l'analyse FT-IR a montré que les groupes fonctionnels de l'oxygène (-OH et -OCH₃) dérivés des principaux composants structuraux de la lignine, peuvent avoir interagi par le biais des forces de van der Waals et des liaisons hydrogène avec la molécule MB. Deuxièmement, la réaction entre les groupes déprotonés de la lignine (groupe C-O-) et les espèces cationiques telles que MB peut être accélérée en raison de la force d'attraction électrostatique. Enfin, des interactions cycliques $\pi - \pi$ peuvent s'être produites en raison de la présence de systèmes aromatiques dans les structures des monomères de lignine (alcool p-coumarylique, alcool coniférylique et alcool sinapylique) et la structure de la molécule de colorant MB. De plus, de nombreuses études confirment que ces trois types d'interactions peuvent se produire dans l'adsorption du colorant MB [265,266,267,268].

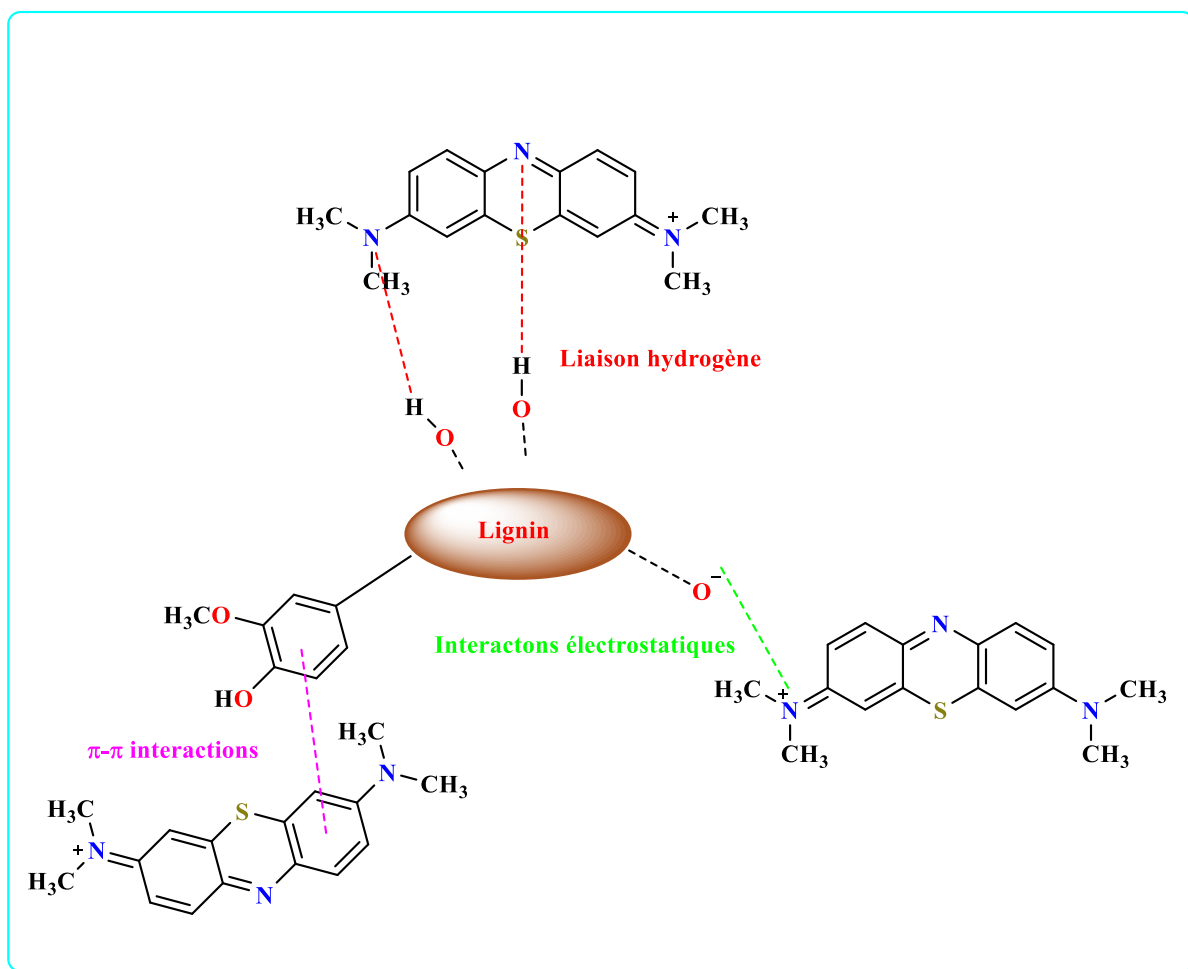


Figure 88: Mécanismes proposés pour l'adsorption du MB sur la lignine

Conclusion

La présente enquête comprend l'extraction de la lignine des déchets de sciure de bois de l'industrie du bois (*T. articulata*) en utilisant un traitement à l'acide sulfurique, qui a ensuite été caractérisé par FT-IR, XRD, les propriétés thermiques de la lignine extraite ont été observées à l'aide de ATG et DSC, puis la morphologie de surface de la lignine a été analysée par MEB-EDX. Les spectres FT-IR ont montré une homogénéité dans la structure chimique de l'échantillon de lignine extraite avec des traitements à l'acide sulfurique. La DSC a été utilisée pour observer la chaleur de réaction de l'échantillon de lignine. La mesure d'enthalpie associée à la pyrolyse de la lignine de *T. articulata* étaient plus élevée- 944,49 J/g. L'ATG a été utilisée pour observer la dégradation du biomatériau. La lignine extraite un rendement plus élevé de 36 % est thermiquement stable. Le rendement en carbone plus élevé prouve que l'échantillon de lignine a de grandes propriétés de résistance au feu qui peuvent être attribuées à leur structure chimique qui peut fournir des propriétés thermiques améliorées lorsqu'ils sont dans le secteur industriel. Ensuite, nous avons testé l'adsorption du colorant cationique MB

sur l'extrait la lignine en faisant varier les conditions expérimentales (temps de contact, concentration et température), Les paramètres cinétiques et thermodynamiques de la réaction ont été établis. Les résultats montrent que la cinétique d'adsorption du colorant sur la lignine est bien décrite par le pseudo-second ordre. Les isothermes d'adsorption sont décrites de manière satisfaisante par le modèle de *Langmuir*. La température a un effet positif sur l'adsorption du MB suggérant que son adsorption est un processus endothermique. Cela encouragera l'utilisation de techniques peu coûteuses pour l'élimination des colorants des eaux usées industrielles. L'extension à d'autres teintures textiles sera également discutée dans les travaux en cours.

CONCLUSION GENERALE

Dans cette thèse, nous avons réalisé une étude phytochimique pour la valorisation de *T. articulata*. Le début de la valorisation consiste en une étude globale et inclusive de la plante par une revue bibliographique qui deviendra une référence importante. Puis celle-ci consiste à isoler les composés volatils et non volatils présents dans le Thuya marocain. Cette étude nous permet d'encourager les moyens de protéger cet arbre et de valoriser ses déchets provenant de l'activité artisanale. L'objectif de ce travail spécifique est de pouvoir transformer des déchets de bois inutilisables en produits utilisables à haute valeur ajoutée.

Dans un premier temps, la recherche de données des travaux antérieurs sur *T. articulata* était basée sur plusieurs données scientifiques telles que Scopus, Wiley Online, Web of Science, Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, SciFinder et SpringerLink.

L'étude phytochimique a débuté sur les huiles essentielles de trois parties de la plante Thuya (Sciure, Cônes et Feuilles), extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger. Les résultats de cette étude montrent des rendements élevés en huiles essentielles. Les analyses par CPG-MS ont montré l'existence du Carvacrol (20.59%) comme composé majoritaire dans l'huile de la sciure. L' α -pinène (68.2%) est le constituant majeur de l'huile essentielle des cônes, alors que l'huile essentielle des feuilles contient un taux important en acétate de bornyle (39.95%). Le pouvoir antioxydant élevé exercé par l'huile essentielle de la sciure est supérieur à celui des cônes ou des feuilles.

L'évaluation de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de sciure du bois de Thuya de la région de Khemisset, par la méthode de diffusion sur disques et la méthode de dilution en milieu liquide (CMI), a permis d'affirmer qu'elle a un pouvoir inhibiteur vis-à-vis de tous les cinq micro-organismes testés aussi bien Gram négatives que Gram positives. Elle s'est également révélée être hautement efficace contre l'insecte ravageur de denrées alimentaires stockées : *S. granarius*, avec un taux de mortalité très élevé de ce nuisible.

