

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique*  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Sciences alimentaires  
Filière : Biotechnologie, Agro ressources, Aliment Nutrition  
Option : Sciences des aliments



Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### ***Thème***

Dosages biochimiques et mesure des activités biologiques (antioxydante et antifongique) des composés bioactifs du *Myrtus communis L.*

Présenté par :

**GUIOUNE Tahar & SELLI Nadjim**

Soutenu le : 10 Juin 2015

Devant le jury composé de :

M <sup>r</sup> ZAIDI. F	Professeur	President
M <sup>elle</sup> ISSAADI. O	MCA	Encadreur
M <sup>me</sup> HASSISSENE. N	MCB	Examinatrice
M <sup>elle</sup> BOUCHEFA. Dj	Doctorante	Copromotrice

**Année universitaire: 2014 / 2015**

## Remerciements

Avant tout nous remercions dieu le tout puissant qui nous a procuré de la volonté, de la santé et du courage pour mener à terme ce modeste travail ;

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice M<sup>elle</sup> ISSAADI d'avoir accepté de nous encadrer, elle avait toujours été là pour nous ;

Nous adressons nos profonds remerciement au Professeur ZAIDI Farid d'avoir accepté de présider le jury ;

Nous remercions également M<sup>me</sup> HASSISSENE pour l'honneur qu'elle nous a fait d'avoir acceptée d'examiner et d'évaluer notre travail ;

Nos remercions également Professeur KHODIR Madani qui nous a bien accueilli dans son laboratoire (3BS) et a mis à notre disposition tout le matériel nécessaire pour un meilleur déroulement de notre stage ;

Nous remercions toute l'équipe du laboratoire 3BS et le laboratoire de mycologie de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia ;

Et enfin, nous remercions notre co-promotice BOUCHEFA Djahida et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, qu'ils trouveront ici l'expression de nos sincères reconnaissances.

**Tahar et Nadjim**

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes défunts chers parents qui ont toujours été présents dans mes pensées et qui ont contribué de l'au-delà à ma réussite,

Mon très cher frère Sofiane qui a toujours été là pour moi, qui m'a épaulé et soutenu durant tout mon cursus universitaire,

Mes tantes surtout Farida qui a toujours fait preuve de bravoure, de courage et de patience.

Mes deux oncles Akli et Smail avec leurs femmes, fils et filles,

Mes amis qui m'ont aidé pour la récolte de *Myrtus communis* : Topias, Elmakhtsar, Bouzzelmat, Doubel et Lamine.

Mes copains de chambre I105 qui m'ont accueilli à bras ouverts, avec qui j'ai passé une année agréable.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Et toute la promotion SA, Biotech et IL 2014-2015.

Surtout mon binôme Tahar et toute sa famille.

**Nadjim**

# Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

A ma grand-mère : Marbouha

A mes très chers frères et sœurs : Djaafar, Azedine, Yassine et Salim, Rahima, Saida, Kahina et Naima ainsi que toutes leurs familles

A tous mes cousins et cousines

A tous mes oncles

A toute les familles Guitoune et Merade

A tous les techniciens et doctorants de 3BS

A mon binome Nadjim et toute sa famille

Et a tous mes amis, amies et camarades de la promotion SA, IL et Biotech.

Tahar

# Sommaire

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction**..... .1

## **Première partie : Synthèse bibliographique**

### **Chapitre I : Généralités**

I-1-Famille des Myrtaceae ..... .3

I-2- Myrte commun ..... .3

I-3-Localisation et répartition géographique ..... .4

I-4-Principales utilisations et intérêts pharmacologiques..... .4

### **Chapitre II : Métabolites secondaires**

II-1-Polyphénols..... .6

    II.1-1-Flavonoïdes ..... .6

        II-1-1-1-Structure et classification ..... .6

    II-1-2-Anthocyanes ..... .7

        II-1-2-1-Structure ..... .7

    II-1-3-Tanins ..... .8

        II-1-3-1-Classification ..... .8

    II-2-Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires..... .9

### **Chapitre III : Oxydation et antioxydants**

III-1-Radicaux libres ..... .10

III-2-Stress oxydatif ..... .10

III- 3-Antioxydants..... .11

III-3-1-Antioxydants naturels .....	13
III-3-1-1-Antioxydants endogènes .....	13
III-3-1-2-Antioxydants exogènes .....	13
III-4-Effet des antioxydants sur la santé humaine.....	13

## **Chapitre IV : Huiles essentielles**

IV-1-Définition.....	14
IV-2-Utilisation des huiles essentielles .....	14
IV-3-Localisation et lieu de synthèse .....	14
IV-4-Propriétés physique .....	14
IV-5-Role physiologique.....	15

## **Deuxième partie : Partie expérimentale**

### **Chapitre V : Matériels et méthodes**

V-1-Matériel végétal .....	16
V-1-1-Préparation du matériel végétal .....	16
V-2-Extraction des composés phénoliques .....	18
V-3-Dosage des composés phénoliques .....	18
V-3-1-Dosage des polyphénols totaux .....	18
V-3-2-Dosage des flavonoïdes .....	19
V-3-3-Dosage des flavonols.....	20
V-3-4-Dosage des tanins condensés.....	20
V-3-5-Dosage des anthocyanes .....	21
V-4-Détermination des activités biologiques.....	23
V-4-1-Détermination de l'activité antioxydante .....	23
V-4-1-1-Pouvoir réducteur .....	23
V-4-1-2-Inhibition du radical DPPH.....	24
V-4-1-3-Inhibition du radical ABTS.....	26
V-4-1-4-Inhibition du radical H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	27
V-5-Détermination de l'activité antifongique .....	28
V-5-1-Test in vitro de l'activité antifongique .....	28

V-5-1-1-Origine et choix des souches antifongique .....	28
V-5-1-2-Préparation de l'extrait à tester (Fruits et feuilles).....	28
V-5-1-3-Préparation de l'extrait d'huile essentielle.....	29
V-5-1-4-Préparation et standardisation des suspensions sporales.....	30
V-5-2-Description de la méthode utilisée .....	30
V-5-3-Analyse statistique.....	31

## **Chapitre VI : Résultats et discussions**

VI-1-Dosage des antioxydants .....	32
VI-1-1-Polyphénols totaux.....	32
VI-1-2-Flavonoïdes .....	33
VI-1-3-Flavonols .....	35
VI-1-4-Tannins condensés .....	37
VI-1-5-Anthocyanes.....	38
VI-2-Activités antioxydantes et anti-radicalaires.....	40
VI-2-1-Pouvoir réducteur .....	40
VI-2-2-Mésure de l'activité anti-radicalaire DPPH .....	41
VI-2-3-Mésure de l'activité anti-radicalaire ABTS .....	43
VI-2-4-Inhibition peroxyde d'hydrogène.....	44
VI-3-Activité antifongique .....	46

<b>Conclusion .....</b>	<b>48</b>
-------------------------	-----------

### **Références bibliographiques.**

### **Annexes.**

### **Résumé.**

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**AA** : Acide ascorbique

**ABTS<sup>•+</sup>**: 2, 2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid]

**AlCl<sub>3</sub>**: Trichlorure d'aluminium

**ADN**: Acide désoxyribonucléique

**°C**: Degré Celsius

**d** : Diamètre

**DPPH<sup>•</sup>** : Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

**EC** : Equivalent de catéchine

**EQ** : Equivalent de quercétine

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**FD** : Facteur de dilution

**FRAP**: Ferric reducing antioxidant power

**F-C** : Follin-Ciocalteu

**GAE** : Equivalent d'acide gallique

**G6PD**: Glucose -6-phosphate- déshydrogénase

**GPx** Glutathion peroxydase

**GSH**: Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxydé

**HE** : Huiles essentielles

**ISO** : International Organization Standardization

**MS** : Matière sèche

**MW** : Poids moléculaire

**NADPH** : Nicotinamide-Adenine-dinucleotide-Phosphate

**ROO<sup>•</sup>**: Le radical peroxyde

**ROOH**: Hydroperoxydes organiques

**ROS**: Reactive Oxygen Species

**RL** : Radicaux libres

**SM** : Solution mère

**SOD**: Superoxyde dimustase

**Trs** : Tours

**UVA** : Radiations ultra-violettes

**IN** : inhibition total

**CIM** : Concentration Minimale Inhibitrice

## **Liste des tableaux**

**Tableau I** : Caractéristiques des échantillons analysés..... .16

**Tableau II** : Halos d'inhibition (en mm) provoqués par l'huile essentielle du myrte..... .45

**Tableau III** : Halos d'inhibition (en mm) provoqués par l'extrait de fruit du myrte..... .45

**Tableau IV** : Halos d'inhibition (en mm) provoqués par l'extrait de feuille du myrte..... .45

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Fruit (A) et Feuilles (B) de <i>Myrtus communis L</i> .....	3
<b>Figure 2</b> : Structure de base des flavonoïdes .....	7
<b>Figure 3</b> : Structure générale des anthocyanes .....	8
<b>Figure 4</b> : Classification des antioxydants .....	12
<b>Figure 5</b> : Broyeur (A) et Tamiseur (B).....	17
<b>Figure 6</b> : Poudre de feuilles (A) et du fruit (B) du <i>Myrtus communis L</i> .....	17
<b>Figure 7</b> : Protocole de dosage des composés phénoliques .....	18
<b>Figure 8</b> : Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes .....	19
<b>Figure 9</b> : Protocole de dosage des flavonoïdes.....	19
<b>Figure 10</b> : Protocole de dosage des flavonols .....	20
<b>Figure 11</b> : Protocole de dosage des tanins condensés .....	20
<b>Figure 12</b> : Protocole de dosage des anthocyanes .....	21
<b>Figure 13</b> : Etapes de mesure du pouvoir réducteur (FRAP).....	23
<b>Figure 14</b> : Réduction du radical DPPH .....	24
<b>Figure 15</b> : Etapes de piégeage du radical DPPH.....	25
<b>Figure 16</b> : Etapes du piégeage de l'ABTS .....	26
<b>Figure 17</b> : Etapes du piégeage du peroxyde d'hydrogène.....	27
<b>Figure 18</b> : Rotavapeur .....	28
<b>Figure 19</b> : Hydrodistillateur .....	29
<b>Figure 20</b> : Teneurs en polyphénols totaux des extraits étudiés .....	32
<b>Figure 21</b> : Teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés .....	34
<b>Figure 22</b> : Teneurs en flavonols des extraits étudiés.....	35
<b>Figure 23</b> : Teneurs en tannins condensés des extraits étudiés.....	36

<b>Figure 24</b> : Teneurs en anthocyanes des extraits étudiés.....	38
<b>Figure 25</b> : Pouvoir réducteur des extraits étudiés.....	39
<b>Figure 26</b> : Activité de piégeage du radical DPPH des extraits étudiés. ....	41
<b>Figure 27</b> : Activité de piégeage du radical ABTS des extraits étudiés. ....	42
<b>Figure 28</b> : Pourcentage d'inhibition du radical H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> des extraits étudiés. ....	44
<b>Figure 29</b> : Zones d'inhibition provoquées par les HE sur les deux souches fongiques <i>Aspergillus niger</i> et <i>Botrytis cinerea</i> .....	46
<b>Figure 30</b> : Zone d'inhibition (totale) provoquée par l'HE sur <i>Botrytis cinerea</i> .....	46
<b>Figure 31</b> : Zone d'inhibition des deux extraits (Feuille et fruit) sur <i>Aspergillus niger</i> . .	47

### Introduction

Depuis longtemps, des remèdes traditionnels à base de plantes sont employés sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques. L'isolement de principes actifs datant du XIX<sup>ème</sup> siècle, en améliorant la connaissance des structures, s'est progressivement séparé d'une phytothérapie traditionnelle souvent empirique avec une thérapeutique officielle incluant les principes chimiques et végétaux dont la pharmacologie était mieux connue qui accepte parfois avec une certaine méfiance l'emploi de végétaux ou d'extraits complexes de végétaux dont l'action est confirmée par l'usage sans être attribuée de façon certaine à une molécule type (**Bahorun, 1997**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie, parmi ces composés, il y a les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapie. La Pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale, les plantes s'attribuent le mérite de conférer à la recherche le pouvoir de se procurer la découverte de molécules actives nouvelles, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti radicalaires (**Bahorun, 1997**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (Racines, feuilles, fleurs et fruits) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits, les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Ces dernières années, les consommateurs ont plutôt tendance à opter pour les produits naturels, c'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale, parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants : les antioxydants tels que les flavonoïdes, ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**Chebil, 2006**).

