

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab Blida 1
Faculté de chimie



Mémoire de Master

En Chimie

Présenté pour l'obtention du diplôme de master 2

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie appliquée

Thème

**extraction et évaluation des activités biologiques de l'huile
essentielle Extraite de l'espèce Myrtus communus L de la
région de Skikda**

Réalisé par :

- ✓ DJOUABI BILLAL
- ✓ SAIDANI OUASSIM

Soutenu le 11/07/2023 devant le jury composé de :

Mr. Chini. Z	Maitre Assistant A	Université de blida-1	Président
Mr. Mezrag. A	Maitre de conférences B	Université de blida-1	Examineur
Mr. Abdallahahadj. A	Professeur	Université de blida-1	Promoteur

Promotion 2022/2023

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Liste des nomenclatures	
Introduction générale	1
CHAPITRE I : Description de l'huile essentielle et la plante <i>Myrtus communis</i> L	
I.1. Introduction	3
I.2. Phytochimie	3
I.3. Intérêt des produits naturels	3
I.4. Classification des huiles essentielles	4
I.5. Propriétés physiques des huiles essentielles	5
I.6. Principaux composants de <i>Myrtus communis</i> L	5
I.7. Histoire de l'huile essentielle de myrte vert	6
I.8. Plante endémique	6
I.9. Les procédés d'extraction des huiles essentielles	7
I.9.1 L'hydrodistillation	7
I.9.2 La distillation à la vapeur d'eau	8
I.9.3 L'extraction par solvants	8
I.9.4 La percolation (appelé aussi hydrodiffusion)	8
I.9.5 Expression ou pressage à froid	8
I.9.6 Enfleurage	9
I.10. Propriétés de l'huile essentielle de myrte vert	9
I.11. Indications de l'huile essentielle de myrte vert	10
I.12. Utilisation de l'huile essentielle de myrte vert	11
I.13. Le revue critique	12
I.14. Conclusion	15

CHAPITRE II : Activités Biologiques

II.1. Introduction	16
II.2. Activités biologiques des huiles essentielles	16
II.2.1 Propriétés biologiques	16
II.3 Les Activités Biologique	16
II.3.1 Activité antioxydant	16
II .3.1.1 définition	16
II.3.1.2 Principe	17
II.3.1.3 Méthodes d'évaluation des activités antioxydant	18
II.3.2 Activités antibactérienne	19
II .3.2.1 Définition	19
II .3.2.2 Principe	20
II .3.2.3 Méthodes d'évaluation d'activité antibactérien in vitro	20
II .3.3 Activité anti-inflammatoire	20
II .3.3.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro	20
II .3.3.2 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vivo	21
II .3.4 Activité cicatrisant	21
II .3.4.1 Définition de La cicatrisation	21
II .3.4.2 principe	21
II .3.4.3 Méthode d'évaluation d'activité cicatrisant	22
II.4. Conclusion	22

CHAPITRE III : Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles extraites de la plante "*Myrtus communis L*"

III.1. Introduction	23
PARTIE A : Extraction et évaluation d'activité Antioxydante de l'HE	
III.2. Extraction des huiles essentielles	23
III.2.1. Techniques de l'hydro distillation/l'entraînement à la vapeur	23
III.2.2 Le protocole d'extractions par le montage de Clevenger	24
III.2.3 Rendement de l'extraction	29

III.3 Evaluation de l'activité antioxydante	29
III.3.1 Mode opératoire	30
III.4 Résultats et discussions	32
III.4.1 Calcule de rendement	32
III.4.2 Caractéristiques de l'huile essentielle extraite	33
III.4.3 Evaluation de l'activité anti oxydante	33
III.4.3.1 Calcule de pourcentage d'inhibition I % d'huile essentielle	33
III.4.3.2 Calcule de pourcentage d'inhibition I % d'Acide ascorbique	37
III.4.3.3 Détermination d'IC ₅₀ de l'huile essentielle de <i>Myrtus communis L</i>	38
PARTIE B : Evaluation De l'activité Antimicrobienne	
III.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE du <i>Myrtus communis L</i>	39
III.5.1 Mode opératoire	39
III.5.2 Résultats et discussion d'évaluation de l'activité antimicrobienne	41
III.6 Conclusion	43
IV. Conclusion Générale et des perspectives	44

Au terme de ce mémoire, nous tenons à remercier tout naturellement en premier **Allah le dieu Unique** qui nous a donné la patience et le courage durant ces années d'études.

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos vifs remerciements à notre promoteur monsieur **A. Abdallah el hadj**, qui a toujours été à notre écoute et très disponible tout long de la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à monsieur **CHINI. Z**, pour avoir accepté à présider de jury d'évaluation de ce présent mémoire

Nos vifs remerciements vont à monsieur **MEZRAG. A**, d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Aussi, nous tenons à vivement remercier **Mme LASSAS KARIMA**, Médecine dans laboratoire d'hôpital de Boufarik, pour avoir nous accepté au sein du laboratoire et pour la confiance qu'il a bien voulue nous accorder, et pour son exigence intellectuelle, ses encouragements et surtout sa patience et sa disponibilité, nos remerciements vont aussi à toute l'équipe de laboratoire d'unité antimicrobienne, de nous avoir accordé de la chance de participer aux différents activités, ainsi que leur assistance et disponibilité.

A nos enseignants de l'USDB1, votre enseignement fut pour nous des plus enrichissants, que le travail soit l'occasion de vous exprimer notre grand respect.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont communiqué leur savoir, leur savoir-faire et leur savoir-être.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher père

Vous avez été et serez toujours un modèle pour moi par vos qualités humaines et votre persévérance. En ce jour, je souhaite réaliser un de vos rêves. Aucune dévotion ne peut exprimer mon respect, Que Dieu te protège et te donne santé et bonheur

A ma chère maman

Tous les mots ne peuvent t'exprimer à quel point je te suis reconnaissant
Je suis ici grâce à vous et à vos prières sincères, qui m'ont été d'une grande aide tout au long de ma vie. Ma mère est une source de tendresse, de patience et de sacrifice
J'aurais aimé avoir réalisé au moins une partie de ce que tu voulais que je sois
Quoi que je puisse dire et écrire, je ne pouvais pas exprimer ma grande affection et ma profonde gratitude. J'espère ne jamais vous décevoir et ne jamais trahir votre confiance et votre sacrifice. Que Dieu vous protège ainsi que vos soins et que Dieu bénisse votre vie

AM r, **A. Abdallah el hadj** notre encadreur qui nous a bien orientées durant plusieurs mois

à mon seul frère

Abdellah

À mes frères

Mon soutien et source de force, grâce à vos encouragements, vos efforts et votre soutien, j'ai pu continuer mon chemin j'espère 'espère ne jamais vous décevoir et ne jamais trahir votre confiance et votre sacrifice.

A mes oncles et tous la familles **DJOUABI**

A mes amies : MOSTAPHA, AYEMN, Abdellah

A tous mes amies de la spécialité chimies appliquée

DJOUABI BILLAL

Dédicaces

Je ne trouve aucun mot ou expression, qui vont exprimer mes vifs sentiments de gratitude et remerciements je dédie ce travail

A ma mère

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tous ce que je peux offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée.

A mon père

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A mes frères et ma sœur

Pour leur affection, compréhension et amour.

A mes chers amis

A toute ma famille, Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous dis merci.

OUASSIM

CHAPITRE I : Description de l'huile essentielle et la plante *Myrtus communis L*

Figure I.1 : Distribution de <i>Myrtus communis L</i>	7
Figure I.2: Localisation de <i>Myrtus communus L</i> en Algérie	7
Figure I.3 : Principe de l'alambic pour distiller les huiles essentielles.	8

CHAPITRE II : Activités Biologiques

Figure II.1 : La phase de déclenchement où se forme un premier radical libre	17
Figure II.2 : La phase de propagation où l'oxygène fixé donne un radical Pyroxyle qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydro peroxyde.	18

CHAPITRE III : Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles extraites de la plante "*Myrtus communis L*"

Figure III.1 : Organigramme résume les différentes activités effectuées durant ce travail	23
Figure III.2 : L'hydro distillation en utilisant l'appareil de Clevenger	24
Figure III.3 : Feuilles de la plante sèche	25
Figure III.4 : Feuilles de la plante broyée	25
Figure III.5: Appareil de Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles	26
Figure III.6 : Préparation de montage (ballon)	27
Figure III.7 : Le montage prêt à l'utilisation	27
Figure III.8 : Les deux phase eau et huile essentielle	28
Figure III.9 : Huile essentielle récupérer	29
Figure III.10 : Solutions mère et filles préparé	31
Figure III.11 : Cuve pour mesurer l'absorbance	32
Figure III.12 : Le rendement de l'huile essentielle	33
Figure III.13 : Pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'essai 1	34
Figure III.14 : Pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'essai 2	35
Figure III.15 : Pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'essai 3	35

Figure III.16 : Moyenne pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations	36
Figure III.17 : Pourcentage d'activité antioxydante (A%) de l'Acide ascorbique en fonction de la concentration	38
Figure III.18 : Illustration de la méthode d'Aromatogramme	41
Figure III.29 : Résultats de l'activité antimicrobienne et antifongique des souches testés	43

Chapitre III : Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles extraites de la plante "Myrtus communis"

Tableau III.1 : Caractéristiques de l'huile essentielle	33
Tableau III.2 : Valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution	34
Tableau III.3 : Valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution	34
Tableau III.4 : Valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution	35
Tableau III.5 : Valeurs moyenne de taux d'inhibition pour chaque solution	36
Tableau III.6 : Valeurs de taux d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque solution fille d'acide ascorbique	37
Tableau III.7 : Comparaison entre les résultats d'activité antioxydante de ce travail et les travaux précédents	38
Tableau III.8 : Souches microbiennes testés	39
Tableau III.9 : Résultats des tests antimicrobiens	42

λ :	Absorbance	(nm)
C :	Concentration	(mol. L-1) (mg/ml)
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice	(μ g/ml)
C° :	Degré Celsius	
I :	Pourcentage d'inhibition	(%)
m :	masse	(g ou mg)
R :	Rendement	(%)
V :	Volume	(μ l) ou (ml)
ZI :	Zone d'inhibition	(mm)

BHT : Butyle-Hydroxy-Toluène

BHA : l'Hydroxy Anisole Butylé

TBHQ : Hydro Quinone de Butyle Tertiaire

Abs : Absorbance

DPPH° : (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

DPPH-H : 2.2 Diphenyl-1-picryl hydrazine

HE : Huile Essentielle

I % : pourcentage d'inhibition

pH : Potentiel Hydrogène

ERAM : Erreur Relative Absolue Moyenne

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

ZI : Zone Inhibitrice

ATCC : American Type Culture Collection

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

ARN : Acide Ribo Nucléique

UV- Visible : Ultra-Violet visible

Min : minute

PMI : Proteus Mirabilis

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للأكسدة و النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري المستخرج من نبات *Myrtus comminus L* الذي تم حصاده من منطقة سكيكدة.

تم استخراج الزيت العطري من النبات من خلال عملية التقطير المائي باستخدام تركيب Clevenger بعائد استخلاص يساوي 0.52%.

يتم تحديد تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام اختبار DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيت العطري له نشاط مضاد للأكسدة مرتفع $IC_{50} = 1.08$ مجم / مل مقارنة بالنشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها في الأعمال السابقة.

يتم اختبار نشاط مضادات الميكروبات بتقنية Antibiogramme. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيت العطري ليس له نشاط مضاد للميكروبات ضد الجراثيم المختبرة جرام (+) (*Proteus mirabilis* 227) ، (*Staphylococcus aureus* 227 D ، *D* (*Staphylococcus ATCC 25923*) و (*Gram (-)* (*Escherichia coli* 901 U ، (*Pseudomonas aeroginosa* 231 D) التي تقاوم HE. ومع ذلك ، فإنه يحتوي على نشاط مضاد للفطريات ضد الخميرة (*Candida albicans ATCC 15*) وهي حساسة بشكل معتدل بقطر ZI يساوي 14 ملم..

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات ، Clevenger ، زيت أساسي ،

DPPH ، IC_{50} ، استخراج

L'objectif de ce travail est l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante *Myrtus comminus L* récoltée de la zone de Skikda.

L'extraction de l'huile essentielle partir de la plante a été effectuée par le procédé d'hydrodistillation en utilisant le montage de Clevenger avec un rendement de l'extraction égale à 0,52%.

L'évaluation de l'activité antioxydante est déterminée à l'aide du test de DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle à une activité antioxydante élevée $IC_{50} = 1,08$ mg/ml en comparaison avec l'activité antioxydante des huiles essentielles obtenues dans les travaux précédents.

L'activité antimicrobienne est testée par la technique d'Antibiogramme. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle n'a pas une activité antimicrobienne contre les germes testé Gram (+) (*Proteus mirabilis 227 D*, *Staphylococcus aureus 227 D*, *Staphylococcus ATCC 25923*) et Gram (-) (*Escherichia coli 901 U*, *Pseudomonas aeruginosa 231 D*) qui résiste à l'HE. Cependant, elle possède une activité antifongique contre la levure (*Candida albicans ATCC 15*) qui est moyennement sensible avec un diamètre de la ZI égale à 14 mm.

Mots Clé : Activité Antioxydante, Activité Antimicrobienne, Clevenger, Huile Essentielle, DPPH, IC_{50} , Extraction.

The main subject of this work is the evaluation of the antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil extracted from the *Myrtus comminus L* plant harvested from the Skikda area.

The extraction of the essential oil from the plant was carried out by the process of hydrodistillation using the assembly of Clevenger with an extraction yield equal to 0.52%.