Les tests qualitatifs ont détecté quelques familles de métabolites secondaires existant dans la plante, et les tests quantitatifs par des méthodes spectrophotométriques, ont démontré que les extraits organiques à partir de sciure possèdent des teneurs élevées en flavonoïdes et en polyphénols totaux. Il ressort des résultats obtenus qu'il y a avait une corrélation positive entre la composition chimique, les teneurs en phénols totaux et l'activité antioxydante.

Les résultats de la présente étude montrent clairement le potentiel des déchets de bois de Thuya comme source de composés phénoliques et source d'antioxydants, d'antimicrobiens et d'insecticides naturels et renouvelables. Par conséquent, ces matières extraites doivent être valorisées et produites pour lutter contre le stress oxydatif, les infections bactériennes et contre les insectes nuisibles tout en respectant l'environnement.

Nous aimerions également étudier sa toxicité afin de pouvoir recommander son utilisation potentielle dans de nombreux domaines, tels que les conservateurs alimentaires naturels, les cosmétiques, les domaines de la santé et les préparations pharmaceutiques. Celle-ci ayant été démontrée très clairement par notre travail dont les données acquises ne doivent pas rester limitées au seul milieu de la recherche universitaire. La mise en valeur de ces ressources naturelles contenues dans les déchets de *T. articulata* ne peut aboutir sans transfert et diffusion de ces présentes informations, ceci afin de sensibiliser le public aux bénéfices de leur exploitation.

Dans un dernier temps, nous avons démontré qu'il est possible d'effectuer une autre valorisation des déchets de Thuya en tant que source de lignine. Pour ce faire, nous avons examiné les caractéristiques physico-chimiques de cette matière par l'influence de l'adsorption du bleu de méthylène sur la lignine. Cette étude nous permet de dégager des conclusions sur le phénomène et la nature des interactions qui s'établissent entre le colorant cationique (bleu de méthylène) et la surface de la lignine. Ce résultat est d'autant plus intéressant pour les futures applications industrielles, en vue de leur application comme adsorbant ou dans l'élaboration de membranes de filtration pour la dépollution des eaux usées.

Le présent travail ouvre plusieurs perspectives de recherches, concernant ces extractions de composés volatils, non volatils et de la lignine. Il serait important d'exploiter les résultats obtenus à l'échelle du laboratoire pour les transférer à l'échelle pilote et industrielle. Il serait intéressant de compléter ce travail par une étude chimiométrique, technico-économique et statistique, pour obtenir le rendement maximum des extractions, avec une étude complémentaire sur la rentabilité, l'impact écologique, la qualité et les autres propriétés pharmacologiques des huiles essentielles de Thuya. Il serait intéressant de réaliser de nouveaux tests concernant le traitement des différents types de polluants car la croissance de la demande pour le traitement des polluants ne cesse de croître. Et il serait également intéressant d'étudier l'extraction d'autres parties du bois telles que la cellulose et l'hémicellulose. Enfin, concernant l'extraction d'extraits organiques de déchets de sciure de

Thuya dans ce manuscrit, une étude chimique plus approfondie devrait être conduite, en particulier pour l'identification précise des polyphénols par HPLC et la détermination d'autres propriétés.

REFERENCES

- [1] Achhal, A., Barbero, M., & Ech-Chamikh, S. J. E. M. (1985). Productivité du Thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters) dans le bassin versant du N'Fis. *Ecologia mediterranea*, 11(2), 201-212.
- [2] Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S. K., & McCord, J. M. (2011). Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular aspects of medicine*, 32(4-6), 234-246.
- [3] Liang, D., Zhou, Q., Gong, W., Wang, Y., Nie, Z., He, H., ... & Zhang, J. (2011). Studies on the antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Talinum triangulare*. *Journal of ethnopharmacology*, 136(2), 316-321.
- [4] Rains, J. L., & Jain, S. K. (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(5), 567-575.
- [5] Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.
- [6] Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- [7] Carrott, P. J. M., & Carrott, M. R. (2007). Lignin—from natural adsorbent to activated carbon: a review. *Bioresource technology*, 98(12), 2301-2312.
- [8] Hamdaoui, O., Saoudi, F., Chiha, M., & Naffrechoux, E. (2008). Sorption of malachite green by a novel sorbent, dead leaves of plane tree: Equilibrium and kinetic modeling. *Chemical Engineering Journal*, 143(1-3), 73-84.
- [9] Morte, M. A., & Honrubia, M. (1996). *Tetraclinis articulata* (Cartagena Cypress). In *Trees IV* (pp. 407-423). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [10] Hadjadj Aoul, S., Chouieb, M., & Loisel, R. (2009). Effet des facteurs environnementaux sur les premiers stades de la régénération naturelle de *Tetraclinis articulata* (Vahl, Master) en Oranie, Algérie. *Ecologia mediterranea*, 35(1), 19-30.
- [11] Calama Sainz, R. A., Sánchez-González, M., Garchi, S., Ammari, Y., Cañellas, I., & Tahar, S. (2012). Towards the sustainable management of Thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl.) Mast.) forests in Tunisia Models for main tree attributes. *Forest Systems*, 21(2), 210-217.
- [12] Esteve-Selma, M. A., Martínez-Fernández, J., Hernández, I., Montávez, J. P., Lopez, J. J., Calvo, J. F., & Robledano, F. (2010). Effects of climatic change on the distribution and conservation of Mediterranean forests: the case of *Tetraclinis articulata* in the Iberian Peninsula. *Biodiversity and Conservation*, 19(13), 3809-3825.
- [13] Quézel, P., & Médail, F. (2003). *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier.
- [14] Maatoug, M., Keller, R., Benabdeli, K., & Dilem, A. (2004). ETUDES Microdensitométriques Du Bois De Thuya De Maghreb *Tetraclinis Articulata* Vahl Masters Et Effets Des Facteurs Stationnels Sur Sa Qualité. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 19-28.

- [15] Saber, M., Menyiy, N. E., Charfi, S., Mrabti, H. N., Belmehdi, O., El Moudden, H., ... & Bouyahya, A. (2022). Comprehensive Overview On Nutritional, Phytochemistry And Pharmacological Properties Of *Tetraclinis Articulata* Masters. *Food Reviews International*, 1-62.
- [16] Daoudi, A., Bammou, M., Zarkani, S., Slimani, I., Ibijbjen, J., & Nassiri, L. (2016). Ethnobotanical study of medicinal flora in rural municipality of Aguelmous-Khenifra province–(Morocco).
- [17] El Alami, A., Farouk, L., & Chait, A. (2016). Etude ethnobotanique sur les plantes médicinales spontanées poussant dans le versant nord de l'Atlas d'Azilal (Maroc). *Algerian Journal of Natural Products*, 4(2), 271-282.
- [18] Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., & Jouad, H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilaleet). *Journal of ethnopharmacology*, 82(2-3), 97-103.
- [19] Jamila, F., & Mostafa, E. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of ethnopharmacology*, 154(1), 76-87.
- [20] Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, revue de botanique*.
- [21] Laadim, M., Ouahidi, M. L., Zidane, L., El Hessni, A., Ouichou, A., & Mesfioui, A. (2017). Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of diabetes in the town of Sidi Slimane (Morocco). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 9(6), 101-110.
- [22] OUHADDU, H. O. H., ALAOU, A., & Sezgin, A. Y. A. N. (2020). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for treating diabetes in Agadir Ida Outanane region, Southwestern Morocco. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 6(2), 72-86.
- [23] Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., & Ziyyat, A. (2002). Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *International Journal of Diabetes and Metabolism*, 10(1), 33-50.
- [24] El Hafian, M., Benlandini, N., Elyacoubi, H., Zidane, L., & Rochdi, A. (2014). Étude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 81, 7198-7213.
- [25] Barrero, A. F., Herrador, M. M., Arteaga, P., Quilez, J., Akssira, M., Mellouki, F., & Akkad, S. (2005). Chemical composition of the essential oils of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Journal of Essential Oil Research*, 17(2), 166-168.
- [26] Bourkhiss, M. B., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., Farah, A., & Satrani, B. (2010). 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*.
- [27] Ahlem, T. K., Naima, B., Saoussen, H., Hichem, B. J., & Zine, M. (2011). Chemical composition and antifungal activity of volatile components from woody terminal branches and roots of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters growing in Tunisia. *African Journal of Plant Science*, 5(2), 115-122.
- [28] Chikhoun, A., Hazzit, M., Kerbouche, L., Baaliouamer, A., & Aissat, K. (2013). *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters essential oils: Chemical composition and biological activities. *Journal of Essential Oil Research*, 25(4), 300-307.