L'intérêt accru des antioxydants d'origine naturelle dans le but d'augmenter la conservation des aliments s'explique par le fait que certains antioxydants synthétiques présentent des risques de cancérogénicité (**Velioglu et al, 1998**).

De nombreuses plantes, alimentaires ou médicinales, renferment des constituants antioxydants. L'apport régulier en phytonutriments possédant des capacités anti-oxydantes

significatives est associé à une faible prévalence de maladies liées au stress oxydatif à savoir le cancers, les maladies cardiovasculaires et athérosclérose. (**Bravo, 1998**) et à un faible taux de mortalité (**Anderson et al., 2001**).

C' est pourquoi nous nous sommes intéressé à faire une étude phytochimique de la plante *Myrtus communis* L. poussant à l'état spontané dans les monts de la région de Bejaia et à évaluer l'activité antioxydante de leur extraits. L'espèce *Myrtus communis* L., famille des myrtacées est connu par ces propriétés antiseptiques désinfectantes et astringentes (diarrhées, dysenterie) ainsi par leur effet hypoglycémique. Reconnu également dans le traitement des maladies des voies urinaires et respiratoires (**Mimica-Dukic et al, 2010 ; Baba Aissa, 1999**).

En Algérie, l'industrie pharmaceutique cherche comment connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle, quels sont leurs modes d'utilisation et quelles sont leurs indications dans diverses pathologies (**Djebaili, 1984 ; Bouattoura, 1988 ; Maizak et al., 1993**).

L'objectif de notre travail se résume par l'extraction puis l'estimation quantitative des différents composés phénoliques et la mesure de leurs activités biologiques (anti-oxydante et antifongique) contenues dans le myrte récolté dans trois régions différentes de Bejaia.

## I-Généralités

### I-1-Famille des Myrtacées

La famille des Myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de 5650 espèces réparties en 48 à 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques (**Govaerts et Lucas, 2008**). Selon **Quezel et Santa (1963)**, les myrtacées sont des plantes à feuilles entières, opposées, fleurs axillaires hermaphrodites et fruits bacciformes bleuâtres globuleux de 5 à 8 mm de diamètre.

### I-2-Myrte commun : *Myrtus communis* L

Le myrte commun (*Myrtus communis* L) est un arbuste à feuillage persistant de la famille des Myrtaceae (**Govaerts et Lucas, 2008**). C'est une espèce endémique qui pousse spontanément dans toutes les régions méditerranéennes (**Tuberoso et al., 2010 ; Berka-Zougali et al., 2010**). Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fruits sont utilisées comme agent antiseptique pour la cicatrisation des plaies, ainsi que dans le traitement des maladies urinaires (**Baytop, 1999**).

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 (**Figure 1**) luisantes, coriaces et opposées par deux ou quelquefois par trois, fleurs blanches odorantes solitaires à l'aisselle, des feuilles axillaires, périanthe 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**).

Cette plante vit dans les sols humides, bien drainés, neutres à alcalins, sols limoneux, elle est tolérante à la sécheresse et peut supporter le gel jusqu'à -5°C (**Lim, 2012**).



**Figure 1** : Fruit (A) et Feuilles (B) de *Myrtus communis* L (**Quezel et Santa, 1963**).

### I-3-Localisation et répartition géographique

Le myrte est le représentant typique de la flore méditerranéenne. Il est présent en Europe méditerranéenne, en Afrique septentrionale et en Asie occidentale, en Amérique du sud et en Australie (**Goetz et Ghedira, 2012**). Il pousse souvent dans les forêts des pins d'Alep et dans plusieurs régions situées à 600m d'altitude (**Aydin et Ozcan, 2007**).

### I-4-Principales utilisations et intérêts pharmacologiques

#### ➤ Médecine traditionnelle

Les différentes parties de la plante (Feuilles, fruits, fleurs et racines) ont été utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle pour soigner diverses maladies infectieuses.

En Algérie, l'infusion des feuilles est utilisée comme remède contre les infections des voies respiratoires et des voies urinaires. Les préparations à base de cette plante sont également préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits consommés naturellement ou préparés sous forme d'infusion, constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies (**Baba-Aissa, 1991 ; Beloued, 2003**).

#### ➤ Autres utilisations

L'utilisation des différentes parties de la plante est considérablement concentrée dans l'industrie alimentaire, comme pour la viande et les sauces, et dans l'industrie cosmétique (**Chalchat et al 1998**).

La présence de composés phénoliques (acides phénoliques, les polyphénols et flavonoïdes) dans les herbes et épices, ainsi que les huiles essentielles, gagne une attention croissante en raison de leurs différentes fonctions tel que l'activité antioxydante (**Lagouri et al., 1993 ; Tsimidou et Boskou, 1994 ; Lagouri et Boskou, 1995 ; Sacchetti et al., 2005 et Issa et al., 2006**). La consommation d'aliments contenant des huiles essentielles naturelles ou des extraits de plantes aromatiques est prévu pour prévenir le risque de nombreuses maladies radicalaires libres (**Young et Woodside, 2001 ; Milan, 2006**). Les plantes étudiées n'ont généralement pas reçu autant d'attention que les antioxydants et les

---

sources d'arômes en raison de leur faible rendement qu'ils ont pour usage commercial (Bradesi *et al.*, 1997; Soong et Barlow, 2004).

➤ **Intérêts pharmacologiques**

De nombreux auteurs ont signalé que le myrte et ses huiles essentielles possèdent un grand potentiel comme plante médicinale, avec des propriétés : hypoglycémiques (El fellah *et al.*, 2002 ; Appendino *et al.*, 2006 ; Gholamhoseinian-Najar *et al.*, 2009 ; Akin *et al.*, 2010 ; Zanetti *et al.*, 2010), anti-inflammatoires (Rossi *et al.*, 2009 ; Amira *et al.*, 2012), antiulcéreuses (Sumbul *et al.*, 2010), antimutagènes (Hayder *et al.*, 2008 ; Mimica-Dukic *et al.*, 2010) et anti-oxydantes (Montoro *et al.*, 2006 ; Aidi Wannes *et al.*, 2010 ; Tuberoso *et al.*, 2010 ; Snoussi *et al.*, 2011 ; Amira *et al.*, 2012).

## II- Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007**).

### II-1-Polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside...etc. (**Bruneton, 1999 ; Lugasi et al., 2003**).

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (**Lugasi et al., 2003**).

Les principales classes de composés phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (**King et Young., 1999 ; Tapiero et al., 2002**). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs et fruits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

#### II-1-1- Flavonoïdes

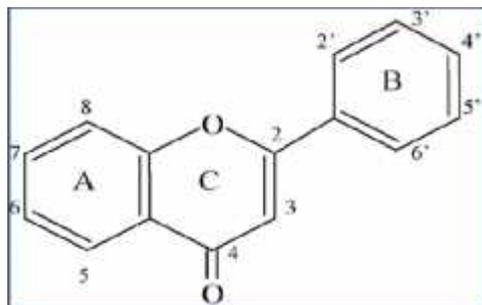
Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001**).

Du point de vue structurale, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6400 structures ont été identifiées (**Harborne et Williams, 2000**).

##### II-1-1-1- Structure et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-y-pyranne (**Skerget et al., 2005**). Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux

noyaux aromatiques qui désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, qui désigne la lettre C (**Dacosta, 2003**).



**Figure 2:** Structure de base des flavonoïdes (**Di Carlo et al., 1999**).

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (**Dacosta, 2003**).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiols, flavanols, flavandiols, aurones, chalcones, anthocyanes (**Effendi et al., 2008**).

## II-1-2- Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. La présence des anthocyanes est aussi remarquable dans les racines, tiges, feuilles et graines. En automne, les couleurs caractéristiques des feuilles des arbres sont dues aux anthocyanes et aux carotènes qui ne sont plus masqués par la chlorophylle (**Bessas et al, 2007**).

### II-1-2-1-Structures

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou

anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment illustré sur la figure 13 (Bessas *et al.*, 2007).

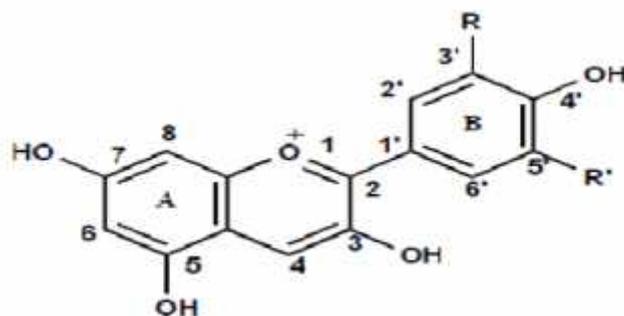


Figure 3 : Structure générale des anthocyanes (Bessas *et al.*, 2007)

### II-1-3-Tanins

Les tanins sont des substances phénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000 Da (Paris et Hurabielle, 1981).

#### II-1-3-1-Classification

Il existe habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).

##### a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques, et les tanins ellagiques (Paris et Hurabielle, 1981).

##### ➤ Tanins galliques (Gallo tanins)

Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.

##### ➤ Tanins ellagiques (Ellagitanins)

Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (Paris et Hurabielle, 1981).

##### b-Tanins condensés (Anthocyanidines)

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (Khanbabaea et Ree, 2001). Les tanins condensés sont des

molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Paris et Hurabielle, 1981**).

## **II-2-Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont reconnus par leurs activités biologiques nombreuses qui comprennent des activités antibactériennes, anticancéreuses, antifongiques, analgésiques, anti-inflammatoires, diurétiques gastro-intestinales, antioxydantes (**Harborne, 1998 ; Bruneton, 1999**).

Les flavonols et les flavonones représentent environ 80% des flavonoïdes connus, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance.

Souvent anti-inflammatoires, ils peuvent être antiallergiques, hépato-protecteurs, diurétiques, antibactériens et antiviraux (**Bruneton, 1999**).

Les anthocyanes ont des propriétés pharmacologiques très proches de celle des flavonoïdes vu leurs structures très semblable. L'effet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par piégeage des radicaux libres et la chélation des métaux.

### III-Oxydation et antioxydants

#### III-1- Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules indépendantes contenant un ou plusieurs électron (s) non apparié (s).

Les radicaux libres (RL) sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité. Une « réaction en chaîne » débute lorsqu'un RL attaque la molécule stable la plus proche en lui « volant » son électron, et la « molécule attaquée » devient alors elle-même un RL (**Martinez-Cayuella, 1995**). Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (**Anderson et al., 1996 ; Fosting, 2004**).