The evaluation of antioxidant activity is determined using the DPPH test. The obtained results show that the essential oil has a high antioxidant activity $IC_{50} = 1.08$ mg/ml in comparison with the antioxidant activity of the essential oils obtained in the previous works. The antimicrobial activity is tested using the AntibioGram technique. The obtained results show that the essential oil has no antimicrobial activity against the germs tested Gram (+) (*Proteus mirabilis* 227 D, *Staphylococcus aureus* 227 D, *Staphylococcus ATCC 25923*) and Gram (-) (*Escherichia coli* 901 U, *Pseudomonas aeruginosa* 231 D) which is resistant to HE. However, it has antifungal activity against yeast (*Candida albicans ATCC 15*) which is moderately sensitive with an ZI diameter equal to 14 mm.

Keywords : Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity, Clevenger, Essential Oil, DPPH, IC_{50} , Extraction.

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes médicinales sont des sources biologiques naturelles très important pour la vie des êtres humains, elles fournissent des principes actifs biochimiques : huiles essentielles, phénols, ...et les mettre à la portée de l'homme qu'il l'utilise pour maintenir sa santé et répondre à ses besoins vitaux.

Afin de visualiser au mieux le pouvoir guérison des matières actives contre les maladies de l'organisme, l'évaluation des activités et les propriétés de ces substances est primordiale pour atteindre une meilleure exploration de son impact dans l'organisme (donc l'utiliser pour quelle maladie et avec quel forme (directe ou galénique)).

Les huiles essentielles sont appliquées dans de nombreux domaines aussi bien en médecine, en pharmacie ainsi que dans d'autres domaines tels que l'agroalimentaire, les industries chimiques, etc. Les effets bioactifs des HE et des extraits végétaux se sont reconnu à leurs grandes richesses en carbures terpéniques, alcools, esters, phénols, éthers, aldéhydes, cétones, peroxydes, et des sulfates.

Les huiles essentielles des plantes médicinales possèdent des activités biologiques très importantes (antioxydante, antibactérienne, anti-inflammatoire, antifongique et cicatrisante) qui est exploités dans la préformulation et formulation des produits pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire.

Grace à son climat lumineux et chaud on retrouve une grande variété de plantes aromatiques dans la région de la mer méditerranée.

Vue son climat (méditerranéen et aride) et la nature de ses sols, l'Algérie est riche en plantes médicinales et aromatiques existant à l'état spontané (plantes endémiques) dans le nord du pays. [1]

L'objectif de notre travail est l'évaluation des activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) des huiles essentielles récupérées de la plante endémique. Il s'agit de *Myrtus communis L* de la famille des myrtacées. L'échantillon de cette espèce est récolté de région de Skikda nord-Est algérien.

Ce travail est organisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre donne une présentation sur l'huile essentielle de la plante *Myrtus communis L* et l'intérêt des produits naturels et le revue critique.
- Le deuxième chapitre détaille le principe des activités biologiques et ses méthodes d'évaluation.

- Le troisième chapitre représente la contribution de ce travail et donne en détail les différentes étapes relatives à l'extraction des huiles essentielles de la plante *Myrtus communis L* et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Enfin, ce manuscrit se termine avec une conclusion générale et des perspectives.

Références : Introduction générale

[1] **IAZZOURENE G, 2015** Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (*Myrtus communis L.*), de la carotte sauvage (*Daucus carota L. subsp. carota*) et de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia L.*) P 1-3

CHAPITRE I :
**Description de l'huile
essentielle et la plante**
Myrtus communis L

I.1. Introduction :

Récemment les huiles essentielles deviennent très essentielles dans plusieurs domaines industriels pour des produits sains pour le consommateur et l'environnement au lieu des produits synthétiques à des effets secondaires nocive, mais avant d'utiliser il faut étudier ses propriétés et caractéristiques pour que on peut exploiter ses bienfaits.

I.2. Phytochimie :

La phytochimie, ou chimie des végétaux, est la science qui étudie la structure, le métabolisme et la fonction des composés phytochimiques, c'est-à-dire des substances naturelles issues des plantes, ainsi que les méthodes d'analyse, de purification et d'extraction appliquées à ces substances. C'est une discipline scientifique de la biochimie et de la botanique. Elle est indissociable d'autres disciplines telles que la physiologie végétale, et la pharmacognosie (du grec : pharmaco, drogue, et gnosie, connaissance) traitant des matières premières et des substances à potentialité médicamenteuse d'origine biologique.

Les végétaux sont des organismes autotrophes qui peuvent synthétiser un grand nombre de molécules organiques complexes qui n'interviennent pas dans les grandes voies du métabolisme de base, c'est-à-dire le métabolisme énergétique et le métabolisme carboné. Ces molécules sont toutefois utiles aux plantes elles-mêmes et aux consommateurs des chaînes alimentaires pour diverses raisons. Les plantes qui disposent d'énergie et de squelettes carbonés en quantité suffisante, grâce à la photosynthèse, s'avèrent être des producteurs polyvalents. [1]

I.3. Intérêt des produits naturels :

La nature aussi mystérieuse soit-elle, nous offre un panel de plantes et de richesses aux multiples vertus. Chaque année, c'est plus de 2 000 plantes qui sont découvertes.

Les produits conçus à partir de végétaux ou de minéraux, ont en général une composition plus responsable et plus adaptée à notre corps. Ils sont mieux assimilés par la peau et permettent une action en profondeur sans causer de tort à notre santé. Il y a donc moins de risques d'intolérances ou de peaux irritées.

Les produits naturels sont aujourd'hui sous les feux de la rampe ! En effet, depuis peu, plusieurs ingrédients utilisés dans les produits d'hygiène ou de beauté ont été recensés et décrits comme étant nocifs pour la santé (Parabène, silicone, triclosan...).

De nos jours, les antioxydants de synthèses sont critiqués en raison des problèmes qu'ils peuvent engendrer sur la santé du consommateur. En effet, le BHT, le BHA et le TBHQ sont

suspectés d'avoir des effets négatifs sur la santé [2]. De nombreuses études s'orientent donc vers la recherche d'antioxydants naturels parfaits, à la fois sûrs et efficaces.

L'objectif des produits naturels est de revenir vers une routine beauté saine en utilisant des produits où chaque ingrédient est justifié et réellement utile pour nous mais aussi pour la planète. De plus, lorsque nous utilisons des gommages ou des masques naturels, il n'y a pas de risque de pollution des eaux lors du rinçage. [3]

Les produits chimiques présents dans nos cosmétiques finissent souvent par passer dans nos canalisations et jusque dans la nature. Ils mettent des centaines d'années à se désintégrer dans la nature provoquant des risques de pollution.

Les bouteilles en plastique des produits remplissent les décharges et certains composés chimiques se dirigent jusqu'à l'eau, affectant jusqu'à la reproduction de la population de poissons.

Les produits de la cosmétique naturelle sont généralement conçus selon des méthodes de production en accord avec la nature : procédés de fabrication non dénaturants, gestion écologique des déchets, conception d'emballages recyclables...

Par contre, sachez que contrairement à ce que l'on pourrait croire, la mousse ne nettoie pas, mais elle décape. Et oui, c'est de la chimie !

En plus, les produits naturels dont les cosmétiques et produits d'hygiène ont plus d'affinité avec les composants naturels de notre épiderme. De ce fait, les produits naturels sont mieux assimilés par notre corps au vu de la relation biologique qui se situe entre les plantes et l'épiderme. [4]

I.4. Classification des huiles essentielles :

Les huiles essentielles (HE) sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques. On retient neuf classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers, les peroxydes et les sulfurés)6, avec les composants importants suivants :

- huiles essentielles riches en carbures terpéniques et sesquiterpéniques (HE de térébenthine (alpha-pinène, camphène), HE de genévrier (alpha-pinène, camphène, cadinène), HE de citron (limonène))
- huiles essentielles riches en alcools (HE de coriandre (linalol), HE de bois de rose (linalol), HE de rose (géraniol))
- huiles essentielles mélanges d'esters et d'alcools (HE de lavande (linalol, acétate de linalyle), HE de menthe (menthol, acétate de menthyle).

- huiles essentielles riches en aldéhydes (HE de cannelle (aldéhyde cinnamique), HE de citronnelle (citral et citrannal), HE d'eucalyptus citriodora (citronellal)) ;
- huiles essentielles riches en cétones (HE de carvi (carvone), HE de sauge (thuyone), HE de thuya (thuyone), HE de camphrier (camphre))
- huiles essentielles riches en phénols (HE de thym (thymol), HE de sarriette (carvacrol), HE d'origan (thymol et carvacrol), HE de girofle (eugénol))
- huiles essentielles riches en éthers (HE d'anis vert, de badiane chinoise (anéthol), HE de fenouil (anéthol), HE d'eucalyptus globulus (eucalyptol), HE de cajeput (eucalyptol), HE de niaouli)
- huiles essentielles riches en peroxydes (HE de chénopode (ascaridol), HE d'Eucalyptus Globulus (Eucalyptol))
- huiles essentielles sulfurées (HE d'ail (DiallylDisulfide et Trisulfide), HE de crucifères et de liliacées).

La plupart des huiles essentielles sont constituées dans leur grande majorité d'un mélange assez complexe de monoterpènes, de sesquiterpènes, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, d'oxydes, etc. Il y a quelques exceptions : huile essentielle de gaulthérie couchée composée à plus de 99,5 % de salicylate de méthyle (un ester aromatique). [5]

I.5. Propriétés physiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques très connues, qui sont les suivantes :

- Les Huiles Essentielle sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire.
- Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante.
- Les huiles essentielles sont volatilisent.
- Elles ne sont que très rarement colorées.
- Elles ont un indice de réfraction élevé
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les HEs de sassafras, de girofle et de cannelle.

I.6 Principaux composants de *Myrtus communis L* :

Feuille :

Tanins (14%). Flavonoïdes : Myricétol et rhamnoside. Résine. Huile essentielle : Alcool sesquiterpénique (essentiellement le myrténol). Vitamine C.

Fruits :

Acides citrique et malique. Calcium, phosphore, fer. Vitamine C. Tanins. Huile essentielle.

Fleurs ou bouton floraux :

Tanins. Flavonoïdes : Quercétine, kaempférol et myricétine. Acides phénols. Mucilage. Saponosides.[6]

- **Composition biochimique : [7]**

La composition biochimique est susceptible d'évoluer en fonction des conditions de production et de la qualité de l'huile. Néanmoins, on peut se fier à cette composition pour évaluer la qualité d'une huile :

- **Composés chimiques principaux :** Monoterpènes (45 à 60%) (Pinène, limonène), Oxydes (20 à 30%) (Cinéole),
- **Autres composés chimiques :** Esters (2%), Monoterpénols (3 à 5%) (Linalol).
- **Caractéristiques physiques :**

Une bonne huile essentielle de Myrte Vert doit avoir les caractéristiques physiques suivantes :

- Densité à 20°C : 0,870 à 0,895
- Indice de réfraction à 20°C : 1,460 à 1,472
- Pouvoir rotatoire à 20°C : +12° à +45°
- Point éclair : +36°C
- **Caractéristiques organoleptiques :**

L'huile est jaune pâle à vert et dégage un parfum montant, agreste et cinéolé caractéristique du myrte.

I.7. Histoire de l'huile essentielle de myrte vert :

Le myrte est une plante répandue dans les régions méditerranéennes, surtout en Corse, en Sardaigne et en Sicile. Il sert à la confection de diverses liqueurs. Mais on sait aussi appréciées ces petites baies proches du genièvre pour leurs propriétés thérapeutiques.

Le myrte vert et le myrte rouge appartiennent à la même espèce mais poussent dans des conditions bien différentes (saison, sol, climat, altitude, hygrométrie, soleil) et par conséquent produisent des huiles aux molécules différentes. On parle de différence de chémotype. Le myrte vert a une concentration en acétate de myrtényle bien plus élevée que le myrte vert, davantage concentrée en alpha-pinène. [7]

I.8. Plante endémique :

Une espèce de plante est dite endémique d'une zone géographique lorsqu'elle n'existe que dans cette zone à l'état spontané. [8]

Le *MYRTUS communis L* est une plante persistante endémique des régions méditerranéennes de la famille des myrtacées. C'est une plante au feuillage très aromatique beaucoup utilisée pour ses baies savoureuses, récoltées en fin de saison.

