

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie
Option : Contrôle de Qualité et Analyses

Thème

**Huiles essentielles et extraits éthanoliques de
Myrtus communis L. : Etude de la composition
chimique et de l'activité antioxydante**

Présenté par :

M. SADOU Mourad
M. HAMIDI Abdelmoumene

Membres de jury :

Président : M. KATI D.E.
Promoteur : M. CHIKHOUNE A.
Examineur : M. BACHIR BEY M.
Examineur : M^{ME} BERKATI S.

Année universitaire 2011-2012

Remerciements

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser et accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons nos remerciements les plus sincères et les plus dévoués à notre promoteur M. CHIKHOUNE A., pour la qualité de son encadrement et les conseils qui ont été pour nous une aide inestimable, et d'avoir accepté d'être notre promoteur.

Nos remerciements vont aussi à :

- M. KATI D.E., Maître Assistant B à l'université A. Mira de Bejaia, de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury ;
- M. BACHIR BEY M., Maître Assistant A à l'université A. Mira de Bejaia, d'avoir accepté d'examiner ce travail et être membre du jury ;
- M^{ME} BERKATI S., Maître Assistante A à l'université A. Mira de Bejaia, d'avoir accepté d'examiner ce travail et être membre du jury.

Nous sommes très reconnaissants à M. HAZZIT M., Maître de conférence A à l'ENSA (Alger) qui nous a aidés à réaliser l'analyse chromatographique (CG et CG/MS).

Nous tenons également à remercier M. BENCHIKH Y., et toute l'équipe du laboratoire de biochimie alimentaire et de microbiologie alimentaire.

Nous touchons aussi par nos remerciements tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin lors de la réalisation de ce travail sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation.

Enfin, nos remerciements sont dressés plus particulièrement à nos familles et nos amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

A mes très chers frères et sœurs: Hamid et sa famille, Zina et sa famille, Smail, GHania et Houria ;

A mes grand-mères : Fatima et Taous

A mon-grand père : Mouloud

A tous mes cousins et cousines

A toute la famille SADOU

A mon collègue Moumene

Et à tous mes amis et camarades de la promotion

SADOU Mourad

Dédicaces



*Louange à Allah, seigneur de l'univers, le tous puissant
et le miséricordieux, qui nous a inspiré
et combler de bien fais, on lui rends grâce.*

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

A ceux qui m'ont encouragée et soutenue dans mes moments les plus difficiles

Et ceux à qui je dois tant

A mes chers parents pour leur amour et leur support continu

*Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde
reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour nous.*

A mes grands-mères.

A mes frères et sœurs.

A mes oncles et tantes.

A ma cher amie adorable Ait saidi Zahra qui m'a trop aidé.

A mon collègue Sadou Mourad, à tous mes amis et toute la promotion CQA

2011/2012

Merci...

Moumene



Sommaire

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre I : Huiles essentielles et composés phénoliques

1.	Huiles essentielles.....	3
1.1.	Historique.....	3
1.2.	Définition.....	3
1.3.	Propriétés physico-chimiques.....	4
1.4.	Composition chimique.....	4
1.5.	Localisation des huiles essentielles.....	5
1.6.	Utilisation des HE.....	5
1.6.1.	Pharmacologie.....	5
1.6.2.	Aromathérapie.....	6
1.6.3.	Industries agroalimentaires.....	6
1.7.	Méthodes d'extractions des HE.....	6
1.7.1.	Hydrodistillation.....	6
1.7.2.	Entrainement à la vapeur d'eau.....	6
1.7.3.	Extraction à froid.....	7
1.7.4.	Extraction assistée par micro-ondes.....	7
1.7.5.	Extraction par des solvants et des graisses.....	7
1.7.6.	Extraction au CO ₂ liquide ou supercritique.....	7
1.8.	Méthodes d'analyses des HE.....	8
1.8.1.	La chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	8
1.8.2.	La spectrométrie de masse (SM).....	8
1.8.3.	Couplage CG/SM.....	9
2.	Composés phénoliques.....	9
2.1.	Définition.....	9
2.2.	Classification.....	10
2.2.1.	Acides phénoliques.....	10
2.2.2.	Flavonoïdes.....	10
2.2.3.	Tannins.....	11
2.3.	Rôles physiologiques.....	12
Chapitre II : Monographie de la plante (<i>Myrtus communis</i> L.)		
1.	Historique.....	13
2.	Caractéristiques botaniques.....	13
2.1.	Classification.....	13
2.2.	Description botanique.....	13

2.3.	Localisation et répartition géographique.....	13
2.3.1.	Dans le monde.....	13
2.3.2.	En Algérie.....	14
3.	Compositions chimiques.....	14
4.	Utilisations et intérêts biologiques.....	14

Chapitre III: Oxydation et activité antioxydante

1.	Introduction.....	15
2.	Mécanismes d'oxydation.....	15
2.1.	Auto-oxydation.....	15
2.2.	Photo-oxydation.....	16
2.3.	Voie enzymatique.....	16
3.	Les initiateurs de l'oxydation des lipides.....	17
4.	Mécanisme d'action des antioxydants.....	17
5.	Classification des antioxydants.....	18
5.1.	Selon le mécanisme d'action.....	18
5.2.	Selon l'origine.....	18
6.	Mesure de l'activité antioxydante.....	19

Chapitre IV: Matériel et méthodes

1.	Matériel végétal.....	20
1.1.	Collecte, séchage et broyage.....	20
2.	Extraction des HE.....	21
3.	Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG/SM.....	22
3.1.	Analyse qualitative des HE par CPG.....	22
3.1.1.	Mode d'identification.....	22
3.1.2.	Analyse semi-quantitative des HE par CG/SM.....	23
4.	Elaboration des extraits éthanoliques.....	24
5.	Analyses phytochimiques des extraits élaborés.....	25
5.1.	Dosage des phénols totaux.....	25
5.1.1.	Principe.....	25
5.1.2.	Mode opératoire.....	25
5.2.	Dosage des flavonoïdes.....	25
5.2.1.	Principe.....	25
5.2.2.	Mode opératoire.....	25
5.3.	Dosage des tannins condensés.....	26
5.3.1.	Principe.....	26
5.3.2.	Mode opératoire.....	26
6.	Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits éthanoliques.....	26
6.1.	Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	26
6.1.1.	Principe.....	26
6.1.2.	Mode opératoire.....	26
6.1.3.	Détermination de la concentration inhibitrice médiane (CI ₅₀).....	27
6.2.	Mesure du pouvoir réducteur.....	27
6.2.1.	Principe.....	27

6.2.2.	Mode opératoire.....	27
7.	Analyse statistique.....	28

Chapitre VI : Résultats et discussions

1.	Extraction des huiles essentielles.....	29
1.1.	Rendement d'extraction.....	29
2.	Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG/SM.....	29
2.1.	Analyse qualitative des HE par CPG.....	29
2.2.	Analyse semi-quantitative des HE par CG/SM.....	32
3.	Elaboration des extraits éthanoliques.....	37
3.1.	Rendement de l'élaboration.....	37
4.	Analyses phytochimiques des extraits éthanoliques élaborés.....	38
4.1.	Dosage des phénols totaux.....	38
4.2.	Dosage des flavonoïdes.....	39
4.3.	Dosage des tannins condensés.....	41
5.	Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits éthanoliques.....	42
5.1.	Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	42
5.2.	Mesure du pouvoir réducteur.....	46
	Conclusion.....	50
	Références bibliographiques.....	52

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I: Rendements en huiles essentielles.....	29
Tableau II : Résultats d'analyse qualitative par CPG de l'HE des feuilles du myrte de Tifra.....	30
Tableau III: Résultats d'analyse qualitative par CPG de l'HE des feuilles de myrte de Bejaia	31
Tableau IV: Analyse semi quantitative par CG/SM des HE de <i>Myrtus communis</i> L. des deux régions étudiées	33
Tableau V : Comparaison des teneurs (%) en composés majoritaires des HE de feuilles <i>Myrtus communis</i> L.....	37
Tableau VI: Rendements en extraits élaborés.....	38
Tableau VII : Teneurs en composés phénoliques des extraits élaborés.....	42
Tableau VIII Activité de piégeage du radical DPPH par les HE, BHT et BHA	42
Tableau IX: Activité de piégeage du radical DPPH par les extraits, BHT et BHA	44
Tableau X: Valeurs d'CI ₅₀ des extraits et du BHT, BHA	45
Tableau XI: Pouvoir réducteur des HE étudiées, du BHT et BHA.....	46
Tableau XII: Pouvoir réducteur des extraits étudiés et du BHT et BHA.....	48

Liste des Figures

Figure 1 : Formule générale des dérivés de l'acide benzoïque.....	10
Figure 2 : Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	11
Figure 3 : Structure d'un tannin hydrolysable : Pentagalloyglucose	11
Figure 4 : Structure générale des tannins condensés	12
Figure 5 : Oxydation d'un acide gras insaturé	16
Figure 6 : Mécanisme d'initiation de la peroxydase des lipides par l'activité lipoxygénasique	17
Figure 7 : Feuilles (A) et fruits (B) de <i>Myrtus communis</i> L.....	20
Figure 8 : Montage d'hydrodistillation de Clevenger modifié.....	21
Figure 9 : Elaboration d'extraits éthanoliques par l'appareil de Soxhlet.....	24
Figure 10 : Procédure de la mise en œuvre du test du pouvoir réducteur.....	28
Figure 11 : Chromatogramme obtenu par CPG de l'HE des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. De la région de Tifra.....	31
Figure 12 : Chromatogramme obtenu par CPG de l'HE des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. de la région de Bejaia	32
Figure 13 Chromatogramme de l'HE de <i>Myrtus communis</i> L. de Tifra obtenu par GC/MS.....	35
Figure 14 : Chromatogramme de l'HE de <i>Myrtus communis</i> L. de Bejaia obtenu par CG/MS.....	35
Figure 15 : pourcentages des classes chimiques constituant les HE étudiés.....	36
Figure 16 : Histogramme des teneurs moyennes en polyphénols totaux des extraits étudiés.....	39
Figure 17 : Histogramme des teneurs moyennes en flavonoïdes des extraits étudiés.....	40
Figure 18 : Histogramme des teneurs moyennes en tannins condensés des extraits étudiés.....	41
Figure 19 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE du myrte, BHA et BHT.....	43
Figure 20 : Activité de piégeage du radical DPPH par les extraits du myrte, BHA et BHT....	44
Figure 21 : Pouvoir réducteur des extraits étudiés et du BHT, BHA.....	47
Figure 22 : Pouvoir réducteur des extraits étudiés, du BHT et du BHA.....	48

Liste des Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

BHA : Butyl Hydroxy Anisol.

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

CG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.

CI₅₀ : Concentration inhibitrice médiane.

CO₂ : Dioxydes de Carbone.

CPG : chromatographie en phase gazeuse.

DPPH : 2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

E Fe : Extrait de feuilles

E Fr : Extrait de fruits

EAG : équivalent d'acide gallique

EC : Equivalent de catéchine

EQ : Equivalent de quercétine

eV : électronvolt

HE : Huile(s) essentielle(s).

I% : pourcentage d'activité

IR : indice de rétention

min : minute

MS : Matière sèche

P_c : Pression critique.

Rdt : Rendement

SM : spectrométrie de masse.

TBHQ : Tertiobutyl-hydroxyquinone

T_c : Température critique.

UV : Ultra-violet.

V : Volume

° C : Degré Celsius

Introduction

Introduction

Depuis son existence, l'Homme a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes, dites « médicinales ou aromatiques », demeurent une source inépuisable de substances biologiquement actives. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches *in vitro et in vivo*, notamment dans la recherche de nouveaux constituants naturels tels les huiles essentielles et les composés phénoliques.

La dégradation des lipides occasionnée par l'oxygène de l'air est un phénomène inévitable qui entraîne une altération des propriétés organoleptiques, nutritionnelles et physiques des aliments dans lesquels elle apparaît (**Frankel, 1998**). Il est indispensable pour les industriels de retarder au maximum le processus d'oxydation. Limiter le contact des produits avec l'air, la lumière ou les traces de métaux, est efficace pour lutter contre l'oxydation prématurée des lipides.

Cependant, lors de la fabrication, du transport ou du stockage des aliments, ces précautions peuvent s'avérer difficiles à mettre en œuvre ou insuffisantes. De ce fait, l'ajout d'antioxydants dans les formulations représente une alternative souvent indispensable. Les premiers antioxydants connus étaient issus de produits naturels. Puis les antioxydants de synthèse ont fait leur apparition, en raison de leur efficacité et du rendement élevé qu'ils présentent.

Actuellement, il existe une grande inquiétude sur le danger que peuvent présenter les conservateurs chimiques, dont beaucoup sont suspects en raison de leurs actions cancérogènes et allergènes ou de leur toxicité résiduelle. C'est pour cela que le consommateur soucieux de sa santé, commence à prendre conscience de l'importance du retour au naturel. La recherche s'oriente donc une fois de plus vers la nature d'où elle espère y puiser des molécules antioxydantes, à la fois sûres et efficaces.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier, dans le cadre de la valorisation de la flore spontanée poussant en Algérie, la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits éthanoliques du myrte commun (*Myrtus communis* L.) cueilli dans la willaya de Bejaia.

Introduction

La première partie de cette étude est consacrée à une recherche bibliographique concernant les huiles essentielles, les composés phénoliques, caractérisation de l'espèce étudiée et enfin l'activité antioxydante.

La seconde partie du travail est réservée à l'étude expérimentale, dans laquelle nous allons :

- Extraire par hydrodistillation les huiles essentielles de feuilles du myrte commun cueillies dans deux régions : Tifra et Bejaia ;
- Elaborer des extraits éthanoliques à partir de feuilles et fruits de l'espèce étudiée ;
- Déterminer la teneur en composés phénoliques des extraits ainsi obtenus ;
- Analyser qualitativement les huiles essentielles par chromatographie phase gazeuse (CPG) ;
- Analyser quantitativement les essences de *Myrtus communis* L. par chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).
- Evaluer l'activité antioxydante des différentes huiles et extraits éthanoliques étudiées.

Chapitre I

*Huiles essentielles et composés
phénoliques*

Huiles essentielles et composés phénoliques

1. Huiles essentielles

1.1. Historique

Les essences végétales livrent progressivement leurs secrets depuis l'avènement de la chimie organique à la fin du XIX^{ème} siècle (**Valnet, 1980**). Mais ce n'est qu'au début du XX^{ème} siècle que les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles (désormais HE) ont fait l'objet de recherches scientifiques. Le terme « huile essentielle » a été inventé par le médecin suisse Parascelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Kerbouche, 2010**).

Les HE et les extraits aromatiques ont été utilisés pour leurs propriétés antiseptiques. Dans l'Égypte ancienne, les techniques de l'embaumement utilisant les résines aromatiques, ainsi que les HE, produisaient une inhibition puis une destruction de tous les microorganismes présents, en assurant une conservation pratiquement infinie du corps. Dans les vieux ouvrages de médecine, les résines aromatiques ou les HE étaient les principaux composés actifs qui peuvent se retrouver dans les différentes drogues végétales, ayant des propriétés antiseptiques significatives. Dans les manuscrits les plus récents, l'utilisation des HE dans l'aromathérapie laisse entrevoir une perspective d'alternative aux médicaments de synthèse (**El kalamouni, 2010**).

1.2. Définitions

Les HE sont des substances odorantes concentrées, obtenues à partir des plantes par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou expression (pression à froid). Il existe approximativement plus de 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées. Cette petite quantité est destinée principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Essawi et Srour, 2000**).

Les HE sont synthétisés dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (**Bruneton, 1999**).

Le terme « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le terme « essentielle » désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons (**Bernard *et al.*, 1988 ; Bruneton, 1993**).

L'Association Française de Normalisation (AFNOR) définit une HE comme étant « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**AFNOR, 2000**).

1.3. Propriétés physico-chimiques

Selon **Bernard *et al.* (1988)** et **Bruneton (1995)**, les principales propriétés physico-chimiques des HE sont :

- Elles sont généralement liquides à température ambiante;
- Elles sont volatiles et très rarement colorées;
- Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes;
- Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau;
- Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé, dans la plupart des solvants organiques et les lipides, mais peu soluble dans l'eau;
- Ils sont stables à température ambiante si elles sont conservées à l'abri de l'air et de la lumière.

1.4. Composition chimique

Les composants des HE sont génériquement dits « aromatiques » en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique, ce qui peut prêter à confusion (**Pibiri, 2006**). Le nombre de molécules chimiquement différentes constituant une HE est variable. D'après **Belaiche, (1979)** la plupart sont poly-moléculaires (jusqu'à 1000 molécules différentes dans l'HE de Rose). À côté des composés majoritaires (2 à 6 généralement), il existe aussi des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Pibiri, 2006**).

Les HE sont des mélanges très complexes de molécules organiques appartenant aux classes les plus diverses. Ces molécules sont divisées en:

- **Hydrocarbures**

Ce sont des structures cycliques ou acycliques, subdivisées selon le nombre d'entités d'isoprène (C_5H_8) en monoterpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$) et les diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$) (**Hernandez-Ochoa, 2005**).

- **Composés oxygénés**

A l'intérieur de ce groupe, des alcools, des éthers-oxydes, des aldéhydes, des cétones et des composés sulfurés sont rencontrés (**Girod-Quillain et Grundschober, 1998**). Il existe naturellement d'autres corps qui peuvent entrer en faibles proportions dans la constitution de certaines HE : cétones de faible poids moléculaire, coumarines volatiles, flavonoïdes (**Bernard et al., 1988**).

- **Composés sulfurés**

Ils sont présents dans plusieurs espèces de la famille des crucifères (choux, moutarde), et certaines liliacées (**Le Louarn, 1994**).

1.5. Localisation des huiles essentielles

D'après **Bruneton (1995)**, la synthèse et l'accumulation des HE sont souvent associées à la présence de structures histologiques particulières qui sont généralement localisées sur ou à proximité de la surface du végétal. Ils peuvent être soit des :

- Cellules isolées à HE : *Lauraceae* ;
- Poils sécréteurs : *Lamiaceae*;
- Poches sécrétrices : *Myrtaceae*;
- Canaux sécréteurs : *Apiaceae*.