#### ❖ Différents type des ERO (Espèces réactives de l'oxygène)

**NB :** (Le symbole • indique la présence d'un électron célibataire).

➤ **L'anion -radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )** est issu de la réaction de l'oxygène avec un électron, souvent au niveau de la chaîne de transport d'électrons de la membrane mitochondriale.

➤ **Le peroxyde d'Hydrogène ( $H_2O_2$ )**, provient d'une réaction entre deux anions superoxyde qui met fin au processus radicalaire. IL s'agit d'un oxydant beaucoup moins puissant.

➤ **Le radical hydroxyle ( $HO^{\bullet}$ )** est le produit de la réaction du peroxyde d'Hydrogène avec les ions métalliques comme par exemple le fer. Avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, le radical hydroxyle est le plus instable et le plus réactif de toutes les espèces dérivées de l'oxygène.

#### III-2- Stress oxydatif

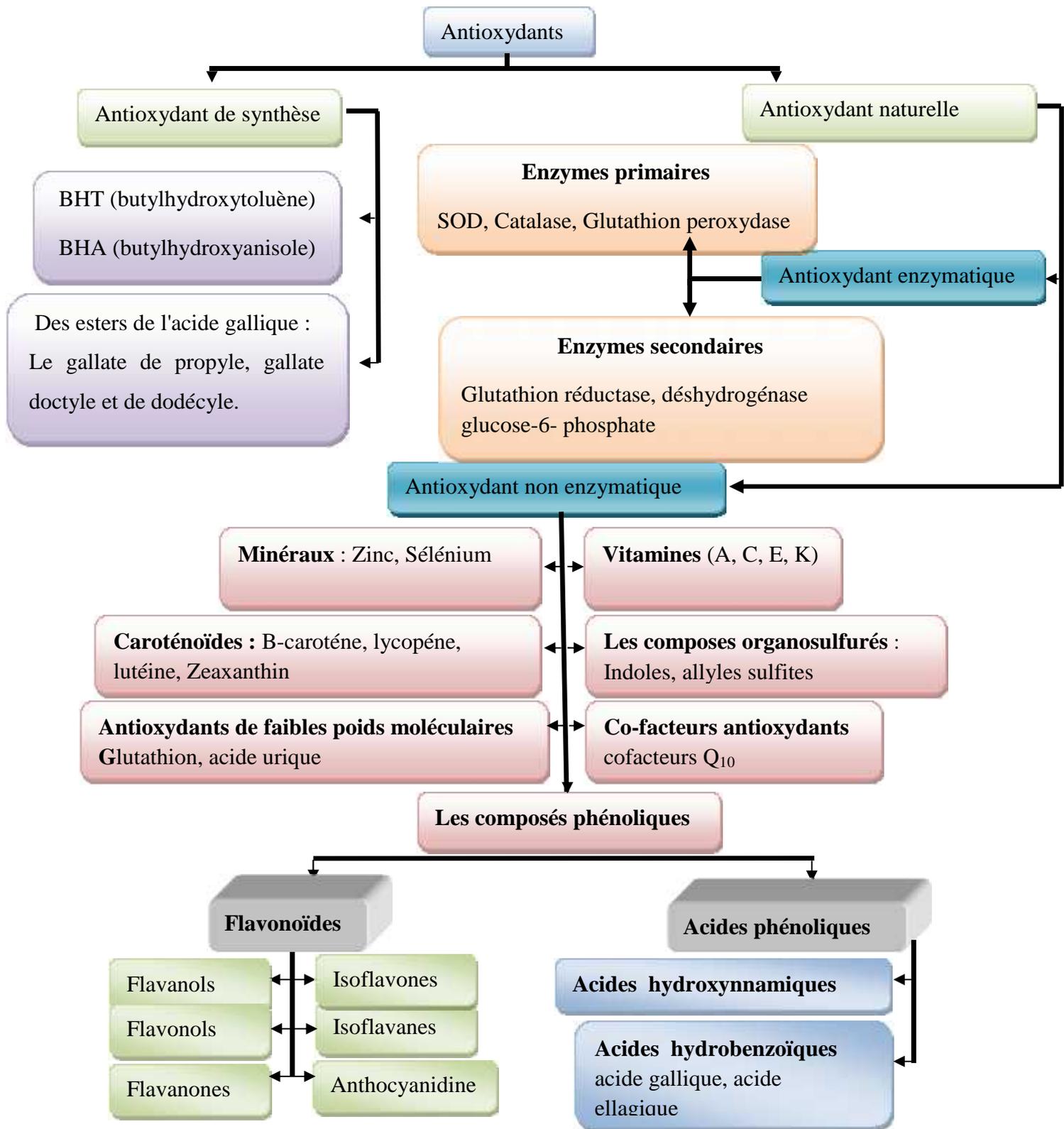
Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (**Aravodis, 2005**). Les cibles biologiques les plus vulnérables à cet endommagement oxydatif sont: l'acide désoxyribonucléique (ADN) par des modification des bases et des cassures des

brins (**Rehman et al., 1999**), les protéines (modification structurales et fonctionnelles) et les lipides à savoir peroxydation lipidique (**Hu et al., 2005**).

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreux désordres et maladies : athérosclérose (**Ko et al., 1998 ; Harrison et al., 2003**), la cancérogenèse (**Hussain et al., 2003 ;Klaunig et Kamendulis, 2004**), l'arthrite, l'asthme, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, le mongolisme (**Cavin, 1999**), les maladies cardiovasculaires, arthrose, cataracte, le diabète, chute de cheveux et le vieillissement (**Tohda et al., 2004; Pastre et priymenko, 2007 ; Surveswaran et al., 2007 ; Bekro et al., 2008**).

### **III-3- Antioxydants**

L'antioxydant est l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber la propagation des espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ces espèces, en les piègent pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre en générant du glutathion (**Favier, 2003**).



**Figure 4 : Classification des antioxydants (Ratnam et al., 2006)**

## **II-3-1-Antioxydant naturels**

### **III-3-1-1-Antioxydants endogènes (Enzymatiques)**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: le superoxyde dismutase SOD, la catalase et la glutathion peroxydase GPx (Avisar *et al.*, 1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur l'activité radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

Parmi ces enzymes il existe : la Superoxyde dismutase, Catalase, Glutathion peroxydase,

### **III-3-1-2-Antioxydants exogènes (non enzymatiques)**

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Vitamine C et E, polyphénols,...). Les composés phénoliques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les extraits végétaux.

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants (Ohrvall *et al.*, 1996 ; Goussard, 1999)

## **III-4 Effet des antioxydants sur la santé humaine**

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances anti oxydantes pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et des enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisés. De plus, Ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante : celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis à vis des radicaux libres produits par les radiations. Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou des produits dérivés de ceux-ci. Il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardio-vasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus antvieillessement et leurs implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif (Wolff, 1968 ; Turrens *et al.*, 1985).

### IV-1-Définition

La définition la plus retenues qui est très proche de celle de la norme ISO 9235 est celle adoptée par la commission de la pharmacopée européenne : « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**Desmares et al., 2008**).

### IV-2-Utilisation des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles confère à ses extraits aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes. Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé ou de l'agro-alimentaire. (**Fillatre, 2011**).

#### ➤ **Phytothérapie**

L'activité thérapeutique d'une huile essentielle est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnelles de ces principaux composés et à leurs actions synergétiques (**Mayer, 2012**). Les huiles essentielles ont des usages thérapeutiques en médecine en raison de leurs propriétés anticancéreuse, anti-inflammatoire, antivirale, antibactérienne et antioxydante (**Teixeira et al., 2013**).

### IV-3-Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences, certaines familles se caractérisent par un grand nombre d'espèce qu'elles regroupent en particulier dans les familles : Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Asteraceae et Apeaceae. (**Mohammedi, 2006**).

### IV-4-Propriétés physique

Les huiles essentielles sont en général liquides à température ambiante, volatiles, d'odeur très forte, incolores, jaune pales ou quelques fois bleues. Leur densité est <1 sauf pour les huiles essentielles de clou de girofle, la cannelle et le saffras. Elles sont

insolubles dans l'eau mais soluble dans les solvants, les huiles et la vaseline ; très altérables, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (**Charpentier et al., 2008**).

Le terme « Huile » s'explique par la propriété de solubilité dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Quant au terme « Essentielle » il fait référence au parfum, à l'odeur plus au moins forte dégagée par la plante (**Teusher et al., 2005**).

### **IV-5-Role physiologique**

Beaucoup de plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon **Bakkali (2008)**, les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation comme source énergétique facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par gout et effets défavorables.

## V-Matériels et méthodes

### V-1-Matériel végétal

La plante étudiée *Myrtus communis* L, a été récoltée durant les mois de Mars et avril 2015 dans trois régions différentes de la wilaya de Bejaia.

Pour la période de récolte des échantillons, chaque fruit et feuille de la même région ont été récoltés le jour même, c'est ce qui est présenté dans le tableau ci-dessous (**Tableau II**) avec les caractéristiques de chaque'un des fruits et feuilles.

**Tableau I** : Caractéristiques des échantillons analysés.

Partie étudiée	Echantillon	Origine	Dates de récolte	Caractéristiques
Fruits	FR1	Tifra	17/03/2015	Fruit ovoïde, charnu, noir bleuâtre à maturité.
	FR2	Ilmaten	04 /03/2015	
	FR3	Toudja	06/04/2015	
Feuilles	FE1	Tifra	17/03/2015	Feuilles vertes persistantes, coriaces et ovales.
	FE2	Ilmaten	04 /03/2015	
	FE3	Toudja	06/04/2015	

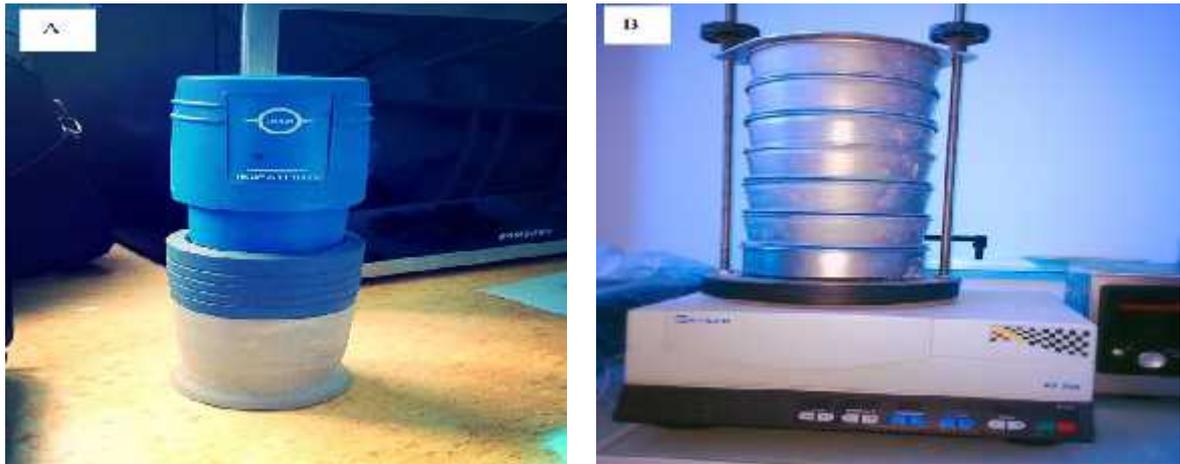
#### V-1-1-Préparation du matériel végétal

##### ➤ Séchage

Le séchage se fait dans l'étuve à une température de 40 °C pendant trois jours (jusqu'à la stabilisation du poids de l'échantillon).