Le *MYRTUS communis* ou myrte commune est aussi une plante d'un fort intérêt ornemental. Il peut être utilisé en haies variées mais aussi en isolé. A l'instar du *LUMA apiculata*, le *MYRTUS communis* peut être retaillée en petit arbre ou cépée sans grandes difficultés. De même que les autres myrtes, hormis la *MYRTUS chequen*, nous ne recommandons pas ces plantes dans des situations très exposées aux embruns. [9]

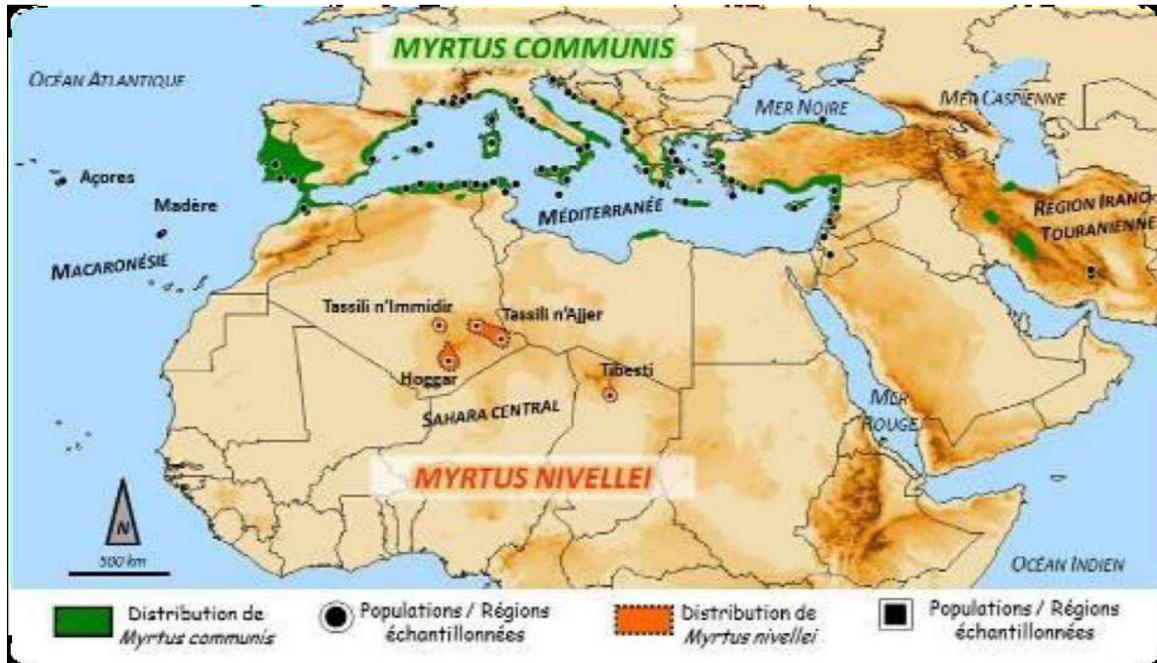


Figure I.1 : Distribution de *Myrtus communis*[10]

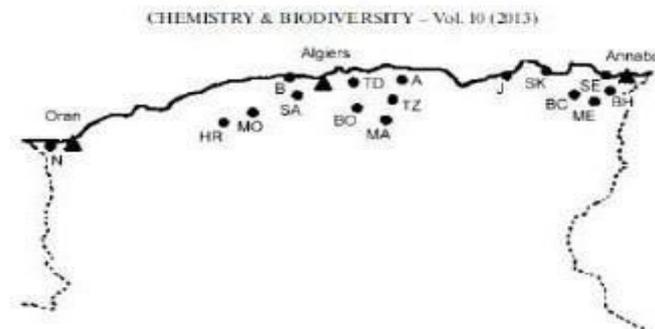


Figure I.2: Localisation de *Myrtus communis* L en Algérie [11]

I.9. Les procédés d'extraction des huiles essentielles :

Il y a plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles, parmi eux :

I.9.1 L'hydrodistillation :

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. [12]

I.9.2 La distillation à la vapeur d'eau :

Est le procédé le plus couramment employé. Elle s'effectue à l'aide d'un appareil appelé « Alambic » (figure I.3). Celui-ci est constitué :

- d'une chaudière (2) ;
- d'un vase ou chaudron en cuivre dans lequel sont placés les végétaux à distiller (3), isolés du fond du vase par un plateau grillagé.
- Ce vase possède une évacuation inférieure (4) pour vidanger l'eau de condensation ;
- d'un chapiteau qui coiffe le vase. Ce chapiteau est prolongé par un col de cygne (5) ;
- d'un serpentín de refroidissement (6) plongé dans une cuve d'eau froide. Cette cuve possède trois ouvertures : une pour l'arrivée d'eau froide (8), une pour l'évacuation de l'eau chaude (7) et une pour accéder au vase florentin (9) ;
- d'un vase florentin ou essencier (9), chargé de recueillir l'HE. [13]

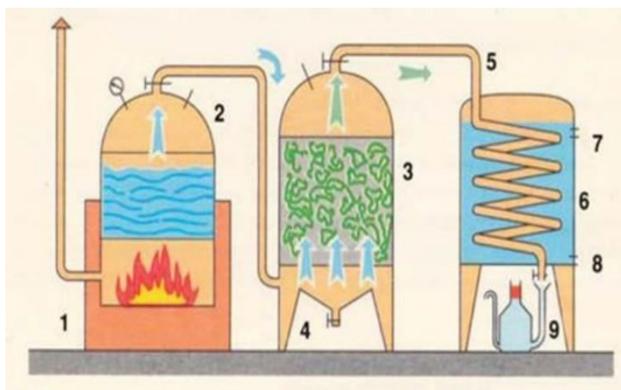


Figure I.3 : Principe de l'alambic pour distiller les huiles essentielles.

I.9.3 L'extraction par solvants :

L'extraction par solvants est utilisée pour les plantes fragiles qui sont plongées dans une préparation chimique provoquant la dissolution des substances aromatiques. Après séparation du solvant par distillation, on obtient un produit cireux qui doit être dissout avec de l'alcool.

Ce dernier est ensuite éliminé par évaporation. L'HE ainsi obtenue est dite « absolue ». Comme il est difficile d'éliminer complètement les traces de solvants, on utilise que très exceptionnellement ces HE en médecine. [14]

I.9.4 La percolation (appelé aussi hydrodiffusion) :

Cette méthode diffère de la distillation à la vapeur seulement par le fait que la vapeur entre dans l'alambic par le haut, donc au-dessus des plantes, et non par dessous. La percolation convient parfaitement aux bois ou aux matériaux fibreux, car la vapeur peut s'y infiltrer. [14]

I.9.5 Expression ou pressage à froid :

Le procédé est utilisé uniquement pour l'obtention des huiles essentielles contenues dans les zestes d'agrumes [15]. Il s'agit d'un processus physique dans lequel les glandes à huile essentielle de la peau du fruit sont percées, broyées ou concassées mécaniquement afin de libérer l'essence. Cette méthode est économiquement plus rentable que l'hydrodistillation et permet d'éviter d'éventuelles dégradations thermiques.

I.9.6 Enfleurage :

Cette méthode est réservée aux huiles essentielles à forte valeur ajoutée ; elle est notamment utilisée avec les fleurs tel le jasmin ou la tubéreuse qui continuent à produire des métabolites secondaires après la cueillette. Le procédé à froid consiste à absorber le parfum de ces fleurs en utilisant un corps gras à haut pouvoir d'absorption. Pendant la période de récolte (qui dure plusieurs semaines), les pétales de fleurs fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse et remplacés toutes les 24 heures par les pétales de fleurs nouvellement cueillies. Le corps gras, non renouvelé au cours du processus, est saturé en essence florale et l'huile essentielle est ensuite extraite de la graisse par de l'éthanol. [16]

I.10. Propriétés de l'huile essentielle de myrte vert :

Les propriétés de l'huile essentielle de Myrte vert s'expliquent par la présence de composés actifs à l'origine présents dans les feuilles et brindilles de *Myrtus communis* *cineoliferum* (le Myrte vert, Myrte commun à cinéole).

Pour la santé :

- **Expectorante et mucolytique :**

La richesse de l'huile en alpha pinène et en 1,8-cinéole permet de stimuler les glandes à mucine, ce qui fluidifie le mucus et facilite son élimination. Une propriété très intéressante pour lutter contre la toux.

Décongestionnante respiratoire, veineuse, lymphatique et prostatique :

Grâce à sa richesse en alpha pinène et en limonène, l'huile de myrte vert tonifie les parois veineuses et contribue à améliorer la circulation sanguine et lymphatique. Le 1,8-cinéole est par ailleurs très actif pour apaiser les inflammations de l'arbre respiratoire tout entier.

Autres propriétés :

- Anti-infectieuse et antiseptique
- Stimulante hépatique

Pour le bien-être :

- **Équilibrante physique et psychique :**

Les molécules actives dans le myrte ont une action spasmolytique, anxiolytique qui contribuent à l'endormissement.

Autres propriétés :

- **Adaptogène :** à la fois calmante et tonifiante (rééquilibrante du système nerveux)

I.11. Indications de l'huile essentielle de myrte vert :

Grâce aux nombreuses propriétés décrites précédemment, l'huile de Myrte vert présente de multiples indications.

Pour la santé :

- **Les déficiences immunitaires :**

La contribution de l'huile essentielle au système antioxydant et sa capacité immunomodulatrice permet d'augmenter globalement la réponse immunitaire aux agressions extérieures. Elle est donc conseillée en diffusion dans les chambres de malades, en cas de convalescence, d'épidémies et d'infections virales ou bactériennes.

- **Les troubles ORL et respiratoires :**

Grâce aux propriétés expectorantes, mucolytiques et antitussives du myrte vert, les infections ORL figurent parmi les indications de l'huile en inhalation, en diffusion ou en massage : bronchite, sinusite, toux avec mucosités, toux sèche spasmodique.

- **Les troubles cutanés :**

Ses propriétés antibactériennes et antiseptiques incitent à l'utiliser en cas d'eczéma, de mycose cutanée ou de parasitose.

- **Les douleurs articulaires et musculaires :**

Le potentiel anti-inflammatoire du myrte vert permet de soulager l'arthrose, les rhumatismes et les douleurs musculaires/articulaires.

- **La digestion difficile :**

Grâce à ses vertus antispasmodiques, le myrte vert peut servir à traiter plusieurs troubles comme les spasmes, les ballonnements, les gaz, etc.

- **Autres indications :**

Les hémorroïdes, les jambes lourdes et les varices

Pour le bien-être :

- Addictions (cigarette, sucre ...)
- Angoisses Concentration (troubles)
- Confiance en soi (manque)
- Déprime latente ou saisonnière

- Emotivité
- Fatigue psychique Sommeil (endormissement difficile, insomnie...)
- Stress
- Tabac (arrêt)

I.12. Utilisation de l'huile essentielle de myrte vert :

L'huile essentielle de Myrte vert peut être utilisée de façons très différentes pour un large spectre de maladies et symptômes. Néanmoins, en cas de doute, il est recommandé de s'adresser à un professionnel afin de recueillir des informations personnalisées et sécurisées, adaptées à votre situation médicale, votre profil et votre âge. [7]

- Application cutanée, massage :

Pour bénéficier des effets du myrte vert, diluer une goutte d'huile essentielle avec quatre gouttes d'une huile végétale, puis appliquer et masser la zone concernée.

- Pour traiter les infections respiratoires, diluer une goutte d'huile essentielle avec quatre gouttes d'une huile végétale, puis appliquer sur le dos, la colonne vertébrale et les plantes de pieds.
- Infections virales et bactériennes : diluer dans une huile végétale et appliquer sur le dos, la colonne vertébrale et les plantes de pieds.
- Pour la toux du tabac : 1 goutte dans 4 gouttes d'huile végétale à appliquer sur le thorax et le haut du dos, 4 fois par jour jusqu'à amélioration.
- Pour les douleurs : diluer dans une huile végétale et masser la zone douloureuse.
- Pour la digestion difficile : diluer dans une huile végétale et masser le ventre dans le sens des aiguilles d'une montre.
- Eczéma : diluer dans une huile végétale et appliquer sur la partie concernée.
- Mycose cutanée : diluer dans une huile végétale et appliquer sur la partie concernée.
- Parasitose cutanée : diluer dans une huile végétale et appliquer sur la partie concernée.
- Hémorroïdes : diluer dans une huile végétale et appliquer directement sur la zone concernée.
- Jambes lourdes, œdème : diluer dans une huile végétale et masser les jambes en remontant en direction du cœur.
- Varices : diluer dans une huile végétale et masser les jambes en remontant en direction du cœur.
- Douleurs musculaires et/ou articulaires : diluer dans une huile végétale et masser la zone douloureuse.
- Inflammation de la prostate : diluer dans une huile végétale et masser le bas-ventre.

- Règles douloureuses : diluer dans une huile végétale et masser le bas-ventre. [7]

Voie orale :

- Pour les problèmes digestifs, il est préférable de consulter un thérapeute avant d'envisager la voie orale.
- Toux sèche spasmodique : seulement par voie rectale en consultant un thérapeute au préalable.
- Inhalation :

Pour profiter des effets du myrte vert sur le bien-être et se prémunir des infections ORL (sinusite notamment), il est possible d'utiliser l'huile essentielle de myrte vert par :

- Inhalation humide : diluer quelques gouttes d'huile essentielle dans un récipient d'eau chaude puis inhaler les vapeurs ;
- Inhalation sèche : appliquer quelques gouttes d'huile essentielle de myrte sur un mouchoir ou un galet puis le respirer de temps à temps.

En cas de stress, respirer directement le flacon, lentement et profondément, et renouveler autant de fois que nécessaire.

- Sinusite : en inhalation au-dessus du flacon.
- Diffusion :

L'huile essentielle de Myrte vert fait partie des huiles compatibles avec la diffusion. Pour lutter contre les infections et favoriser la relaxation, choisir l'un des modes de diffusion suivants :

La diffusion par nébulisation : Ces diffuseurs, qui propulsent l'huile essentielle par une pompe, sont les plus efficaces, mais leur prix est généralement élevé et ils peuvent être plus ou moins bruyants.

La diffusion à ultra-sons (brumisation) : Moins puissants, ces diffuseurs restent efficaces pour bénéficier des effets de l'huile essentielle dans des pièces fermées.

La diffusion par chaleur douce : Verser quelques gouttes d'huile essentielle dans le petit réceptacle de ces diffuseurs. Sous l'effet de la chaleur, les particules aromatiques volatiles se mêleront à l'atmosphère. A utiliser idéalement dans une petite pièce close. [7]

III.13 Le revue critique :

Cette partie représente un résumé des certains travaux issus de la littérature qui a traité l'évaluation des activités biologiques et la composition chimique des plantes et leurs extraits :

- "Evaluation des activités biologiques, phytochimiques et études comparatives des activités synergétiques des extraits aqueux et éthanoliques en vue d'une formulation pharmaceutique"

Ce travail a porté sur l'étude des extraits bruts de Mélisse officinalis, Myrtus communis (étude des activités anti oxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires des extraits.

L'activité antioxydant in vitro a été étudiée par la méthode de réduction du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les extraits peuvent agir en tant que piègeurs de radicaux et montré une activité inhibitrice de DPPH. Deux extraits semblent être de bons piègeurs de radicaux, les extraits Ethanolique d'Erica Fleur $IC_{50}=0,36\text{mg/ml}$ et de M.officinalis $IC_{50}=0,68\text{mg/ml}$.