1.6. Utilisation des HE

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leurs emplois dans de multiples domaines (**Richard, 1992**). Les principaux domaines d'application sont :

1.6.1. Pharmacologie

De nombreuses HE se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques. Elles sont recommandées en usage d'antibiotique, antiviral, antiseptique, fongicide, cicatrisant, digestif, anti-inflammatoire, sédatif... (**Richard, 1992**).

1.6.2. Aromathérapie

En stimulant le système nerveux, les HE lancent un ordre d'autorégulation. Plus précisément, l'aromathérapie prépare le corps à lutter contre la maladie en stimulant le réflexe d'auto-guérison et en modifiant la structure chimique des liquides corporels (la salive, le sang, la lymphe). Les HE ont également une influence sur les sécrétions hormonales, sur l'équilibre endocrinien et sur les réactions neurovégétatives corporelles (**Odoul, 2003**).

1.6.3. Industries agroalimentaires

Plusieurs segments alimentaires utilisent, à des degrés divers, les HE qui leur offrent un formidable potentiel de leurs notes aromatiques dans un registre infiniment varié. Elles sont presque retrouvées dans tous les secteurs alimentaires : boissons non alcoolisées, confiseries, produits laitiers, soupes, sauces, produits de boulangerie, produits carnés,... (**Richard, 1992**). Beaucoup d'attention a été donnée à l'application potentielle des HE comme conservateurs. Ceci est dû à la présence, dans ces dernières, des composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (**Smith-Palmer et al., 1998**).

1.7. Méthodes d'extractions des HE

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique (**Garnero, 1977**). Pour l'extraction des essences végétales, différentes méthodes ont été mises en œuvre. Cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (**Bruneton, 1995**).

1.7.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait, la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysat par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysat (**Lucchesi, 2005**).

1.7.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Ce procédé consiste à récupérer l'HE des plantes en faisant passer à travers ces dernières un courant de vapeur d'eau. Ces vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation. Les phénomènes intervenants lors de l'entraînement à la vapeur seraient des phénomènes d'osmose et de diffusion libre (**Guenther,**

1972). L'eau résiduelle peut encore contenir une faible proportion de certains composés volatils et peut être utilisée sous le terme d'eau florale (**kerbouche, 2010**).

1.7.3. Extraction à froid

C'est une technique qui ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices des HE. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (**Roux, 2008**).

1.7.4. Extraction assistée par micro-ondes

C'est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes à l'intérieur d'une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, de refroidissement et de décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant et un rendement d'extraction élevé (**Hemwimon et al., 2007**).

1.7.5. Extraction par des solvants et des graisses

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole...), mais aussi de graisses et des huiles. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau. Les extraits obtenus ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments et des acides gras. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu », et sa composition se rapproche de celle d'une HE (**Hernandez-Ochoa, 2005**).

1.7.6. Extraction au CO₂ liquide ou supercritique

C'est une méthode d'extraction qui a pris, ces dernières années, beaucoup d'essor concernant l'élaboration des extraits végétaux. Elle est basée sur le fait que certains gaz, notamment le CO₂, dans des conditions de pression et de température dites critiques ($P_C=73,82$ bars et $T_C=31,06^\circ\text{C}$) ou supercritiques, présentent un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de divers composés tels que les HE, les arômes et les colorants naturels (**Crabas et al., 2003**).

1.8. Méthodes d'analyses des HE

Selon la Pharmacopée française et européenne, le contrôle des HE s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol, et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants (**Pibiri, 2006**).

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une HE reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés.

1.8.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (**Bouchennet et Libong, 2002**). En CPG, l'échantillon est vaporisé et injecté dans la colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. Son principe est basé sur le partage de l'analyte entre une phase gazeuse mobile et une phase généralement solide ; immobilisée sur la surface d'un support inerte (**Skoog et al., 2003**).

Les constituants des mélanges appelés généralement « solutés » sont inégalement retenus par la phase stationnaire lors du transit dans la colonne. De ce phénomène appelé « rétention », les solutés injectés se déplacent avec une vitesse inégale entre eux et inférieure à celle de la phase mobile, ceci les conduit à sortir de la colonne les uns après les autres. On enregistre d'abord un signal dit *ligne de base* en présence du gaz vecteur seul, puis un pic au passage de chaque soluté séparé (**Tranchant et al., 1995**).

1.8.2. La spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse est parmi les techniques analytiques, dont le domaine d'application est le plus étendu, elle permet de fournir des informations concernant la composition élémentaire d'un échantillon. Le spectromètre de masse présente trois éléments essentiels : une source, un analyseur et un détecteur (**Skoog et al., 2003**). Vu sa capacité à identifier un très grand nombre de composés présents dans le mélange à analyser, elle représente le couplage le plus utilisé dans divers secteurs notamment avec la chromatographie phase gazeuse (**Tranchant, 1995**).

1.8.3. Couplage CG/SM

Le couplage chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse est aujourd'hui l'une des techniques parmi les plus utilisées de la chimie analytique. L'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse particulièrement performant (**Cavalli, 2002**). En effet, l'utilisation de la CPG à haute résolution (colonne capillaire) couplée à la spectrométrie à basse échelle de masse, le tout allié à l'outil informatique (micro-processeur), permet le développement de méthodes d'identification fiables et rapides (**Benhabiles, 1995**).

- **Principe**

L'échantillon à analyser est introduit dans le chromatographe puis séparé et analysé. Les différents constituants gazeux arrivent dans la chambre d'ionisation du spectromètre de masse où ils sont fragmentés. Les ions issus de la fragmentation sont dirigés vers le dispositif de séparation, ils sont alors triés suivant leur rapport masse/charge, puis leur répartition est donnée sous la forme d'un spectre de masse (**Lahlou, 2004**).

L'appareillage de spectrométrie de masse comprend donc trois parties principales :

- Une chambre d'ionisation ;
- Un système analyseur pour la séparation des ions ;
- Un ensemble de détection, d'amplification et d'enregistrement.

Un appareillage de CG-SM permet donc de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondant à l'identification précise de chaque constituant séparé par la CPG.

2. Composés phénoliques

2.1. Définition

Les composés phénoliques sont des composés qui possèdent un ou plusieurs groupements hydroxyles, attachés directement à un noyau aromatique (**Vermirris et Nicholson, 2006**).

Le terme «polyphénols» est fréquemment utilisé dans le langage courant, et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation, pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. En fait, il devrait être réservé aux seules molécules présentant plusieurs fonctions phénols. Ce qui exclurait alors les mono phénols, pourtant abondants

et importants chez les végétaux. Donc, la désignation générale « composés phénoliques» concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent

respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Muanda, 2010**). Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

2.2. Classification

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire à des composés hautement polymérisés. Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

2.2.1. Acides phénoliques

Il existe des acides phénoliques qui se dérivent de l'acide benzoïque, représentés principalement par l'acide gallique (Figure 1). D'autres composés phénoliques sont également présents, comme les dérivés d'esters hydroxycinnamiques possédant une structure du type C₆-C₃. Les composés les plus fréquents sont l'acide *p*-coumarique, l'acide *t*-caféique.

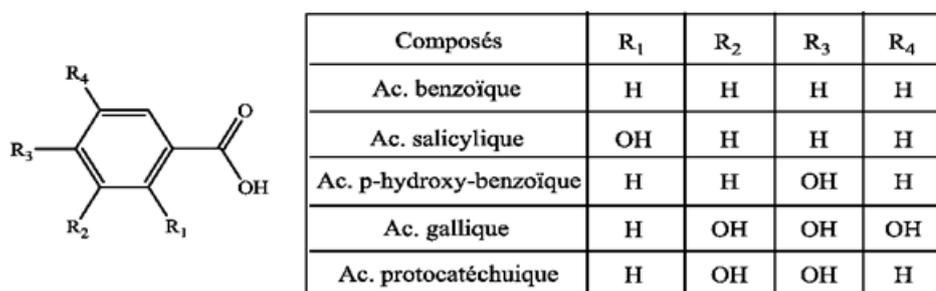


Figure 1 : Formule générale des dérivés de l'acide benzoïque (**Perret, 2001**)

2.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes qui sont des composés liposolubles, constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables de colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux. Ils sont rencontrés dans les fruits, les légumes, les boissons (vin rouge, thé, café...) et plusieurs plantes médicinales (**Ghedira, 2005**). Ils dérivent tous de l'enchaînement d'unités benzo- γ -pyrane (Figure 2). Ces derniers comprennent principalement trois familles de composés : les flavonols, les anthocyanes et les flavan-3-ols, qui se différencient par le degré d'oxydation du noyau pyranique central.

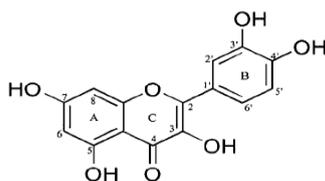


Figure 2 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Perret, 2001, Heim *et al.*, 2002)

2.2.3. Tannins

Les tannins forment un groupe de polyphénols de poids moléculaire élevé. Ce sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments (Remesy *et al.*, 1996; Bruneton, 1999). Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Muanda, 2010).

Selon la structure des molécules, il existe deux types de tannins, les tannins hydrolysables et les tannins condensés :

- **Les tannins hydrolysables**

Selon Ribéreau-Gayon, (1968), les tannins hydrolysables sont des esters de glucides, et d'acides phénoliques ou dérivés d'acides phénoliques. Le glucide est généralement un glucose, mais il peut aussi être un polysaccharide (Figure 3).

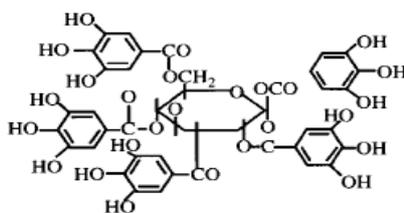


Figure 3 : Structure d'un tannin hydrolysable : Pentagalloylglucose (Cowan, 1999)

- **Les tannins condensés**

Appelés aussi proanthocyanidines ou procyanidines. Les tannins condensés se localisent dans les tissus végétaux, notamment dans la partie tégumentaire des fruits mûrissants auxquels ils communiquent leur astringence (Metche et Girardin, 1980). Ce sont des polyphénols de masse molaire élevée (figure 4). Ils résultent de la polymérisation des unités de flavan-3,4-diol liées par les liaisons C₄-C₈ et parfois C₄-C₆ (Gurgnard, 2000).

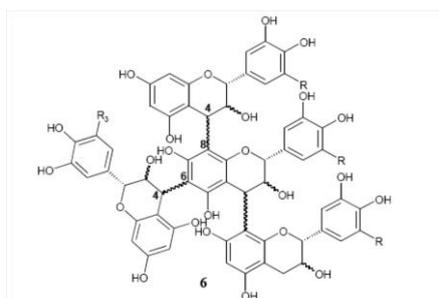


Figure 4 : Structure de base des tannins condensés (Jourdes, 2003)

2.3. Rôles physiologiques

Les travaux d'**Alibert *et al.* (1977)** ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogénèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Rees et Harborne, 1985**).

Les flavonoïdes et d'autres polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des aliments et des boissons dépendent de la teneur en polyphénols (**Lugasi *et al.*, 2003**). Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet (**Hadi, 2004**).

Chapitre II

Monographie de la plante
(Myrtus communis L.)

Monographie de la plante (*Myrtus communis* L)

1. Historique

Le myrte commun (*Myrtus communis* L.) est une plante annuelle qui a été utilisée à des fins médicinales et alimentaires. Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fruits ont été utilisés comme agent antiseptique et pour la cicatrisation des plaies ainsi que dans le traitement des maladies urinaires (**Baytop, 1999**).

2. Caractéristiques botaniques

2.1. Classification

Le myrte commun appartient à la famille des myrtacées. Cette dernière regroupe environ 3800 espèces réparties en 133 genres (**Oldrich et al., 2005**). Selon **Grété, (1965)** la taxonomie de *Myrtus communis* L. est la suivante :

Règne	: <i>Plantae</i>
Embranchement	: <i>Spermaphytae</i>
Classe	: <i>Dicotylédonae</i>
Ordre	: <i>Myrtales</i>
Famille	: <i>Myrtaceae</i>
Genre	: <i>Myrtus</i>
Espèce	: <i>Myrtus communis</i> L

2.2. Description botanique

C'est un arbuste sempervirent de 1 à 3 mètres de haut, à tiges très ramifiées, dès la base. Ses buissons touffus et aromatiques portent des feuilles ovales lancéolées, luisantes, coriaces, opposées, par deux ou quelquefois par trois. Fleurs blanches odorantes solitaires à l'aisselle des feuilles, axillaires. Périante à cinq sépales et cinq pétales; nombreuses étamines et un stylé saillant ; baies ovoïdes de couleur bleu-noir, couronnées par le calice (**Quezel et Santa, 1963**).

2.3. Localisation et répartition géographique

2.3.1. Dans le monde

Le myrte est un représentant typique de la flore méditerranéenne, qui pousse dans les forêts du pin et dans plusieurs régions situées à 600 m d'altitude (**Cevat et Musa, 2007**). Cette plante aromatique, très odorante, est également présente dans l'Asie occidentale,

Amérique du Sud et l'Australie (**Laurent, 1980**). Il pousse sauvagement dans les régions côtières, les collines internes et les zones forestières du Nord de la Tunisie (**Pottier-Alapetite, 1979**). En Turquie, le myrte se trouve dans les forêts de pins et des rives, en particulier dans les montagnes du Taurus, juste au-dessus de 500-600 m d'altitude (**Ozek et al., 2000**).

2.3.2. En Algérie

L'espèce *Myrtus communis* L. est présente au Tell, sur les pentes des collines et sur les zones côtières, parfois dans des zones reculées. L'espèce du désert, *Myrtus nivellei* L. se trouve couramment dans le Hoggar et le Tassili. Ses feuilles sont très appréciées par les Touaregs en tant que médicament à base de plantes (**Quézel et Santa, 1963**).

3. Compositions chimiques

En plus des métabolites primaires, des minéraux et de la matière azotée, le myrte commun contient des métabolites secondaires, dont on peut citer les huiles essentielles et les composés phénoliques. (**Belaiche, 1979**).

Les HE du myrte commun sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes (**Cevat et Musa, 2007**). Les feuilles et les fruits sont riches en tannins, flavonoïdes et anthocyanidines (**Fioretto et al., 2007**).

4. Utilisations et intérêts biologiques

Les feuilles du myrte commun ont été traditionnellement utilisées sous forme d'infusion, pour lutter contre les inflammations de la gorge et les douleurs abdominales. Ses fruits sont aussi utilisés comme remède, consommés naturellement ou préparés sous forme d'infusion (**Baba-Aissa, 1991**). Il est indiqué surtout pour guérir certaines maladies, telles que les bronchites, tuberculose pulmonaire, rhinorrhée, sinusites, diarrhées, prostatites et hémorroïdes (**Zouhdi et al., 1997**). Le myrte est considéré comme élément préventif contre les maladies liées au stress oxydatif, pour sa richesse en composés phénoliques et en huiles essentielles (**Christian et al., 2005 ; Davod et al., 2006**). Des études rapportées par **Onal et al. (2005)**, ont montré que le myrte présente un grand potentiel comme plante médicinale, ayant une activité hypoglycémique.

Chapitre III

Oxydation et Activité antioxydante

Oxydation et activité antioxydante

1. Introduction

Les radicaux libres et leurs dérivés, regroupés sous l'expression d'espèces oxygénées réactives (ROS) sont continuellement produits dans les cellules, notamment lors du métabolisme oxydatif. Ils sont considérés comme agents potentiellement toxiques car ils ont la capacité d'endommager différents constituants cellulaires vitaux, conduisant ainsi à la mort des cellules (**Gebicki., 2004**).

Des études expérimentales, chez l'homme et l'animal, suggèrent que les lipoprotéines oxydées par une production excessive d'espèces oxygénées réactives, peuvent jouer un rôle prépondérant dans le développement de l'athérosclérose et de diverses maladies cardiovasculaires (**Sun et al., 2002**). Ces espèces réactives sont normalement neutralisées par différents antioxydants, comme les substances anti-radicalaires apportées par l'alimentation.

Les propriétés des antioxydants découlent de la présence de noyaux aromatiques, de doubles liaisons conjuguées et les groupements hydroxyles qui les rend aptes à piéger les radicaux libres. Depuis plusieurs années, des propriétés bénéfiques pour la santé sont attribuées aux antioxydants (**Knert et al. 2002**). Ils sont capables de minimiser efficacement les rancissements et de retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent de maintenir la qualité du produit et d'augmenter la durée de conservation de ce dernier. En outre, l'antioxydant alimentaire idéal doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, non toxique, et stable dans le produit fini (**Poknory et al., 2001**).

2. Mécanismes d'oxydation

D'après **Eymard (2003)**, l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- L'auto-oxydation, catalysée par la température, les ions métalliques et les radicaux libres;
- La photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs;
- L'oxydation enzymatique, initiée par la lipoxygénase.

2.1. Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (figure 5).

Une première réaction dite d'*initiation*, produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras. Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres (*propagation*). Ces derniers se combinent pour former des composés non radicalaires (*termination*).

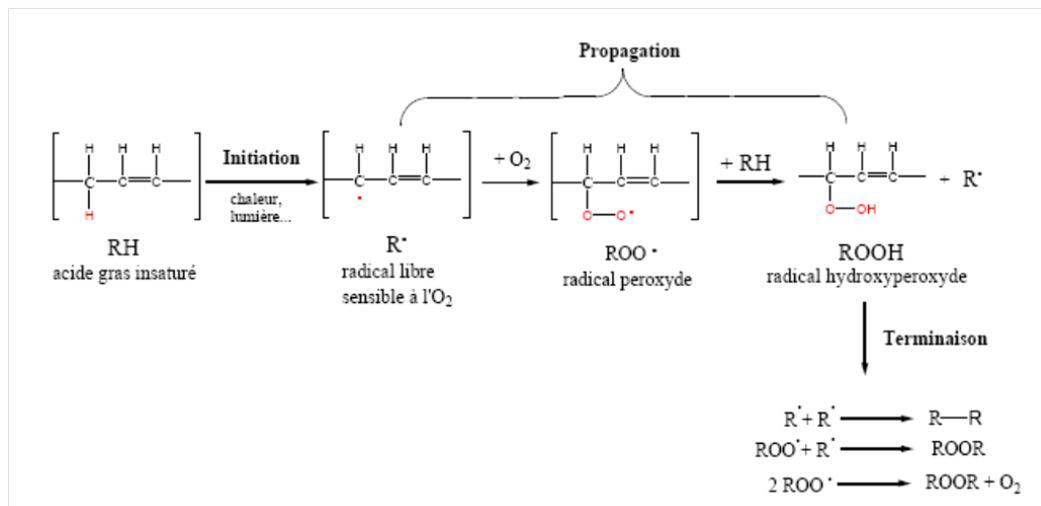


Figure 5: Oxydation d'un acide gras insaturé (Moll et Moll, 1998).