##### ➤ Broyage

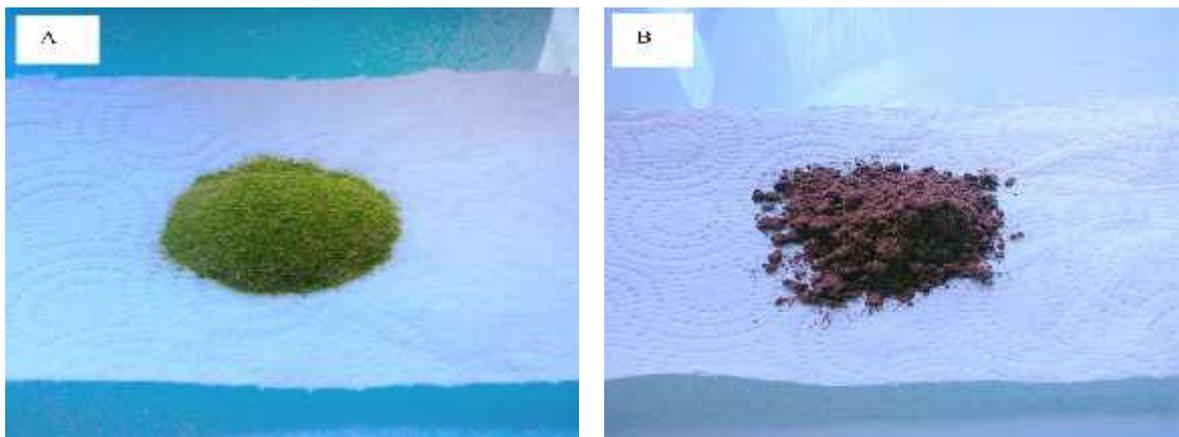
Les échantillons séchés sont réduits en poudre grâce à un broyeur (IKA model A11 basic).



**Figure 5:** Broyeur (A) et Tamiseur (B)

### ➤ Tamisage

Les feuilles et les fruits du myrte ont été tamisés par un tamiseur (Rheinische Str.36 model D-42781 Haan) ayant deux tamis de diamètre différent, l'un à 125  $\mu\text{m}$  et l'autre à 225  $\mu\text{m}$  afin de faciliter le tamisage. La poudre ainsi obtenue est conservée dans des bocaux en verre, fermés hermétiquement et placés à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leur utilisation.



**Figure 6 :** Poudre des feuilles (A) et des fruits (B) du *Myrtus communis L*

### V-2-Extraction des composés phénoliques

Le four micro-onde utilisé au niveau du laboratoire de Biochimie, Biophysique, Biomathématique et Scientométrie (BBBS), est un micro-onde domestique modifié qui fonctionne à une fréquence de 2450 MHz et une puissance de sortie maximale de 1000 W avec une incrémentation de 100 W.

La préparation de l'extrait du myrte est réalisée suivant la méthode proposée par Li et *al.* (2012) avec quelques modifications. 0,5 g de poudre de l'échantillon (Feuilles et fruits) sont homogénéisés avec 50ml de méthanol 50% dans une fiole jaugée de 250 ml, puis on place ce dernier au centre de l'appareil micro-onde pendant un temps de 2 minutes à une puissance de 500w.

Après le refroidissement de l'extrait à une température ambiante, on le filtre avec une pompe sous vide de porosité 3 (16 à 40  $\mu\text{m}$ ). Le filtrat obtenu est conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.

### V-3-Dosage des composés phénoliques

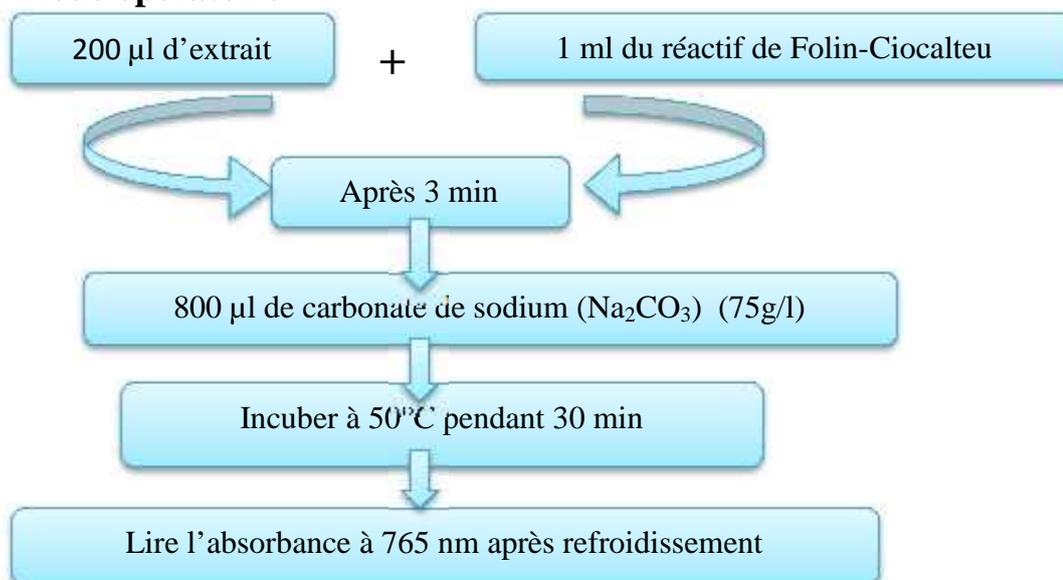
#### V-3-1-Dosage des polyphénols totaux

- **Dosage**

Le réactif de Folin-Ciocalteu a été employé pour déterminer la teneur en phénols totaux des extraits d'échantillons selon la méthode rapportée par Negi et *al.* (2003).

Le complexe produit absorbe fortement à une longueur d'onde de l'ordre de 765nm. Elle est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot et Charpentier, 2006).

- **Mode opératoire**



**Figure 7 :** Protocole de dosage des composés phénoliques (Negi *et al.*, 2003)

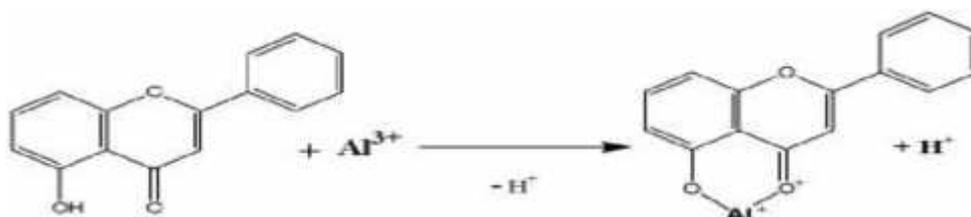
- **Expression des résultats**

Les teneurs en composés phénoliques sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage ; elles sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche. (Annexe 1).

### V-3-2-Dosage des flavonoïdes

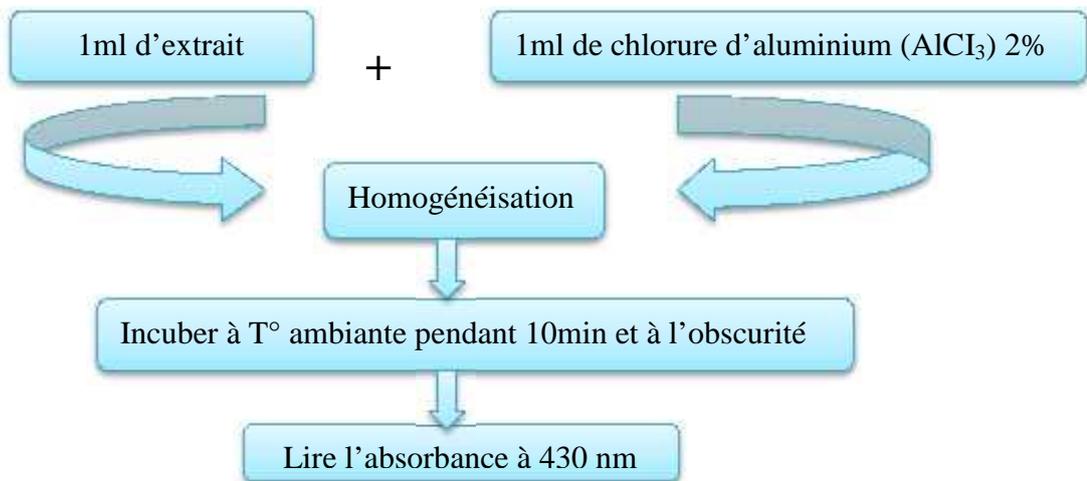
- **Dosage**

La méthode de Huang *et al.* (2004) au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) a été employée pour la détermination de la teneur en flavonoïdes des extraits étudiés.



**Figure 8:** Réaction du Chlorure d'Aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

- **Mode opératoire**



**Figure 9** : Protocole de dosage des flavonoïdes (Ordenez *et al.*, 2006)

- **Expression des résultats**

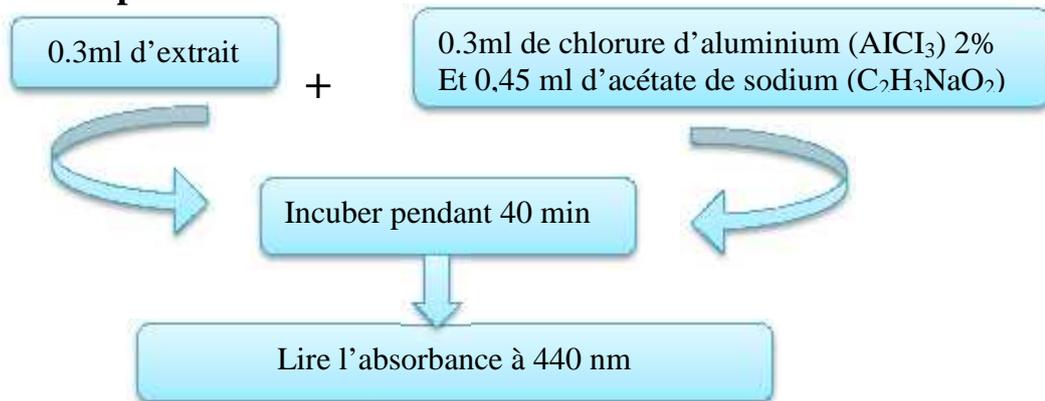
La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent quercétine par 100g MS en se référant à une courbe d'étalonnage. (Annexe 2)

### V-3-3-Dosage des flavonols

- **Dosage**

Le dosage des flavonols repose sur la propriété de chélation des métaux en formant des complexes jaunâtres. (Adedapo *et al.*, 2008).