L'effet antibactérien des extraits est évalué par la technique de diffusion sur l'agar vis-à-vis six souches référentiels ATCC : Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilus, salmonella typhimurium et Staphylococcus Epidermidus et trois souches fongiques : S.cerevisiae, C.albicans, A.brasiliensis

L'extrait d'A.mollis et d'E.Arborescens ont montré une activité antimicrobienne contre la plupart des souches testées, la meilleure activité inhibitrice était contre P.aeruginosa avec une zone d'inhibition significative égale 33,67mm et 25,45mm respectivement .[17]

- "Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L (Rayhane)"

D'après des études effectuées sur les extraits méthanoliques des fruits et feuilles de Myrtus communis L. Les tests phytochimiques ont montré que cette plante est fortement riche en tanins totaux et galliques, leuco anthocyanes, coumarines, saponosides, polyphénols, sucres réducteurs et glucosides. Au revanche, les flavonoïdes et les alcaloïdes ont été moyennement présents, avec une très bonne activité antioxydante qu'a dépassé largement le seuil marqué par la quercétine, l' α tocophérol ou l'acide ascorbique. [18]

- "Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante deux extraits des feuilles de Myrtus (Rayhane) de la région de Mila"

Le but de travail était l'étude phytochimique et biologique de la plante Myrtus appartenant à la famille (Myrtacées).

Le rendement de l'extraction a montré un taux de 1,32% pour l'Acétate d'éthyle qui est supérieur à celui de BUT 1,13%.

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer (FRAP).

La méthode du DPPH de l'extrait acétate d'éthyle a montré une meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait butanolique avec une IC_{50} égale à 4.59 ± 0.51 mg/ml, tandis que l'extrait BUT a montré un IC_{50} égale à 3.167 ± 0.17 mg/ml. [19]

- "Etude de certaines activités biologiques du Myrte"

L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation de type Clevenger de Myrtus communis a révélé un rendement de l'ordre de 0.136 %.

L'évaluation de l'activité antioxydant par le test de piégeage du radical DPPH, à montrer que notre HE possède une faible activité antioxydant tel que le IC_{50} est atteint pour une concentration de 31.65mg/ml.

L'huile essentielle de Myrtus communis L présente une activité antibactérienne importante Contre Staphylococcus aureus (ZI=26mm), Staphylococcus épidermidis (ZI=26mm) et Bacillus subtilis (ZI=28mm). Alors que

Pseudomonas aeruginosa (DI=16mm) et E.coli (ZI=15mm) présentent une sensibilité relativement faible.

La levure testée Candida albicans présente une forte sensibilité (DI=49 mm). [20]

- "Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (Myrtus communis L.), de la carotte sauvage (Daucus carota L. subsp. carota) et de la menthe à feuilles rondes (Mentharotundifolia L.)"

L'objectif est d'étudier la composition chimique et l'activité biologique des extraits de trois plantes aromatiques : M.communis L, Mentharotundifolia L et Daucus carotassp. carota L les extraits de trois échantillons de Myrtus communis L ont été étudiés.

L'activité insecticide des extraits sont testés vis-à-vis du S.oryzae et T.confusum. Les résultats obtenus révèlent l'effet toxique des HE contrairement aux extraits méthanoliques.

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par trois méthodes ; la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH ainsi que 2,2- azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate). Elle est élevée dans les extraits méthanoliques et faible pour les différentes huiles étudiées.

L'activité antimicrobienne des HE testées ont manifesté un potentiel biocide variable d'un germe à un autre et en fonction de la plante utilisée. [21]

- "Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce : Myrtus communis L".

Le but de ce travail était l'étude de la plante Myrtus communis L. appartenant à la famille (Myrtacées).

L'extraction de l'huiles essentielles par la méthode de Clevenger, leur rendement est de 1,5%.

La détermination des composés phénoliques totaux via le test FC met en évidence que l'extrait méthanolique des feuilles est riche en composés phénoliques par rapport à l'extrait méthanolique des graines.

L'extrait acétate d'éthyle (feuilles) a montré une meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait butanolique(feuelles), en utilisant la méthode du DPPH.

L'investigation phytochimique et biologique a montré que *Myrtus communis L.* possède des Potentialisées anti-inflammatoires, antimicrobienne et anti-oxydante. [22]

I.14. Conclusion :

Dans ce chapitre on trouve une description des huiles essentielles et ses classifications selon la nature chimique des principes actifs majeurs, les composés, propriétés et caractéristiques physique et chimique d'huile essentielle de *Myrtus communus L.*, ainsi les procédés d'extraction des huiles essentielles.

Après avoir rassemblé tous ces informations on doit connaitre les activités biologiques et leur modes d'évaluations dans le chapitre suivant.

Références : Chapitre I

[1] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Phytochimie#>

[2] **Paradiso A., Cecchini C., De Gara L. & D' Egidio M.G., 2006.** Functional, antioxidant and rheological properties of meal from immature durum wheat. *Journal of Cereal Science* V 43, Issue 2, Pages 216-222

[3] (FRANCBIO, **Pourquoi utiliser des produits naturels ? 2022**)

[4] **Helena M., 2023** Pourquoi est-il si important d'utiliser des produits naturels ? mawena.com

[5] **Georges Sens-Olive, 1979**, « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*, éd. Maloine, , p. 141-142.

[6] **Myrte : Propriétés médicinales, indications et effets secondaires, bio-enligne.com, 2016**

[7] **Joëlle Le Guehennec et Stéphanie Monnatte-Lassus, 2014** passeport santé : Huile essentielle de myrte vert.

[8] **Anthony Mapaura, 2002**, « Endemic plant species of Zimbabwe », *Kirkia*, vol. 18, no 1,, p. 117-149

[9] **Pepiniere-bretagne.fr, MYRTUS communis 2022**

[10] **Migliore J.**, Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre myrtus en méditerranée et au sahara, **2011**.

[11] **Boutouiga L et Kacemi H, 2021** Encapsulation de l'huile essentielle récupérée de la plante *de myrtus communis l*,

[12] **Bruneton, J. (1999)**. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 3ème édition. Paris : Ed. Tec-Doc. P 484.

[13] **Gedda M, 2007**. Les huiles essentielles : introduction à l'aromathérapie. *La revue*, 61(7),13.

[14] **Jean-Michel Lardry, Valérie Haberkorn., 2007** Les huiles essentielles : introduction à l'aromathérapie. *La revue*, 61(7), 13.

[15] **Dugo G. et Di Giacomo A., 2002** : *Citrus. The genus Citrus*. Taylor & Francis Publishing, London. 638 p.

[16] **Clarke S., 2008.** Processing, extraction and purity. *Essential chemistry for aromatherapy*. 2ème édition. Londres : Elsevier, p. 79-93.

[17] **Boudiaf Het Rebahi A, 2022** "Evaluation des activités biologiques, phytochimiques et études comparatives des activités synergétiques des extraits aqueux et éthanoliques en vue d'une formulation pharmaceutique"

[18] **Belhadj S M, Belghorzi M N, Belkadi O 2022** "Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L (Rayhane)"

[19] **Benayoun B, Ilich B, 2019** "Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante deux extraits des feuilles de *Myrtus* (Rayhane) de la région de Mila"

[20] **Otsmane A, 2017** "Etude de certaines activités biologiques du Myrte"

[21] **Iazzourene G, 2015** "Composition chimique et activité biologique d'extraits du myrte (*Myrtus communis* L.), de la carotte sauvage (*Daucus carota* L. subsp. *carota*) et de la menthe à feuilles rondes (*Mentha rotundifolia* L.)"

[22] **Merabet C, Menaifi H, 2015** "Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce : *Myrtus communis* L"

CHAPITRE II :

Activités Biologiques

II.1. Introduction :

Les activités biologiques des huiles essentielles dépendent des substances actives présent dans ses compositions chimiques et les groupes fonctionnels (phénols, alcools, composés terpénique...), et la nature des structures. Une huile essentielle peut possède une ou plusieurs effets biologiques en même temps qui se produise avec la synergie des composants.

II.2. Activités biologiques des huiles essentielles :

Les composés chimiques retrouvés dans les huiles essentielles responsables de l'odeur de celles-ci sont des substances actives dotées de propriétés antibactériennes, fongicides et insecticides. [1] Les plantes ont toujours été utilisées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques. Ces propriétés leur étant conférées par leurs diverses composantes parmi lesquelles les huiles essentielles [2]. Ces huiles essentielles, grâce à leur composition chimique riche en terpènes, alcools, aldéhydes ont été reconnues comme dotées de pouvoirs antiseptiques.

Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés « généralement reconnus comme sains », ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration [3].

II.2.1 Propriétés biologiques :

En plus de leur capacité antioxydant, les composés phénoliques sont dotés d'un grand nombre de propriétés biologiques qui sont exploitées dans de nombreux domaines industriels. [4]

II .3.1 Activité antioxydant :

II .3.1.1 définition :

L'oxydation est une des plus importantes manifestations à l'origine du vieillissement des produits alimentaires et cosmétiques. Les dégradations oxydatives des constituants de nos aliments affectent les qualités nutritionnelles et sensorielles et peuvent avoir des répercussions sur la santé du consommateur par des implications toxicologiques. Elles sont également mises en cause dans le vieillissement des tissus biologiques et des organismes ainsi que dans de nombreuses pathologies [5].

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats.

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène. La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire.

Les défenses anti oxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques [6].

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme.

Cette activité est, sans nul doute, celle qui caractérise le mieux, et avec la plus grande fréquence, les polyphénols, et, en particulier, les flavonoïdes. En effet, de nombreuses revues leur confèrent le rôle d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène ($O_2\cdot$, $HO\cdot$, $NO\cdot$, H_2O_2 , $1O_2$, $HOCl$, $RO\cdot$ et $ROO\cdot$) provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN).

Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement [7].

II .3.1.2 Principe :

Les mécanismes d'oxydations des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales. [8]

- La phase de déclenchement où se forme un premier radical libre. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).

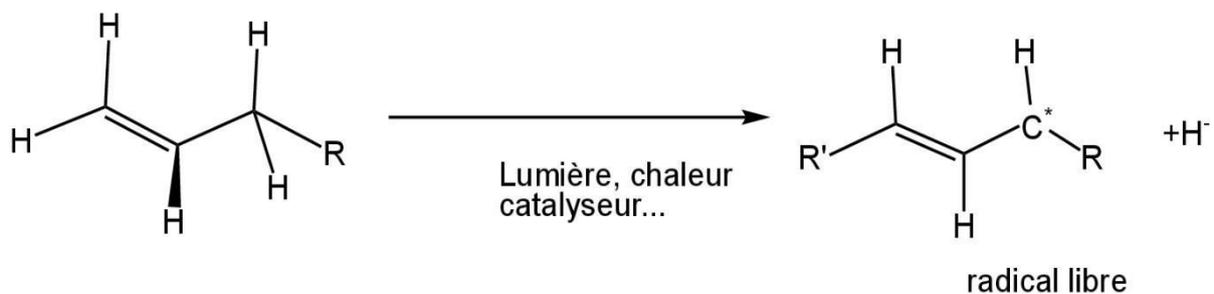


Figure II.1 : La phase de déclenchement où se forme un premier radical libre

- La phase de propagation où l'oxygène fixé donne un radical peroxy qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydro peroxyde.

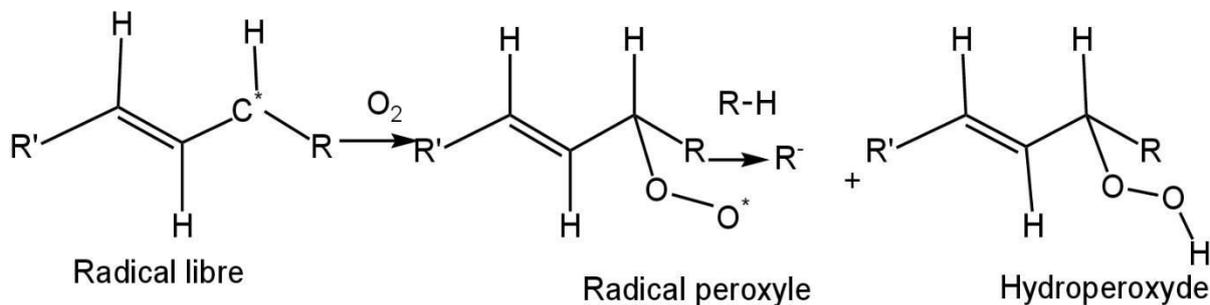


Figure II.2 : La phase de propagation où l'oxygène fixé donne un radical peroxy qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydro peroxyde.

Les hydro peroxydes instables se scindent en composés plus courts.

- La phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés.

Globalement, ce processus conduit à des hydrocarbures, des aldéhydes, des cétones, des acides, des esters, des peracides, des peroxydes, mais aussi à des produits de polymérisation. Sous son effet, l'aliment accuse une perte de qualité nutritionnelle ou organoleptique (rancissement, changement de couleur...).

Pour limiter l'oxydation, l'industrie agroalimentaire peut baisser le taux d'oxygène (immersion, vide, atmosphère sous azote), ralentir les réactions par réfrigération ou congélation, détruire les enzymes d'oxydation (polyphénol oxydases) par blanchiment, et user d'antioxydants inhibant l'oxydation induite par l'oxygène moléculaire.