2.2. Photo-oxydation

La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (Hultin, 1992).

2.3. Voie enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé et aboutit à la formation d'hydroperoxydes (figure 6). Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et des phospholipases (Eymard, 2003).

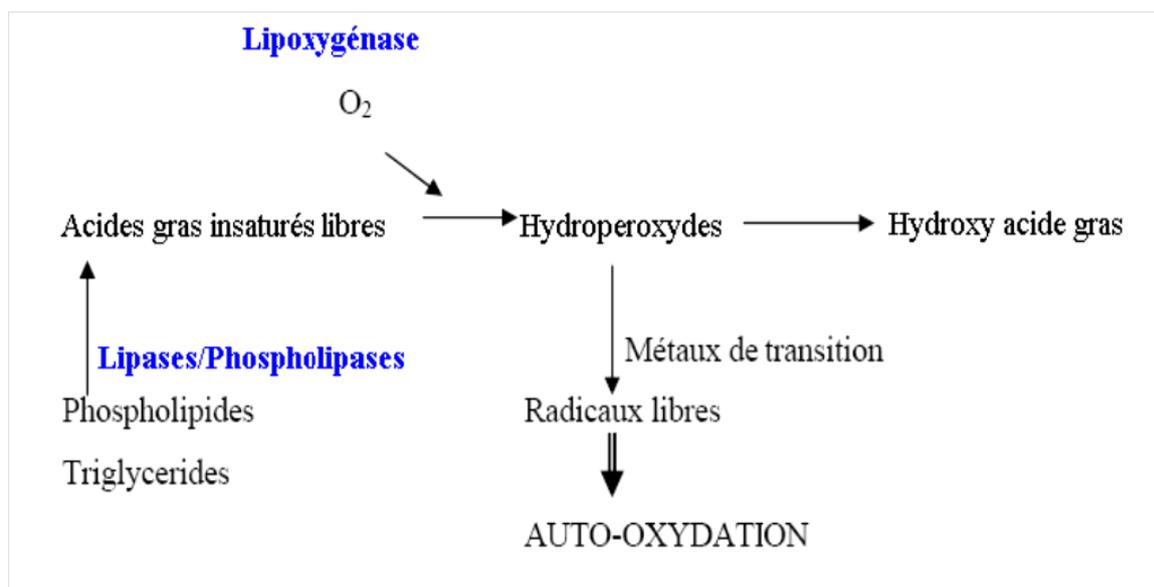


Figure 6 : Mécanisme d'initiation de la peroxydase des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsilla, 1985).

3. Les initiateurs de l'oxydation des lipides

La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs: les formes activées de l'oxygène, les enzymes, les métaux ou la chaleur (Hsieh et Kinsella, 1989 ; Hultin, 1994 ; Frankel, 1998).

4. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires.

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques, cas des dérivés du phénol. D'autres, ils interviennent en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis qu'un autre type d'antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulier pour la transformer en chaleur (Berset et Cervelier, 1996).

5. Classification des antioxydants

Ils sont classés selon leurs mécanismes d'action et selon leurs origines.

5.1. Selon le mécanisme d'action

Suivant leurs mécanismes d'action, les antioxydants peuvent être classés en trois types :

- **Antioxydants de type I**

Il s'agit de substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en un radical d'hydrogène (H°) à un radical libre lipidique présent.



AH: Antioxydant, **A[°]:** Radical de l'antioxydant.

Les radicaux « A[°] » qui se forment sont relativement stables et ne possèdent pas d'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides. Ils subissent une réaction d'arrêt aboutissant à la formation de produits non radicalaires (**Pincemail *et al*, 1998**).

- **Antioxydants de type II**

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants (**Roeding-Penman et Gordon, 1998**).

- **Les antioxydants de type III**

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène et la lumière. L'emballage des produits permet ainsi de minimiser l'exposition à l'air et à la lumière. La mise sous vide permet de limiter les réactions d'oxydation, et donc de prolonger la durée de vie des produits. L'emballage peut également être réalisé sous atmosphère modifiée (azote ou CO₂), méthode efficace mais peu utilisée (**Eymard, 2003**).

5.2. Selon l'origine

Selon leur origine, les antioxydants sont classés en grandes familles, à savoir :

- **Les Antioxydants synthétiques**

Parmi les antioxydants de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments : le BHT et

Le BHA qui ont une action synergique, mais ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et de s'évaporer rapidement. Le TBHQ, qui est moins soluble dans les graisses, les chélateurs de métaux les plus utilisés et les plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique (**Pibiri, 2006**).

- **Les Antioxydants naturels**

Ils sont de plus en plus préférés aux produits de synthèse. De nombreuses études portent sur la recherche de molécules naturelles ayant des propriétés antioxydantes. Ainsi, les sources d'antioxydants naturels sont nombreuses et variées : concentrés de tocophérols, extraits de plantes, huiles essentielles, poudre de miel, extraits de fruits et de légumes (**Pszczola, 2001**).

6. Mesure de l'activité antioxydante

Les principaux métaux de transition présents au sein des tissus biologiques sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques. Parmi les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante on rencontre la mesure du pouvoir chélateur et du pouvoir réducteur des métaux (**Hazzit, 2008**).

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Les huiles essentielles ainsi que les extraits éthanoliques testés ont été obtenus à partir de la partie aérienne (fruits et feuilles) du myrte commun (*Myrtus communis L.*), appelé localement « Chilmun » et en arabe « Rihane ».

1.1. Collecte, séchage et broyage

Les feuilles et les fruits de *Myrtus communis L.* (**figure 7**) ont été récoltés au stade de fructification au mois de novembre 2011, dans la région de « Fettala », commune de Tifra (57 km à l'ouest de Béjaia à une altitude de 600 à 700 mètres) et dans la région de « Tizi », commune de Béjaia (altitude de 200 à 250 mètres). L'échantillonnage est réalisé au niveau de plusieurs arbustes, dans une zone d'environ 400 m².

Des échantillons de 3 g sont portés à 105 °C pendant 24 heures dans une étuve pour l'évaluation du taux d'humidité, alors que le reste de la récolte est séché à l'abri de la lumière et à température ambiante. La masse séchée est ensuite broyée à l'aide d'un broyeur électrique. Les fractions récupérées du broyage ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles. Une étape de tamisage est effectuée afin de récupérer les fractions les plus fines (500 µm), qui seront utilisées par la suite pour l'élaboration des extraits éthanoliques.



(A)



(B)

Figure 7 : Feuilles (A) et fruits (B) de *Myrtus communis L.*

2. Extraction des HE

L'extraction des HE a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger modifié (**figure 8**).

Après avoir pesé des échantillons de 100 g de matière végétale partiellement broyée, constituée exclusivement de feuilles de l'espèce étudiée de chaque région, ensuite introduits dans un ballon de 2 litres rempli d'eau jusqu'à deux tiers (2/3) de son volume. Ce dernier est ensuite mis à ébullition pendant 2 heures.

Le ballon ainsi chauffé produit de la vapeur chargée de substance volatile. Cette vapeur se condense au contact du réfrigérant. Le condensât est recueilli dans une ampoule à décanter, où se sépare la phase aqueuse de la phase organique (phase supérieure). Cette dernière constitue l'HE qui sera traitée avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) pour éliminer toutes traces d'eau. L'huile ainsi récupérée sera conservée à une température de 4°C dans un flacon en verre fumé, fermé hermétiquement en vue de son analyse.



Figure 8 : Montage d'hydrodistillation de Clevenger modifié

• Rendement de l'extraction

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport en pourcentage entre le volume de l'huile essentielle récupérée (ml) et la masse de la matière végétale sèche (g). Le rendement en HE est donné par la relation suivante :

$$\text{Rdt}\% = (\text{V}_{\text{HE}} / \text{M}_{\text{VS}}) * 100$$

Où : **Rdt%**: Rendement en HE.

V_{HE} : Volume de l'HE (ml).

M_{vs} : Masse de la matière végétale sèche (g).

3. Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG/SM

3.1. Analyse qualitative des HE par CPG

L'analyse qualitative par CPG des HE de *Myrtus communis L.* a été effectuée au laboratoire d'analyse instrumentale du département de technologie alimentaire de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA) d'Alger, selon les conditions opératoires suivantes :

- Appareil de type CP. Chrompack. 9002 ;
- Colonne capillaire : DB-5 (phase stationnaire non polaire);
 - Longueur : 30 m ;
 - Diamètre interne : 0,25 mm ;
 - L'épaisseur du film : 0.25µm ;
- Programmation de la température : 50 °C en isotherme pendant 3 min puis augmentation de la température à raison de 2 °C/min jusqu'à 250°C puis elle est maintenue pendant 10min ;
- Le mode d'injection: split.
- Un détecteur à ionisation de flamme réglé à 250°C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air ;
- Gaz vecteur : Azote ;
- Débit du gaz vecteur : 1 ml/min ;

3.1.1. Mode d'identification

L'identification des composés se fait par comparaison de leurs indices de rétentions calculés (indice de Kovats), à ceux cités par la littérature et ceux d'étalons disponibles au niveau du laboratoire. Pour le calcul de ces indices, un mélange d'alcane (C₉ – C₂₀) est injecté dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon. Les indices de rétentions (IR) sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{IR} = 100 n + 100 * \frac{(\text{TR}_c - \text{TR}_n)}{(\text{TR}_{n+1} - \text{TR}_n)}$$

Avec :

IR : indice de rétention ;

n : Nombre d'atomes de carbone de l'alcane élué avant le composé ;

TR_c : Temps de rétention du composé ;

TR_n : Temps de rétention de l'alcane à **n** atomes de carbones élué avant le composé ;

TR_{n+1} : Temps de rétention de l'alcane à **n+1** atomes de carbones élué après le composé.

3.1.2. Analyse semi-quantitative des HE par CG/SM

Cette analyse a été effectuée, au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) d'Alger, selon les conditions opératoires suivantes :

Chromatographie phase gazeuse (CPG)

- Appareil du type GC 6890 N (HP Agilent technologies) ;
- Colonne : HP 5-MS (5% polysiloxane)
 - Longueur : 30 mètres;
 - Diamètre interne : 0,25 mm ;
 - Epaisseur du film de la phase : 0,25 μm .
- Programmation de la température : 60 °C en isotherme pendant 8 min puis augmentation de la température à raison de 2° C/mn jusqu'à 280 °C puis laissée en isotherme pendant 30 min.
- Programmation de la température : 60°C en isotherme pendant 8 min puis augmentation de la température à raison de 2° C/min jusqu'à 280 °C puis laissée en isotherme pendant 30 min.
- Volume injecté : 0,2 μL ; mode d'injection : Splitless à T= 250 °C ;
- Température de détection : 280 °C (interface) ;
- Gaz vecteur : hélium ; Débit du gaz vecteur : 0.5 ml/ min ;

Spectrométrie de masse

- Appareil : HP-5973 (HP Agilent Technologies) ;
- Mode de détection : Scan ;
- Potentiel d'ionisation : 70 eV ;
- Pression (Source, analyseur) : 6.75 Psi.

L'identification des constituants des HE extraites est basée sur :

- ✓ La comparaison des spectres de masses des molécules inconnues à ceux des composés purs cités par la littérature :
 - En tenant compte de l'ordre d'élution du composé sur la colonne considérée ;
 - En tenant compte de la proposition et du pourcentage de probabilité de présence du composé fournis par la base de données du micro-ordinateur couplé au spectromètre de masse.
- ✓ La comparaison des indices de rétentions des composés sur la colonne utilisée avec ceux des étalons injectés ainsi

4. Elaboration des extraits éthanoliques

L'extraction solide-liquide a été réalisée par Soxhlet (figure 9). 20 g de poudre de feuilles ou de fruits, ont été placés dans des cartouches et soumises à l'extraction avec 100 ml d'éthanol 96%. Cette dernière est répétée plusieurs fois, jusqu'à ce que le solvant utilisé devient incolore. Après 6 heures d'extraction, le solvant riche en substances extraites est récupéré dans un ballon et passé au évaporateur rotatif (*Rotavapor*) afin d'éliminer le solvant utilisé. L'extrait ainsi récupéré est pesé et conservé à une température de 4-6°C, jusqu'à son utilisation ultérieure (Singh *et al.*, 2006).



Figure 9: Elaboration d'extraits éthanoliques par l'appareil de Soxhlet

- **Rendement de l'extraction**

Le rendement en extrait élaboré est considéré comme étant, le rapport en pourcentage entre la masse de ce dernier (g) et la masse de la matière végétale sèche (g). Le taux d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)/E] * 100$$

Où :

P₀: poids du ballon vide (g).

P₁: poids du ballon après évaporation du solvant (g).

E : poids de l'échantillon (prise d'essai) (g).

5. Analyses phytochimiques des extraits élaborés

5.1. Dosage des phénols totaux

Les phénols totaux des extraits éthanoliques étudiés ont été déterminés suivant la méthode de Folin-Ciocalteu, décrite par **Singleton *et al.* (1999)**, en utilisant l'acide gallique comme standard.

5.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

5.1.2. Mode opératoire

Un volume de 0.25ml d'extrait éthanolique (0.1mg/ml) est mélangé avec 1.25 ml du réactif de Folin-ciocalteu. Après 3 minutes de temps de réaction du mélange, 1ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75g/l est ajouté. Après 30 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm. L'expérience est réalisée avec trois répétitions. La concentration en composés phénoliques totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g (mg EAG/g) en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique [**annexe 1**].

5.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de **Huang *et al.* (2004)** au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a été employée pour la détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits étudiés.

5.2.1. Principe

Cette méthode utilise comme réactif le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Les flavonoïdes contiennent des groupements hydroxyles (OH) libres. Ces derniers forment des complexes qui donnent une couleur jaunâtre par chélation des métaux (**Ribereau-gayon, 1968**).

5.2.2. Mode opératoire

Un volume de 1ml d'extrait (1mg/ml) est ajouté à 1 ml de la solution éthanolique de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. Cette expérience est répétée trois fois.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche, en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine [annexe 2].

5.3. Dosage des tannins condensés

5.3.1. Principe

Les tannins condensés (proanthocyanidines) ont été dosés selon la méthode du Butanol-HCl, développée par **Porter et al.(1986)**, basée sur la réaction de dépolymérisation de ces composés en milieu acide. C'est une méthode spectrophotométrique utilisant le sulfate d'ammonium et de fer ((NH₄)₂Fe(SO₄)₂) comme réactif.

5.3.2. Mode opératoire

0.5ml d'extrait éthanolique (5mg/ml) est ajouté à 3 ml de la solution *n*-butanol-HCl (95 :5, v/v) et 0.1 ml du réactif ferrique (2% de (NH₄)₂Fe(SO₄)₂ dans HCl 2N). L'ensemble est incubé dans un bain-marie à 95°C pendant 60 min. Après incubation, l'échantillon refroidi et analysé en mesurant l'absorbance à 550 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g de matière sèche, en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine [annexe 3].

6. Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits éthanoliques

La capacité antioxydante a été évaluée *in vitro* par deux méthodes de référence citées dans la littérature : à savoir le pouvoir de piégeage du radical DPPH et le pouvoir réducteur. Le pouvoir anti radicalaire des huiles essentielles et des extraits éthanoliques a été comparé à celui des antioxydants de synthèse (BHT et BHA).

6.1.Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

6.1.1. Principe

La capacité de céder des hydrogènes par les huiles essentielles, extraits ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution éthanolique contenant le radical libre DPPH (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). Le piégeage du radical DPPH est suivi par la diminution de l'absorbance à 517 nm qui est due à la réduction du radical par l'antioxydant.

6.1.2. Mode opératoire

Le test utilisant le radical DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Sahin et al. (2004)**, où 25 µl de chacune des dilutions des huiles essentielles (100-1000mg/l) et d'extraits

(0.5-100mg/l) testés, sont mélangées avec 975µl d'une solution éthanolique de DPPH (60 µM). Après une période d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Les expériences sont réalisées en 3 répétitions pour chaque concentration. La même procédure est appliquée aux témoins ou standards: (BHT et BHA). Le pourcentage d'activité antioxydante (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$I (\%) = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch.}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

Avec :

A_{blanc} : Absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (huile essentielle, extrait ou standards) à une concentration donnée.

A_{éch} : Absorbance de l'échantillon testé après 30mn d'incubation.

6.1.3. Détermination de la concentration inhibitrice médiane (CI₅₀)

La CI₅₀ est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (HE, extraits ou toute autre substance antioxydante) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux (**Hazzit, 2008**). Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe d'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant [**annexe 4**].

6.2.Mesure du pouvoir réducteur

6.2.1. Principe

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles et d'extraits représente l'aptitude de ces composés à réduire le fer ferrique en fer ferreux. Cette aptitude est évaluée par la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

6.2.2. Mode opératoire

L'estimation du pouvoir réducteur des échantillons étudiés (HE, extraits, BHT, BHA) est obtenue selon le protocole expérimental illustré sur la (Figure 10). L'augmentation de l'absorbance indiquera une augmentation du pouvoir réducteur. Le test a été répété 3 fois pour chaque concentration.