- **Mode opératoire**



**Figure 10** : Protocole de dosage des flavonols (Adedapo *et al.*, 2008)

- **Expression des résultats**

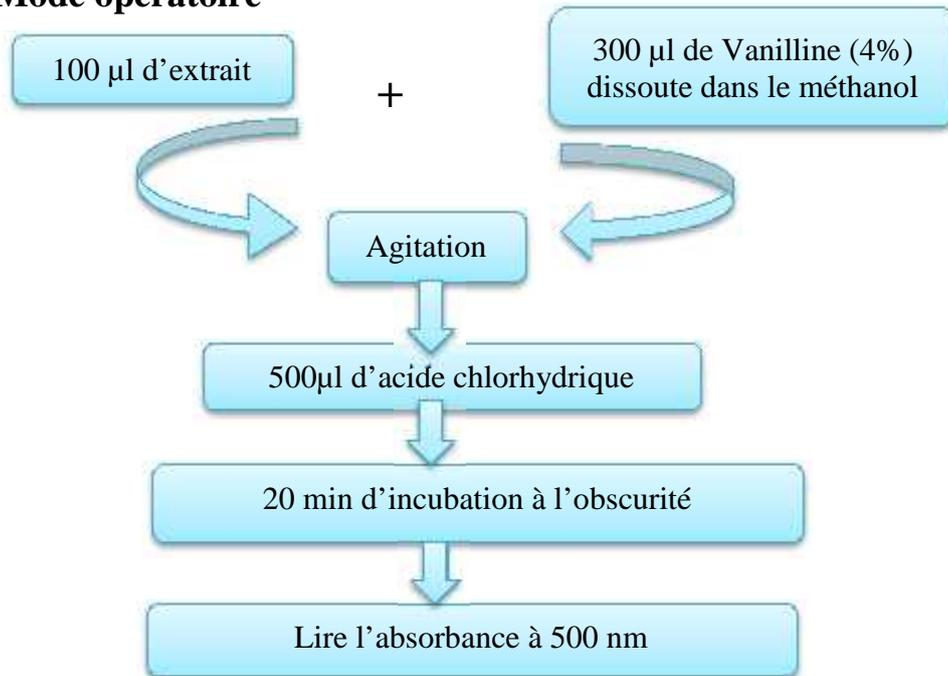
Une courbe d'étalonnage est préparée avec la quercétine, les résultats sont exprimés en mg/100g de la matière sèche (Annexe 3)

### V-3-4-Dosage des Tanins condensés (proanthocyanidines)

- **Dosage**

Le réactif de vanilline est spécifique pour les flavan-3-ols et les proanthocyanidines, la réaction est basée sur la condensation de l'Aldéhyde phénolique (Vanilline) avec la structure des flavan-3-ols et proanthocyanidines (Reed, 1995 ; Naczki *et al.*, 2004).

- **Mode opératoire**



**Figure 11** : Protocole de dosage des tanins condensés (Mélo *et al.*, 2006).

- **Expression des résultats**

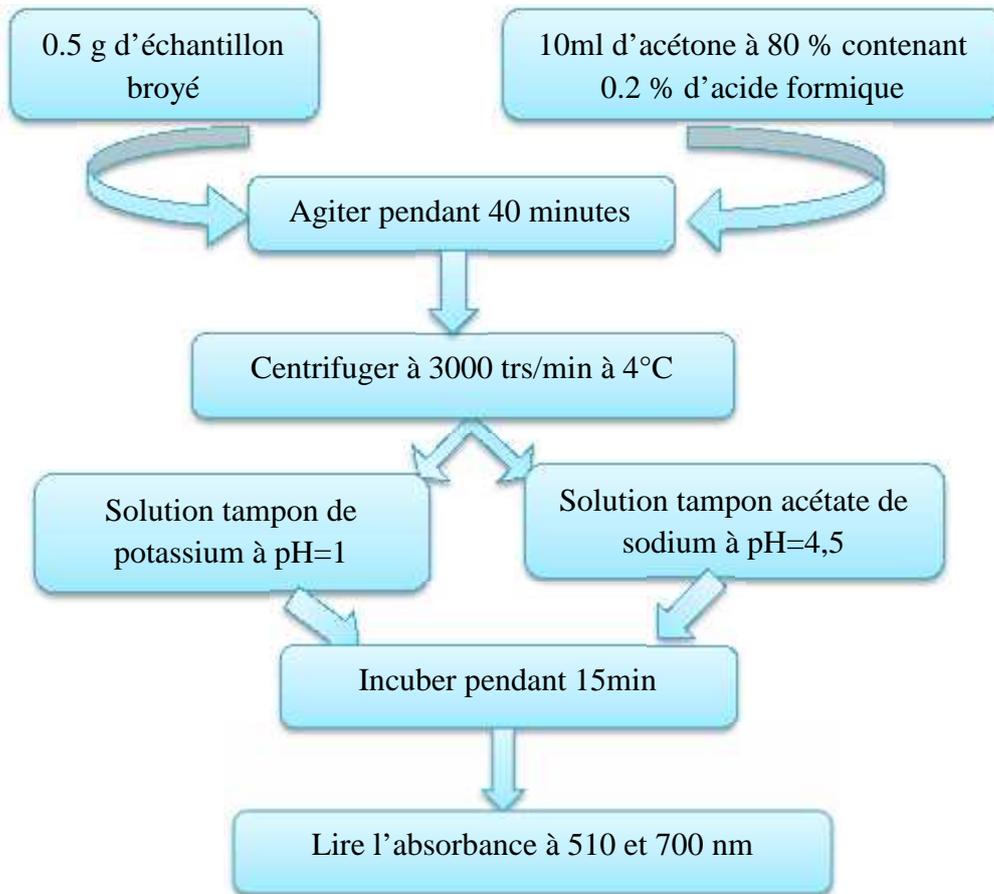
Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine/100g MS (Annexe 4)

### V-3-5-Dosage des Anthocyanes

- **Dosage**

Les résultats sont exprimés sur une base de cyanidin-3-glucoside. Les anthocyanines dégradées sous la forme polymère sont résistantes au changement de couleur indépendamment du pH et ne sont pas incluses dans ces mesures parce qu'elles absorbent à pH 4.5 aussi bien qu'à pH 1.0.

• **Mode opératoire**



**Figure 12:** Protocole de dosage des anthocyanes (Elisia et al., 2007).

• **Expression des résultats**

La teneur en anthocyanines est exprimée en mg équivalent de cyanidine-3-glucoside par 100 g de matière sèche en utilisant un coefficient d'extinction molaire ( ) de la cyanidine-3-glucoside.

Selon **Elisia et al. (2007)**, la teneur en anthocyanines est calculée selon la formule suivante :

$$C(\text{mg/l}) = \frac{A \cdot \text{MW} \cdot \text{FD} \cdot 1000}{\epsilon}$$

**MW** (Poids moléculaire) = 449,2 g /mol de cyanidine-3-glucoside.

(Coefficient d'extinction molaire) = 26900 mol<sup>-1</sup> . L . cm<sup>-1</sup>.

**FD** : Facteur de dilution.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

## V-4-Détermination des activités biologiques

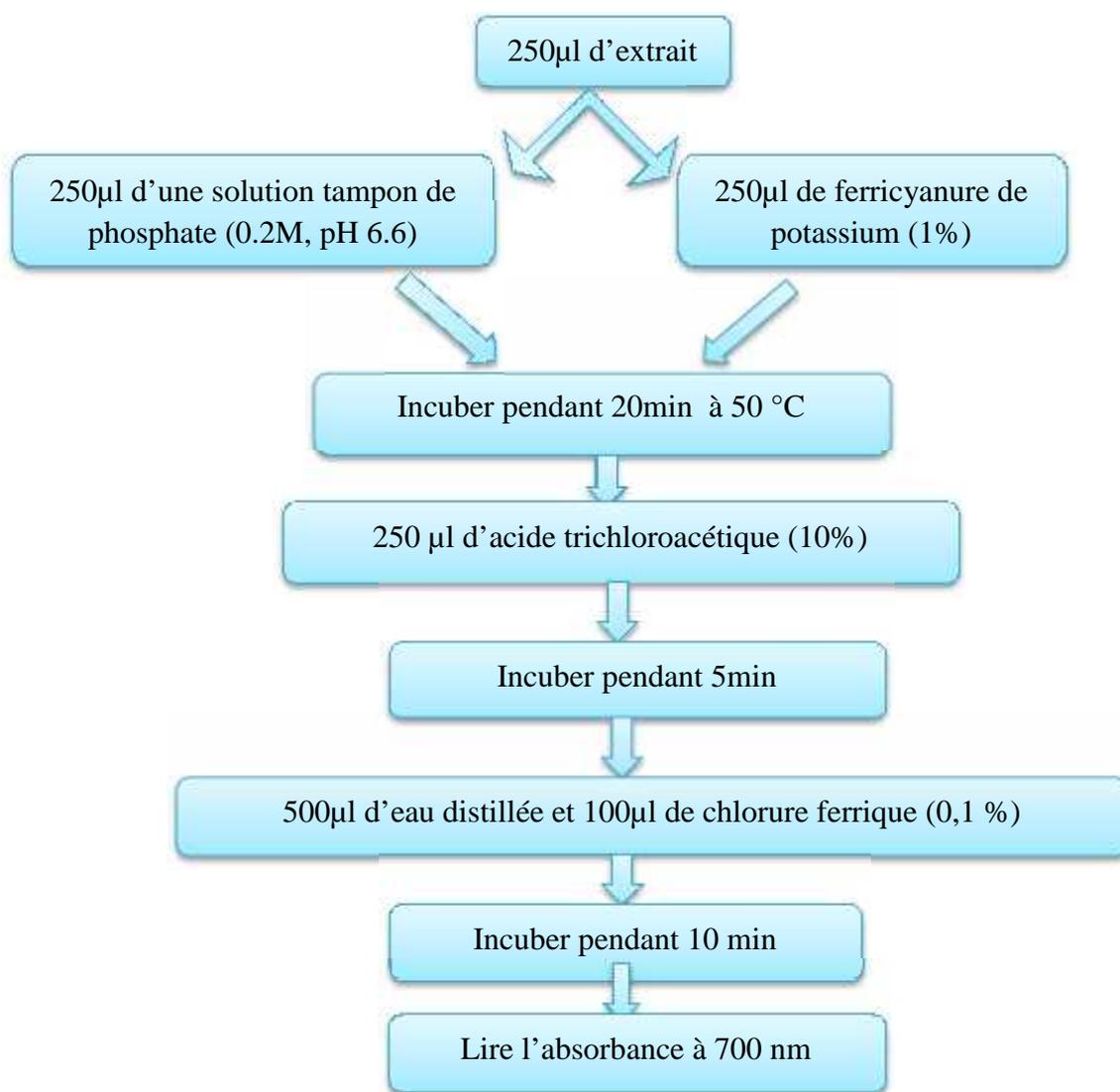
### V-4-1-Détermination de l'activité antioxydante

#### V-4-1-1-Pouvoir réducteur

- **Dosage**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure  $\text{Fe}^{3+}$  en fer ferreux. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir réducteur (Tepe *et al.*, 2005).