En limitant les risques de radicaux libres, la présence d'antioxydants, combinée à d'autres techniques, est indispensable à la stabilité des produits. Si l'oxydation résulte uniquement d'une réaction avec l'oxygène, l'antioxydant est alors un anti oxygène. [9]

II .3.1.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydant des extraits de plantes a été évaluée par trois méthodes :

- Piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) : Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir anti radicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle. [10]

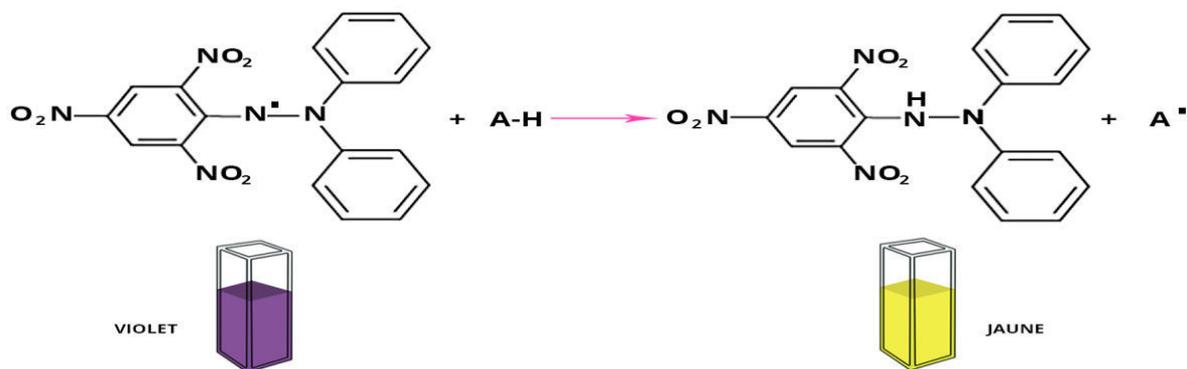


Figure III.3 : Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.

La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515 nm (λ_{\max} DPPH°). La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant.

- Réduction du fer (FRAP, pour ferric reducing-antioxidant power) : La présence des réducteurs dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe³⁺/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, Fe²⁺ peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm. [11]
- L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de blanchissement du β -carotène repose sur la mesure d'inhibition des composés organiques volatils et des hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation d'acide linoléique. [12]

II .3.2 Activités antibactérienne :

II .3.2.1 Définition :

Dès l'antiquité, plusieurs plantes ont été utilisées traditionnellement pour le traitement de diverses maladies. De nos jours, il y a un grand progrès dans l'utilisation de ces plantes pour la fabrication d'antibiotiques et de médicament pour le traitement de plusieurs infections dues aux divers pathogènes. Les plantes synthétisent plus de 100000 petites molécules dotées pour la plupart d'une activité antibiotique. En général, cette activité est inférieure à celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne. Les concentrations requises pour exercer une activité antimicrobienne sont donc plus élevées pour les molécules isolées des plantes que pour celles issues de bactéries et de champignons. En effet, une molécule phytochimique est considérée comme « antimicrobienne » si elle inhibe la croissance des micro-organismes pour des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 100 $\mu\text{g/ml}$ et 1000 $\mu\text{g/ml}$. Pour les antibiotiques d'origine microbienne, des CMI, variant de 0.01. [13]

II .3.2.2 Principe :

Les agents antimicrobiens ou antibiotiques sont des substances qui ont pour effet de tuer les microorganismes pathogènes ou d'inhiber leur croissance. [14]

II .3.2.3 Méthodes d'évaluation d'activité antibactérien in vitro :

Trois méthodes sont fréquemment utilisées et citées dans la littérature :

- La dilution du principe actif en milieu solide ou « macro méthode en milieu gélosé » (considérée par beaucoup d'auteurs comme la méthode de « référence »).
- La diffusion du principe actif en milieu solide ou « méthode des disques ».
- La dilution du principe actif en milieu liquide, macro- ou micro-méthode en milieu liquide.

Quelle que soit la méthode considérée, plusieurs paramètres communs sont en général retrouvés :

- ▶ la taille de l'inoculum bactérien (5×10^5 - 5×10^6 Unité Formant Colonie par millilitre, UFC/ml).
- ▶ le milieu de culture à utiliser (milieu Mueller-Hinton bouillon ou agar).
- ▶ la température d'incubation ($35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$).
- ▶ le temps d'incubation (entre 18 et 24h). [15]

II .3.3 Activité anti-inflammatoire :

Les études sur les flavonoïdes issus de plantes utilisées traditionnellement restent encore très répandues car, bien que l'inflammation soit un phénomène normal d'autodéfense de l'organisme contre des blessures, elle est parfois incontrôlée dans les maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde) ou lorsqu'elle est liée aux réponses allergiques (asthme). [16]

L'activité anti-inflammatoire des plantes médicinales revient à leur conteneur en métabolites secondaires doués d'activités biologique ; polyphénols, alcaloïdes, saponines, coumarines, terpènes et polysaccharides... [17]

II .3.3.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro :

- Test de la dénaturation thermique des protéines : le test d'inhibition de la dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C). [18]
- Test de l'innocuité « hémolyse » : Les pourcentages d'hémolyses de chacune des concentrations utilisées sont calculés :

$$\text{Pourcentage d'hémolyse (\%)} = \frac{(DO_{éch} - DO_{bla})}{(DO_{cont} - DO_{bla})} \times 100. [19]$$

DO_{bla} : Absorbance de l'extrait.

DO_{éch} : Absorbance de l'échantillon ou du standard (test).

DO_{cont} : Absorbance de contrôle (100% d'hémolyse).

- Stabilisation de la membrane des globules rouges : Le test se base sur l'effet d'extraits aqueux des plantes étudiées sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée. [20]

II .3.3.2 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vivo :

- Etude du Pourcentage d'inhibition de l'œdème : L'activité anti-inflammatoire des produits testés et son évolution ont été estimés par la détermination des pourcentages moyens d'inhibition de l'œdème.

$$\% d'inhibition = \frac{(V_t - V_0)_{témoin} - (V_t - V_0)_{traité}}{(V_t - V_0)_{témoin}} \times 100$$

- V₀ représente le volume de la patte à t=0 (avant injection du formol),

- V_t représente le volume de la patte à un temps t quelconque. [21]

II .3.4 Activité cicatrisant :

II .3.4.1 Définition de La cicatrisation :

La cicatrisation est l'ensemble des phénomènes physiologiques naturels aboutissant à partir d'une plaie à la restauration de la structure cutanée. De cette manière les tissus humains et animaux sont capables de réparer des lésions localisées par des processus de réparation et de régénération qui leurs sont propres. [22]

II .3.4.2 principe :

La réparation des lésions est un alignement complexe de différents processus dynamiques, qui ne sont pas encore complètement compris. Ce phénomène naturel inclus plusieurs aspects et événements moléculaire et cellulaire.

Ainsi, dans la présentation schématique usuelle, le déroulement de la cicatrisation est divisé en trois phases : phase inflammatoire, phase de prolifération et formation de tissu et enfin la phase de remodelage tissulaire.

Cette division traditionnelle est quelque peu arbitraire, du fait d'un chevauchement partiel de ces phases, par exemple la formation tissulaire commence alors que l'inflammation est installée. La cicatrisation est réglée et synchronisée par un groupe de cytokines, tels que le Platelet-derived growth factor, Fibroblast Growth Factor, Tumor necrosis factor, Insulin-like growth factor, et le Transforming growth factor α et β .

Ces derniers sont sécrétés par les thrombocytes, les macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes, cellules endothéliales et les fibroblastes. Ces facteurs interviennent dans toutes

les étapes de la cicatrisation. Lorsqu'elles ne sont ni trop profondes, ni trop étendues, la plupart des plaies ou brûlures cutanées cicatrisent rapidement en quelques semaines. On distingue 3 phases successives : la phase inflammatoire et formation du caillot (0 à 3 jours), la phase proliférative ou formation de tissu (3 à 12 jours) et la phase de remodelage tissulaire. [22]

II .3.4.3 Méthode d'évaluation d'activité cicatrisant :

Induction de la brûlure :

L'activité cicatrisante a été évaluée dans un modèle de brûlure expérimentale chez le rat, Elle a été évaluée par une méthode de détermination de scores variant en fonction de l'importance de la brûlure. [23]

II.4. Conclusion :

En conclure de ce chapitre que chaque activité biologique à une ou plusieurs méthodes d'évaluation soit in vitro ou in vivo toute dépend de principe de chaque activité.

On a choisi deux activités biologiques (Antioxydante et Antimicrobienne) pour l'évaluera, les modes opératoires et les résultats est dans le chapitre suivante.

Références : Chapitre II

- [1] **Poitou F., Masotti V., Guigues de Souza S., Viano J., 1996.** Composition of the essential oil of *Xylopii* aethiopic dried fruits from Benin. *Journal of Essential Oil Research* 8(3) : 329-330
- Ngamo T.L.S., Ngassoum M.B., Jirovertz L., Ousman A., Nukenine E. & Moukala O.E., 2001.** Protection of stored Maize against *Sitophilus zeamais* (Motsch.) by use of essential oils of spices from Cameroon. *Medical faculty Landbouw University of Gent*, 66 (2a) : 473-478.
- [2] **Baba Moussa F., Koumaglo K., Ayedoun A.K., Moudachirou M. & Bouchet., 1997** Activité antifongique d'huiles essentielles extraites de différentes plantes du Bénin et du Togo. *Cryptogamie-Mycologie*. 18(2) : 165-168.
- [3] **Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R et Sarkinas A., 2006** Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*
- [4] **Rezaire A., 2012.** Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa) Thèse de doctorat de l'Université des Antilles et de la Guyane-France.
- [5] **Berset, 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology Volume 28, Issue 1, 1995, Pages 25-30.*
- [6] **Shahidi F., 1997.** Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications, Ed aocs mission statement
- [7] **Quideau S., Deffieux D., 2011** Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities and synthesis. *Angewandte Chemie – International Edition*
- [8] (**Chaveron H, 1999** ed. Introduction à la toxicologie nutritionnelle) (**Moll M, Moll N 1998.** Les autres additifs. Les antioxygènes) (**Penfield MP, Campbell AM 1990.** eds. Experimental food science)
- [9] **Chaveron H, 1999** ed. Introduction à la toxicologie nutritionnelle *Volume 20, Number 4* 458 - 463
- [10] **Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C., 1995.** Use a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- [11] **Chung Y-C., Chang C-T., Chao W-W., Lin C-F., et Chou S-T. (2002)** Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*)
- [12] **Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek TA, Linssen PH. 1998.** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 77: 140 - 146.

- [13] **Prescott LM, Harley JP and Klein DA (2003)**. La chimiothérapie antimicrobienne. In: *Microbiologie, 2ème édition (Bruxelles), pp: 806-811*.
- [14] **Abdul-Malik A. (2018)**. Étude photochimique, screening biologique et pharmacologique des fleurs de calendula arvensis, thèse de doctorat en sciences du médicament, université Mohammed v – rabat, p 13.
- [15] **Stéphane F, Marie-Eugénie M, Raphaël E. Duval 2015** ; Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires p 111.
- [16] **Benavente-Garcia O. et Castillo J. (2008)**. "Update on uses and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(15): 6185-6205. **Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti G. A., Uzunov D., Tubaro A. et Loggia R. D. (2008)**. "In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants." *Journal of Ethnopharmacology* 116(1): 144-151.
- [17] **Meziti H. (2009)**. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire et antioxydant des extraits de Malva Parviflora L. Mémoire de Magister, université Ferhat Abbas, Sétif, 91P.
- [18] **Kandikattu K, BharathRathna K, Venu P, Sunil K, Ranjith S. B Rathore. 2013** evaluation of anti-inflammatory activity of canthium parviflorum by in-vitro method *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology ISSN : 2321-5674(Print) ISSN : 2320 – 3471*
- [19] **Shobana S. et Vidhya R. (2016)**. Evaluation of in vitro hemolytic activity of different parts of Abutilon indicum (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 5(5): 1182-1196.
- [20] **Ganesh G, SaurabhMaru and Sara, 2013**. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of the Methanolic Leaf Extract of Traditionally Used Medicinal Plant Mimusops elengi L. 5(6):125 – 130.
- [21] **Rahmani S., Belboukhari N., Sekkoum K., Cheriti A. 2016** evaluation de l'activité anti-inflammatoire d'extraits aqueux de feuilles limoniastrum feei issn 2170-1318
- [22] **Thilo Gambichler 1, Georg M, Michael S, Daniel S, Peter A, Klaus Ho., 2005**. Applications of optical coherence tomography in dermatology. *J Dermatol Sci.* 40(2): p. 85-94. Epub.
- [23] **Gurung S, Škalko-Basnet N. 2009**. Wound healing properties of Carica papaya latex: in vivo evaluation in mice burn model. *J. Ethnopharmacol.*, 121(2): 338-341. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.10.030>

CHAPITRE III :
Evaluation des
activités biologiques
des huiles essentielles
extraites de la plante
"Myrtus communis L"

III.1. Introduction :

Les principales étapes de préparation, prétraitement de la plante, extraction des huiles essentielles et l'évaluation des différentes propriétés biologiques de ces huiles sont données en détail dans ce chapitre où un organigramme illustratif est conçu pour résumer les différentes activités effectuées durant ce travail.