- [29] 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.
- [30] Sliti, S., Ayadi, S., Dumarcay, S., Khouja, M., Gerardin, P., André, E., ... & Abderrabba, M. (2016). Evaluation of essential oil composition and antioxidant capacity of hydromethanolic extracts of *Tetraclinis articulata*, depending on location and seasonal variations. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(3), 968-980.
- [31] Rabib, H., Zougagh, S., Hsain, M., Badri, W., & Koussa, T. (2019). GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of Moroccan *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 8(4), 302-307.
- [32] Rguez, S., Slimene, I. B., Abid, G., Hammemi, M., Kefi, A., Elkahoui, S., ... & Djébal, N. (2020). *Tetraclinis articulata* essential oil reduces *Botrytis cinerea* infections on tomato. *Scientia Horticulturae*, 266, 109291.
- [33] Djouahri, A., Boudarene, L., & Meklati, B. Y. (2013). Effect of extraction method on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oil from the leaves of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*, 44, 32-36.
- [34] Djouahri, A., Saka, B., Boudarene, L., & Baaliouamer, A. (2016). Essential Oil Variability and Biological Activities of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. Wood According to the Extraction Time. *Chemistry & biodiversity*, 13(12), 1691-1706.
- [35] Djouahri, A., Saka, B., Boudarene, L., Benseradj, F., Aberrane, S., Aitmousa, S., ... & Baaliouamer, A. (2014). In vitro synergistic/antagonistic antibacterial and anti-inflammatory effect of various extracts/essential oil from cones of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters with antibiotic and anti-inflammatory agents. *Industrial Crops and Products*, 56, 60-66.
- [36] Tits, M., Angenot, L., Wauters, J. N., Frederich, M., Dib, I., Aziz, M., ... & Ziyat, A. (2014). Phytochemical analysis of *Tetraclinis articulata* in relation to its vasorelaxant property. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(5).
- [37] Rached, W., Zeghada, F. Z., Bennaceur, M., Barros, L., Calhelha, R. C., Heleno, S., ... & Ferreira, I. C. (2018). Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves. *Industrial Crops and Products*, 112, 460-466.
- [38] Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., & Delpino-Rius, A. (2016). Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(6), 2147-2158.
- [39] Mongrand, S., Badoc, A., Patouille, B., Lacomblez, C., Chavent, M., Cassagne, C., & Bessoule, J. J. (2001). Taxonomy of gymnospermae: multivariate analyses of leaf fatty acid composition. *Phytochemistry*, 58(1), 101-115.
- [40] Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhsine, M., & Chaouch, A. (2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 3(2).

- [41] Talbaoui, A., El Hamdaoui, L., El Moussaouiti, M., Aneb, M., Amzazi, S., & Bakri, Y. (2016). GC–MS analysis and antibacterial activity of hydro-distillation oil from *Tetraclinis articulata* wood grown in Khemisset (Morocco). *Journal of the Indian Academy of Wood Science*, 13(2), 114-117.
- [42] Djouahri, A., Saka, B., Boudarene, L., Lamari, L., Sabaou, N., & Baaliouamer, A. (2017). Essential oil variability of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. parts during its phenological cycle and incidence on the antioxidant and antimicrobial activities. *Chemistry & Biodiversity*, 14(2), e1600216.
- [43] Abi-Ayad, F. Z., Abi-Ayad, M., Lazouni, H. A., & Rebiahi, S. A. (2013). Evaluation of *Tetraclinis articulata* essential oil from Algeria flora as a potential source of antifungal activity and study of its chemical composition. *Journal of the Indian Academy of Wood Science*, 10(1), 9-15.
- [44] Alam, S. B., Benyelles, N. G., Dib, M. E. A., Djabou, N., Tabti, L., Paolini, J., ... & Costa, J. (2014). Antifungal activity of essential oils of three aromatic plants from western Algeria against five fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 87.
- [45] Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., & Jirovetz, L. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Journal of essential oil research*, 28(1), 42-48.
- [46] Ghnaya, A. B., Amri, I., Hanana, M., Gargouri, S., Jamoussi, B., Romane, A., & Hamrouni, L. (2016). *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters essential oil from Tunisia: Chemical characterization and herbicidal and antifungal activities assessment. *Industrial Crops and Products*, 83, 113-117.
- [47] Ben Jemia, M., Chaabane, S., Senatore, F., Bruno, M., & Kchouk, M. E. (2013). Studies on the antioxidant activity of the essential oil and extract of Tunisian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.(Cupressaceae). *Natural Product Research*, 27(16), 1419-1430.
- [48] 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.
- [49] Jlizi, S., Zardi-Bergaoui, A., Znati, M., Flamini, G., Ascrizzi, R., & Jannet, H. B. (2018). Chemical composition and biological evaluation of the resin from *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters: A promising source of bioactive secondary metabolites. *Industrial Crops and Products*, 124, 74-83.
- [50] Djouahri, A. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activity of methanolic, chloroform and ethyl acetate extracts of leaves *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters Algerian. *International Journal of Research in Phytochemistry and Pharmacology*, 2(1), 7-11.
- [51] Ahmed, S. B. H., Sghaier, R. M., Guesmi, F., Kaabi, B., Mejri, M., Attia, H., ... & Smaali, I. (2011). Evaluation of antileishmanial, cytotoxic and antioxidant activities of essential oils extracted from plants issued from the leishmaniasis-endemic region of Sned (Tunisia). *Natural Product Research*, 25(12), 1195-1201.
- [52] de Oliveira, P. F., Munari, C. C., Nicoletta, H. D., Veneziani, R. C. S., & Tavares, D. C. (2016). Manool, a *Salvia officinalis* diterpene, induces selective cytotoxicity in cancer cells. *Cytotechnology*, 68(5), 2139-2143.
- [53] Salhi, A., Bouyanzer, A., Hamdani, I., Chetouani, A., Hammouti, B., Znini, M., ... & El Azzouzi, M. (2015). The use of essential oil and extract of *Tetraclinis articulata* as eco-friendly corrosion inhibitors of carbon steel in hydrochloric acid solution. *Der Pharma Chemica*, 7(2), 138-147.

- [54] Djouahri, A., Sebiane, S., Kellou, F., Lamari, L., Sabaou, N., Baaliouamer, A., & Boudarene, L. (2017). Inhibitory effect on corrosion of carbon steel in acidic media, antioxidant, antimicrobial, anti-5-lipoxygenase and anti-xanthine oxidase activities of essential oil from *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves. *Journal of Essential oil Research*, 29(2), 169-178.
- [55] Giatropoulos, A., Pitarokili, D., Papaioannou, F., Papachristos, D. P., Koliopoulos, G., Emmanouel, N., ... & Michaelakis, A. (2013). Essential oil composition, adult repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, 112(3), 1113-1123.
- [56] Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F., & Mahari, S. (2006). Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de Thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *BASE*.
- [57] Ababsa, Z. E. A., Derouiche, M. T., Medjroubi, K., & Akkal, S. (2019). Antidiarrhoeal and anti-ulcerative activities of the species of the family. *Acta Scientifica Naturalis*, 6(1), 50-53.
- [58] Sadiki, F. Z., El Idrissi, M., Cioanca, O., Trifan, A., Hancianu, M., Hritcu, L., & Postu, P. A. (2019). *Tetraclinis articulata* essential oil mitigates cognitive deficits and brain oxidative stress in an Alzheimer's disease amyloidosis model. *Phytomedicine*, 56, 57-63.
- [59] El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Doukkali, Z., Boudida, E. H., Touati, D., ... & Alaoui, K. (2017). Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(3), 281-287.
- [60] Achak, N., Romane, A., Alifriqui, M., & Markouk, M. (2009). Chemical Composition, Organic and Mineral Contents of Leaves of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. From the Tensift-Al Haouz, Marrakech region (Morocco). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 12(2), 198-204.
- [61] Mohamed, N., Anouar, K. M., & Fatiha, R. A. (2015). *Ovalisia festiva* L (Coleoptera, Buprestidae): New devastating of the Thuja (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Master) in the Occidental Mountains of Traras (Algerian Western North). *International Journal of Research*, 21.
- [62] Abdelwahed, F., Mohamed, R., Bousselham, K., Mohsine, Z., Fatima, E. B. C., De Marsan, M., ... & Abderrahim, F. (2015). Natural durability of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters woods against wood decay fungi: laboratory test. *Wood Research*, 60(6), 865-872.
- [63] El Mouridi, M., Laurent, T., Brancheriau, L., Arnould, O., Famiri, A., Hakam, A., & Gril, J. (2011). Searching for material symmetries in the burr wood of thuja by a direct contact ultrasonic method on spherical samples. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 13(3), 285-296.
- [64] Lamnauer, D. *Tetraclinis Articulata* (Vahl) Masters. Guide Med. Plants North Afr. 1998, 2,p 269–272.
- [65] Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR presses polytechniques.
- [66] Badiaga, M. (2011). *Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- [67] Merghem, R. (2009). Eléments de biochimie végétale. *Edition Bahaeddine*, 107-133.