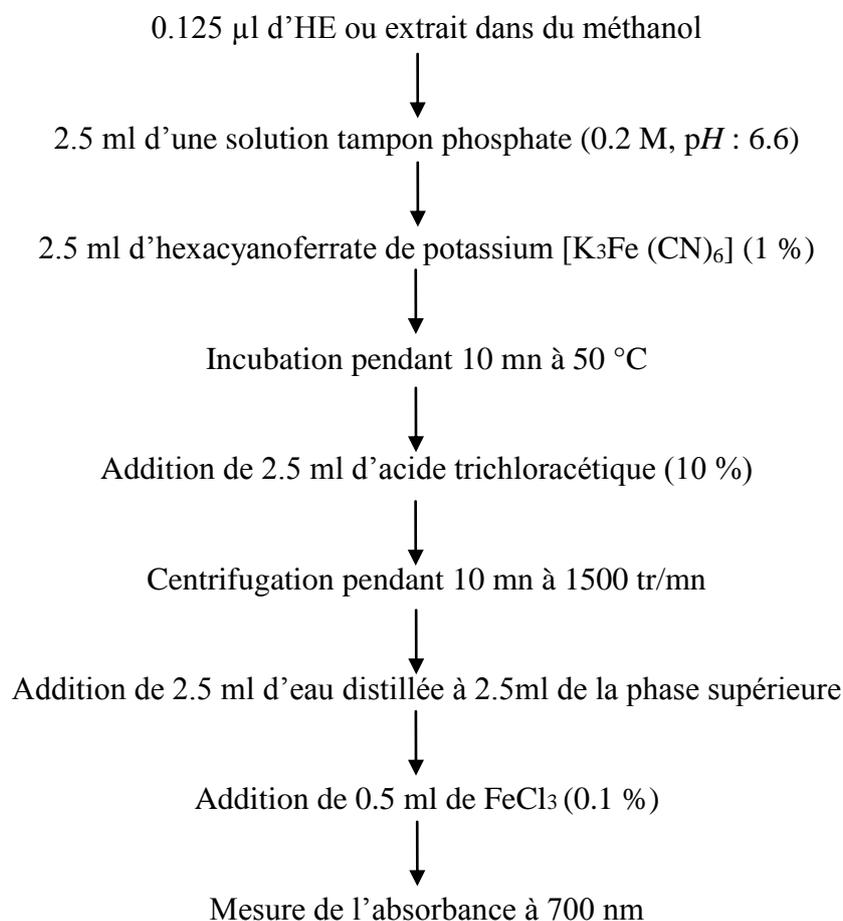


Figure 10 : Procédure de la mise en œuvre du test du pouvoir réducteur

7. Analyse statistique

Les résultats obtenus lors de l'analyse phytochimique des extraits élaborés et l'évaluation de l'activité antioxydante des HE, extraits éthanoliques, BHA et BHT ont fait l'objet d'une étude statistique par l'analyse de la variance (ANOVA/MANOVA) et l'analyse par le Test de Student (Test t), en utilisant le logiciel STATISTICA 5.5. Tous les graphes et les histogrammes représentés dans le document ont été réalisés en utilisant le logiciel : Excel (Microsoft Office 2007).

Chapitre V

Résultats et discussions

Résultats et discussions

1. Extraction des huiles essentielles

1.1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction en huiles essentielles de feuilles des deux échantillons de *Myrtus communis L.* (Tifra et Bejaia) exprimés en pourcentage ; poids par rapport à la matière végétale sèche, sont regroupés dans le tableau I.

Tableau I: Rendements en huiles essentielles

Echantillons	Rendement (%)
<i>Tifra</i>	0.30
<i>Bejaia</i>	0.60

Les résultats présentés dans le tableau I, montrent que le meilleur rendement est enregistré avec l'échantillon de Bejaia. Ce dernier est légèrement supérieur à celui trouvé par **Berka-Zougali et al. (2010)** en travaillant sur la même espèce qui provenait de la région de Bâinem (Alger), mais identique à celui signalé par **Aidi-Wannes et al. (2010)** pour la même espèce de la région de Jbal Stara Haouaria (Nord-est de la Tunisie). Les rendements obtenus par ces auteurs sont respectivement de 0.51 et 0.61 %. Cet écart est probablement attribué à la différence de provenance du matériel végétal ainsi qu'à la période de la récolte.

L'étude menée par l'équipe de **Barboni et al. (2010)** sur les fruits (baies) de *Myrtus communis L.* de la région de Corse (France), ont trouvés que le rendement en HE de l'échantillon étudié est très faible (0.04%).

2. Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG/SM

2.1. Analyse qualitative des HE par CPG

- **Echantillon feuilles de la région de Tifra**

L'analyse de l'huile essentielle de l'échantillon du myrte commun de la région de Tifra, par CPG sur une colonne capillaire non polaire de type DB-5 a fournis 60 pics dont 36 ont été identifiés (tableau II et figure 11).

Tableau II : Résultats d'analyse qualitative par CPG de l'HE des feuilles du myrte de Tifra

N°	IR _{cal}	IR _{lit}	Composés	Identification
1	903	909	isobutyl isobutyrate	c
2	929	926	α -pinene	s
3	938	939	camphene	s
4	964	964	β .pinene	s
5	990	992	β - myrcene	c
6	1004	1003	carene	s
7	1009	1020	limonene	s
8	1019	1022	1-8-cineole (eucalyptol)	s
9	1045	1051	trans- β - ocimene	c
10	1069	1063	gamma-terpinenes	c
11	1075	1076	cis-linalool oxyde	c
12	1085	1091	linalool	s
13	1100	1102	isoamyl 2-methylbutyrate	c
14	1120	1122	fenchyl alcohol	c
15	1132	1127	α -campholenal	c
16	1168	1191	α -terpineol	c
17	1243	1244	acetate de linaly	s
18	1276	1278	thymol	s
19	1300	1298	l'acetate d'isobornyle	c
20	1328	1329	eugenol	s
21	1359	1361	myrtenyl acetate	c
22	1367	1364	acetate de geranyl	c
23	1377	1377	α -copaene	c
24	1422	1420	β -caryophyllene	c
25	1435	1434	γ -elemene	c
26	1457	1455	α -humulene	c
27	1465	1462	alloaromadendrene	c
28	1475	1476	β -chamigrene	c
29	1485	1488	β -selinene	c
30	1501	1497	viridiflorene	c
31	1512	1508	β -bisabolene	c
32	1533	1524	δ -cadinene	c
33	1576	1577	spathulenol	c
34	1582	1582	caryophyllene oxyde de	c
35	1588	1573	caryophyllene oxide	c
36	1620	1619	humulane-1 ,6-dien-3-ol	c

IR_{cal} : Indice de rétentions calculés, relatifs aux n-alcanes C₉ – C₂₀ sur une colonne capillaire non polaire de type DB-5 ; IR_{lit} : Indice de Rétention cités par la littérature ; C : Comparaison avec les IR cités par la littérature. S: comparaison avec des standards (étalons).

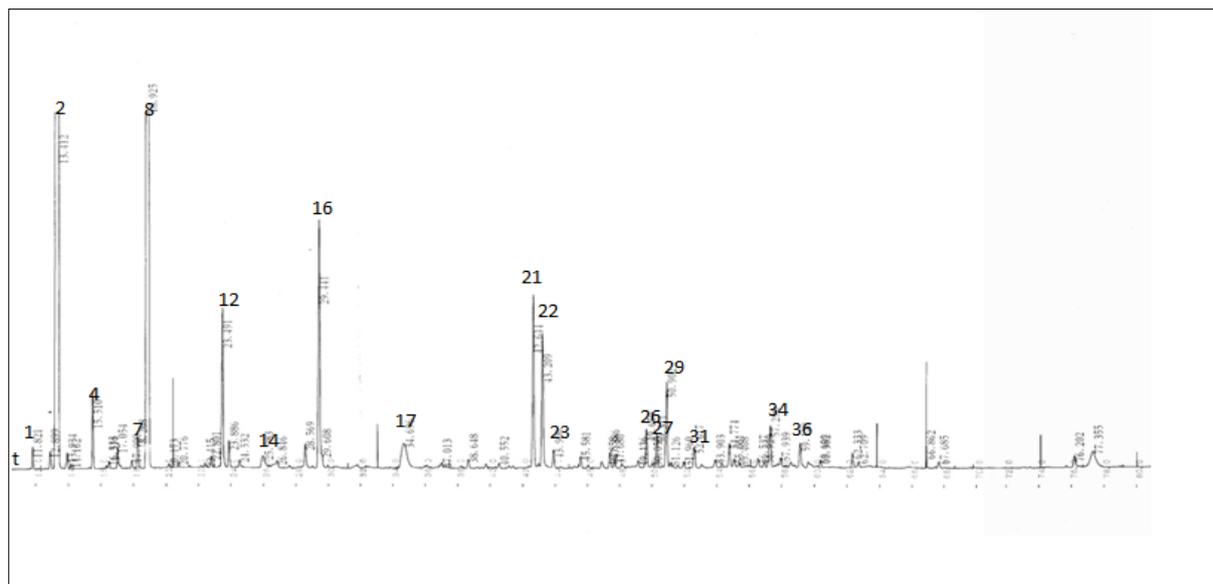


Figure 11 : Chromatogramme obtenu par CPG de l'HE des feuilles de *Myrtus communis L.* de la région de Tifra

• **Echantillon feuilles de la région de Bejaia**

L'HE extraite de l'échantillon de feuilles de Bejaia, a été analysé par CPG sur une colonne capillaire de type DB-5, ce qui a permis de fournir 80 pics dont 40 ont été identifiés (tableau III et figure 12).

Tableau III: Résultats d'analyse qualitative par CPG de l'HE des feuilles de myrte de Bejaia

N°	IR _{cal}	IR _{lit}	Composés	Identification
1	930	926	α -pinene	s
2	938	939	Camphene	s
4	964	964	β -pinene	s
5	990	992	β -myrcene	c
6	1001	1002	butyrate de butyle	c
7	1004	1003	Carene	s
8	1009	1007	α -phellandrene	c
9	1020	1020	Limonene	s
10	1036	1035	1-8 cineole	c
11	1045	1051	trans- β - ocimene	c
12	1069	1063	gamma-terpinenes	c
13	1074	1076	cis -linalool oxyde (furanoides)	c
14	1085	1089	Terpinolene	c
15	1090	1091	Linalool	s
16	1119	1120	exo -fencho	c
17	1132	1127	α -campholenal	c
18	1154	1155	Broneol	s
19	1168	1173	α .terpeneol	s
20	1170	1179	4-terpineol	c
21	1241	1244	acetate de linalyl	s
22	1276	1278	Thymol	s

23	1301	1306	myrtenyl acetate	c
24	1326	1329	Eugenol	s
25	1340	1351	α -terpinyle acetate	c
26	1359	1364	acetate de geranyl	s
27	1377	1377	α -copaene	c
28	1402	1402	Allylveratrole	c
29	1422	1422	β -caryophyllene	c
30	1430	1417	methyleugenol	c
31	1434	1434	γ -elemene	c
32	1457	1455	α -humulene	c
33	1465	1462	alloaromadendrene	c
34	1475	1476	β -chamigrene	c
36	1488	1488	β -selinene	c
37	1490	1494	(<i>e</i>)-methyl isoeugenol	c
38	1519	1519	nerlidol	s
40	1576	1577	spathulenol	c
41	1588	1573	caryophyllene oxide	c
42	1609	1607	humulene epoxyde ii	c
43	1642	1654	α -cadinol	c

IR_{cal} : Indice de rétentions calculés, relatifs aux n-alcanes C₉ – C₂₀ sur une colonne capillaire non polaire de type DB-5 ; **IR_{lit}** : Indice de Rétention cités par la littérature ; **C** : Comparaison avec les IR cités par la littérature.

S: comparaison avec des standards (étalons).

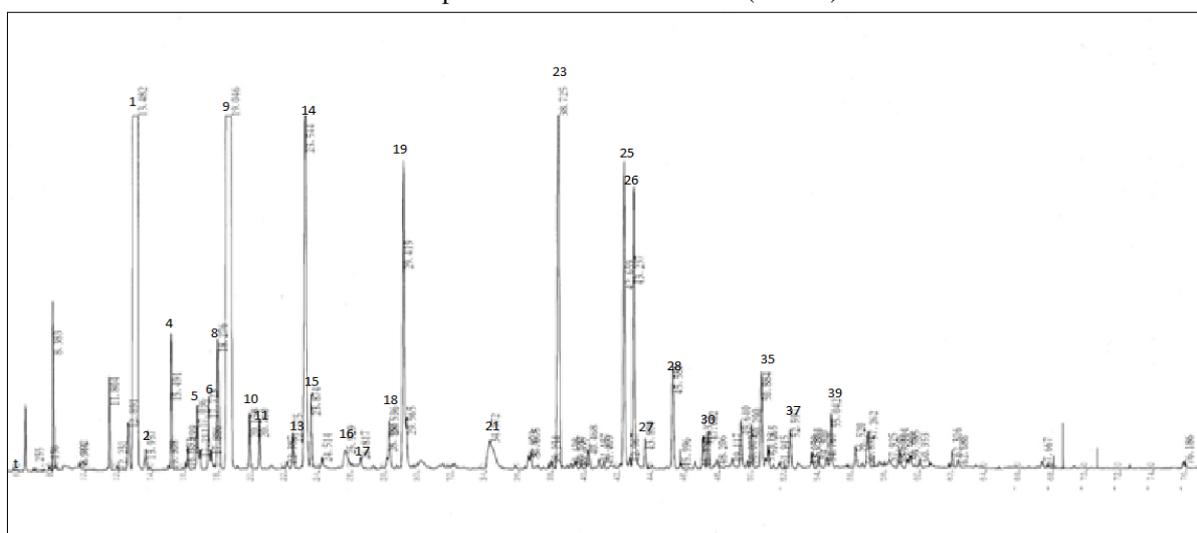


Figure 12: Chromatogramme obtenu par CPG de l'HE des feuilles de *Myrtus communis* L. de la région de Bejaia

2.2. Analyse semi-quantitative des HE par CG/SM

L'identification de la composition des huiles essentielles par CG/SM, est basée sur la comparaison du spectre de masse d'un composé inconnu, à celui d'un autre composé pur, fourni par la base de données du micro-ordinateur relié au spectromètre de masse. Après injection des huiles essentielles des deux échantillons de l'espèce étudiée selon les conditions opératoires citées précédemment, 70 composés ont été identifiés pour l'HE du myrte commun

de la région de Tifra contre 73 pour l'échantillon de la région de Bejaia. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IV et illustrés dans les figures 13 et 14.

Tableau IV: Analyse semi quantitative par CG/SM des HE de *Myrtus communis* L. des deux régions étudiées

N°	Composés	IR _{cal}	IR _{lit}	Concentration (%)	
				Tifra	Bejaia
1	hexanal	801	800	t	t
2	(e)-2-hexenal	816	850	-	0.1
3	3-hexen-1-ol	817	855	-	0.1
4	1-hexanol	822	865	-	0.1
5	isobutyl isobutyrate	910	892	0.1	0.2
6	α -thujene	923	928	t	0.1
7	α-pinene	933	939	18.7	18.3
8	α -fenchene	944	953	-	t
9	camphene	946	956	0.2	0.1
10	verbenene	951	953	0.1	t
11	sabinene	970	975	t	t
12	β -pinene	974	980	0.7	0.4
13	6-methyl- 5-hepten-2-one	986	986	-	t
14	β -myrcene	990	991	0.3	0.2
15	α -phellandrene	1004	1007	0.4	0.4
16	δ -3-carene	1009	1011	-	0.4
17	p-cymene	1022	1026	t	0.1
18	Limonene	1027	1030	1.0	1.0
19	1.8-cineole	1032	1033	24.3	27.1
20	trans- β - ocimene	1048	1050	0.1	0.3
21	g-terpinene	1057	1063	0.4	0.3
22	cis-linalool oxide	1069	1076	-	0.1
23	terpinolene	1083	1089	0.4	0.4
24	linalool	1102	1098	4.1	7.2
25	fenchyl alcohol	1110	1120	0.2	0.1
26	β -thujone	1112	1114	0.1	-
27	campholene aldehyde	1120	1127	0.2	0.1
28	Pinocarveol	1133	1142	0.7	0.5
29	Camphor	1137	1144	0.1	-
30	Pinocarvone	1155	1165	0.2	0.1
31	Borneol	1159	1165	0.3	0.1
32	4-terpineol	1171	1178	0.6	0.6
33	Acetophenone	1177	1182	t	0.1
34	α-terpineol	1194	1189	7.9	4.4
35	Anethole	1195	1196	0.4	1.1
36	Verbenone	1204	1205	0.1	0.1
37	trans-carveol	1213	1219	0.4	0.2
38	Nerol	1223	1228	0.1	0.2
39	Carveol	1224	1229	0.1	-
40	thymyl methylether	1228	1235	0.1	-
41	Pulegone	1231	1237	0.2	-
42	Neral	1234	1228	0.1	0.1
43	Carvone	1236	1247	t	0.1

44	Geraniol	1254	1255	2.5	1.3
45	Citral	1263	1266	0.1	0.1
46	bornyl acetate	1276	1295	0.1	0.1
47	myrtenyl acetate	1315	1335	0.3	8.9
48	carvyl acetate	1329	1337	0.1	0.1
49	hydroxycineole acetate	1333	1334	0.1	0.1
50	α -cubebene	1340	1344	t	-
51	terpinenyl acetate	1343	1351	-	0.3
52	neryl acetate	1359	1361	0.2	0.3
53	α -copaene	1367	1377	0.2	0.2
54	geranyl acetate	1386	1383	6.0	4.9
55	β -elemene	1388	1391	0.4	0.5
56	Methyleugenol (ou Allylvératrole)	1409	1401	5.4	5.2
57	β -caryophyllene	1414	1419	0.5	1.5
58	γ -elemene	1430	1434	0.2	0.2
59	α -bergamotene	1433	1436	-	0.1
60	aromadendrene	1434	1440	0.2	-
61	α -guaïene	1435	1441	-	0.1
62	α -humulene	1449	1454	0.4	0.5
63	allo-aromadendrene	1456	1461	0.2	-
64	Isosativene	1456	1462	-	0.1
65	β -selinene	1471	1478	0.5	0.2
66	eudesma-4(14).11-diene	1484	1488	1.6	0.8
67	α -selinene	1493	1494	1.4	0.8
68	methyl cis-isoeugenol	1497	1500	0.2	0.1
70	β - bisabolene	1505	1508	0.1	0.3
71	γ -cadinene	1510	1524	0.1	-
72	geranyl isobutyrate	1513	1514	0.2	-
73	γ - bisabolene	1529	1515	0.1	0.2
74	germacrene D	1552	1550	0.1	0.1
75	Elemicin	1555	1554	0.1	t
76	Nerolidol	1562	1564	0.9	0.2
77	spathulenol	1575	1576	1.0	0.1
78	caryophyllene oxide	1579	1582	0.5	0.8
79	viridiflorol	1586	1590	0.1	-
80	geranyl propionate	1598	1604	0.2	0.1
81	caryophylla-4(12). 8(13) –dien-5 beta-ol	1634	1640	-	0.1
82	t-cadinol	1641	1654	0.1	-
83	t-muurolol	1655	1660	-	0.3
84	caryophylla-3. 8(13) –dien-5 beta-ol	1657	1666	-	0.1
85	α -cadinol ou t-muurolol	1658	1667	0.7	
86	2-pentadecanone	1700	1675	-	0.1
	<i>Hydrocarbures monoterpènes (HM)</i>			22.3	21.7
	<i>Monoterpènes oxygénés (MO)</i>			53.9	35.3
	<i>Hydrocarbures sesquiterpéniques (HS)</i>			5.9	5.4
	<i>Sesquiterpènes oxygénés (SO)</i>			3.7	2.1
	<i>Autres</i>			1.6	1.8
	Total (%)			87.4	66.3

IR_{cal} : Indices de rétentions calculés relatifs aux n-alcanes $C_7 - C_{17}$ sur une colonne capillaire non polaire HP 5MS ; IR_{lit} :

Indice de Rétention cités par la littérature ; t : Concentration inférieure à 0.05 %.