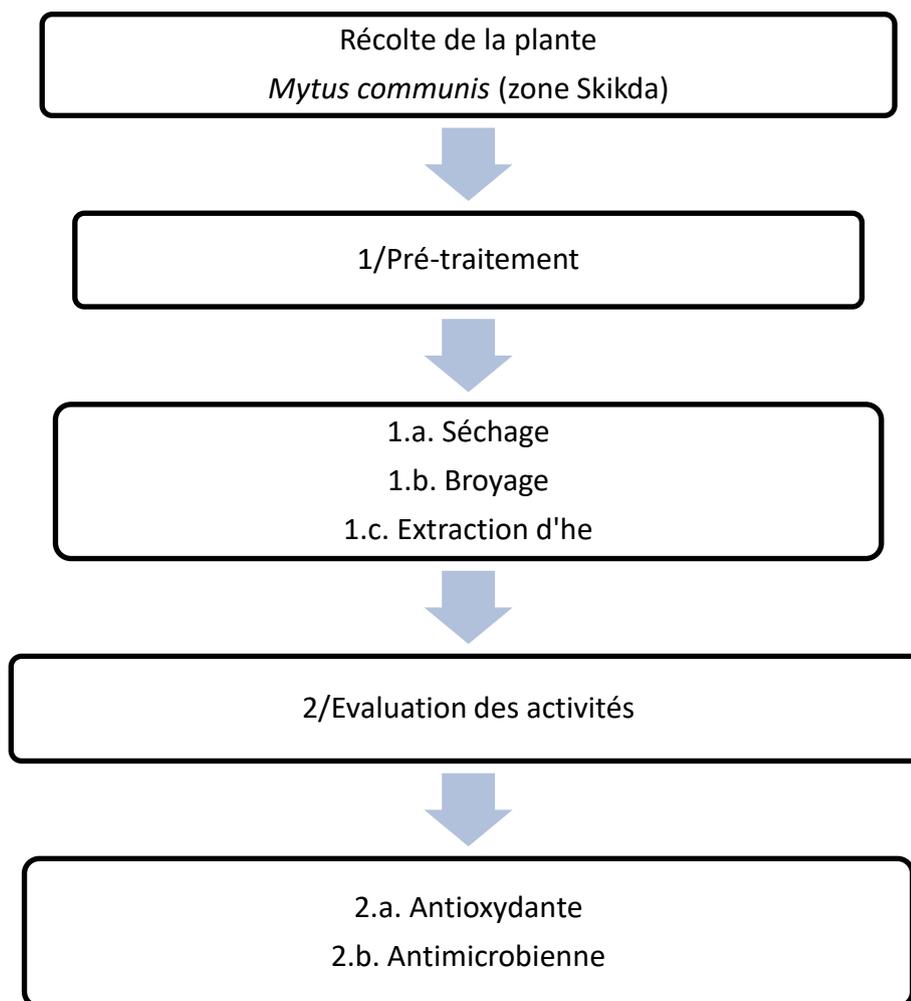


Figure III.1 : Organigramme résume les différentes activités effectuées durant ce travail.

PARTIE A : Extraction et évaluation d'activité Antioxydante de l'HE.

III.2. Extraction des huiles essentielles :

III.2.1. Techniques de l'hydro distillation/l'entraînement à la vapeur :

La distillation est un procédé de séparation basé sur un équilibre L (liquide) V (vapeur). Par chauffage, le liquide entre en ébullition et la vapeur en équilibre avec le liquide sera plus riche en constituant les plus volatils. La technique implique la condensation de la vapeur et la récupération

des fractions liquides résultantes. Nous avons utilisé la technique d'extraction de référence : l'hydrodistillation en utilisant l'appareil de Clevenger. [1]

L'hydrodistillation consiste à immerger directement la matière végétale à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un réacteur rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. On récupère un surnageant nommée huile essentielle. La distillation s'effectue avec recyclage d'eau (cohobation).

L'huile essentielle de l'espèce du genre été extrait par hydro distillation avec un appareil de type Clevenger (ballon de 1L ou 2L) pendant une durée de trois heures à partir d'une masse de végétal de 100 g. Les rendements sont calculés par rapport à la masse du végétal sec. Les huiles essentielles sont conservées dans des piluliers à 4 °C à l'abri de la lumière (verre ombré).



Figure III.2 : L'hydro distillation en utilisant l'appareil de Clevenger.

L'huile essentielle étudiée est extraite à partir de la partie aérienne de Myrte de région de Skikda.

III.2.2 Le protocole d'extractions par le montage de Clevenger :

Les feuilles de la plante étudiée ont subi dans une étape préliminaire certains opérations avant l'étape principale d'extraction.

➤ Séchage :

Les feuilles de la plante récoltées, sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant environ 10 jours.



Figure III.3 : Feuilles de la plante sèche

➤ **Broyage :**

Les feuilles séchées ont été broyées afin d'avoir une surface de contact très importante avec le solvant.



Figure III.4 : Feuilles de la plante broyée

Afin d'extraire les huiles essentielles de la plante étudié un mode opératoire efficace est suivi :

A. Matériel :

- Balance

- Broyeur
- Ballon de 2 L
- Clevenger
- Chauffe ballon
- Bécher, les tubes vailent (verre ombré)

B. Produits chimiques :

- $MgSO_4$
- Pier pence

C. Méthodes d'extractions :

La récupération des huiles essentielles à partir de la plante est réalisée par la méthode d'hydro-distillation en utilisant le montage de Clevenger (**Figure III.5**).



Figure III.5: Appareil de Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles. [2]

Afin de récupérer les huiles essentielles on suit le mode de travail ci- dessous :

M+E : le matériel végétal (**M**) est mis en contact direct avec l'eau (**E**) qui est porté à ébullition, la distillation s'effectue avec recyclage d'eau appelé : cohobation.

- On pèse des échantillons de 100 g des feuilles partiellement broyées.

- On introduit dans un ballon de deux litres rempli d'eau jusqu'à deux tiers (2/3) de son volume et de petite quantité de pierre ponce.



Figure III.6 : Préparation de montage (ballon). [5]

- Après installation et fermeture du montage ce dernier est ensuite mis à ébullition pendant 3 heures.

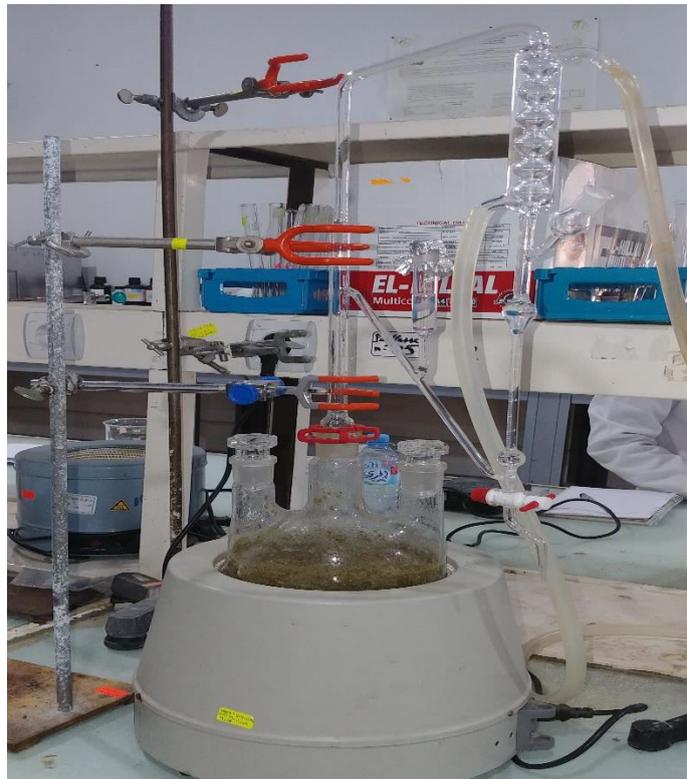


Figure III.7 : Le montage prêt à l'utilisation

- Le ballon ainsi chauffé produit de la vapeur chargée des substances volatiles, la vapeur chargée de l'huile essentielle se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier.
- L'huile essentielle se sépare de l'eau de condensation en raison de sa plus faible densité et se place au-dessus de celle-ci.



Figure III.8 : Les deux phase eau et huile essentielle

L'huile récupéré est séchée par du sulfate de magnésium pour éliminer le maximum de l'eau puis récupérée et conservée dans un flacon.



Figure III.9 : Huile essentielle récupérée

III.2.3 Rendement de l'extraction :

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile récupérée à la masse de la matière végétale séchée à l'air libre, exprimées dans la même unité de masse.

Dans notre étude nous avons exprimé les rendements en milligramme pour 100g de la matière végétale sèche comme suit :

$$R\% = m / 100 \text{ grammes de la matière végétale sèche}$$

Avec :

R% : Rendement en HE en pourcentage ou en mg/100g

m : Masse d'huile essentielle récupérée (g)

III.3 Evaluation de l'activité antioxydante :

On a utilisé la méthode de réduction du radical libre DPPH pour l'évaluation de l'activité antioxydante.

III.3.1 Mode opératoire : [5]

A. Matériel :

- Spectroscopie UV-visible
- Agitateur magnétique
- Les tubes à essais
- Les micropipettes

B. Produit chimique :

- Ethanol
- DPPH

1. Préparation de la solution de DPPH :

Nous avons pesé 3 mg de DPPH et on dissout dans 100ml d'éthanol, sous agitation pendant 30 minutes à température ambiante, puis on mesure l'absorbance initial de cette solution Abs à 517 nm.

2. Préparation de la solution mère :

On prend 50 μ l de notre HE est mélangée avec 990 μ l d'éthanol.

3. Préparation des solutions filles :

- Nous allons préparer des solutions diluées à partir de la solution mère à différentes concentrations : 10, 30, 40, 70 et 150,200 μ l, ces dernières seront complétées par l'éthanol jusqu'à 1000 μ l, puis ajouté à chaque solution 1000 μ l de la solution de DPPH.



Figure III.10 : Solutions mère et filles préparé

- On mesure l'absorbance à 517 nm de chaque solution.

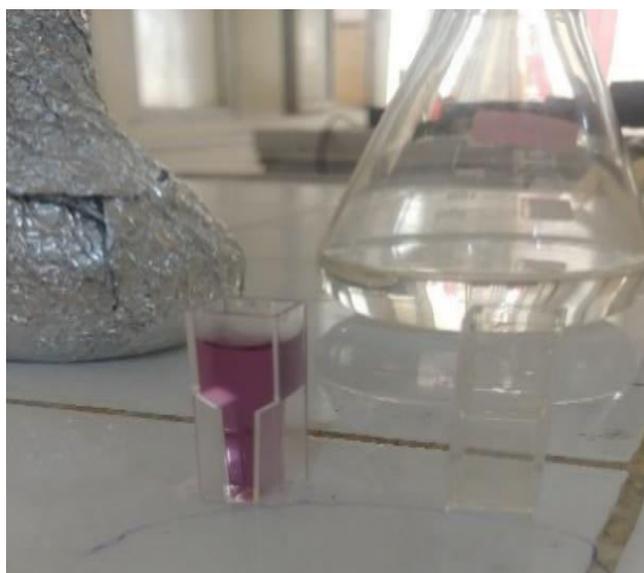


Figure III.11 : Cuve pour mesurer l'absorbance

Le pourcentage d'activité antioxydant (I%) est calculé selon la formule suivante :

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

Abs_{blanc} : est l'absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon.

Abs_{éch}: est l'absorbance de l'échantillon teste après 30 min d'incubation.[5]

Les concentrations en huile essentielle en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC₅₀. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour réduire la concentration du DPPH• initiale de 50%.

III.4 Résultats et discussions :

III.4.1 Calcule de rendement :

Le rendement "R" de l'extraction de notre huile essentielle, par le dispositif Clevenger, a été calculée par l'équation suivante :

$$\mathbf{R \% = mHE / 100 \text{ grammes de la matière végétale sèche}}$$

Exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante séchée, le rendement l'échantillon récupéré de la plante de la région de Skikda est 0,52 %.



Figure III.12 : Le rendement de l'huile essentielle

III.4.2 Caractéristiques de l'huile essentielle extraite :

Tableau III.1 : Caractéristiques de l'huile essentielle.

Caractéristiques	<i>Myrtus communis L</i> de Skikda
ph	5,11
Aspect	liquide limpide
Couleur	Jaune pâle
Odeur	Forte
Goût	Amer

III.4.3 Evaluation de l'activité anti oxydante :

III.4.3.1 Calcule de pourcentage d'inhibition I % d'huile essentielle :

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante de la plante *Myrtus communis L* de la région de Skikda, les valeurs de pourcentage d'inhibition I% calculé des 3 essais est dans les tableaux ci-dessus (Tableaux III.2, III.3, III.4)

Essaie 1 :

Tableau III.2 : Valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution

V (µl)	C (mg/ml)	I %
10	0,43	42,50
30	1,29	59,31
40	1,72	65,56
70	3,01	81,67
150	6,45	88,39
200	8,6	91,39

Après l'évaluation de l'activité antioxydante les valeurs de taux d'inhibition obtenues ont permis de tracer des courbes représentées ci-dessous pour les essais 1,2 et 3 (Figure III.13) (Figure III.14) et (Figure III.15) respectivement.

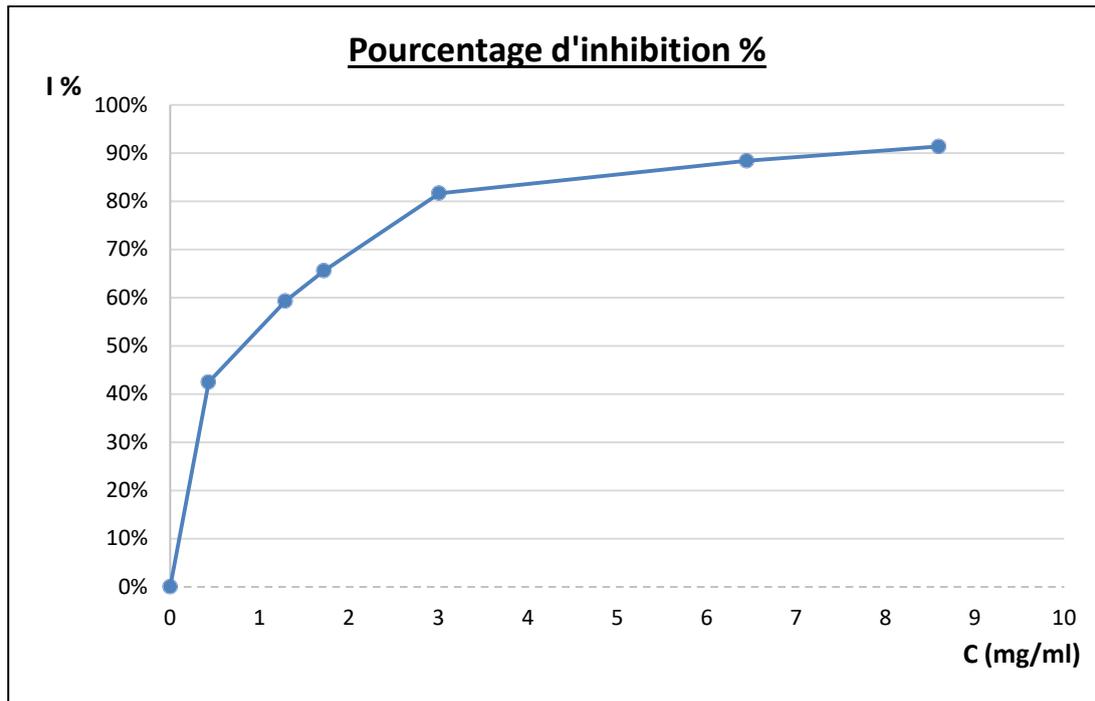


Figure III.13 : Pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'essai 1.