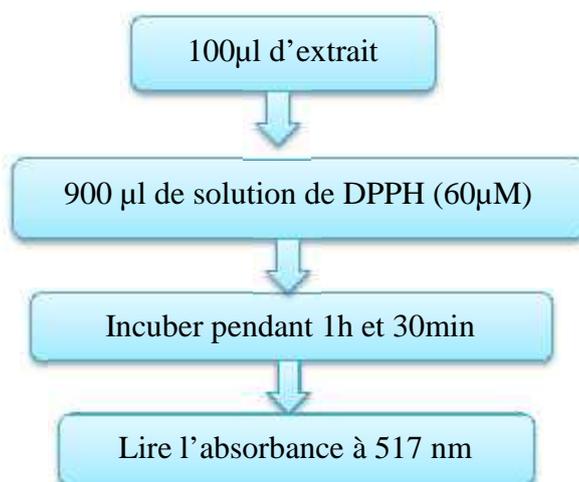
- **Mode opératoire**



**Figure 13** : Etapes de mesure du pouvoir réducteur (Gülçin *et al.*, 2002)



- **Mode opératoire**



**Figure 15** : Etapes de piégeage du radical DPPH (Jakobek et *al.*, 2007).

- **Expression des résultats**

Le pouvoir anti radicalaire de DPPH est exprimé en pourcentage :

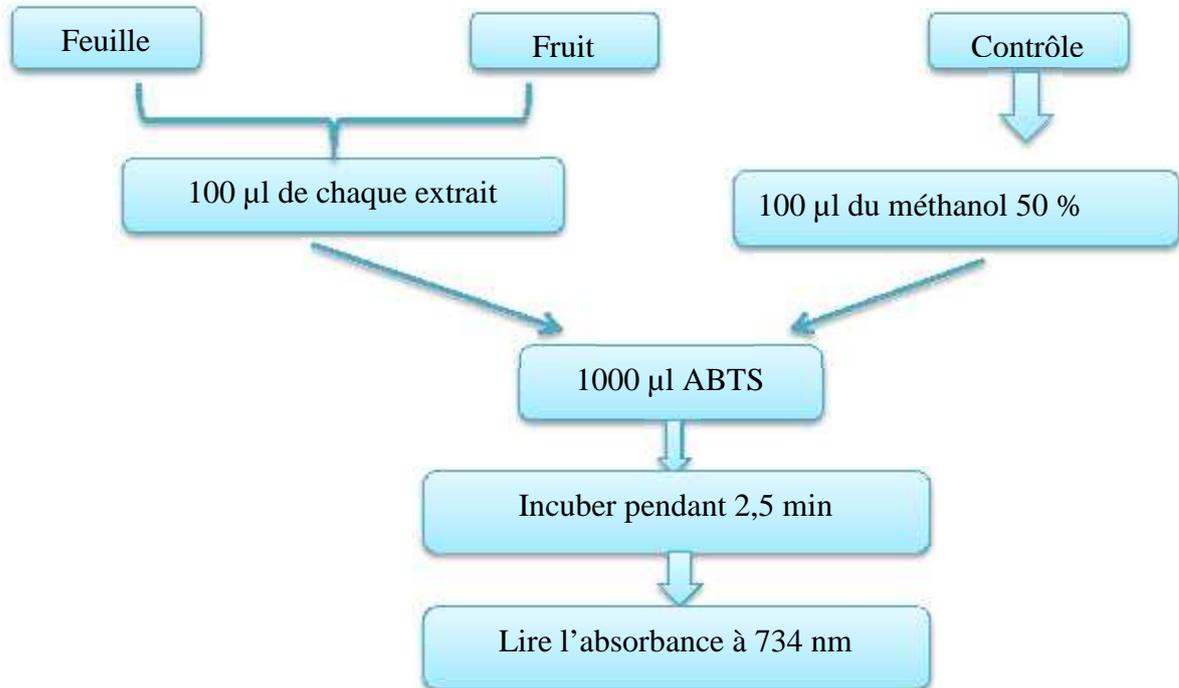
$$\text{Pouvoir anti radicalaire de DPPH} = \frac{[\text{ABS témoin} - \text{ABS échantillon}]}{\text{ABS témoin}} \times 100.$$

#### V-4-1-3-Activité anti radicalaire de l'ABTS.

- **Dosage**

Un des radicaux organiques le plus généralement utilisé pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante des composés purs et les mélanges complexes, est le cation radical dérivé de l'acide 2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique ou ABTS (Osman et *al.*, 2006).

- **Mode opératoire**



**Figure 16:** Etapes du piégeage de l'ABTS (Osman et al., 2006).

- **Expression des résultats**

Le pouvoir anti-radicalaire de l'ABTS est exprimé en pourcentage

$$\text{Pouvoir anti-radicalaire de l'ABTS} = [(Abs \text{ Contrôle} - Abs \text{ échantillon} / Abs \text{ Contrôle}) \times 100]$$

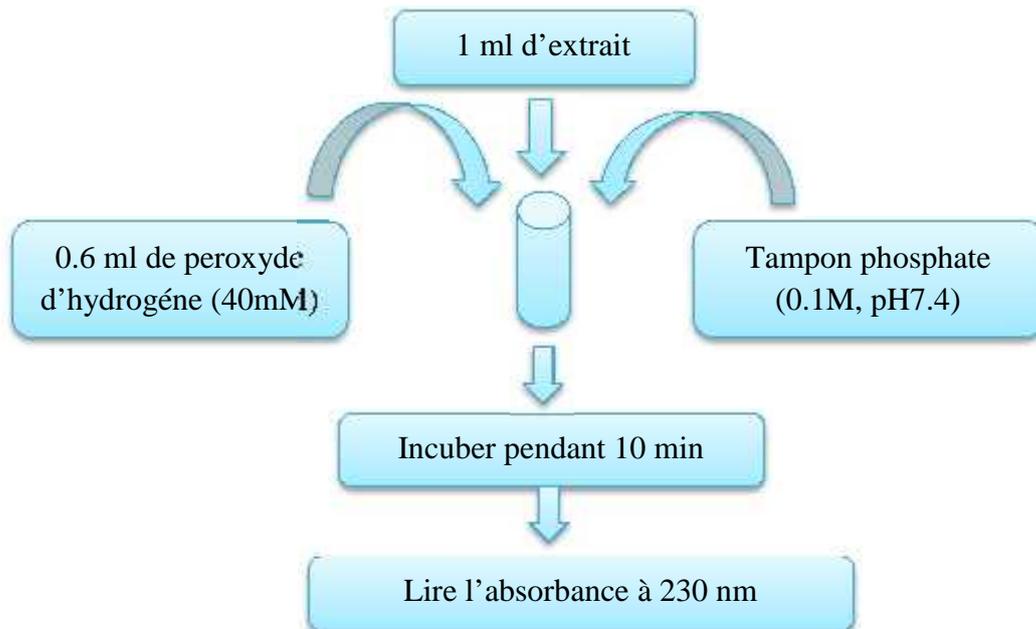
Où Abs : Absorbance

#### V-4-1-4-Inhibition de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

- **Dosage**

La capacité des extraits à piéger le peroxyde d'hydrogène a été déterminée par la méthode de **Ruch et al, (1989)**.

- **Mode opératoire**



**Figure 17** : Etapes du piégeage du peroxyde d'hydrogène (**Atmani et al., 2009**).

- **Expression des résultats**

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

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{[At - Ae]}{At} \times 100$$

Où: **At** est l'absorbance de témoin

**Ae** est l'absorbance de l'extrait

## V-5-Détermination de l'activité antifongique

### V-5-1-Test in vitro de l'activité antifongique

#### V-5-1-1-Origine et choix des souches antifongique

Les antifongiques utilisés pour la détermination de l'activité antifongique sont *Aspergillus niger* et *Botritis cineria*. Ces souches proviennent à l'origine d'une collection du laboratoire de microbiologique (LMA) de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia et du laboratoire de mycologie, ces dernières ont été choisies pour leur activité phytopathogène de la muniliaceae connue sous le nom de la pourriture grise de *Botritis cineria*, elle provoque l'une des maladies cryptogamiques la plus destructive de culture sous serres (Bouchet et al., 2005, Aissat et al., 2008) et *Aspergillus niger*, l'aspergille noir qui est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des Eurotiales responsable de mycoses pulmonaires chez l'Homme et les oiseaux.

#### V-5-1-2-Préparation de l'extrait à tester

L'extrait de myrte (Fruit et feuille) est récupéré dans un ballon et passé à l'évaporation rotative (rotavapeur) afin d'éliminer le solvant utilisé. L'extrait ainsi récupéré est conservé à une température de 4 à 6°C jusqu'à son utilisation ultérieure (Singh et al., 2006).



Figure 18 : Rotavapeur (Singh et al., 2006).

### V-5-1-3-Préparation de l'extrait d'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger modifié. Après avoir pesé un échantillon de 150g de matière végétale (Feuilles) de *Myrtus communis*, ensuite introduit dans un ballon de deux litre rempli d'eau distillée deux tiers (2 /3) de son volume, ce dernier est ensuite mis à ébullition pendant deux heures.

Le ballon ainsi chauffé produit de la vapeur chargée de substances volatiles, cette vapeur se condense au contact de réfrigérant, le condensat est recueilli dans une ampoule à décanter ou se sépare la phase aqueuse de la phase organique (Phase supérieure), cette dernière constitue l'huile essentielle qui sera traitée avec du sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 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 les tester sur les souches fongiques.



**Figure 19:** Hydrodistillateur

### V-5-1-4-Préparation et standardisation des suspensions sporales

Après avoir obtenu des cultures sporulées de 15 jours d'incubation à 21°C pour *B. cinerea* et 03 jours pour *A. niger* dans le milieu Sabouraud, 5ml d'eau physiologique stérile sont ajoutés dans des conditions stériles. A l'aide d'un râteau ou écouvillon stérile, étaler l'eau dans la boîte et racler de façon à détacher les spores. La suspension obtenue est prélevée à l'aide d'une micropipette dans un tube Eppendorf puis soumettre la solution mère à un vortex.

Le comptage de spores est effectué sur cellule de malassez dans le but de standardiser la suspension à  $10^7$  (Ajouz et al., 2011). En agitant la suspension de spores, 17ul sont prélevés et déposés sur les deux grilles d'une cellule de la lame Malassez.

### V-5-2-Description de la méthode utilisée

L'aromatogramme est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne, dans notre cas c'est la détermination de la sensibilité de deux souches fongiques (*Botritis cineria* et *Aspergillus niger*) vis-à-vis des extraits préparés de *Myrtus communis* L.

Cet examen se fait de même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par l'extrait à tester. (Fruit, feuille et huile). Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de ces substances sur milieu gélosé solide (Gélose Mueller Hinton Agar).

On ensemence des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, contenant le milieu gélosé Mueller Hinton additionné à la Gentamycine à partir des suspensions contenant  $10^7$  spores/ml (l'ensemencement est fait par l'étalement d'un écouvillon stérile imbibé de la solution de cette suspension dans chaque boîte), puis on les incube à 30 °C pour *A. niger* et 21 °C pour *B.cinera* pendant 15 à 20 minutes.

Des disques de papier Wattman (Disque à antibiotique vierge stérile) de 6 et 10 mm de diamètre sont stérilisés puis déposés sur la gélose séchée inoculée au préalable avec les suspensions fongiques, ensuite ces disques sont chargés des volumes croissants de chaque extrait (Fruit, feuille et huile) à 5, 10, 20, 30, 40 et 60 µl à l'aide d'une micropipette.

Les boîtes de Pétri sont placées au réfrigérateur, couvercles renversées à 4°C pendant 2 heures avant de les incuber à 21 et 30°C pendant 3 jours.

Après l'incubation, la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions, à l'aide d'un pied à coulisse (Résultats exprimés en mm). Chaque diamètre est représenté par la moyenne de deux mesures.