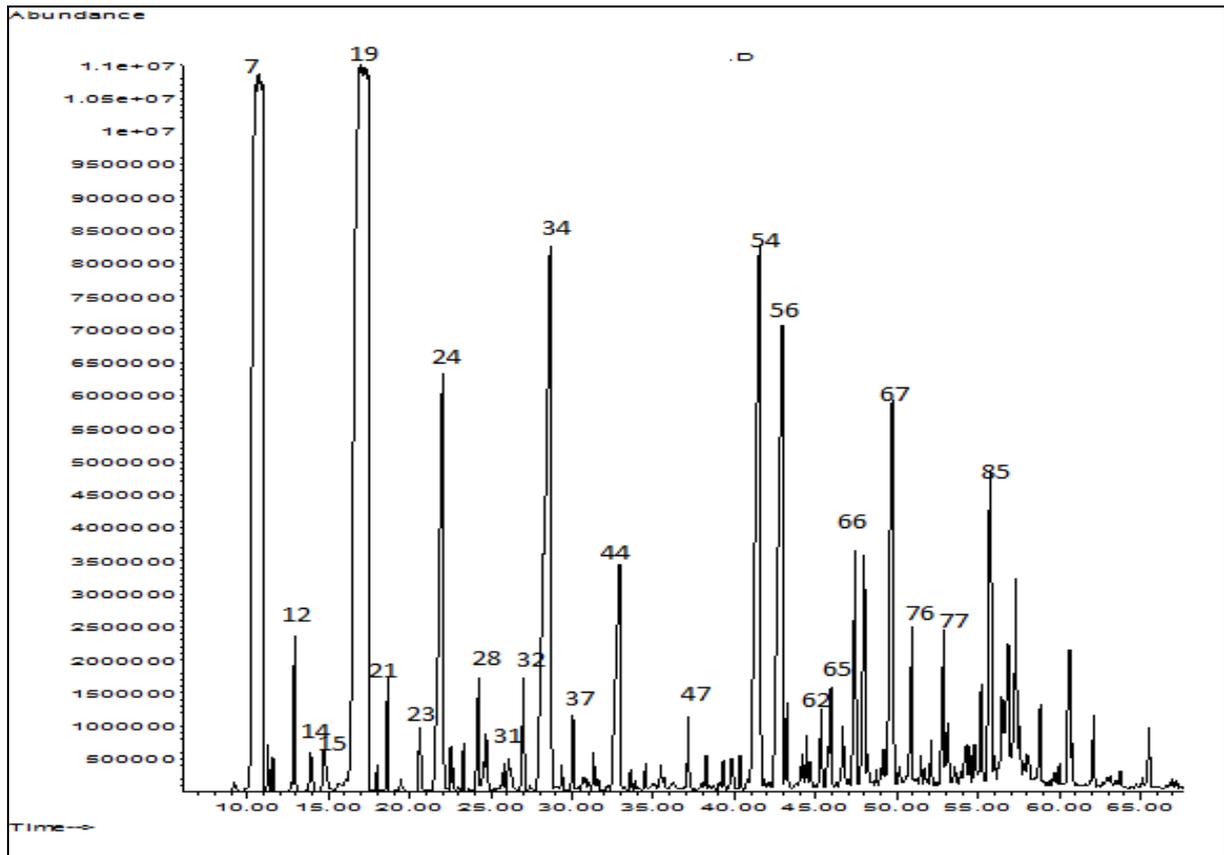


Figure 13: Chromatogramme de l'HE de *Myrtus communis* L. de Tifra obtenu par GC/MS

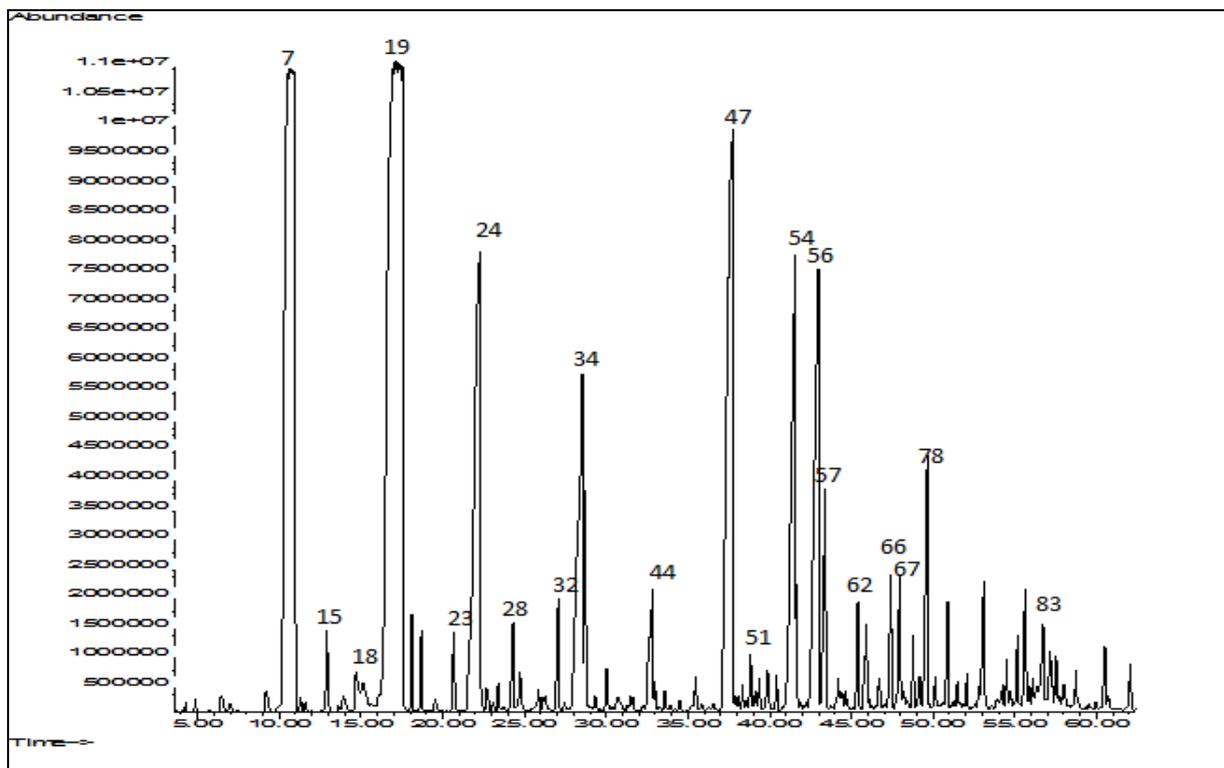


Figure 14: Chromatogramme de l'HE de *Myrtus communis* L. de Bejaia obtenu par CG/MS

D'après les résultats indiqués dans le tableau IV, il apparaît, d'une manière générale que les HE de feuilles du myrte commun cueillies dans les deux régions concernées (Tifra et Bejaia) ont une composition chimique similaire et se différencient uniquement dans la teneur en leurs constituants. Il est à noter aussi que certains composés des HE analysées ont été uniquement identifiés dans l'un des deux échantillons analysés.

L'analyse par CG/SM a montré également que les HE analysées sont caractérisées par la prévalence des monoterpènes oxygénés (MO) avec des teneurs de 53.9 et 35.3% et des Hydrocarbures monoterpénique (HM) avec 22.3 et 21.7% respectivement pour l'échantillon de Tifra et celui de Bejaia (figure 15).

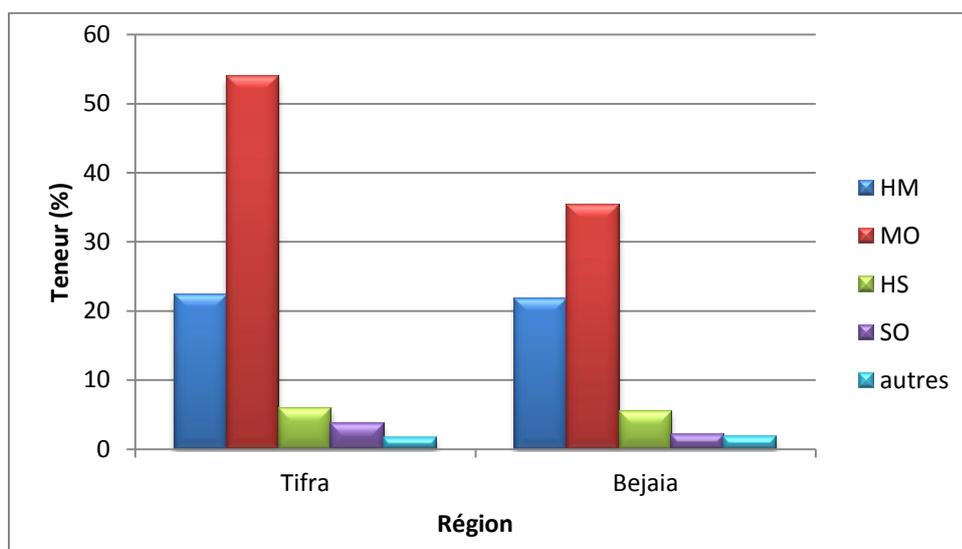


Figure 15 : pourcentages des classes chimiques constituantes les HE étudiés

L'HE extraite à partir des feuilles du myrte commun, provenant de la région de Tifra, est caractérisée par la prévalence de 04 composés à savoir : 1,8-cineole (24.3%), α -pinène (18.7%), α -terpineol (7.9%) et geranyl acétate (6.0%). Cependant l'analyse chimique de l'HE de feuilles de *Myrtus communis L.* de Bejaia a révélée la présence de 04 constituants majoritaires à savoir : 1,8-cineole (27.1%), α -pinène (18.3%), myrtenyl acétate (8.9%) et méthyleugenol (5.2%).

Le composé majoritaire (1,8-Cineole), caractérisant les deux HE étudiées, présente une teneur proche de celle enregistrée par **Flamini et al. (2004)** (25.5%). Ces derniers avaient mené une étude phytochimique sur les feuilles de la même espèce de la région Monte Murlo en Italie.

Le tableau V montre les principaux composés signalés dans l'HE extraite de feuilles de *Myrtus communis L.* cités dans la littérature.

Tableau V : Comparaison des teneurs (%) en composés majoritaires des HE de feuilles *Myrtus communis*.

Echantillon Composés	Italie ^a	Grèce ^b	Tunisie ^c	Iran ^d	Turquie ^e	Serbie ^f
α -pinène	41.6	10.9	58.05	29.1	-	35.9
1,8-cinéole	25.5	13.5	21.67	17.9	50.13	23.9
limonene	9.5	-	0.1	21.5	4.26	4.5
linalol	2.9	7.7	2.45	10.4	12.65	10.9
α -terpinéol	2.8	1.6	0.82	3.17	7.57	2.8
géranyl acetate	-	1.8	1.35	-	-	2.3
myrtenyl acetate	4.2	39.0	0.05	-	-	5.4

a : Flamini *et al.*, 2004 ; **b** : Gardeli *et al.*, 2008 ; **c** : Aidi-Wannes *et al.*, 2010; **d** : Yadegarinia *et al.*, 2006, **e** : Akin *et al.*, 2010 ; **f** : Mimica-Dukic *et al.*, 2010.

Selon le tableau V, une différence dans la composition chimique des HE analysées est observée entre nos échantillons et ceux rapportées dans la bibliographie. D'après **Berka-Zougali *et al.* (2010)**, cette différence peut être expliquée par l'influence des facteurs environnementaux, écologiques et techniques. L'étude réalisée par **Barboni *et al.* (2010)** sur les fruits (baies) de *Myrtus communis* L., de la région de Corse (France), a montrée que la composition chimique des HE de l'échantillon étudié est caractérisé par la prévalence des hydrocarbures monoterpéniques et des monoterpènes oxygénés avec l' α -pinène (31,9%) et le 1,8-cinéole (29,0%) en tant que composants majoritaires. **Aidi-Wannes *et al.* (2010)**, ayant travaillé sur la tige et la fleur de la même espèce poussant en tunisie, signalent que l' α -pinène et le 1,8-cinéole sont considéré comme étant les principaux composés qui caractérisent les HE de la fleur, avec des teneurs de 17.53 et 12.7% respectivement. Et le 1,8-cinéole est le composé principal de l'HE de la tige, avec une proportion de 32.84%.

3. Elaboration des extraits éthanoliques

3.1. Rendement de l'élaboration

Les extraits éthanoliques élaborés à partir des feuilles et fruits de *Myrtus communis* L., récupérés après évaporation à sec et sous pression réduite ont été pesés pour déterminer leurs poids sec. Les rendements exprimés en gramme d'extrait par 100 gramme de matière végétale sèche, sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Rendements en extraits élaborés

Partie	Région	Rendement (% massique)
Feuilles	Bejaia	39
	Tifra	50
Fruit	Bejaia	53
	Tifra	54

Les résultats indiqués dans le tableau VI, montrent que les meilleurs rendements en extraits sont enregistrés avec les échantillons provenant de la région de Tifra. Il est à noter également que les fruits, d'une manière générale, fournissent un rendement supérieur par rapport à celui trouvé avec les feuilles.

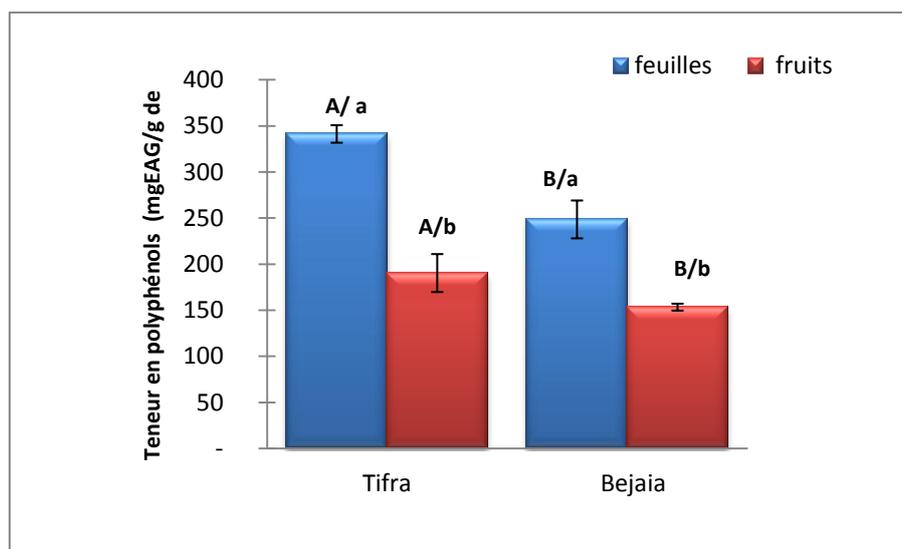
L'étude réalisée par **Gardeli et al. (2008)** en travaillant sur des échantillons de *Myrtus communis* L. poussant en Grèce, montre que le taux d'extraction obtenu avec les feuilles est d'environ 43%. Ces variations pourraient être dues à des divers facteurs : la partie de la plante utilisée, le climat, la période de récolte et l'habitat (**Barboni et al., 2010**).

4. Analyses phytochimiques des extraits éthanoliques élaborés

4.1. Dosage des phénols totaux

Après addition du réactif de Folin-Ciocalteu et du carbonate de sodium, une couleur bleue a été constatée dans le milieu réactionnel, dont l'intensité varie en fonction de la concentration en polyphénols totaux de l'extrait.

La teneur en polyphénols a été déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique [**Annexe 1**]. La quantité correspondante, déterminée par l'équation de la courbe de type « $y = a(x) + b$ », a été rapportée en mg équivalent de l'étalon utilisé par g de matière sèche (MS). Les résultats du dosage sont illustrés dans la figure 16.



Lettre minuscule : classification en groupes homogènes des extraits de feuilles et fruits pour la même région ;
Lettre majuscule : classification en groupes homogènes des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante.
 Les lettres sont significativement différentes à ($P < 0.05$).

Figure 16 : Histogramme des teneurs moyennes en polyphénols totaux des extraits étudiés

Les résultats du dosage illustrés dans la figure 16, montrent une forte teneur en polyphénols totaux pour les extraits de feuilles par rapport à ceux des fruits. La concentration maximale en ces composés est enregistrée avec l'échantillon de feuilles provenant de la région de Tifra (341.37 mg EAG/g de MS). Cependant la faible teneur est signalée sur l'échantillon fruits de Bejaia (153.48 mg EAG/g de MS), avec une différence significative ($p < 0.05$) entre les deux régions.

Selon **Dugald et al. (2004)** les facteurs environnementaux tels que : la géographie, la température, la durée du jour et les éléments nutritifs, influencent fortement sur la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires de la plante.