Essai 2 :

Tableau III.3 : Valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution

V (µl)	C (mg/ml)	I %
10	0.43	37,5
30	1,29	59,86
40	1,72	62,22
70	3,01	83,75
150	6,45	84,86
200	8,6	87,92

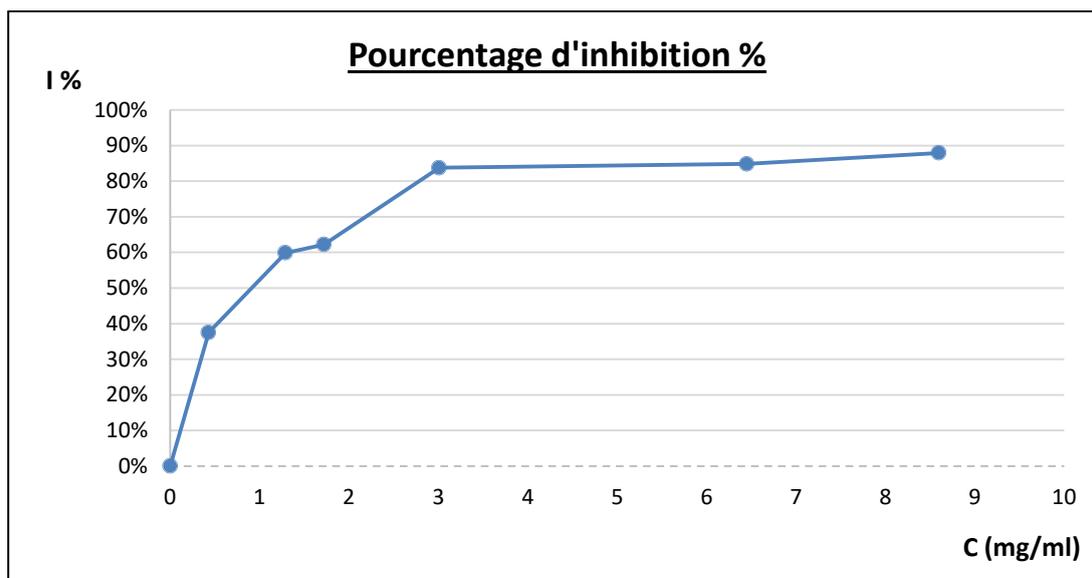


Figure III.14 : Pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'essai 2.

Essai 3 :

Tableau III.4 : Valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution

V (µl)	C (mg/ml)	I %
10	0.43	38,75
30	1,29	61,67
40	1,72	63,89
70	3,01	84,58
150	6,45	85,00
200	8,6	87,36

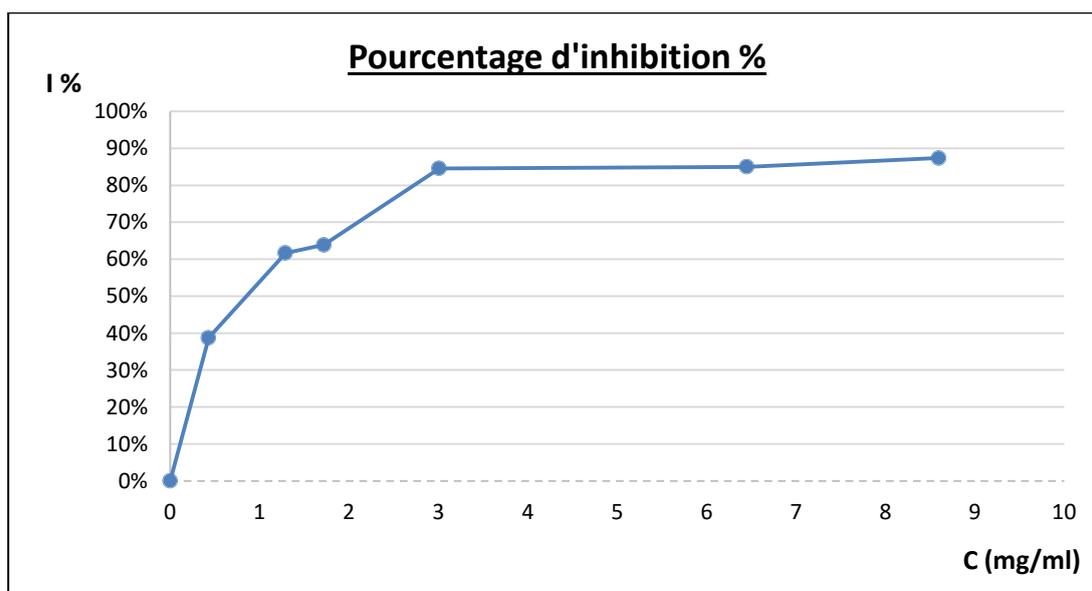


Figure III.15 : Pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations de l'essai 3.

Moyenne :

Tableau III.5 : Valeurs moyenne de taux d'inhibition pour chaque solution

V (µl)	C (mg/ml)	I %	ERAM (%)
10	0,43	39,58	7,38
30	1,29	60,27	2,32
40	1,72	63,89	2,61
70	3,01	83,33	1,99
150	6,45	85,42	3,47
200	8,6	88,89	2,81
ERAM totale			3,43

Afin de bien voir la variation de pourcentage d'inhibition en fonction de concentration de HE, (figure III.16) donne l'allure de cette courbe où on trouve une augmentation rapide de I% dans le domaine de concentration allant de 0 à 3.01 mg/ml et au-delà de cette dernière la variation devient légère jusqu'au se stabilise à partir de concentration égale à 8,6 mg/ml.

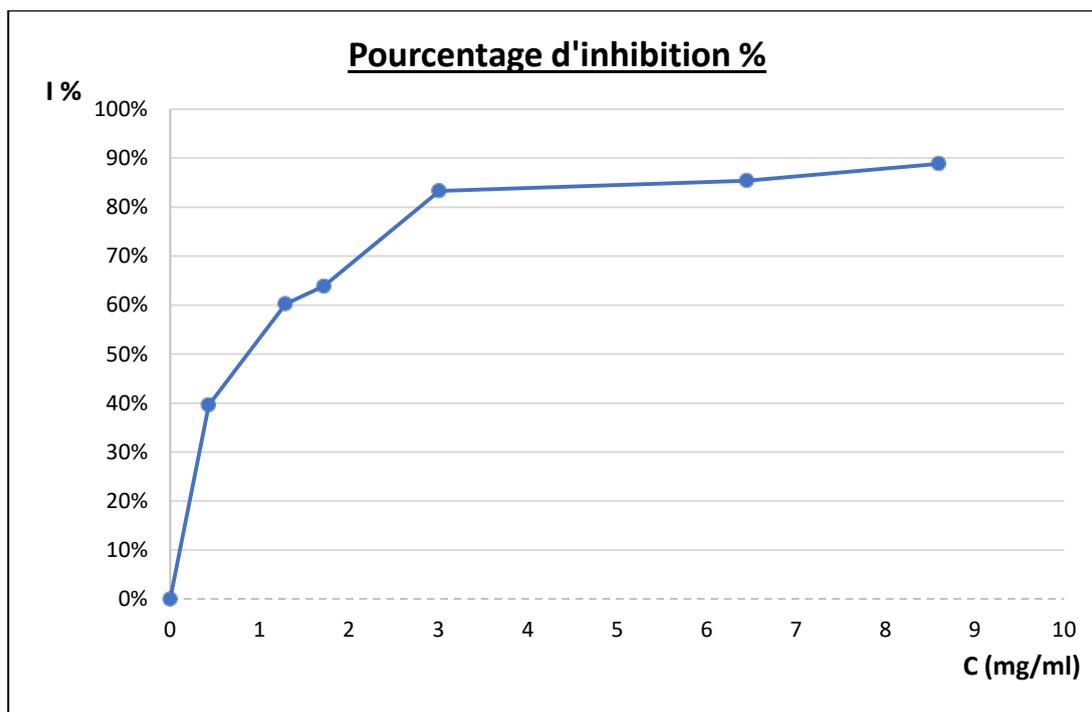


Figure III.16 : Moyenne pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations.

Le graphe ci-dessus représente la variation du pourcentage d'inhibition l'huile essentielle en fonction de la concentration de *Myrtus communis* L, Ce qui permet de déterminer le pourcentage d'inhibition obtenu en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur d'IC₅₀.

Les pourcentages d'inhibition de notre plante augmentent de manière proportionnelle avec la concentration jusqu'à une valeur maximale égale à 88,89% de I%.

III.4.3.2 Calcul de pourcentage d'inhibition I % d'Acide ascorbique :

Afin d'établir une comparaison de référence des valeurs obtenues des paramètres calculés des huiles essentielles, le taux d'inhibition en fonction de concentrations et le pourcentage d'activité antioxydante de vitamine C.

Tableau III.6: Valeurs de taux d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque solution fille d'acide ascorbique. [5]

V (µl)	C (mg/ml)	I %
0	0	0
5	0.0005	16
10	0.001	34
40	0.004	93
50	0.005	94
60	0.006	95
80	0.008	95
10	0.01	95
200	0.02	95
300	0.03	95
400	0.04	95

La variation du pourcentage d'activité antioxydante d'Acide ascorbique en fonction de la concentration est représentée dans la (figure III.16) où la valeur IC₅₀ est égale à 0.0015 mg/ml. [5]

Pour mieux évaluer le pourcentage d'inhibition de HE, (figure III.17) représente la courbe de variation du taux d'inhibition en fonction de concentrations et le pourcentage d'activité antioxydante de vitamine C, on observe augmentation rapide de I% dans de concentration 0 à 0.006 mg/ml puis se stabilise à une valeur maximale de I% égale 95%.

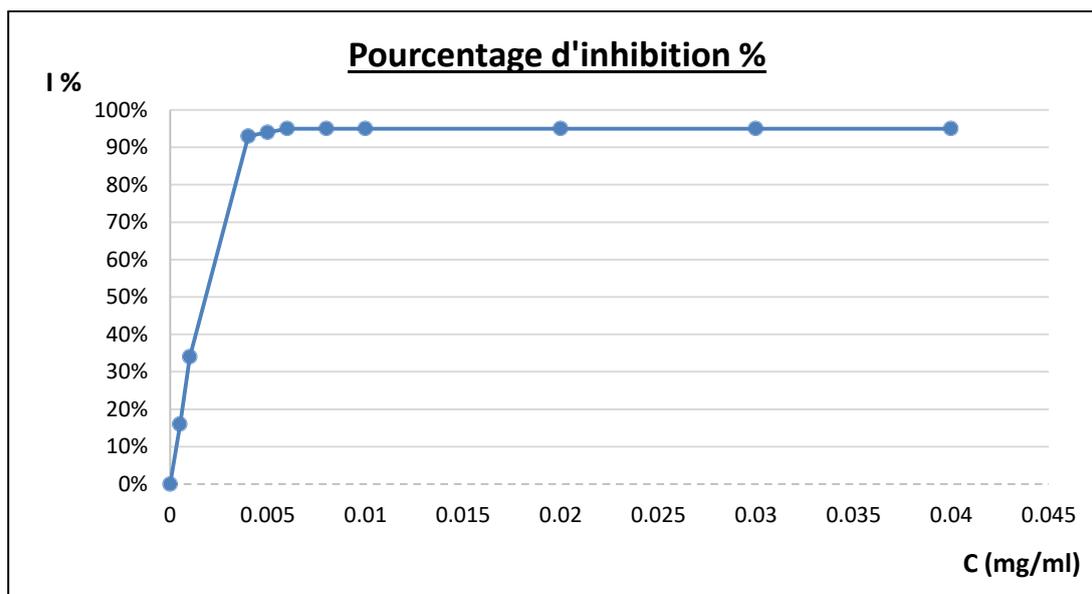


Figure III.17 : Pourcentage d'activité antioxydante (A%) de l'Acide ascorbique en fonction de la concentration. [5]

III.4.3.3 Détermination d'IC₅₀ de l'huile essentielle de *Myrtus communis L* :

En comparaison avec l'Acide ascorbique IC₅₀=0.0015 mg/ml, nous pouvons constater que l'HE de *Myrtus communis L* de Skikda à une activité antioxydant très élevé car elle à l'IC₅₀ faible (1,08 mg .ml⁻¹).

Tableau III.7 : Comparaison entre les résultats d'activité antioxydante de ce travail et les travaux précédents

	Skikda	BOUTOUIGA L et KACEMI H [5]		MESBAH A et YOUNES A [3]		Vitamine c
		Blida	Tipaza	Blida	Bejaia	
IC ₅₀	1,08	5.14	2.98	6,2	2,2	0,0015

A partir des résultats d'IC₅₀ de ces travaux on remarque que l'HE de la région de Blida possède l'activité antioxydante le plus faible dans deux travaux différents avec une valeur d'IC₅₀ élevée 6.2 et 5.14, puis suivie par celle de la région de Tipaza et Bejaia avec une activité plus forte et IC₅₀ égale à 2.98 de Tipaza et 2.2 d'HE de Bejaia.