- [68] Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.
- [69] BROWN, E. J., Khodr, H., HIDER, C. R., & RICE-EVANS, C. A. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330(3), 1173-1178.
- [70] Paganga, G., Miller, N., & Rice-Evans, C. A. (1999). The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute?. *Free radical research*, 30(2), 153-162.
- [71] Chevallier, A. (2001). Encyclopedia of medicinal plants 2^{ème} éd. Londres: Larousse.
- [72] Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} éd. Lavoisier, Paris, 1120.
- [73] Fadi, Z. (2011). *le romarin, Rosmarinus Officinalis," le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal''* (Doctoral dissertation).
- [74] Sebai, M., & Boudali, M. (2012). La phytothérapie entre la confiance et méfiance [Mémoire]. *Institut de formation paramédical Chettia*.
- [75] Hernes, P. J., & Hedges, J. I. (2000). Determination of condensed tannin monomers in environmental samples by capillary gas chromatography of acid depolymerization extracts. *Analytical Chemistry*, 72(20), 5115-5124.
- [76] Schulz, H., Schrader, B., Quilitzsch, R., Pfeffer, S., & Krüger, H. (2003). Rapid classification of basil chemotypes by various vibrational spectroscopy methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2475-2481.
- [77] Meullemiestre, A. (2014). *Valorisation des déchets de la filière «bois» en deux étapes: isolation des molécules extractibles puis fabrication de charbon actif: cas du pin maritime* (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
- [78] Pearl, I. A. (1967). The chemistry of lignin. *The chemistry of lignin*.
- [79] Fengel, D., & Wegener, G. (Eds.). (2011). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter.
- [80] Moldoveanu, S. C. (2005). *Analytical pyrolysis of synthetic organic polymers*. Elsevier.
- [81] Hon, D. N. S. (1991). Wood and cellulosic chemistry. Hon DNS, Shiraishi N, Eds.
- [82] Hatfield, R., & Vermerris, W. (2001). Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. *Plant physiology*, 126(4), 1351-1357.
- [83] Das, S., Kundu, M., Jena, B. C., & Mandal, M. (2020). Causes of cancer: physical, chemical, biological carcinogens, and viruses. In *Biomaterials for 3D Tumor Modeling* (pp. 607-641). Elsevier.
- [84] Peiffer, G., Underner, M., & Perriot, J. (2018). Les effets respiratoires du tabagisme. *Revue de Pneumologie Clinique*, 74(3), 133-144.
- [85] Robinson, M. (2019). L'impact du vieillissement et de l'alimentation sur les biomarqueurs du stress oxydatif chez les femmes atteintes du cancer du sein.
- [86] van Elsland, D., & Neefjes, J. (2018). Bacterial infections and cancer. *EMBO reports*, 19(11), e46632.
- [87] Rodgers, K. M., Udesky, J. O., Rudel, R. A., & Brody, J. G. (2018). Environmental chemicals and breast cancer: an updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. *Environmental research*, 160, 152-182.

- [88] Arvers, P. (2018). Alcool et poumon: des liaisons dangereuses. *Revue des Maladies Respiratoires*, 35(10), 1039-1049.
- [89] Lauby-Secretan, B., Dossus, L., Marant-Micallef, C., & His, M. (2019). Obésité et cancer. *Bulletin du cancer*, 106(7-8), 635-646.
- [90] Mazzei-Abba, A., Folly, C. L., Kreis, C., Ammann, R. A., Adam, C., Brack, E., ... & Spycher, B. D. (2021). External background ionizing radiation and childhood cancer: update of a nationwide cohort analysis. *Journal of environmental radioactivity*, 238, 106734.
- [91] Falette, N., Fervers, B., & Carretier, J. (2019). Cancers et expositions environnementales: entre certitudes et incertitudes. *Bulletin du Cancer*, 106(11), 975-982.
- [92] Walker, J. E., Saraste, M., Runswick, M. J., & Gay, N. J. (1982). Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The EMBO journal*, 1(8), 945-951.
- [93] Zoubeidi, C. (2004). *Etude des antioxydants dans le rosmarinus officinalis. labiatea* (Doctoral dissertation, Ouargla, Université Kasdi Merbah. Faculté des Sciences et Sciences de L'ingenieur).
- [94] Jacques, B., & André, R. (2004). Biochimie métabolique Ed ellipses. *Paris. pp*, 217-219220.
- [95] Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161.
- [96] Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.
- [97] Rahman, I. (2002). Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic targets. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 1(3), 291-315.
- [98] Aurousseau, B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits.
- [99] Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
- [100] Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 75(2), 199-212.
- [101] Smith, A. R., Shenvi, S. V., Widlansky, M., Suh, J. H., & Hagen, T. M. (2004). Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 11(9), 1135-1146.
- [102] Bolton, J. L., Trush, M. A., Penning, T. M., Dryhurst, G., & Monks, T. J. (2000). Role of quinones in toxicology. *Chemical research in toxicology*, 13(3), 135-160.
- [103] Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., & Bora, U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food research international*, 41(1), 1-15.
- [104] Jha, P., Flather, M., Lonn, E., Farkouh, M., & Yusuf, S. (1995). The antioxidant vitamins and cardiovascular disease: a critical review of epidemiologic and clinical trial data. *Annals of Internal Medicine*, 123(11), 860-872.
- [105] Georgetti, S. R., Casagrande, R., Di Mambro, V. M., Azzolini, A. E., & Fonseca, M. J. (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS PharmSci*, 5(2), 111-115.
- [106] Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?. *The lancet*, 344(8924), 721-724.

- [107] Liu, R., & Mabury, S. A. (2020). Synthetic phenolic antioxidants: A review of environmental occurrence, fate, human exposure, and toxicity. *Environmental science & technology*, 54(19), 11706-11719.
- [108] Yang, X., Song, W., Liu, N., Sun, Z., Liu, R., Liu, Q. S., ... & Jiang, G. (2018). Synthetic phenolic antioxidants cause perturbation in steroidogenesis in vitro and in vivo. *Environmental science & technology*, 52(2), 850-858.
- [109] Dassarma, B., Nandi, D. K., Gangopadhyay, S., & Samanta, S. (2018). Hepatoprotective effect of food preservatives (butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicology Reports*, 5, 31-37.
- [110] Jamshidi-Kia, F., Wibowo, J. P., Elachouri, M., Masumi, R., Salehifard-Jouneghani, A., Abolhasanzadeh, Z., & Lorigooini, Z. (2020). Battle between plants as antioxidants with free radicals in human body. *Journal of Herbmед Pharmacology*, 9(3), 191-199.
- [111] Kahouli, I. (2010). Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l'huile de canola chauffée.
- [112] Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(6), 2576-2581.
- [113] Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- [114] Garrett, A. R., Murray, B. K., Robison, R. A., & O'Neill, K. L. (2010). Measuring antioxidant capacity using the ORAC and TOSC assays. In *Advanced protocols in oxidative stress II* (pp. 251-262). Humana Press, Totowa, NJ.
- [115] Benzie, I. F., & Devaki, M. (2018). The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications*, 77-106.
- [116] Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Çelik, S. E., ... & Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Analytical methods*, 3(11), 2439-2453.
- [117] Cano, A., & Arnao, M. B. (2018). ABTS/TEAC (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)/Trolox®-Equivalent Antioxidant Capacity) radical scavenging mixed-mode assay. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications*. Chichester: Wiley, 117-139.
- [118] Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food chemistry*, 130(4), 1036-1043.
- [119] Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2016). Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7), 836.
- [120] Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., & Wink, M. (2010). Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, 17(13), 1061-1066.
- [121] Duschatzky, C. B., Possetto, M. L., Talarico, L. B., García, C. C., Michis, F., Almeida, N. V., ... & Damonte, E. B. (2005). Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 16(4), 247-251.