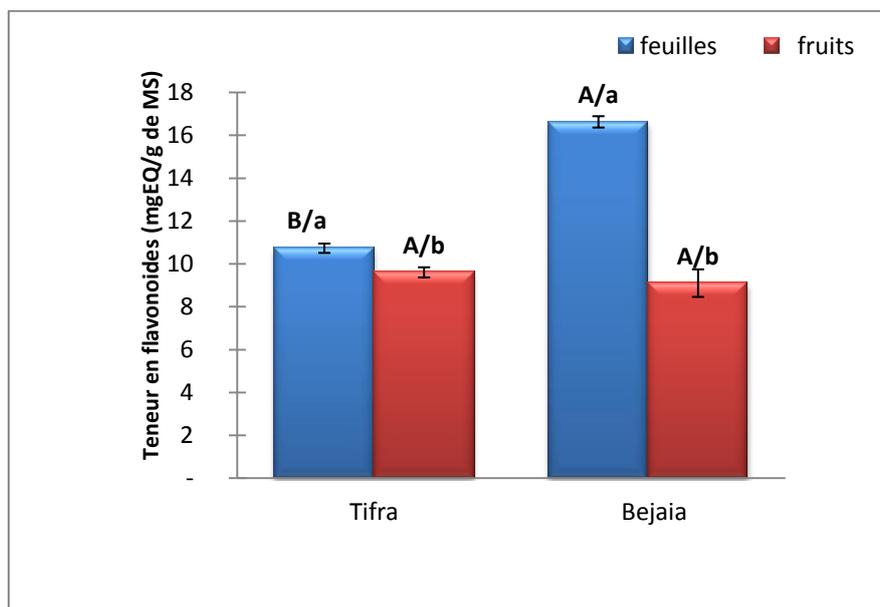
En se référant à la littérature, les travaux de **Gardeli et al. (2008)** sur des échantillons de feuilles de *Myrtus communis* L. d'origine grecque, montrent que les extraits méthanoliques obtenus contiennent un teneur en phénols totaux estimée à 307 mg EAG /g de MS.

En général, la teneur en polyphénols d'un extrait dépend de la méthode d'extraction utilisée, de la nature du solvant ainsi que du matériel végétal utilisé (**Hayouni et al., 2007**).

4.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé suivant la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Après addition de ce dernier, une coloration jaune verdâtre est obtenue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration en flavonoïdes de l'extrait dosé.

Les résultats du dosage, déterminés à partir de la courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine [Annexe 2], sont illustrés dans la figure 17.



Lettre minuscule : classification en groupes homogènes des extraits de feuilles et fruits pour la même région ;
Lettre majuscule : classification en groupes homogènes des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante.
 Les lettres sont significativement différentes à ($P < 0.05$).

Figure 17 : Histogramme des teneurs moyennes en flavonoïdes des extraits étudiés

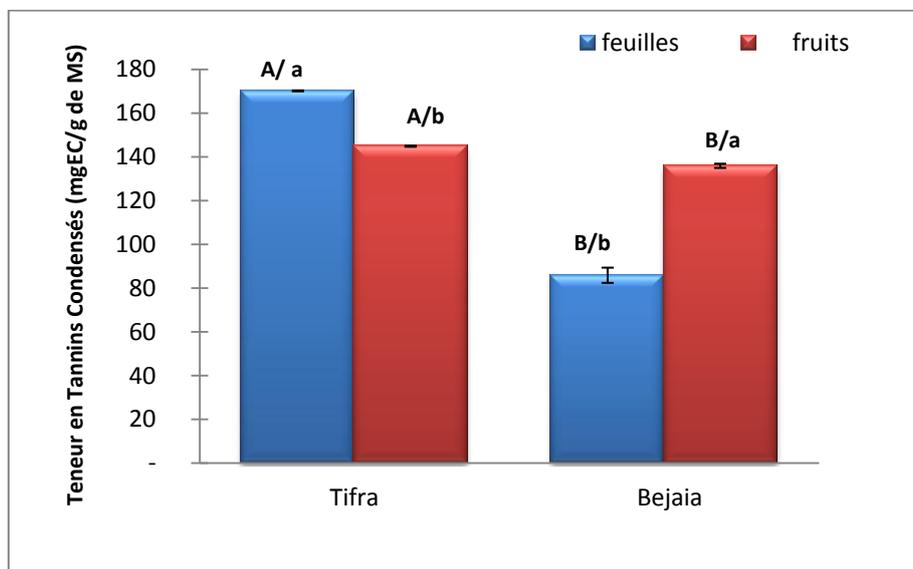
Les résultats du dosage donnés dans la figure 17, montrent que les extraits de feuilles contiennent une forte proportion en flavonoïdes par rapport à ceux des fruits. La teneur maximale en ces composés est enregistrée avec l'échantillon de feuilles provenant de la région de Bejaia (16.63 mg EQ/g de MS). Il faudrait signaler aussi la présence d'une différence significative, d'un côté, entre les échantillons de feuilles et fruits de la même région et entre les échantillons de feuilles des deux régions de l'autre côté. Par ailleurs, une absence de différence significative est signalée entre les teneurs en flavonoïdes des extraits élaborés à partir des fruits.

En se référant à la littérature, les résultats obtenus dépassent largement ceux rapportés par **Aidi-Wannes *et al.* (2010)**, ayant travaillé sur la même espèce. La teneur en flavonoïdes des échantillons de feuilles enregistrés dans leur étude est estimée à 5.17 mg EQ/g de MS. Cependant, **Alemohammad *et al.* (2011)** enregistrent un taux relativement élevé (21.99 mg EQ/g de MS), avec des échantillons de feuilles de *Myrtus communis L.* iraniens.

Les flavonoïdes sont considérés comme une sous classe des composés phénoliques, il est donc logique que la teneur en polyphénols totaux des extraits soit directement reliée à leur teneur en flavonoïdes. Par conséquent les facteurs agissant sur la teneur en polyphénols, influencent forcément la composition en flavonoïdes.

4.3. Dosage des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés a été réalisé selon la méthode de Butanol-HCl. La teneur en tannins condensés des échantillons étudiés est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine [Annexe 3]. Les résultats du dosage sont illustrés dans la figure 18.



Lettre minuscule : classification en groupes homogènes des extraits de feuilles et fruits pour la même région.

Lettre majuscule : classification en groupes homogènes des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante. Les lettres sont significativement différentes à ($P < 0.05$).

Figure 18: Histogramme des teneurs moyennes en tannins condensés des extraits étudiés

Parmi les échantillons analysés, les extraits éthanoliques (feuilles et fruits) de la région de Tifra enregistrent la plus forte teneur en tannins condensés avec des valeurs moyennes de 170.23 et 144.90 mg EC/g de MS respectivement. Par ailleurs, il est à noter la présence d'une différence significative ($p < 0.05$) dans la teneur en ces composés chez les échantillons cueillis dans la région de Bejaia.

A titre de comparaison, les résultats obtenus dépassent largement ceux rapportés par **Aidi-Wannes et al. (2010)**. La teneur en tannins condensés des feuilles trouvés par ces auteurs est estimée à 26.55 mg EAG/g de MS. Cet écart de concentration serait probablement expliqué par les facteurs suivants : la partie de la plante (feuilles et fruits) utilisée, la période de récolte, l'origine géographique et facteurs climatiques. Les teneurs en composés phénoliques des deux parties utilisées de la plante (feuilles et fruits) pour les deux régions (Tifra et Bejaia), sont récapitulées dans le tableau VII.

Tableau VII : Teneurs en composés phénoliques des extraits élaborés

Concentration*	Echantillons	Région	
		Tifra	Bejaia
Polyphénols totaux* (mg EAG/g de MS)	<i>Feuilles</i>	341.36 ± 9.56	248.65 ± 20.52
	<i>Fruits</i>	169.89 ± 27.44	153.48 ± 3.76
Flavonoïdes* (mg EQ/g de MS)	<i>Feuilles</i>	10.73 ± 0.22	16.63 ± 0.26
	<i>Fruits</i>	9.60 ± 0.24	9.10 ± 0.64
Tannins condensés* (mg EC/g de MS)	<i>Feuilles</i>	170.23 ± 0.22	85.91 ± 3.48
	<i>Fruits</i>	144.90 ± 0.24	135.95 ± 0.96

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type).

5. Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits éthanoliques

L'activité antioxydante des HE et des extraits éthanoliques élaborés a été évaluée par deux différents tests à savoir : mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH et mesure du pouvoir réducteur.

5.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

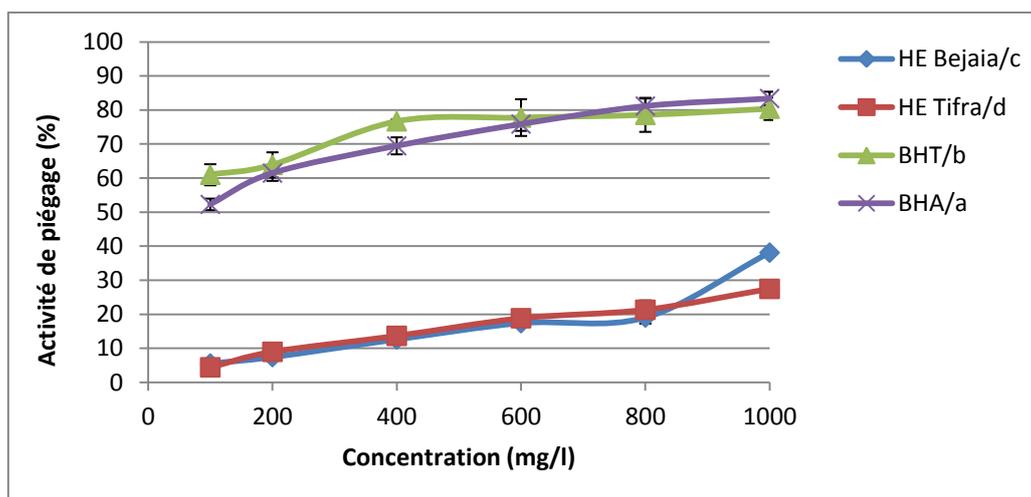
- Cas des huiles essentielles

Les résultats obtenus lors du test de mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH pour les HE de feuilles extraites à partir des échantillons provenant des régions de Tifra et Bejaia, comparés au BHT et BHA, sont résumés dans le tableau VIII est illustrés dans la figure 19.

Tableau VIII : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE, BHT et BHA

Concentration (mg/l)	Activité de piégeage du radical DPPH* (%)			
	HE Bejaia ^c	HE Tifra ^d	BHT ^b	BHA ^a
100	5.56 ± 0.54	4.44 ± 0.60	61.00 ± 3.10	52.30 ± 1.70
200	7.45 ± 0.58	9.00 ± 0.84	63.90 ± 3.70	61.50 ± 2.30
400	12.63 ± 0.79	13.69 ± 0.91	76.70 ± 0.50	69.50 ± 2.50
600	17.42 ± 0.66	18.86 ± 1.11	77.80 ± 5.40	75.90 ± 2.00
800	19.07 ± 1.79	21.35 ± 2.74	78.60 ± 5.00	81.20 ± 2.20
1000	38.13 ± 0.95	27.49 ± 1.47	80.40 ± 3.30	83.4 ± 2.00

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **Lettre minuscule**: classification en groupes homogènes des HE. BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à (P<0.05).



Lettres minuscules: classification en groupes homogènes des HE. BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à ($P < 0.05$).

Figure 19 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE du myrte, BHA et BHT

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH par les HE de *Myrtus communis L.* existe puisqu'ils sont capables de réduire la forme stable de ce radical vers le diphenylpicrylhydrazine. Ce pouvoir de piégeage augmente proportionnellement avec la concentration de ces huiles.

Les concentrations inhibitrices médianes (CI_{50}) n'ont pas été déterminées car aucune des huiles n'a pu atteindre un seuil d'inhibition de 50% des radicaux étant donné qu'à la plus forte concentration (1000 mg/l) le taux d'inhibition ne dépasse pas les 38.13%.

Les huiles essentielles du myrte de Bejaia ont montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH supérieur à celui enregistré avec l'HE de Tifra. Cet écart est expliqué par la différence dans la composition chimique entre les deux huiles testées. A cet effet, **Aidi-Wannes et al. (2010)** ont rapporté qu'une teneur élevée en composés monoterpéniques oxygénés, réduit l'activité de piégeage des radicaux libres par les HE, et un effet inverse en présence des composés phénoliques. Les résultats indiqués dans le tableau IV et illustrés sur la figure 15, confirment ce qui est rapporté par ces auteurs.

Les antioxydants de synthèse manifestent une forte activité significative même à de faibles doses. Pour une concentration de 100 mg/l, les valeurs enregistrées sont de 61.0 et 52.3% respectivement pour le BHT et le BHA.

D'une façon générale, les HE de *Myrtus communis L.* présentent une faible capacité de piégeage du radical DPPH. Ces résultats confirment ceux signalés auparavant dans l'étude de **Yadegarinia et al. (2006)** sur l'HE extraite des feuilles du myrte commun cueilli en Iran.

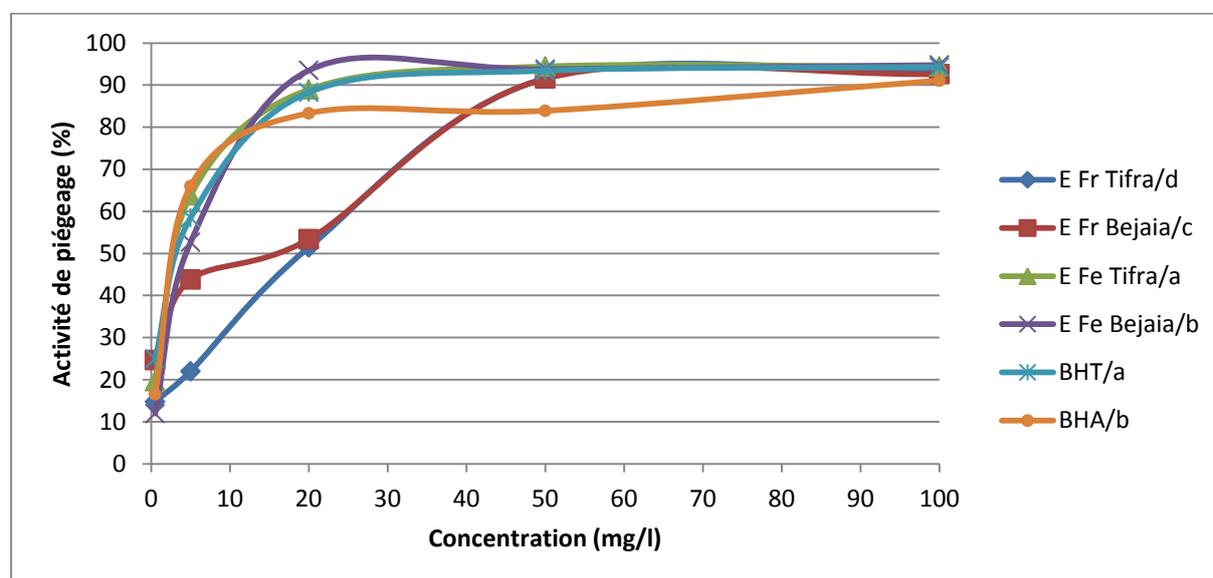
- **Cas des extraits éthanoliques**

Les valeurs d'activités de piégeage du radical DPPH obtenues pour les extraits de feuilles et fruits du myrte des régions étudiées, comparées à celles du BHT et BHA sont rapportées dans le tableau IX est illustrés sur la figure 20.

Tableau IX: Activité de piégeage du radical DPPH par les extraits, BHT et BHA

Concentration (mg/L)	Activité de piégeage du radical DPPH*(%)					
	E Fr Tifra ^d	E Fr Bejaia ^c	E Fe Tifra ^a	E Fe Bejaia ^b	BHT ^a	BHA ^b
0.5	14.77±2.75	24.66±0.23	19.64±0.60	11.95±0.31	24.98±2.05	16.54±0.39
5.0	22.00±3.47	43.82±1.29	63.82±1.02	52.66±1.98	58.48±1.77	65.99±2.64
20	51.43±6.42	53.39±0.45	88.96±0.41	93.51±0.59	88.27±2.18	83.29±0.25
50	91.58±1.24	91.55±1.90	94.44±0.34	93.78±0.47	93.42±0.91	83.88±0.53
100	93.55±0.12	92.61±0.65	94.44±0.20	94.77±0.43	94.26±0.53	91.05±0.89

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **E** : extrait. **Fe** : Feuille, **Fr** : Fruit. **Lettre minuscules**: classification en groupes homogènes des Extraits. BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à (P<0.05).



E : Extrait, **Fe** : Feuille, **Fr** : Fruit. **Lettres minuscules**: classification en groupes homogènes des Extraits. BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à (P<0.05).

Figure 20 : Activité de piégeage du radical DPPH par les extraits du myrte, BHA et BHT

D'après la figure 20, une augmentation proportionnelle des activités de piégeage du radical DPPH en fonction des concentrations en extraits est observée.

Les extraits éthanoliques de feuilles ont montré une grande activité d'inhibition vis-à-vis du radical DPPH comparée à celles des fruits et des antioxydants de synthèse. Ainsi pour une concentration de 20 mg/l d'extrait, l'activité antioxydante est de 88.96 et 93.51% respectivement pour les feuilles de Tifra et Bejaia.

Les différentes concentrations en extraits éthanoliques des feuilles du myrte des deux régions montrent une activité de piégeage sans différence significative avec celle du BHT et BHA, ceci est confirmé par les résultats obtenus lors du calcul des concentrations inhibitrices médianes (Tableau X).

Tableau X : Valeurs d'CI₅₀ des extraits et du BHT, BHA

Partie	Extraits/substance	CI ₅₀ (mg/l)
Feuilles	Tifra	2.67
	Bejaia	3.82
Fruits	Tifra	9.03
	Bejaia	5.22
	BHT	2.52
	BHA	2.67

Les résultats obtenus avec les extraits du myrte confirment ceux reportés par **Aidi-Wannes et al. (2010)**, en utilisant le même test pour des extraits méthanoliques de feuilles et fleurs de *Myrtus communis L.* cueillies dans diverses régions de Tunisie. Les valeurs des CI₅₀ trouvées sont 3.0 et 8.0 respectivement pour les fleurs et feuilles.