### **V-5-3-Analyse statistique**

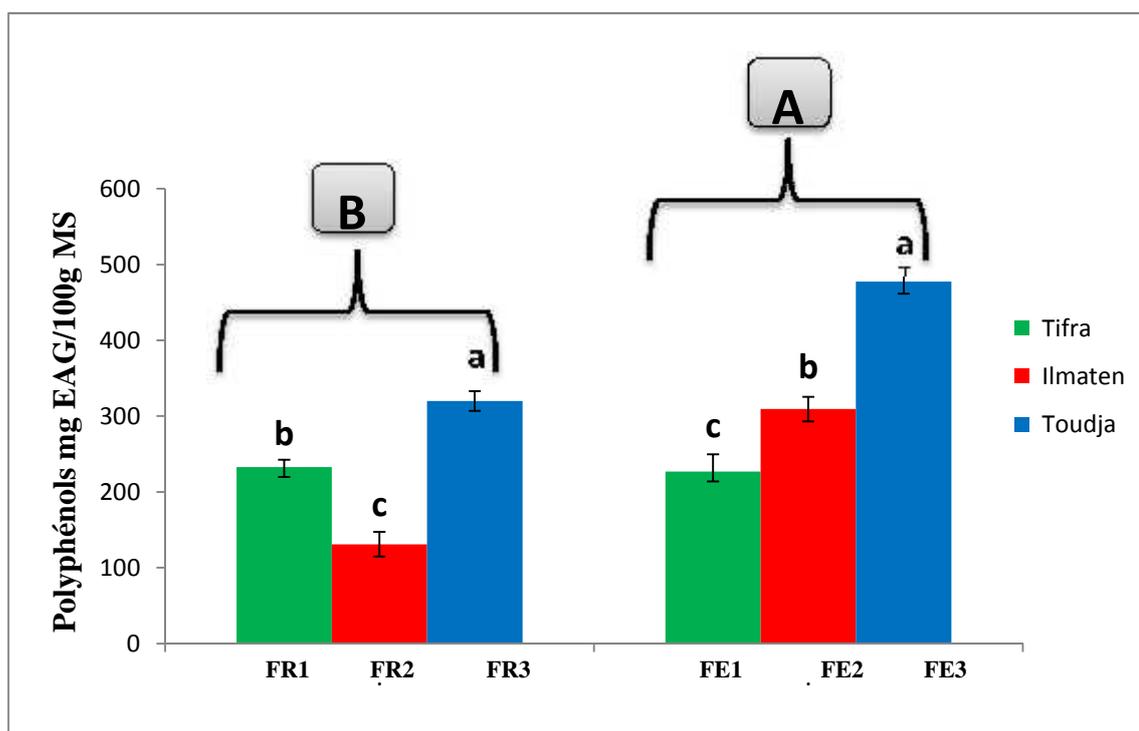
Toutes les données représentent la moyenne de trois essais. L'analyse statistique des résultats est effectuée avec l'application de l'analyse de la variance (ANOVA) par STATISTICA 5.5 et la comparaison des données est prise à la probabilité  $P < 0,05$ .

## VI-Résultats et discussions

### VI-1- Dosage des antioxydants

#### VI-1-1-Polyphénols 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.



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.  
 Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 20 :** Teneurs en polyphénols totaux des extraits étudiés

Les résultats illustrés sur la **figure 20** montrent la présence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les deux organes (Feuilles et fruits) d'une part et l'origine géographique d'autre part. Entre les deux parties, les extraits de feuilles contiennent une teneur élevée en polyphénol totaux par rapport à ceux des fruits.

. La teneur la plus élevée en polyphénols totaux des fruits est enregistrée pour FR3 ( $3,2 \pm 0,13$  mg EAG/g de MS) et la teneur la plus faible est celle de FR2 ( $1,30 \pm 0,22$  mg EAG/g de MS).

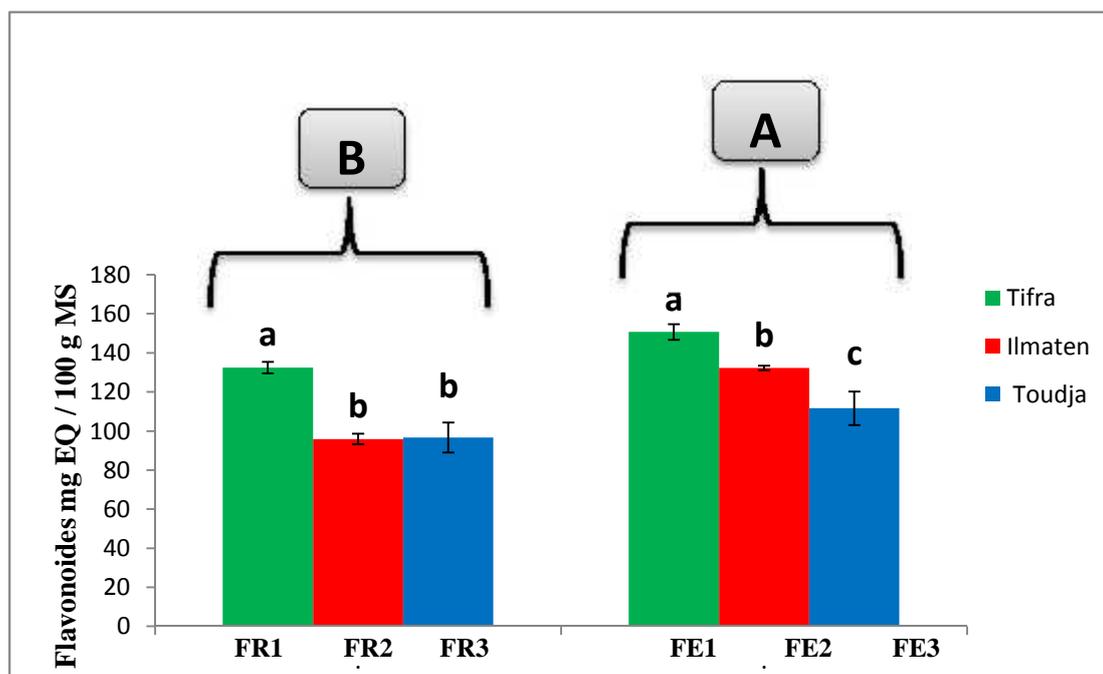
Pour les feuilles, la teneur la élevée en polyphénols totaux est enregistrée avec FE3 ( $4,77 \pm 0,162$  mg EAG/g de MS) et la plus faible est obtenue avec FE1 ( $2,77 \pm 0,014$  mg EAG/g de MS).

La variation des teneurs pour les différents extraits est attribuée à la polarité de polyphénols présents dans les fruits, la teneur élevée en polyphénols des extraits méthanoliques 50% des fruits du myrte pourrait être attribuée au méthanol qui cause l'instabilité de la membrane cellulaire, facilitant ainsi l'extraction de ces substances. D'autre part ; La faible teneur de ces extraits provenant d'autres régions indique que les polyphénols n'ont pas une affinité pour le méthanol 50% et cela peut être expliqué par la faible solubilité des composés phénoliques polaires présents dans les extraits à ce solvant en raison de sa faible polarité par rapport aux autres solvants (Ethanol ou Acétone).

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 une teneur en polyphénols totaux estimée à  $3,07$ mg EAG/g de MS.

### **VI-1-2-Dosage des flavonoïdes**

Le dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces derniers à former des complexes jaunâtres Flavonoïde-Aluminium par chélation des métaux (**Ribéreau-gayon, 1968**).



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.  
**Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$**

**Figure 21:** Teneurs en flavonoïdes des extraits étudiés

Les résultats donnés sur la **figure 21** montrent que les extraits de feuilles contiennent une teneur élevée en flavonoïdes par rapport à ceux des fruits avec la présence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ) d'une part entre les parties de la plante et d'autre part avec la répartition géographique.

La teneur la plus élevée en flavonoïdes des fruits est enregistrée avec FR1 ( $1,32 \pm 0,02$  mg EAG/g de MS) et la plus faible est obtenue avec FR2 et FR3 ( $0,95 \pm 0,0581$  et  $0,96 \pm 0,07$  mg EAG/g de MS) respectivement.

Pour les feuilles, la teneur la plus élevée en flavonoïdes est enregistrée avec FE1 ( $1,5 \pm 0,027$  mg EAG/g de MS) et la plus faible est enregistrée avec FE3 ( $1,11 \pm 0,08$  mg EAG /g de MS).

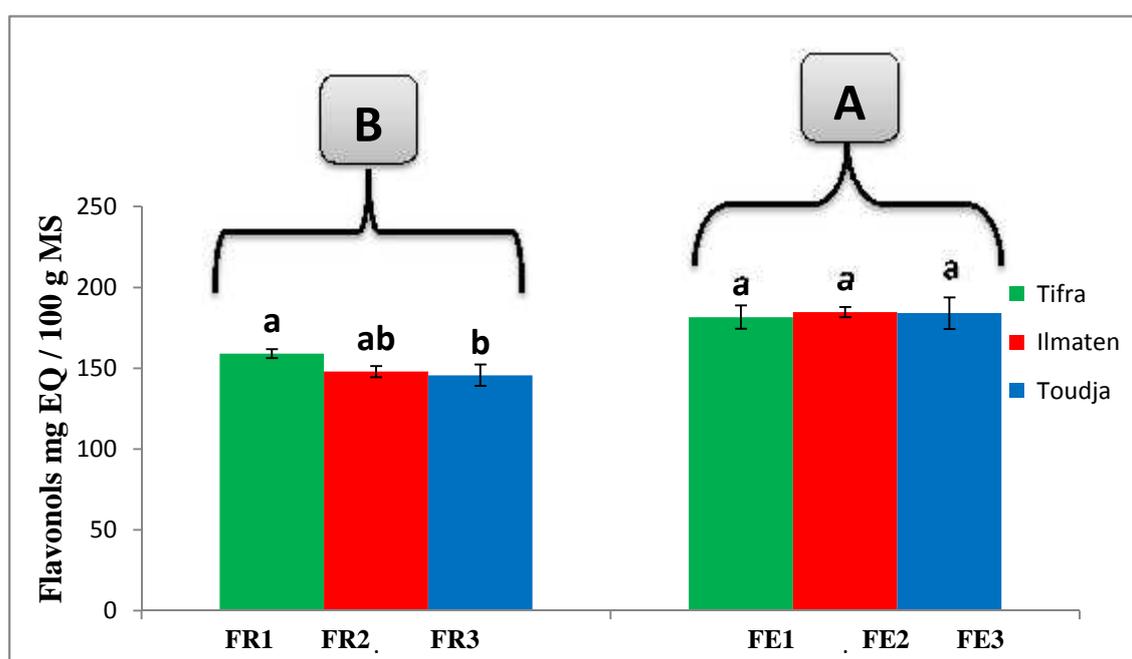
En se référant à la littérature, nos résultats obtenus dépassent largement ceux rapportés par **Aidi-Wannes et al. (2010)**, ayant travaillé sur la même espèce. La teneur en flavonoïdes des échantillons de feuilles enregistrés dans leur étude est estimée à  $5,17$  mg EQ/g de MS. Cependant, **Alemohammed et al. (2011)** enregistrent un taux relativement

élevé (21,99 mg EQ/g de MS), avec des échantillons de feuilles de *Myrtus communis* d'Iran.

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 sur la composition en flavonoïdes.

### VI-1-3- Flavonols

Après addition du Chlorure d'Aluminium ( $AlCl_3$ ) à 2% et d'Acétate de Sodium, une formation d'un complexe jaunâtre a été constatée dans le milieu réactionnel.



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;

**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.

Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 22 :** Teneurs moyennes en flavonols des extraits étudiés

Les résultats obtenus sur la **figure 22** montrent une forte teneur en flavonols pour les extraits de feuilles par rapport à ceux des fruits avec la présence d'une différence significative ( $p < 0,05$ ). Entre les deux organes d'une part et l'origine géographique des fruits d'autre part.

La teneur la plus élevée en flavonols des fruits est enregistrée avec FR1 (1,59  $\pm$ 0,02mg EAG /g de MS) et la plus faible est obtenue avec FR2 et FR3 qui sont respectivement (1,47 $\pm$ 0,07 et 1,45 $\pm$ 0,06 mg EAG /g de MS).