- [122] Lang, G., & Buchbauer, G. (2012). A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(1), 13-39.
- [123] Akthar, M. S., Degaga, B., & Azam, T. (2014). Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *J. Issues ISSN*, 2350, 1588.
- [124] Benayad, N. (2013). Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes marocaines et activité anticancéreuse.
- [125] Reichmuth, C., Schöller, M., & Ulrichs, C. (2007). *Stroed Product Pets in Grain: Morphology-Biology-Damage-Control*. AgroConcept Verlagsgesellschaft.
- [126] Leraut, P. (2015). Les insectes: Histoires insolites. *Les insectes*, 1-120.
- [127] Gerozisis, J., Hadlington, P. W., & Staunton, I. (2008). *Urban pest management in Australia*. UNSW Press.
- [128] FATTOM, K. (2017). *Evaluation de l'effet insecticide de deux huiles essentielles formulées (Thymus pallezens Noé et Artemisia herba alba Asso) sur les adultes Sitophilus granarius (L)(Coleoptera: Curulionide) et Rhysopertha dominica (F)(Coleoptera: Bostrichidae)* (Doctoral dissertation).
- [129] Ravi Kiran, S., & Sita Devi, P. (2007). Evaluation of mosquitocidal activity of essential oil and sesquiterpenes from leaves of Chloroxylon swietenia DC. *Parasitology research*, 101(2), 413-418.
- [130] Isman, M. B. (2004). Plant essential oils as green pesticides for pest and disease management.
- [131] White, N. D. G. (2001). Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grain entreposées à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Agriculture et Agroalimentaires Canada. *Agriculture et Agroalimentaires Canada*. <http://www.agr.gc.ca/science/winnipeg>.
- [132] El Fakir, L. (2017). Adsorption de colorants de textiles et d'un métal lourd (Cu) sur des matériaux naturels et synthétiques: modélisation et études cinétique et thermodynamique.
- [133] Moletta, R. (2009). L'eau, sa pollution, et son traitement.
- [134] Rashed, M. N. (2013). Adsorption technique for the removal of organic pollutants from water and wastewater. *Organic pollutants-monitoring, risk and treatment*, 7, 167-194.
- [135] Zollinger, H. (1987). Color Chemistry-Synthesis, Properties and Application of Organic Dyes and Pigments, VCH Publ. New York, 85-87.
- [136] EL ALOUANI, M. (2020). Synthèse et caractérisation des matériaux inorganiques de type géopolymères à base de cendres volantes et de métakaolin: Application en génie de l'environnement et génie civil.
- [137] Graba, Z., Hamoudi, S., Bekka, D., Bezzi, N., & Boukherroub, R. (2015). Influence of adsorption parameters of basic red dye 46 by the rough and treated Algerian natural phosphates. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 25, 229-238.
- [138] Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *The Journal of the American Pharmaceutical Association* (1912), 17(4), 345-349.
- [139] Jensen, W. B. (2007). The origin of the Soxhlet extractor. *Journal of chemical education*, 84(12), 1913.
- [140] Sharma, V., & Janmeda, P. (2017). Extraction, isolation and identification of flavonoid from Euphorbia neriifolia leaves. *Arabian Journal of chemistry*, 10(4), 509-514.

- [141] Yubin, J. I., Miao, Y., Bing, W., & Yao, Z. (2014). The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(1), 338-345.
- [142] N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).
- [143] Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J Pharma Res*, 2, 77-82.
- [144] Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.
- [145] Allangba, M. R. A., Kadja, A. B., Guessennnd, N. K., Mamyrbékova-Békro, J. A., & Békro, Y. A. (2016). Etude phytochimique bio-guidée, activités antibactérienne et analgésique de décoctions éthanoliques d'une Mimosaceae de Côte d'Ivoire/Bio-guided phytochemical survey, antibacterial and analgesic activities of ethanolic decoctions of a Mimosaceae from Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 18(2), 569.
- [146] Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- [147] Daels-rakotoarison, D. (1999). *Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat. Université de Lille II. France. 172 (64)).
- [148] Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., ... & Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of ethnopharmacology*, 72(1-2), 35-42.
- [149] Ghnimi, W. (2015). *Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae: Ricinus communis et Jatropha curcas. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [150] Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732-1738.
- [151] Techer, S. (2013). *Criblage d'activités biologiques de plantes endémiques ou indigènes de La Réunion-Recherche de molécules antivirales ciblant le virus du chikungunya* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).
- [152] Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- [153] Hubert, J. (2006). *Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja: étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines* (Doctoral dissertation).
- [154] El-Guezane, C., El-Moudden, H., Harhar, H., Chahboun, N., Tabyaoui, M., & Zarrouk, A. (2021). A comparative study of the antioxidant activity of two Moroccan prickly pear cultivars collected in different regions. *Chemical Data Collections*, 31, 100637.
- [155] Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.

- [156] Archambaud, M. (2000). Méthode d'évaluation de l'activité des antibiotiques. *Brûlures*, 1.
- [157] Plarre, R. (2013). An attempt to reconstruct the natural and cultural history of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *EJE*, 107(1), 1-11.
- [158] Longstaff, B. C. (1981). Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): a critical review. *Protection Ecology*, 3(2), 83-130.
- [159] Steffan, J. R. (1978). Description et biologie des insectes.
- [160] Danho, M., & Haubruge, É. (2003). Comportement de ponte et stratégie reproductive de *Sitophilus zeamais* [Coleoptera: Curculionidae]. *Phytoprotection*, 84(2), 59-67.
- [161] Bailey, P. T. (Ed.). (2007). *Pests of field crops and pastures: identification and control*. CSIRO publishing.
- [162] Mason, L. J., & McDonough, M. (2012). Biology, behavior, and ecology of stored grain and legume insects. *Stored product protection*, 1(7).
- [163] Hagstrum, D. W., Phillips, T. W., & Cuperus, G. Stored Product Protection; Kansas State University: Manhattan, AR, USA, 2012. *Google Scholar*.
- [164] Tak, J. H., Jovel, E., & Isman, M. B. (2016). Comparative and synergistic activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil constituents against the larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 72(3), 474-480.
- [165] Ma, W. B., Feng, J. T., Jiang, Z. L., & Zhang, X. (2014). Fumigant activity of 6 selected essential oil compounds and combined effect of methyl salicylate and trans-cinnamaldehyde against *Culex pipiens pallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 30(3), 199-203.
- [166] Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., Templeton, D., & Crocker, D. L. A. P. (2008). Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. *Laboratory analytical procedure*, 1617(1), 1-16.
- [167] Roberts, J. C. (1996). Applications of paper chemistry. In *Paper chemistry* (pp. 1-8). Springer, Dordrecht.
- [168] Fontanille, M., Gnanou, Y., & Six, J. L. (2002). *Chimie et physico-chimie des polymères* (Vol. 386). Paris: Dunod.
- [169] Scott, W. E., Abbott, J. C., & Trosset, S. (1995). *Properties of paper: an introduction*.
- [170] M'barek, B. O. U. R. K. H. I. S. S., Mohamed, H. N. A. C. H., Julien, P. A. O. L. I. N. I., Jean, C. O. S. T. A., & Abdelaziz, C. H. A. O. U. C. H. (2009). Composition chimique des huiles essentielles de la sciure de bois et de feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- [171] Buhagiar, J., Podestà, M. C., Cioni, P. L., Flamini, G., & Morelli, I. (2000). Essential oil composition of different parts of *Tetraclinis articulata*. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1), 29-32.
- [172] Rajabi, Z., Ebrahimi, M., Farajpour, M., Mirza, M., & Ramshini, H. (2014). Compositions and yield variation of essential oils among and within nine *Salvia* species from various areas of Iran. *Industrial Crops and Products*, 61, 233-239.
- [173] Toumi, F. B., Benyahia, M., Hamel, L., Mohamedi, H., & Boudaghen, L. (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.