Les travaux de **Gardeli et al. (2008)** sur la même espèce poussant en Grèce, montrent que les extraits méthanoliques de *M. communis L.* présentent une activité antiradicalaire et les valeurs de CI₅₀ reportées sont comprises entre 9.54 et 17.1 mg /l.

L'écart dans l'activité antioxydante entre les extraits de feuilles et ceux de fruits peut être expliqué par leurs fortes teneurs en phénols totaux et flavonoïdes. En effet ces derniers sont connus d'être d'excellents antioxydants dont les propriétés oxydo-réductrices leur permettent d'agir comme des agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et inhibiteurs de l'oxygène (**Pietta, 2000**).

La capacité des flavonoïdes ainsi que des phénols totaux à piéger les radicaux libres, s'explique par leurs structures chimiques comportant un nombre important d'atomes

d'hydrogène, des groupements hydroxylés, des noyaux phényles qui seraient capables de capter les radicaux libres en démobilisant leurs électrons célibataires (Calliste *et al.*, 2001, Torres de Pinedo *et al.*, 2007).

Dans une étude récente, Hayder *et al.* (2004) ont étudié l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antiradicalaire des extraits de feuilles de myrte tunisien et ils ont mentionné que les extraits polaires tels que l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique ont montré une forte activité de piégeage des radicaux libres comparés aux extraits non polaires tels que les huiles essentielles et les extraits obtenus avec de l'hexane.

5.2. Mesure du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur mesure la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En d'autres termes, c'est la mesure de l'aptitude d'une huile essentielle ou d'un extrait à interagir avec les espèces chimiques réactives en tant que donneur d'électrons tels que les radicaux libres. Ces radicaux ainsi réduits deviennent plus stables.

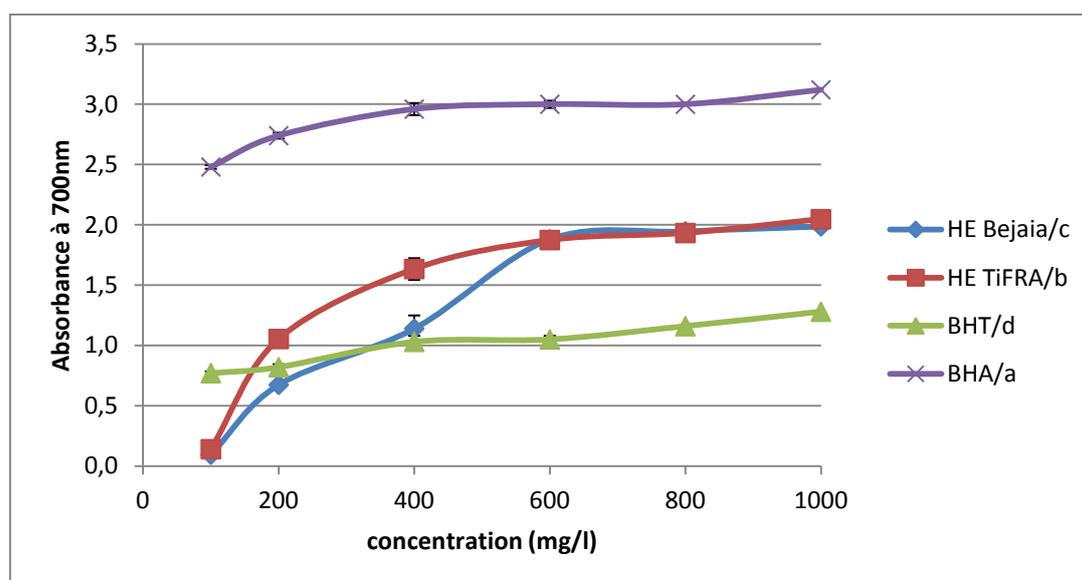
- **Cas des huiles essentielles**

Les résultats du pouvoir réducteur des huiles essentielles étudiées, du BHT et du BHA, exprimé par l'absorbance à 700 nm, sont résumés dans le tableau XI et illustrés sur la figure 21.

Tableau XI : Pouvoir réducteur des HE étudiées, du BHT et BHA

Concentration (mg/l)	Pouvoir réducteur* (Absorbances à 700nm)			
	HE Bejaia ^c	HE Tifra ^b	BHT ^d	BHA ^a
100	0.09±0.00	0.14±0.30	0.77±0.05	2.48±0.05
200	0.67±0.06	1.05±0.01	0.82±0.05	2.74±0.02
400	1.14±0.02	1.63±0.02	1.03±0.05	2.96±0.03
600	1.88±0.10	1.87±0.00	1.05±0.02	3.00±0.03
800	1.95±0.02	1.93±0.01	1.16±0.09	3.00±0.02
1000	1.99±0.01	2.05±0.01	1.28±0.11	3.12±0.06

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **Lettres minuscules:** classification en groupes homogènes des HE. BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à (P<0.05).



Lettre minuscule: classification en groupes homogènes des HE. BHT et BHA
Les lettres sont significativement différentes à ($P < 0.05$).

Figure 21: Pouvoir réducteur des HE étudiées, BHT et BHA

D'une manière générale, le pouvoir réducteur des HE du myrte et celui du BHT et BHA augmente en fonction de leurs concentrations. La valeur maximale est significativement enregistrée chez le BHA (3.12) et la plus faible valeur est signalée chez le BHT (1.28) pour des doses de 1000 mg/L. Parmi les deux HE étudiées, l'échantillon provenant de la région de Tifra a manifesté une meilleure activité (2.05), où il a largement dépassé celle enregistrée avec le BHT.

Les résultats obtenus contredisent les travaux d'**Aidi-Wannes *et al.* (2010)**, qui ont utilisés le même test pour évaluer l'activité antioxydante des HE extraites à partir des feuilles du myrte poussant en Tunisie. Ils ont signalé l'absence d'activité de chélation pour les échantillons étudiés.

L'absence ou la faible teneur en composés phénoliques et la proportion élevée en composé, 1,8-cinéole (composés incapable de chélater les ions ferreux), explique la différence dans la capacité réductrice des HE (**Yadegarinia *et al.* 2006**).

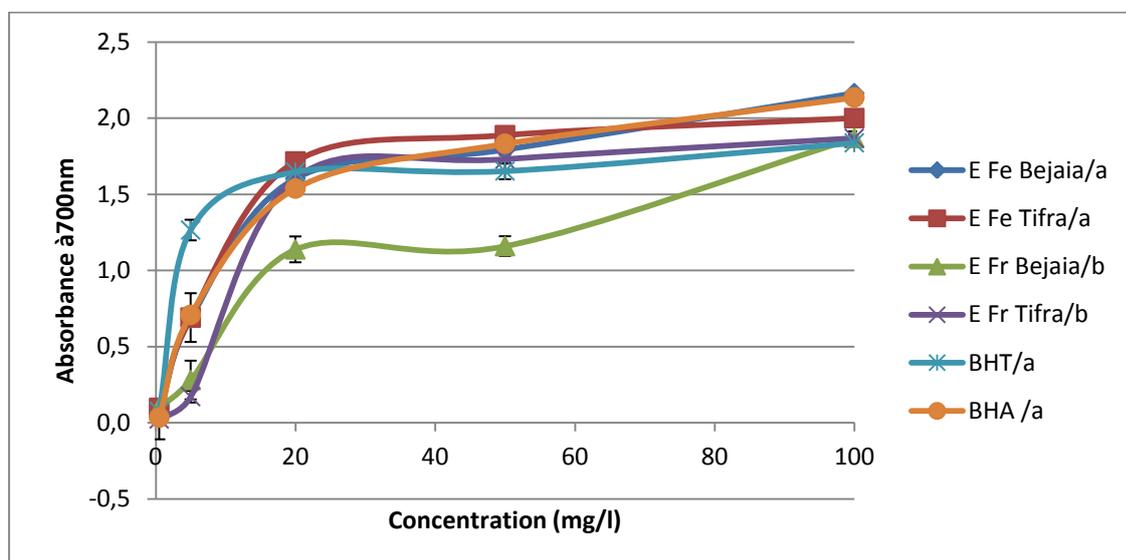
- **Cas des extraits**

Les résultats du pouvoir réducteur obtenus avec les différentes concentrations en extraits de feuilles et fruits de *Myrtus communis L.* comparés à celles du BHT et BHA sont résumés dans le tableau XII et illustrés sur la figure 22.

Tableau XII: Pouvoir réducteur des extraits étudiés, du BHT et du BHA.

Concentration (mg/l)	Pouvoir réducteur* (Absorbances à 700nm)					
	E Fe Bejaia ^a	E Fe Tifra ^a	E Fr Bejaia ^b	E Fr Tifra ^b	BHT ^a	BHA ^a
0.5	0.06 ±0.00	0.10±0.00	0.10±0.01	0.02±0.00	0.07±0.00	0.03±0.00
5	0.68±0.05	0.87±0.34	0.28±0.03	0.17±0.02	1.26±0.03	0.71±0.06
20	1.60±0.02	1.71±0.13	1.14±0.08	1.61±0.06	1.65±0.03	1.54±0.03
50	1.79±0.13	1.89±0.04	1.16±0.09	1.73±0.03	1.65±0.04	1.83±0.13
100	2.16±0.05	2.00±0.07	1.87±0.09	1.87±0.05	1.84±0.03	2.14±0.06

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **Fe** : Feuilles. **Fr** : Fruit. **E** : Extrait. Lettre en minuscules: classification en groupes homogènes des extraits, BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à (P<0.05).



E : Extrait, **Lettre minuscule**: classification en groupes homogènes des Extraits. BHT et BHA. Les lettres sont significativement différentes à (P<0.05).

Figure 22 : Pouvoir réducteur des extraits étudiés, du BHT et du BHA

D'après les résultats mentionnés dans tableau XII et illustrés sur la figure 22, un très faible pouvoir chélateur des extraits étudiés et des antioxydants de synthèse est constaté à la dose de 0.5 mg/l, et au fur et à mesure que la concentration en extraits augmente, leurs pouvoirs réducteurs augmentent proportionnellement.

L'extrait de feuilles des deux régions possède une bonne capacité réductrice avec une différence significative (p<0.05) comparée à celle observée chez les fruits. Concernant les antioxydants de synthèse, il est à noter que le BHT et le BHA ont une activité similaire à celles des extraits de feuilles des deux régions.

Selon **Gardeli *et al.* (2008)**, la différence dans l'intensité réductrice des extraits est expliquée par la faible teneur en flavonoïdes et en phénols totaux.

D'après les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antioxydante, les extraits éthanoliques élaborés ont montré, d'une façon générale, un degré d'inhibition de l'oxydation assez important par rapport à celui enregistré avec les HE.

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles, des extraits testés et celui du BHT et du BHA dépend essentiellement de plusieurs paramètres : la méthode utilisée, la concentration, la nature et les propriétés physicochimiques des substances antioxydantes employées (**Koleva *et al.*, 2002**).

Conclusion

Conclusion

L'étude réalisée contribue à l'identification de la composition chimique des huiles essentielles (HE) et des extraits de *Myrtus communis* L., ainsi qu'à la caractérisation de leur activité antioxydante, en utilisant différentes méthodes d'analyse et d'évaluation.

L'analyse qualitative de ces essences par CPG sur une colonne capillaire non polaire DB-5, a permis d'identifier 36 et 40 composés, respectivement pour l'échantillon de Tifra et celui de Bejaia.

L'analyse semi-quantitative des HE sur une colonne capillaire non polaire HP-5MS par CG/SM, a mis en évidence la prévalence des monoterpènes oxygénés (MO) et des hydrocarbures monoterpéniques (HM).

L'étude analytique de l'HE de l'échantillon de Tifra a révélée 04 constituants majoritaires où le 1,8-cineole (24.3%) est le composé principal, suivi par l' α -pinène (18.7%), l' α -terpinéol (7.9%) et geranyl acétate (6.0%). Celle de la région de Bejaia a montré la présence du même nombre de composés majoritaires dont le 1,8-Cineole (27.1%) reste le constituant essentiel, suivi ensuite par l' α -pinène (18.3%), le myrtenyl acétate (8.9%) et le méthyleugenol (5.2%).

L'élaboration des extraits éthanoliques des fruits et feuilles par Soxhlet, a fourni des rendements intéressants (39 à 54 %). Le dosage des composés phénoliques contenus dans les quatre extraits éthanoliques a révélé des teneurs considérables en polyphénols (153.48 à 341.37 mg EAG/g de MS) avec des concentrations appréciables en flavonoïdes (9.10 à 16.63 mg EQ/g de MS) et en tannins condensés (85.91 à 170.23 mg EC/g de MS).

Tous les échantillons étudiés manifestent une certaine activité antioxydante en comparaison avec celle du BHT et du BHA. Le degré d'inhibition de l'oxydation varie en fonction de la concentration en huile essentielle et en composés phénoliques.

Les extraits éthanoliques de feuilles ont montré une grande activité anti radicalaire comparée à celles des fruits et des antioxydants de synthèse avec des concentrations inhibitrices médianes (CI₅₀) inférieures à 4 mg/l. Cependant, les HE testés ont exprimés un pouvoir antioxydant assez faible par rapport à celui des extraits éthanoliques, avec des CI₅₀ dépassants largement les 1000 mg/l.

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais

complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait intéressant :

- De tester d'autres méthodes d'extractions et leurs influences sur la composition chimique et les activités biologiques ;
- D'approfondir l'analyse de la composition chimique des différents extraits éthanoliques élaborés, afin d'identifier les espèces chimiques responsables de leurs activités;
- De tester les principaux composés et comparer leurs pouvoirs antimicrobiens avec ceux des HE ;
- De vérifier les résultats expérimentaux dans un aliment sélectionné.

Références bibliographiques

- AFNOR, 2000.** Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.
- Aidi-Wannes W., Mhamdi B., Sriti J., Ben-Jemia M., Ouchikh O., Hamdaoui G., Elyes-Kchouk M. et Marzouk B., 2010.** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* L. var. *italica*.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 1362-1370.
- Akin M., Aktumsek A. et Nostro A., 2010.** Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, **9**, 531-535.
- Alibert G., Ranjeva R., et Boudet M.A., 1977.** Organisation subcellulaire des voies de Synthèse des composés phénoliques. *Physiologie Végétale*, **15**, 279 - 301.
- Alemohammad F., Zand B. et Karamian R., 2011.** Evaluation of total phenol and flavonoïde contents, antioxidant and anti bacterial activities of *Myrtus communis* L. *Biochimie clinique*, **44**, 347.
- Baba-Aïssa F., 1991.** Les plantes médicinales en Algérie. Co-édition Bouchène Ad. Diwan Alger. 113.
- Barboni T., Venturini N., Paolini J., Desjobert J.M., Chiaramonti N. et Costa J., 2010.** Characterisation of volatiles and polyphenols for quality assessment of alcoholic beverages prepared from Corsican *Myrtus communis* L berries. *Food Chemistry*, **122**, 1304–1312.
- Baytop T., 1999.** Le traitement par les plantes médicinales en Turquie (Past and Present) *Nobel Astuce Kitapevleri* Press, Istanbul.
- Belaïche P., 1979.** "L'aromatogramme" : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. Ed. MALOINE, Paris. 204.
- Benhabiles N.E., 1995.** Comparaisons des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin : Extraction et étude analytique. Thèse magister, ENP, Alger.
- Berka-Zougali B., Hassan A., Besombes C. et Allaf K., 2010.** Extraction d'huiles essentielles de myrte algérienne. *Journal of Chromatography*, **1217**, 6134-6142.
- Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M. et Gaset A., 1988.** Extraction des huiles essentielles. *Chimie et technologie. Information chimie*.
- Berset C. et Cervelier M.E., 1996.** Methods of estimating the degree of lipid oxydation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments*, **16**, 219-245.

- Beta T., Nam S., Dexter J.E. et Sapirstein H.D., 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, **82**, 390–393.
- Bouchennet S.M., Libong D., 2002.** Le couplage chromatographique en phase gazeuse – spectromètre de masse. Département de Chimie, Laboratoire des Mécanismes réactionnels. Ecole polytechnique, PALAISEAU Cedex.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2^{ème} Ed., Paris. 623.
- Bruneton J., 1995.** Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Ed. Lavoisier, Paris. 915.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 3^{ème} Ed., Paris. 585.
- Calliste C.A., Trouillas P., Allais D. P., Simon A. et Duroux J.L., 2001.** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 3321-3327.
- Cavalli J.F., 2002.** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse.
- Cevat A. et Musa Ö., 2007.** Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey, *Journal of Food Engineering*, **79**, 453-458.
- Christian F., Lutz F., Giovanni A. et Oliver W., 2005.** Identification of Molecular Targets of the Oligomeric Nonprenylated Acylphloroglucinols from *Myrtus communis* L. and their implication as anti-inflammatory compounds. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*. **315**, 389–396.
- Cowan M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. **12**, 564-582.
- Crabas N., Marongiu B., Piras A., Pivetta T. et Porcedda S., 2003.** Extraction, séparation and isolation of fowl and dyes of *Officinalis calendula* L. And *Aloysias triphylla* Britton by CO₂ supercritical. *Journal of Essential Oil Research*, **15**, 272.
- Dugald C., Closea B.C., Arthura B.L., Pietrzykowskia E. et Patersona S., 2004.** Evaluating effects of nursery and post-planting nutrient regimes on leaf chemistry and browsing of eucalypt seedlings in plantations. *Forest Ecology and Management*, **200**, 101–112.