L'activité antioxydante de l'HE de la région de Skikda est le plus élevée (IC₅₀=1.08 %).

Donc on constate que les huiles essentielles de l'est algérienne possèdent une activité antioxydante plus important que celle de la région de centre.

PARTIE B : Evaluation De l'activité Antimicrobienne

III.5 Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE du *Myrtus communis L* :

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis L* .nous avons adoptés la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en celluloses, appelée Aromatogramme (Figure III.18) Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance de l'huile essentielle. [3]

Les souches microbiennes à tester :

Dans le but d'évaluer le pouvoir antimicrobien d'huile essentielle de *Myrtus communis L*. Nous avons utilisé les souches microbiennes suivantes :

Tableau III.8 : Souches microbiennes testés.

Les bactéries Gram+	Les bactéries Gram-	Levure
PMI : Proteus mirabilis 227 D	Escherichia coli 901 U	Candida albicans ATCC 15
Staphylococcus ATCC 25923	Pseudomonas aeruginosa 231 D	
Staphylococcus aureus 227 D		

III.5.1 Mode opératoire :

1. Préparation de milieu de culture :

On fait fondre les milieux Muller Hinton pour les bactéries et le milieu Sabouraud pour la levure dans un bain marie, après on verse aseptiquement dans des boites de Pétri à raison de 3/4 du volume total de la boite environ 4 mm d'épaisseur et on laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.

2. Préparation de l'inoculum :

A partir de jeunes cultures de 18 heures à 24 heures pour les bactéries et 48 heures à 78 heures pour les levures. Prélever 2 à 3 colonies bien isolées et identiques à l'aide d'une pipette pasteur, puis déposer le contenu dans 5 ml d'eau physiologique stérile pour la réalisation d'une suspension, enfin l'homogénéiser au vortex.

3. Ensemencement :

On ensemence la surface de milieu de culture en striant l'écouvillon trois fois sur la surface de milieu de culture ; en entourant la boîte Pétrie à chaque fois d'environ 60 degrés pour assurer une répartition uniforme de l'inoculum.

4. Dépôt de disque :

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile ; on dépose les disques de diamètre 8 mm à différentes concentrations sur la surface de la gélose ensemencée ; enfin les boîtes de Pétris suivies d'une incubation à 35° C pendant 24 heures.

5. La lecture :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou d'une règle en (mm).

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition. [4]

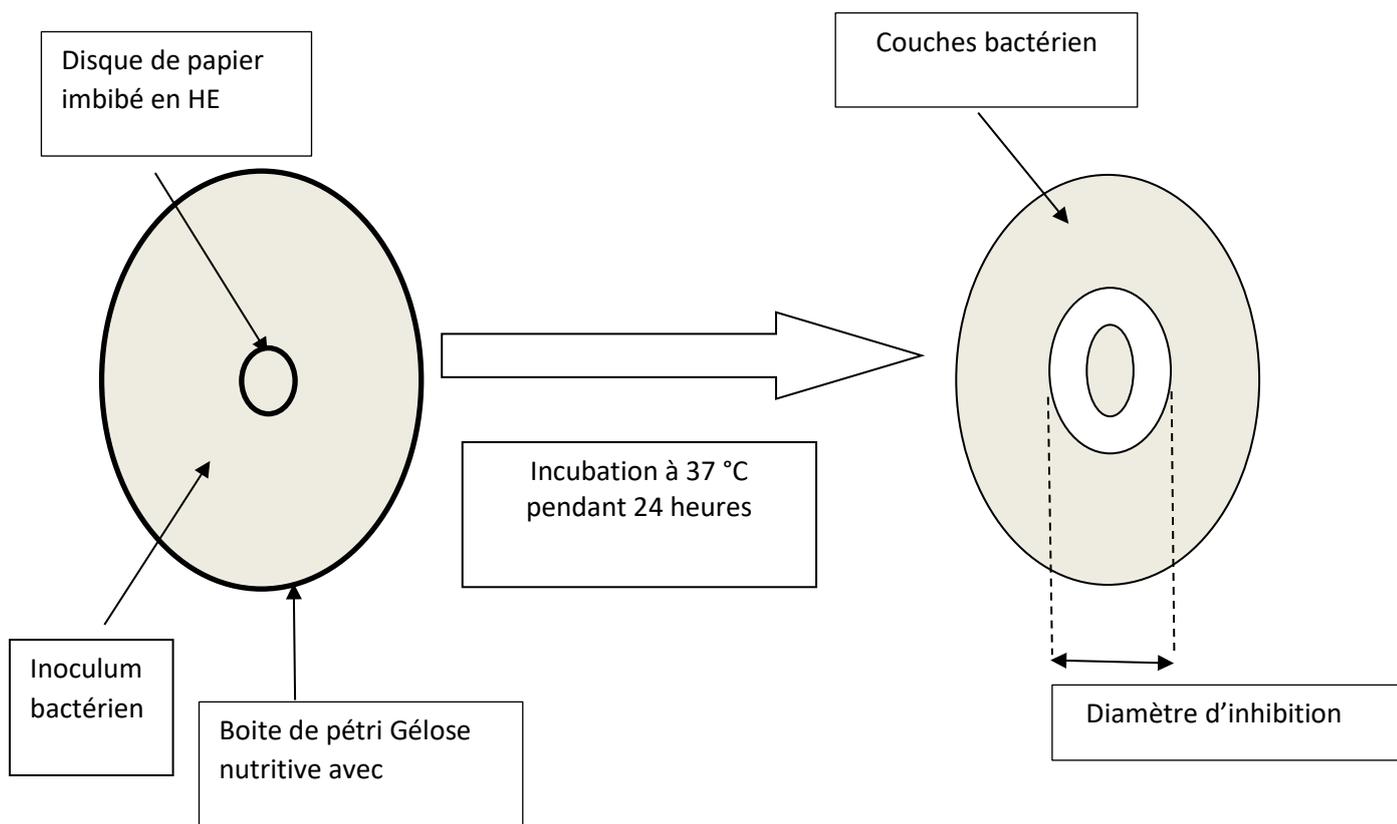


Figure III.18 : Illustration de la méthode d'Aromatogramme.

III.5.2 Résultats et discussion d'évaluation de l'activité antimicrobienne :

La mesure des diamètres des zones d'inhibitions de croissance des germes cibles permet d'évaluer cette activité. Les valeurs des diamètres des zones d'inhibitions de la croissance de ses germes sont données dans le (tableau **III.9**).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8mm.
- Moyennement sensible : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible : diamètre ≥ 20 mm.

Tableau III.9 : Résultats des tests antimicrobiens

	Germes	Diamètres des ZI (mm)
GRAM (+)	PMI :Proteus mirabilis 227 D	8 mm<
	Staphylococcus ATCC 25923	8 mm<
	Staphylococcus aureus 227 D	8 mm<
GRAM (-)	Escherichia coli 901 U	8 mm<
	Pseudomonas aeruginosa 231 D	8mm<
LEVURE	Candida albicans ATCC 15	14 mm

D'après les résultats obtenus montre que l'huile essentielle de la zone de Skikda n'a pas une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram (+) (*Proteus mirabilis* 227 D, *Staphylococcus aureus* 227 D, *Staphylococcus ATCC* 25923) et Gram (-) (*Escherichia coli* 901 U, *Pseudomonas aeruginosa* 231 D) qui résiste à l'HE.

L'analyse de nos résultats montre que l'huile essentielle *Myrtus communis* L évalué possède une activité antifongique contre la levure (*Candida albicans ATCC* 15) qui est moyennement sensible

Avec un diamètre de la ZI égale à 14 mm.

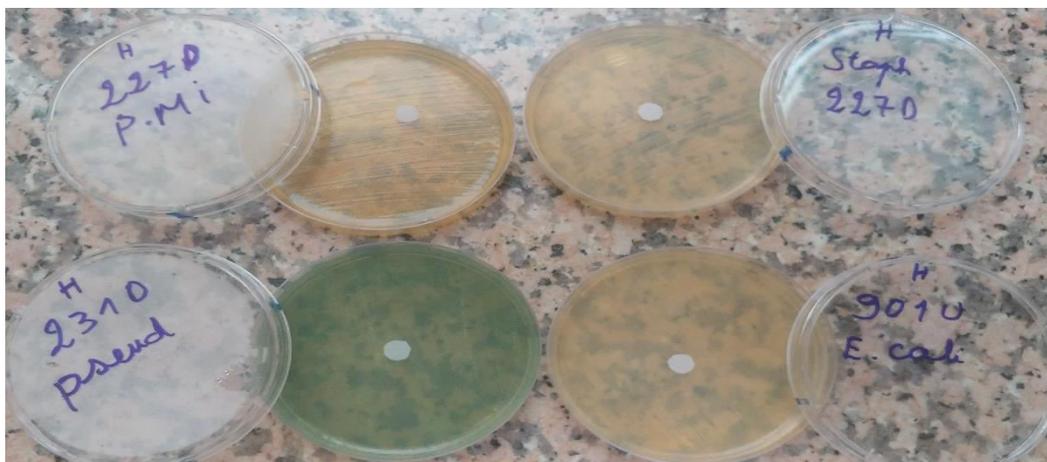


Figure III.19 : Résultats de l'activité antimicrobienne et antifongique des souches testés.

III.6 Conclusion :

D'après les résultats obtenus on conclure que l'huile essentielle de la plante *Myrtus communis* L de la région de Skikda qui était évalué à une activité antioxydante très forte, mais elle ne représente aucun effet antimicrobien sur les bactéries testées.

Références : Chapitre III

- [1] **Cocking T.T., Middleton G.** [éd.]. Improved method for the estimation of the essential oil content of drugs. s.l. : *Quarterly Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1935.. pp. 8, 435–442.
- [2] **Claudio L., Teresa T., Salvatore L B., Mario L.,2012.** Ethnobotanical study in the Madonie Regional Park. Central Sicily, Italy. s.l. : Medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016. pp. 146, p90–112.
- [3] **De Billerbeck G., 2007.** Activité fongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur l'*Aspergillus niger* : Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des sciences pharmaceutiques, *Institut national polytechnique de Toulouse*, 236 p.
- [4] **Ponce A.G., Fritz R., Del valle C., Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, 36 :679-684.
- [5] **Boutouiga L, Kacemi H, 2021** Encapsulation de l'huile essentielle récupérée de la plante de *myrtus communis* L.
- [6] **Molyneux P., Songklanakarin J., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Sciences Technology*. Vol 26 (2) : 211-219.
- [7] **CONGO M., 2012.** Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae). Thèse de pharmacie. *Université d'Ouagadougou Burkina Faso* : 42p.
- [8] **Mesbah A et Younes A, 2020,** Étude et évaluation de l'activité antioxydante de L'huile essentielle de *Myrtus communis* des deux régions (Blida et Bejaia)

Conclusion Générale et des perspectives

Depuis la présence humaine sur terre, les plantes jouent un rôle crucial et important en aidant à se remettre de diverses maladies auxquelles l'être humain peut les attraper. Cette propriété est due aux substances contenues dans les plantes qui ont une capacité supérieure et étonnante à traiter les maladies.

La plupart des antioxydants naturels viennent des plantes médicinales qui sont exploitées dans les industries pharmaceutique, cosmétique et même en agroalimentaire comme un agent conservateur antioxydant.

Notre étude a été consacrée à la détermination et évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne d'une huile essentielle extraite de la plante médicinale *Myrtus communis L* récoltée de la région de Skikda.

L'extraction de notre huile essentielle a été effectuée par le procédé d'hydrodistillation en utilisant le montage de Clevenger. Le rendement de l'extraction de la plante de *Myrtus communis* étudié égale à 0,52%.

L'évaluation de l'activité antioxydante est déterminée à l'aide du test de DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle a une activité antioxydante considérable (**IC₅₀ = 1,08 mg/ml**) en comparaison avec les résultats obtenus des travaux précédents (huile essentielle extraite de la plante médicinale *Myrtus communis L* récoltée des régions de Blida, Bejaia et Tipaza).

De plus, les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) a été tirés directement de la littérature (**IC₅₀ = 0.0015mg/ml**).

A partir des résultats d'IC₅₀ de ces travaux on remarque que l'HE de la région de Blida possède l'activité antioxydante la plus faible avec une valeur d'IC₅₀ égale à 6.2 et 5.14, puis suivie par celle de la région de Tipaza et Bejaia avec une activité plus forte et IC₅₀ égale à 2.98 de Tipaza et 2.2 d'HE de Bejaia.

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Myrtus communis L.*, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en celluloses, appelée Aromatogramme (Figure III.18) Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance de l'huile essentielle [3]

L'activité antimicrobienne testée par la technique d'antibiogramme a montré la limitation de l'huile contre les germes testé Gram (+) (*Proteus mirabilis* 227 D, *Staphylococcus aureus* 227 D, *Staphylococcus ATCC 25923*) et Gram (-) (*Escherichia coli* 901 U, *Pseudomonas aeruginosa* 231 D).

Cependant, elle possède une activité antifongique contre la levure (*Candida albicans ATCC*

15) qui est moyennement sensible avec un diamètre de la ZI égale à 14 mm.

En perspectives, il serait intéressant de poursuivre ce travail afin de :

- L'étude et l'évaluation de pouvoir antioxydant des extraits obtenus par différentes méthodes d'extraction.
- Evaluation d'autres activités biologiques (anti-inflammatoire, cicatrisante, ...).
- Formulé ou reformuler des produits naturels à base de l'huile essentielle de cette plante ou autres plantes.