- [174] Boussaïd, M., Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., Paoli, M., Casanova, J., & Tomi, F. (2016). Composition and chemical variability of the cone oil from Algerian *Tetraclinis articulata*. *Natural Product Communications*, 11(8), 1934578X1601100834.
- [175] Zrira, S., Benjilali, B., & Elamrani, A. (2005). Chemical composition of the sawdust oil of Moroccan *Tetraclinis articulata* Vahl. *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 96-97.
- [176] Igri, M. A., Holeman, M., & Ildrissi, M. (1990). Contribution à l'étude chimique des huiles essentielles des rameaux et du bois de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Plant Med Phytother*, 24, 36-43.
- [177] Satrani, B. (2006). Valorisation de plantes aromatiques et médicinales par l'analyse chimique et l'étude de la bioactivité de leurs huiles essentielles.
- [178] Hussain, A. I., Anwar, F., Nigam, P. S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2010). Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(11), 1827-1836.
- [179] 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.
- [180] Fatiha, L., Hachemi, B., & Zineb, B. (2015). Essential oil composition of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters. Leaves from Algeria. *Int. J. Herb. Med*, 2(6 Part A), 31-33.
- [181] Boussaïd, M., Bekhechi, C., Beddou, F., Sari, D. C., Bighelli, A., Casanova, J., & Tomi, F. (2015). Chemical variability of the essential oil isolated from aerial parts of *Tetraclinis articulata* from North-Western Algeria. *Natural Product Communications*, 10(8), 1934578X1501000834.
- [182] Harmouzi, A., Boughdad, A., El Ammari, Y., & Chaouch, A. (2016). Chemical composition and toxicity of Moroccan *Tetraclinis articulata* and *Juniperus phoenicea* essential oils against *Aphis citricola* Goot, 1912 (Homoptera, Aphididae). *Research on Chemical Intermediates*, 42(9), 7185-7197.
- [183] Sadiki, F. Z., El Idrissi, M., Sbiti, M., Lemrhari, A., Trifan, A., Cioanca, O., ... & Hritcu, L. (2018). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters branches of eastern Morocco. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 5(1), 1-6.
- [184] Bouayad Alam, S., Dib, M. E. A., Djabou, N., Tabti, B., Gaouar Benyelles, N., Costa, J., & Muselli, A. (2017). Essential oils as biocides for the control of fungal infections and devastating pest (*Tuta absoluta*) of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Chemistry & Biodiversity*, 14(7), e1700065.
- [185] Boubaker, H., Karim, H., Msanda, F., Boudyach, E. H., & Ait Ben Ao, A. (2019). Study of Essential Oil Composition and Antifungal Activity of *Lavandula mairei*, *L. dentata* and *Tetraclinis articulata*. *Journal of Applied Sciences*, 19(6), 544-550.
- [186] Abdulmajed, K., McGuigan, C., & Heard, C. M. (2005). Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free radical research*, 39(5), 491-498.
- [187] Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69(2), 167-174.
- [188] Kulisic, 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.
- [189] Dietrich, R., Jessberger, N., Ehling-Schulz, M., Märtilbauer, E., & Granum, P. E. (2021). The food poisoning toxins of *Bacillus cereus*. *Toxins*, 13(2), 98.

- [190] Pamer, E. G. (2004). Immune responses to *Listeria monocytogenes*. *Nature Reviews Immunology*, 4(10), 812-823.
- [191] Roussel, S., Leclercq, A., Santolini, J., Agbessi, A., Chenal-Francisque, V., Lailler, R., ... & Brisabois, A. (2012). Surveillance des *Listeria monocytogenes* dans les aliments. *Bull. Epidemiol*, 50, 51-56.
- [192] Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10(12), 6235-6254.
- [193] Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Bidlas, E., Cleenwerck, I., Marugg, J., ... & Joosten, H. (2007). The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies 1. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 1-11.
- [194] Rychlik, I., Karpiskova, R., Faldynova, M., & Sisak, F. (1998). Computer-assisted restriction endonuclease analysis of plasmid DNA in field strains of *Salmonella enteritidis*. *Canadian journal of microbiology*, 44(12), 1183-1185.
- [195] Agron, P. G., Walker, R. L., Kinde, H., Sawyer, S. J., Hayes, D. C., Wollard, J., & Andersen, G. L. (2001). Identification by subtractive hybridization of sequences specific for *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Applied and environmental microbiology*, 67(11), 4984-4991.
- [196] El Hattabi, L., Talbaoui, A., Amzazi, S., Bakri, Y., Harhar, H., Costa, J., & Tabyaoui, M. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of three essential oils from south of Morocco (*Thymus satureoides*, *Thymus vulgaris* and *Chamaelum nobilis*). *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(9), 3110-3117.
- [197] Zerkani, H., Tagnaout, I., Dirioiche, A., Adadi, I., El Karkouri, J., Padzys, G. S., & Zair, T. (2019). Chemical characterization and antibacterial activity of the essential oils of *Tetraclinis articulata* (Vahl) from Morocco. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 8(5), 390-396.
- [198] Bourkhiss, M., Hnach, M., Lakhli, T., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Satrani, B. (2010). 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*.
- [199] Zerkani, H., Tagnaout, I., Dirioiche, A., Adadi, I., El Karkouri, J., Padzys, G. S., & Zair, T. (2019). Chemical characterization and antibacterial activity of the essential oils of *Tetraclinis articulata* (Vahl) from Morocco. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 8(5), 390-396.
- [200] Ibrahim, T. A., Atef, A., El-Hefnawy, H. M., Al-Taweel, A. M., & Perveen, S. (2017). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of some coniferous plants cultivated in Egypt. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 16(1), 328.
- [201] Zaouali, Y., Bouzaine, T., & Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3144-3152.
- [202] Sofowora, A. Medicinal plants and traditional medicine in Africa. 1993. *Spectrum Books, Ibadan, Nigeria*, 289.

- [203] Oyedele, O., Olutiola, P. O., Owolabi, K. D., & Adejo, K. A. (2011). Multiresistant faecal indicator bacteria in stream and well waters of Ile-Ife City, Southwestern Nigeria: Public health implications. *Journal of Public Health and Epidemiology*, 3(8), 371-381.
- [204] Lahcen, S. A., El Hattabi, L., Benkaddour, R., Chahboun, N., Ghanmi, M., Satrani, B., ... & Zarrouk, A. (2020). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of Moroccan *Cistus creticus* leaves. *Chemical Data Collections*, 26, 100346.
- [205] Račková, L., Májeková, M., Košťálová, D., & Štefek, M. (2004). Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from *Mahonia aquifolium*. Structural aspects. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12(17), 4709-4715.
- [206] Suhaj, M. (2006). Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 531-537.
- [207] Herzi, N., Camy, S., Bouajila, J., Destrac, P., Romdhane, M., & Condoret, J. S. (2013). Supercritical CO₂ extraction of *Tetraclinis articulata*: chemical composition, antioxidant activity and mathematical modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 82, 72-82.
- [208] El Guiche, R., Tahrouch, S., Amri, O., El Mehrach, K., & Hatimie, A. (2015). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of 30 medicinal and aromatic plants located in the South of Morocco. *International Journal of New Technology and Research*, 1(3), 263695.
- [209] Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary polyphenols and their biological significance. *International journal of molecular sciences*, 8(9), 950-988.
- [210] Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- [211] El Hattabi L, N. El Madani, Z. Charrouf, J. Costa, J. M. Desjobert et M. Tabyaoui (2016), Studies on Chemical Composition, Phenolic contents and Antioxidant Activities of three *Thymus* Essential Oils from Morocco, *Der PharmaChemica*, 8(7):7-15
- [212] Amri, O., Elguiche, R., Tahrouch, S., Zekhnini, A., & Hatimi, A. (2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of chemical and pharmaceutical Research*, 7(7), 672-678.
- [213] Guettaf, S., Abidli, N., Kariche, S., Bellebcir, L., & Bouriche, H. (2016). Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista Saharæ* (Coss. & Dur.). *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 50-60.
- [214] Fan, L. T., Gharpuray, M. M., & Lee, Y. H. (1987). Acid hydrolysis of cellulose. In *Cellulose Hydrolysis* (pp. 121-148). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [215] Patil, P. T., Armbruster, U., Richter, M., & Martin, A. (2011). Heterogeneously catalyzed hydroprocessing of organosolv lignin in sub-and supercritical solvents. *Energy & Fuels*, 25(10), 4713-4722.
- [216] Haddad, A., Lachenal, D., Marechal, A., Kaid-Harche, M., & Janin, G. (2006). Caractéristiques papetières de la pâte de bois de *Thuya de Berbérie* (Algérie) (*Tetraclinis articulata* Vahl) obtenue par un procédé soude-anthraquinone. *Annals of forest science*, 63(5), 493-498.
- [217] Leopold, B. E. N. G. T., & Malmstrom, I. L. (1952). Studies on lignin. IV investigation on the nitrobenzene oxidation products of lignin from different woods by paper partition chromatography. *Acta. Chem. Scand*, 6(1), 49-54.