- El kalamouni C., 2010.** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse. 55.
- Essawi T., Srour M., 2000.** "Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity". *Journal of Ethnopharmacology*, **70**, 343-349.
- Eymard S., 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de laconservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse Doctorat, Université de Nantes, France, 277.
- Fioretto A., Papa S., Pellegrino A. et Fuggi A., 2007.** Decomposition dynamics of *Myrtus communis* L. and *Quercus ilex* leaf litter: Mass loss, microbial activity and quality change. *Applied Soil Ecology*, **26**, 32-40.
- Flamini G, Cioni L.P, Morelli I, Maccioni S , et Baldini R., 2004.** Phytochemical typologies in some populations of *Myrtus communis* L. L on Caprione Promontory (East Liguria, Italy). *Food Chemistry*, **85**, 599-604.
- Frankel E.N., 1998.** Lipid oxidation. *The Oily Press*. **10**. Dundee, Scotland.
- Gardeli C., Papageorgiou V., Mallouchos A., Kibouris T. et Michael K., 2008.** Composition de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. et *Myrtuscommunis* L. Évaluation de la capacité antioxydante des extraits méthanoliques. *Chimie des aliments*, **107**, 1120-1130.
- Garnero J., 1996.** Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur. 1-45.
- Gebicki J.M., 2004.** Proteins and major initial cell target of hydroxyl free radicals. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **36**, 2334-2343.
- German J.B. et Kinsella J.F., 1985.** Lipid oxidation in fish tissue: Enzymatic initiation via lypoxigenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **33**, 680-683.
- Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 162-169.
- Girod–Quillain I. et Grundschober F., 1998.** Les arômes alimentaires: réalités et perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72-79.
- Grêté P., 1965.** Précis de botanique, Systématique des angiospermes Tome II ; 2ème édition révisée, Faculté de Pharmacie de Paris – Masson, 429.
- Guenther E., 1972.** The essential oils, Ed. Robert Krieger publishing, Huntingtons, New York, **3**.
- Gurgnard J.L., 2000.** Biochimie végétale, Préface de Pierre potier, 2^{ème} édition de l'abrégé Ed: Dunod, Paris: 163-175.

- Hadi M., 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse Doctorat, Université Louis Pasteur. 155.
- Hayder N., Abdelwahed A., Kilani S., Ben Ammar R., Mahmoud A., Ghedira K. et Chekir-Ghedira L., 2004.** Anti-genotoxic and free radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. *Mutation. Research*, **564**, 89–95.
- Hayouni E.K., Abedrabba M., Bouix M. et Hamdi M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, **105**, 1126–1134.
- Hazzit M., 2008.** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse Doctorat, USTHB, Alger, 204.
- Heim E.K., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**, 572-584.
- Hemwimon S., Pavasant P. et Shotiprux A., 2007.** Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, **54**, 44-50.
- Hernandez-Ochoa L.R., 2005.** Substitution de solvants et de matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 15.
- Hsieh R.J. et Kinsella J.F., 1989.** Lipoxygenase generation of specific volatile flavour carbonyl compounds in fish tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **37**, 279-286.
- Huang D.J., Lin C.D., Chen H.J. et Lin Y.H., 2004.** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L) Constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **45**, 179-186.
- Hultin H.O., 1992.** Lipid Oxidation in Fish Muscle. In: Advances in seafood in biological systems. *Food Science and Nutrition*, **25**, 317.
- Jourdes M.M., 2003.** Réactivité, Synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins c-glycosidiques et flavano-ellagitannins. Thèse de doctorat : Bordeaux : L'université Bordeaux I-Ecole doctorale des sciences chimiques, 215.
- Kerbouche L., 2010.** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de cupressacées. Thèse de Magister, 133.

- Knert P., Kumpulainen J., Jarvinen R., Rissan H., Heliövaara M., Reunanen A., Hakulinen T., Aromaa A., 2002.** Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **76**, 560-568.
- Koleva I. I., Van Beek T. A., Linssen J. P. H., De Groot A., et Evstatieva L. N., 2002.** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*, **13**, 8–17.
- Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, **18**, 435-448
- Laurent B.M., 1980.** L'huile de myrte Les huiles essentielles, Séduits Publishing Corp, Carol Stream, Etats-Unis, 45.
- Le Louarn P., 1994.** Guide pratique de l'aromathérapie : Mieux être, mieux vivre par l'aromathérapie. Ed. De Vecchis S.A., Paris, 138.
- Lucchesi M.E., 2005.** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline : Chimie. Université de la Réunion.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V. et Biro L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, **47**, 119-125.
- Martin S., Andriantsitohaina R., 2002.** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphénols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51**, 304-315.
- Metche M. et Girardin, M., 1980.** Les polymères végétaux (polymères pariétaux et alimentaires non azotes). Edition: Ganthier Villars, 258-281.
- Mimica-Dukic N., Bozin B., Sokovic M. et Simin N., 2004.** Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 2485-2489.
- Moll M. et Moll N. 1998.** Les additifs alimentaires et auxiliaires technologiques, Ed. Dunod, Paris. (Technique et Ingénierie, série Agro-alimentaire).
- Muanda N.M., 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de doctorat, spécialité chimie organique. Université Paul Verlaine-Metz, 156.
- Odoul M., 2003.** Les huiles essentielles. La lettre de l'Institut Français de Shiatsu, 1-12.
- Oldrich L., Klejdus B., Ladislav K., Michaela D., Khaled A., Vlastimil K. et Richard H., 2005.** Biochemical systematics and Ecology, **33**, 983-992.

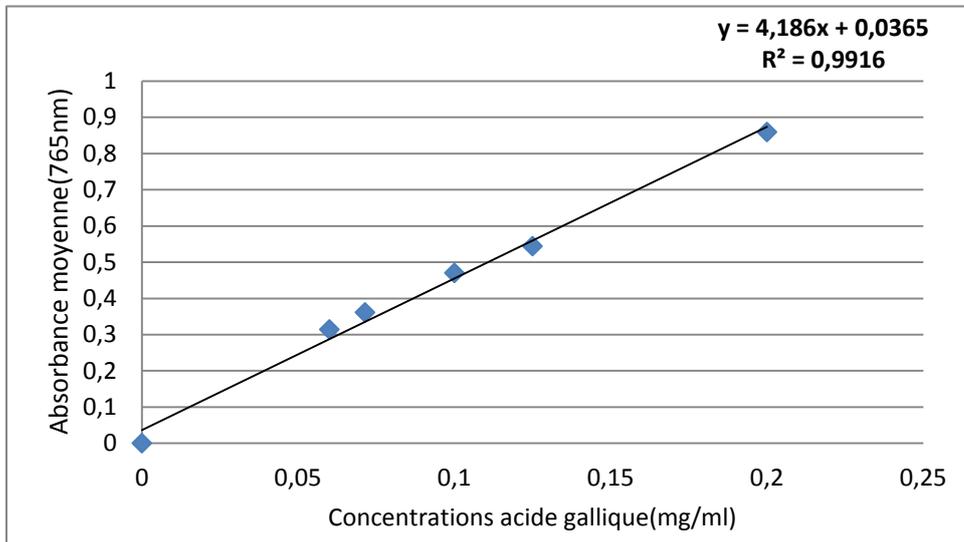
- Onal S., Timur S., Okutucu B., et Zihnioglu F., 2005.** Inhibition of Alpha- Glycosidase by Aqueous Extracts of Some Potent Antidiabetic Medicinal Herbs. *Preparation Biochemic Biotechnologie*, **35**, 29-36.
- Oyaizu M., 1986.** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*, **44**, 307-315.
- Ozek T., Demirci., KHC Baser., 2000.** La composition chimique de l'huile de myrte turque. *Journal de la recherche Huile Essentielle*, **12**, 541-544.
- Perret C., 2001.** Analyses de tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cygne Pers* : Fr. Thèse pour l'obtention du titre de Docteur en Sciences : Neuchâtel : Université de Neuchâtel- Institut de chimie, 1035–1042.
- Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, école polytechnique fédérale, Lausanne, 161.
- Pietta P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63**, 1035–1042
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J.O., 1998.** Mesure et utilisation des antioxydants. *Journal of Medecine Sphère*, **73**, 233-239.
- Pokonry J., Yanishlieva N. et Gordon H., 2001.** Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. Woodhead Publishing limited. CRC Press. Cambridge Angleterre.
- Porter L.J., Hrstich L.N. et Chan B.G., 1986.** The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Pytochemistry*, **25**, 223–230.
- Pottier-Alapetite G., 1979.** Flore de la Tunisie. Angiospermes, dicotylédones dialypétales. Imprimerie officielle de la république Tunisienne Tunis: *Publications Scientifiques Tunisiennes*, **1**, 654.
- Pszczola D.E., 2001.** Antioxidants: from preserving food quality to quality of life. *Food Technology*, **55**, 51-59.
- Quezel P., Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ; Tome II, CNRS, Paris.
- Rees S.B. et Harborne J.B., 1985.** The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochemistry*, **24**, 2225 – 2231.
- Remesy C., Manaca C., Demigne C., Texiero O. et Regerat F., 1996.** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et Nutrition*, **32**, 17-27.

- Ribereau-Gayon P., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Ed: Dunod, Paris: 173-201.
- Richard H., 1992.** Epices et aromates. Ed. Lavoisier, Paris. (Technique et Documentation), 339.
- Roeding-Penman A. et Gordon M.H., 1998.** Antioxidant properties of Myricetin and Quercetin in oil and emulsions. *Journal of American Oil Chemist's Society*, **75**, 169-180.
- Rotstein A., Lifshitz A. et Kashman Y., 1974.** Isolation and Antibacterial Activity of Acylphloroglucinols from *Myrtus communis*. *Antimicrobial agent and chemotherapy*. **5**, 539-542.
- Roux D., 2008.** Conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition, Pro- Officina, 187.
- Sahin F., Güllüce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G. et Özer H., 2004.** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, **15**, 549-557.
- Singh G., Marimuthu P., De Heluani C.S. et Catalan Cesar A. N., 2006.** Antioxidant and Biocidal Activities of *Carum nigrum* (Seed) Essential Oil, Oleoresin, and Their Selected Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 174 -181.
- Singleton L.V, Orthofer R., Lamuela-Raventos R.R., 1999.** Analysis of total phenol and other oxidation substances and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu Reagent. *Method in Enzymology*. **299**, 152-178.
- Skoog D.A., Holler F.J. et Nieman T.A., 2003.** Principes d'analyse instrumentale. 1ère édition, Ed : De Boeck Université, 945.
- Smith-Palmer A., Stewart J. et Fyfe L., 1998.** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Journal of food microbiology*, **26**, 118-122.
- Sun J., Chu Y.F., Wu X., Liu R.H., 2002.** Antioxidant and anti-proliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 7449-7540.
- Torres de Pinedo A., Penalver P., Morales J.C., 2007.** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, **103**, 55–61.
- Tranchant J., 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris.

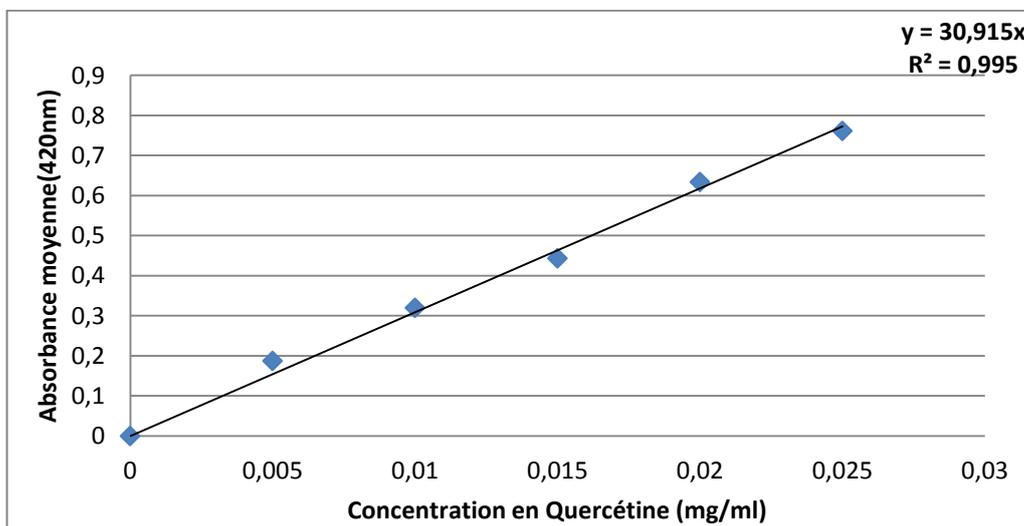
- Valnet J., 1980.** Aromathérapie : Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine, Paris. 542.
- Vermirris W., Nicholson R., 2006.** Chemical Properties of phenolic Compounds. Ed: *Springer Link*, 36-62.
- Yadegarinia D., Gachkar L., Bagher-Rezaei M., Taghizadeh M., Alipoor Astaneh S., Iraj R., 2006.** Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, **67**, 1249-1255.
- Zouhdi M., Bassima, Lamnaourer D., Hajjam Z., Alaoui M.A., 1997.** Activité antibactérienne de quelques plantes médicinales au Maroc. *Biologie infectiologie*, 7-10.

Annexes

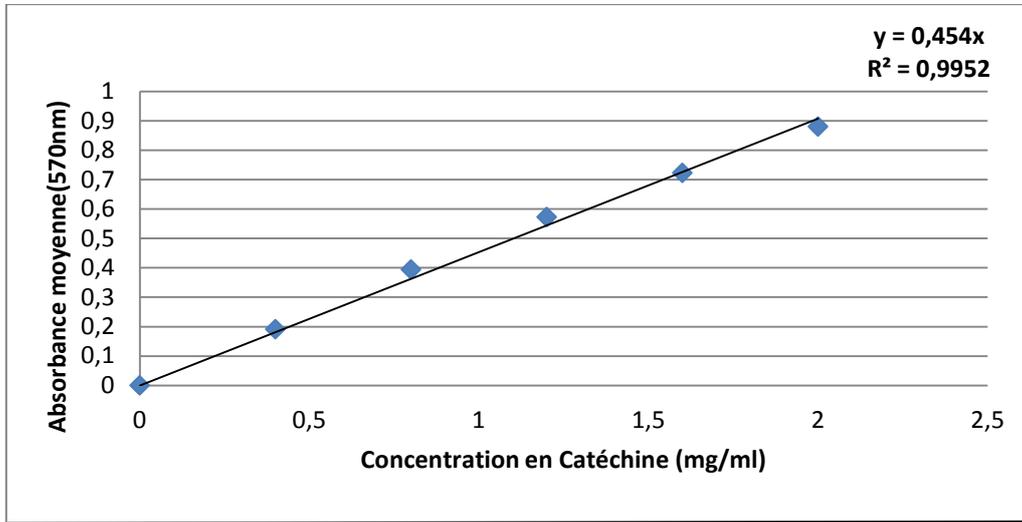
Annexes 1 : Courbe d'étalonnage du standard acide gallique utilisé dans le dosage des polyphénols totaux.



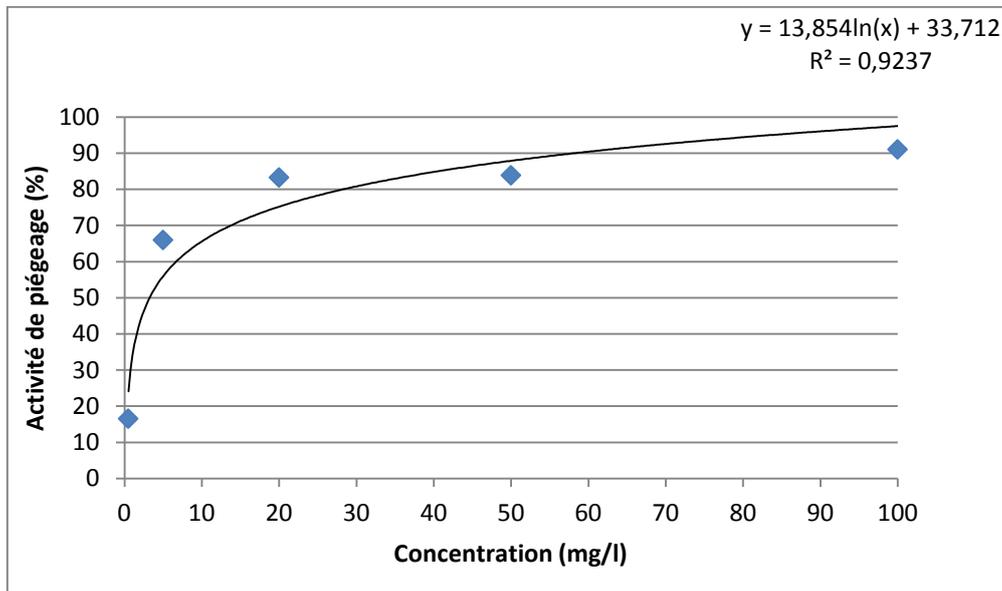
Annexes 2 : Courbe d'étalonnage du standard (Quercétine) dans le dosage des flavonoïdes.



Annexes 3 : Courbe d'étalonnage du standard catéchine utilisé dans le dosage des tannins condensés.



Annexes 4 : Courbe d'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant (BHA)



Résumé :

Les huiles essentielles (HE) extraites par hydrodistillation des feuilles du myrte commun (*Myrtus communis* L.) cueillies dans les régions de Tifra et de Bejaia ; ont été caractérisées, et leur composition a été identifiée par CG et CG-SM. Cette dernière a révélé la prédominance des monoterpènes oxygénés en particulier : le 1,8-cineole. Les composés phénoliques caractérisant les extraits éthanoliques élaborés à partir des feuilles et des fruits, ont été aussi évalués. L'activité antioxydante des HE et extraits éthanoliques a été testée *in vitro* par l'inhibition du radical DPPH et le pouvoir réducteur. Toutes les HE possèdent une activité antioxydante, mais celle-ci est en relation directe avec la composition chimique et la méthode d'extraction employée. Ainsi les extraits éthanoliques ont montré un pouvoir antioxydant meilleur que celui enregistré avec des huiles essentielles.

Mots clés : huiles essentielles, extraits, *Myrtus communis* L., CG, CG/SM, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract:

Essential oils (EO) extracted by hydrodistillation from the leaves of common myrtle (*Myrtus communis* L.) collected in the regions of Tifra and Bejaia, were characterized and their composition was identified by GC and GC-MS. The inspection revealed the predominance of oxygenated monoterpenes in particular: 1,8-cineole. Phenolic compounds characterizing the ethanolic extracts prepared from the leaves and fruits were also evaluated. The antioxidant activity of the EO and ethanolic extracts was tested *in vitro* using DPPH radical scavenging test and reducing power. All essential oils possessed antioxidant activity, but this was dependent on the specific chemical composition and the method of extraction employed. The ethanolic extracts showed stronger activity than that registered with the tested essential oils.

Key words: essential oils, extracts, *Myrtus communis* L, GC, GC/MS, phenolic compounds, antioxidant activity.