- [218] Creighton, R. H. J., & Hibbert, H. (1944). Studies on lignin and related compounds. LXXVI. Alkaline nitrobenzene oxidation of corn stalks. Isolation of p-hydroxybenzaldehyde. *Journal of the American Chemical Society*, 66(1), 37-38.
- [219] Faix, O., & Beinhoff, O. (1988). FTIR spectra of milled wood lignins and lignin polymer models (DHP's) with enhanced resolution obtained by deconvolution. *Journal of wood chemistry and technology*, 8(4), 505-522.
- [220] Naumann, A., Peddireddi, S., Kües, U., & Polle, A. (2007). 10. Fourier Transform Infrared Microscopy in Wood Analysis. *Wood production, wood technology, and biotechnological impacts*, 179.
- [221] Abdelaziz, O. Y., & Hulteberg, C. P. (2017). Physicochemical characterisation of technical lignins for their potential valorisation. *Waste and Biomass Valorization*, 8(3), 859-869.
- [222] Kian, L. K., Jawaid, M., Ariffin, H., & Alothman, O. Y. (2017). Isolation and characterization of microcrystalline cellulose from roselle fibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 931-940.
- [223] Nunes, K. S. D., & Pardini, L. C. (2019). Purification and characterization methods for lignin biomass as a potential precursor for carbon materials. *Cellul. Chem. Technol*, 53, 227-242.
- [224] Wang, G., & Chen, H. (2014). Carbohydrate elimination of alkaline-extracted lignin liquor by steam explosion and its methylation for substitution of phenolic adhesive. *Industrial Crops and Products*, 53, 93-101.
- [225] Carrott, P. J. M., & Carrott, M. R. (2007). Lignin—from natural adsorbent to activated carbon: a review. *Bioresource technology*, 98(12), 2301-2312.
- [226] Pandey, K. K. (1999). A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy. *Journal of Applied Polymer Science*, 71(12), 1969-1975.
- [227] Savy, D., & Piccolo, A. (2014). Physical–chemical characteristics of lignins separated from biomasses for second-generation ethanol. *Biomass and bioenergy*, 62, 58-67.
- [228] Faix, O. (1991). Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy.
- [229] Rowell, R. M. (2005). *Handbook of wood chemistry and wood composites*. CRC press.
- [230] Nawawi, D. S., Syafii, W., Akiyama, T., & Matsumoto, Y. (2016). Characteristics of guaiacyl-syringyl lignin in reaction wood in the gymnosperm *Gnetum gnemon* L. *Holzforschung*, 70(7), 593-602.
- [231] Ros, L. G., Gabaldón, C., Pomar, F., Merino, F., Pedreño, M. A., & Barceló, A. R. (2007). Structural motifs of syringyl peroxidases predate not only the gymnosperm–angiosperm divergence but also the radiation of tracheophytes. *New Phytologist*, 173(1), 63-78.
- [232] Goudarzi, A., Lin, L. T., & Ko, F. K. (2014). X-ray diffraction analysis of kraft lignins and lignin-derived carbon nanofibers. *Journal of Nanotechnology in Engineering and Medicine*, 5(2).
- [233] Kubo, S., & Kadla, J. F. (2005). Lignin-based carbon fibers: Effect of synthetic polymer blending on fiber properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 13(2), 97-105.
- [234] Ansari, K. B., & Gaikar, V. G. (2014). Green hydrotropic extraction technology for delignification of sugarcane bagasse by using alkybenzene sulfonates as hydrotropes. *Chemical Engineering Science*, 115, 157-166.
- [235] Fushimi, C., Araki, K., Yamaguchi, Y., & Tsutsumi, A. (2003). Effect of heating rate on steam gasification of biomass. 2. Thermogravimetric-mass spectrometric (TG-MS) analysis of gas evolution. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 42(17), 3929-3936.

- [236] Yang, H., Yan, R., Chen, H., Zheng, C., Lee, D. H., & Liang, D. T. (2006). In-depth investigation of biomass pyrolysis based on three major components: hemicellulose, cellulose and lignin. *Energy & Fuels*, 20(1), 388-393.
- [237] Yang, H., Yan, R., Chen, H., Lee, D. H., & Zheng, C. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86(12-13), 1781-1788.
- [238] Park, S. W., Jang, C. H., Baek, K. R., & Yang, J. K. (2012). Torrefaction and low-temperature carbonization of woody biomass: Evaluation of fuel characteristics of the products. *Energy*, 45(1), 676-685.
- [239] Manara, P., Zabaniotou, A., Vanderghem, C., & Richel, A. (2014). Lignin extraction from Mediterranean agro-wastes: Impact of pretreatment conditions on lignin chemical structure and thermal degradation behavior. *Catalysis Today*, 223, 25-34.
- [240] Dereca Watkins, M., Nuruddin, M. H., & Alfred, T. N. (2014). Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. *Journal of Materials Research and Technology, Elsevier*, 28.
- [241] Sameni, J., Krigstin, S., dos Santos Rosa, D., Leao, A., & Sain, M. (2014). Thermal characteristics of lignin residue from industrial processes. *BioResources*, 9(1), 725-737.
- [242] El-Moustaqim, M., El-Kaihal, A., El-Marouani, M., Men-La-Yakhaf, S., Taibi, M., Sebbahi, S., ... & Kifani-Sahban, F. (2018). Thermal and thermomechanical analyses of lignin. *Sustain Chem Pharm* 9: 63–68.
- [243] Heitner, C., Dimmel, D., & Schmidt, J. (Eds.). (2016). *Lignin and lignans: advances in chemistry*. CRC press.
- [244] Tejado, A., Pena, C., Labidi, J., Echeverria, J. M., & Mondragon, I. (2007). Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol–formaldehyde resin synthesis. *Bioresource technology*, 98(8), 1655-1663.
- [245] Lagergren, S. K. (1898). About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Sven. Vetenskapsakad. Handlingar*, 24, 1-39.
- [246] Ho, Y. S., & McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes. *Process biochemistry*, 34(5), 451-465.
- [247] Ho, Y. S., & McKay, G. (2000). The kinetics of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat. *Water research*, 34(3), 735-742.
- [248] Bouhdadi, R., Benhadi, S., Molina, S., George, B., El Moussaouiti, M., & Merlin, A. (2011). Chemical modification of cellulose by acylation: Application to adsorption of methylene blue. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 13(1), 105-116.
- [249] FROM, A. S. O. B. P., & STONES, A. D. (2016). Etude de l'adsorption du Bleu de Methylene (BM) à partir des solutions aqueuses sur un biosorbant préparé à partir des noyaux de datte Algérienne. *Larhyss Journal*, (28), 135-148.
- [250] Feng, Q., Cheng, H., Chen, F., Zhou, X., Wang, P., & Xie, Y. (2016). Investigation of cationic dye adsorption from water onto acetic acid lignin. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 36(3), 173-181.
- [251] Patawat, C., Silakate, K., Chuan-Udom, S., Supanchaiyamat, N., Hunt, A. J., & Ngernyen, Y. (2020). Preparation of activated carbon from *Dipterocarpus alatus* fruit and its application for methylene blue adsorption. *RSC advances*, 10(36), 21082-21091.

- [252] Mouni, L., Belkhir, L., Bollinger, J. C., Bouzaza, A., Assadi, A., Tirri, A., ... & Remini, H. (2018). Removal of Methylene Blue from aqueous solutions by adsorption on Kaolin: Kinetic and equilibrium studies. *Applied Clay Science*, 153, 38-45.
- [253] Marouani, E. M., Fakir, L. E., Yakhaf, S. M. L., Hrech, N. E., Dahchour, A., Sebbahi, S., ... & Kifani-Sahban, F. (2017). Removal of textile dyes from aqueous solutions by lignin and its derivative charcoals: characterization, adsorption kinetics and isotherms. *Desalination and Water Treatment*, 81, 265-273.
- [254] Langmuir, I. (1916). The constitution and fundamental properties of solids and liquids. Part I. Solids. *Journal of the American chemical society*, 38(11), 2221-2295.
- [255] Freundlich, H. M. F. (1906). Over the adsorption in solution. *J. Phys. chem*, 57(385471), 1100-1107.
- [256] Mahmud, K., Azharul Islam, M., Mitsionis, A., Albanis, T., & Vaimakis, T. (2012). Adsorption of direct yellow 27 from water by poorly crystalline hydroxyapatite prepared via precipitation method. *Desalination and Water Treatment*, 41(1-3), 170-178.
- [257] Šljivić, M., Smičiklas, I., Plečáš, I., & Mitrić, M. (2009). The influence of equilibration conditions and hydroxyapatite physico-chemical properties onto retention of Cu²⁺ ions. *Chemical Engineering Journal*, 148(1), 80-88.
- [258] Yang, C. H. (1998). Statistical mechanical study on the Freundlich isotherm equation. *Journal of colloid and interface science*, 208(2), 379-387.
- [259] Isa, M. H., Lang, L. S., Asaari, F. A., Aziz, H. A., Ramli, N. A., & Dhas, J. P. A. (2007). Low cost removal of disperse dyes from aqueous solution using palm ash. *Dyes and pigments*, 74(2), 446-453.
- [260] Albadarin, A. B., Mangwandi, C., Walker, G. M., Allen, S. J., & Ahmad, M. N. (2011). Biosorption characteristics of sawdust for the removal of Cd (II) ions: mechanism and thermodynamic studies. *Chem. Eng. Trans*, 24, 1297-1302.
- [261] Tadashi, M. (Ed.). (2011). *Application of Thermodynamics to Biological and Materials Science*. BoD—Books on Demand.
- [262] Benturki, O. S., Donnot, A., Molina, S., Merlin, A., & Addoun, F. (2008). Synthesis and characterization of activated carbons obtained from jujube shells “Nebka”. *J. Soc. Alger. Chim*, 18(1), 7-23.
- [263] Mashkoor, F., & Nasar, A. (2020). Magsorbents: Potential candidates in wastewater treatment technology—A review on the removal of methylene blue dye. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 500, 166408.
- [264] Ab Ghani, Z., Yusoff, M. S., Zaman, N. Q., Zamri, M. F. M. A., & Andas, J. (2017). Optimization of preparation conditions for activated carbon from banana pseudo-stem using response surface methodology on removal of color and COD from landfill leachate. *Waste Management*, 62, 177-187.
- [265] Salazar-Rabago, J. J., Leyva-Ramos, R., Rivera-Utrilla, J., Ocampo-Perez, R., & Cerino-Cordova, F. J. (2017). Biosorption mechanism of Methylene Blue from aqueous solution onto White Pine (*Pinus durangensis*) sawdust: Effect of operating conditions. *Sustainable Environment Research*, 27(1), 32-40.
- [266] Zhang, R., Zhou, Y., Gu, X., & Lu, J. (2015). Competitive adsorption of methylene blue and Cu²⁺ onto citric acid modified pine sawdust. *CLEAN—Soil, Air, Water*, 43(1), 96-103.
- [267] Bortoluz, J., Ferrarini, F., Bonetto, L. R., da Silva Crespo, J., & Giovanela, M. (2020). Use of low-cost natural waste from the furniture industry for the removal of methylene blue by adsorption: isotherms, kinetics and thermodynamics. *Cellulose*, 27(11), 6445-6466.

[268] Mishra, S. P., Patra, A. R., & Das, S. (2021). Methylene blue and malachite green removal from aqueous solution using waste activated carbon. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(1), 7410-7421.

Résumé

Cette thèse rend compte des investigations antérieures sur *Tetraclinis articulata* et la présente étude a été consacrée à l'étude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des huiles essentielles de la sciure de bois, des feuilles et des cônes de *T. articulata* du Maroc (de la région de Khemisset). Le rendement obtenu par hydrodistillation est de l'ordre de 2.19 %, 0.46 % et 0.33 %, respectivement. L'analyse GC-MS de différentes huiles essentielles a identifié 22 composés dans la partie sciure, 7 composés dans les feuilles et 23 composés dans les cônes représentant respectivement 87.25%, 97.89% et 92.23% de la composition totale. Les résultats de l'activité antioxydante ont montré que l'huile essentielle de sciure de bois ($IC_{50} = 0.0144$ mg/mL) a une activité antioxydante très intéressante par rapport aux autres échantillons. L'activité antibactérienne de l'HE de sciure de bois a un excellent effet inhibiteur contre les bactéries testées : *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii* et *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. De plus, l'activité insecticide de l'huile essentielle de sciure de bois est sensible vis-à-vis de l'insecte *Sitophilus granarius*, elle s'est révélée plus toxique par contact ($DL_{50} = 40.625$ μ L/cm²) que par fumigation ($DL_{50} > 100$ μ L/cm³) pour 24h d'exposition. La teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes était élevée dans les extraits organiques de sciure de bois et une forte corrélation a été observée entre la teneur élevée en polyphénols et l'importante activité antioxydante. Par conséquent, cette plante pourrait être une source potentielle pour la préparation d'un médicament antioxydant naturel ou d'une préparation additive. La présente enquête comprend également l'extraction de la lignine de la sciure de bois à l'aide d'un traitement à l'acide sulfurique. La lignine extraite a été caractérisée par FT-IR et DRX, ses propriétés thermiques ont été étudiées à l'aide d'analyses ATG, DTG et DSC, et sa morphologie de surface a été observée par MEB-EDX. Les spectres FT-IR ont montré une homogénéité dans la structure chimique de l'échantillon de lignine. Dans le test d'adsorption, le modèle du second ordre décrit mieux la cinétique de la réaction d'adsorption que le modèle du premier ordre. L'analyse des isothermes d'adsorption à l'aide de différents modèles classiques a montré que l'adsorption peut être gouvernée par l'isotherme de Langmuir. Les paramètres thermodynamiques ont été déterminés à partir des valeurs de la capacité maximale d'adsorption et des constantes d'équilibre.

Mots-clés: *Tetraclinis articulata*; Lignine; Thuya; sciure; huiles essentielles; analyse phytochimique; activité antioxydante; activité antibactérienne; activité insecticide; adsorption.

Abstract

This thesis reports previous investigations on *Tetraclinis articulata* and the search of present study was dedicated to the study of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oils of the sawdust, leaves and cones of *T. articulata* in Morocco (from Khemisset region). The yield obtained by hydrodistillation is the order of 2.19%, 0.46% and 0.33%, respectively. The GC-MS analysis of various essential oils identified 22 compounds in the sawdust part, 7 compounds in the leaves and 23 compounds in the cones respectively representing 87.25%, 97.89% and 92.23% of the total composition. The results of the antioxidant activity showed that the essential oil of sawdust ($IC_{50} = 0.0144$ mg/mL) has a very interesting anti-oxidant activity compared to other samples. The antibacterial activity of EO from sawdust has an excellent inhibitory effect against tested bacteria: *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Cronobacter sakazakii* and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis by. Moreover, the insecticidal activity of the essential oil of sawdust is sensitive against the insect *Sitophilus granarius*, it proved to be more toxic by contact ($DL_{50} = 40.625$ μ L/cm²) than by fumigation ($DL_{50} > 100$ μ L/cm³) for 24h of exposure. The amount of total phenolic and flavonoid contents was high in the sawdust organic extracts and a strong correlation observed between high polyphenol content and high antioxidant activity. Therefore, this plant could be potential candidates for the preparation of a natural antioxidant drug or an additive preparation. The present investigation includes also the extraction of lignin from sawdust using sulfuric acid treatment. The extracted lignin was characterized by FT-IR and XRD, its thermal properties were studied using TGA and DSC analyses, and its surface morphology was observed by SEM-EDX. The FT-IR spectra showed homogeneity in the chemical structure of the lignin sample. In the adsorption test, the second-order model gives a better description of the kinetics of the adsorption reaction than the first-order model. The analysis of adsorption isotherms using different classical models showed that adsorption may be governed by the Langmuir isotherm. The thermodynamic parameters were determined from the values of the maximum adsorption capacity and equilibrium constants.

Keywords: *Tetraclinis articulata*; Lignin; Thuya; sawdust; essential oils; phytochemical analysis; antioxidant activity; antibacterial activity; insecticidal activity; adsorption.