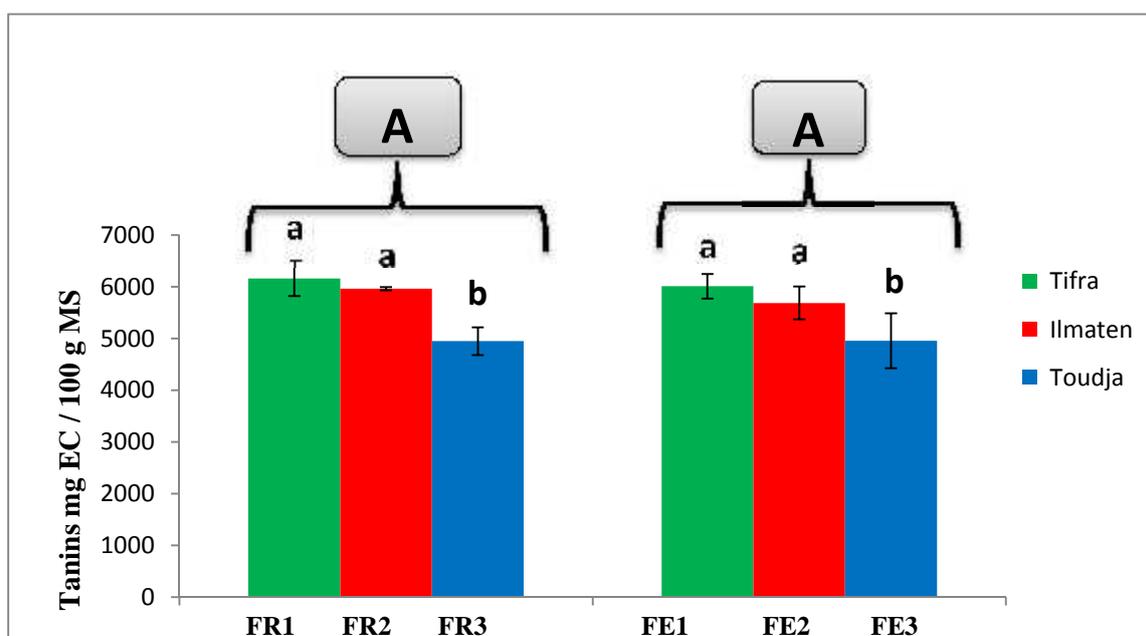
Pour les feuilles, les résultats obtenus montrent l'absence d'une différence significative, les teneurs enregistrées avec les trois échantillons de feuilles FE1, FE2 et FE3 sont respectivement (1,81 $\pm$ 0,034 ; 1,84 $\pm$ 0,031 et 1,84 $\pm$ 0,09 mg EAG/g de MS).

Il n'existe pas un meilleur solvant pour l'extraction des antioxydants ; cela pourrait être attribué à la diversité des composés phénoliques de polarité très variable. Par ailleurs, les flavonols peuvent être associés aux différentes structures cellulaires dont les protéines et les lipides.

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

#### VI-1-4- Tannins condensés

Nos résultats sont illustrés sur la **figure 23**.



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.

Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 23** : Teneurs en tannins condensés des extraits étudiés.

Les résultats obtenus sur la **figure 23** montrent l'absence d'une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les deux organes (Fruits et feuilles).

La teneur la plus élevée en tannins condensés des fruits est enregistrée avec FR1 et FR2 ( $61,60 \pm 3,83$  ;  $59,61 \pm 2,86$  mg EAG/g de MS) respectivement et la plus faible est obtenue avec FR3 ( $49,482 \pm 2,64$  mg EAG /g de MS).

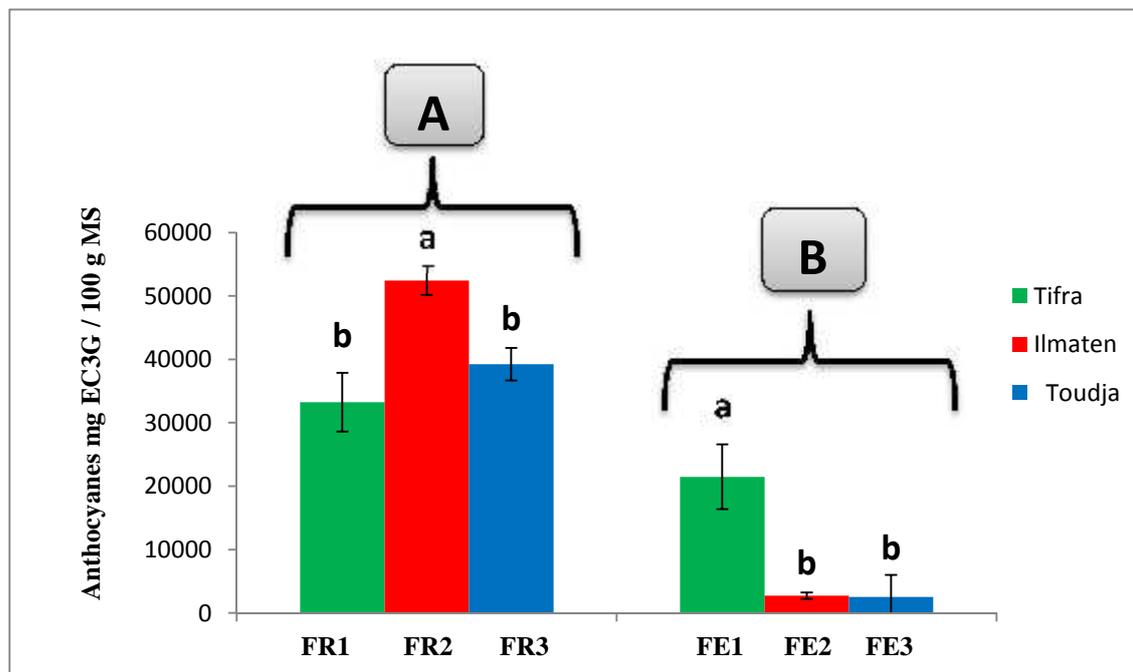
Pour les feuilles La teneur la plus élevée en tannins condensés est enregistrée avec FE1 et FE2 ( $60,09 \pm 0,31$  et  $56,87 \pm 2,36$  mg EAG /g de MS) et la valeur la plus faible est obtenue avec FE3 ( $49,55 \pm 5,33$  mg EAG /g de MS).

Les teneurs élevées des extraits méthanoliques 50% du myrte pourraient être attribuées au poids moléculaire important des tannins condensés, ce qui fait que ces tannins se dissolvent plus facilement dans les solvants moins polaires (méthanol) que les solvants polaires (eau), ceci laisse suggérer que la plupart des tannins condensés du myrte sont d'une faible polarité, sans négliger le fait que l'utilisation de l'alcool provoque l'instabilité de la membrane cellulaire et facilite l'extraction des composés phénoliques, surtout que la majorité des proanthocyanidines du myrte se trouvent au niveau des vacuoles des cellules, ils sont plus difficiles à extraire avec l'utilisation d'autres solvants à savoir l'eau pure ou l'eau+HCl.

A titre de comparaison, les résultats obtenus dépassent largement ceux rapportés par **Aidi-wannes et al. (2010)**. La teneur en tannins condensés des feuilles étudiées par ces auteurs est estimée à 26,55 mg EAG/g de MS. cet écart de concentration serait probablement expliqué par les facteurs suivant : la partie de la plante (Feuille et fruit) utilisée, la période de récolte, l'origine géographique et facteurs climatiques.

### VI-1-5-Anthocyanes

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de cyanidin-3-glucoside illustrés sur la figure 24.



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.  
**Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$**

**Figure 24 :** Teneurs moyennes en anthocyanes des extraits étudiés.

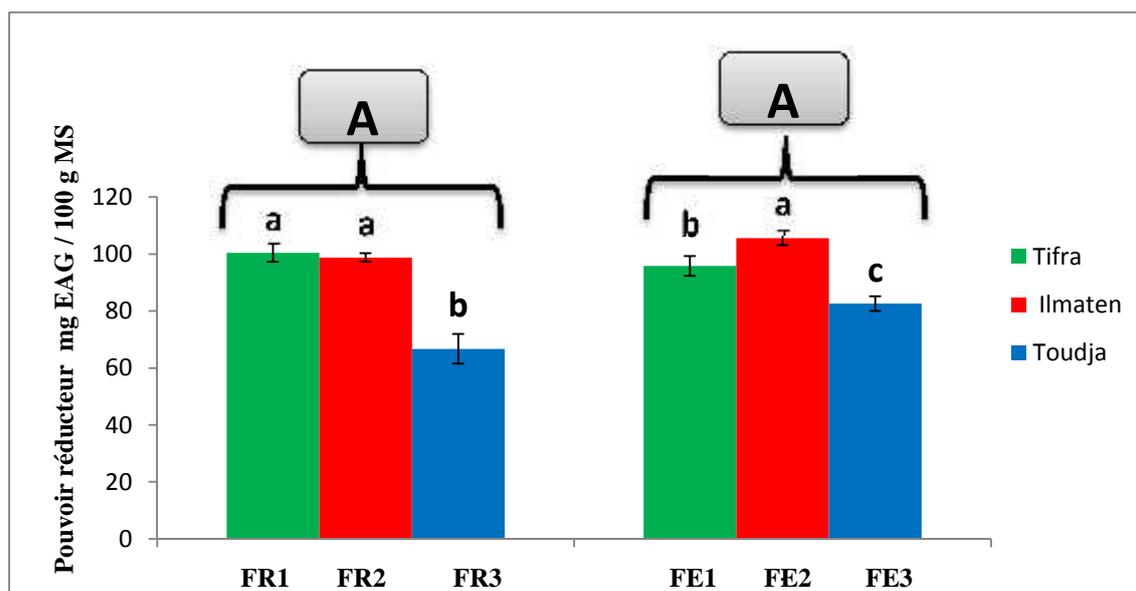
Les teneurs en anthocyanines des échantillons analysés présentent des différences significatives ( $P < 0,05$ ) selon la partie de la plante et l'origine géographique. Les teneurs des fruits sont nettement supérieures à celles des feuilles. Elles sont comprises entre 332,30 mg EC3G/g MS pour les échantillons FR1 et 524,34 mg EC3G/g MS pour FR2. En ce qui concerne les feuilles, la teneur maximale en anthocyanes est enregistrée dans FE1 (214,85 mg EC3G/g MS), par contre la teneur la plus faible est observée dans FE3 avec 25,04 mg EC3G/g MS. Les teneurs en anthocyanines de nos échantillons sont relativement élevées ; ceci pourrait être expliqué par le stade de maturité à la récolte, car ces fruits peuvent être récoltés au-dessus d'une longue période durant laquelle la biosynthèse des anthocyanines continue. L'effet de l'origine géographique n'est pas observé dans les échantillons de : FE2 (27,27 mg EC3G/g MS), FE1 (2,14 mg EC3G/g MS), des résultats qui ne s'accordent pas

portant les extraits étudiés proviennent de deux régions différentes ayant un même étage climatique.

## VI-2-Activités antioxydantes et anti-radicalaires

### VI-2-1-Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est la capacité que possède un extrait à donner un électron et à réduire le fer. Nos résultats sont illustrés sur la **figure 25**.



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.  
 Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 25 :** Pouvoir réducteur des extraits étudiés.

D'après ces résultats et d'après l'étude statistique, elles montrent l'absence des différences significatives ( $P < 0,05$ ), le pouvoir réducteur est similaire dans les deux parties de la plante (Feuille et fruit), excepté pour FE3 qui enregistre une teneur de  $0,826 \pm 0,02$  mg EAG/g MS et manifeste un pouvoir réducteur plus élevé que celui de FR3 ( $0,66 \pm 0,05$  mg EAG/g MS).

Le pouvoir réducteur le plus élevé qui est enregistré avec FE2 ( $1,05 \pm 0,024$  mg EAG/g MS) et FR1 ( $1,004 \pm 0,03$  mg EAG/g MS) pourrait être expliqué par le fait que ce solvant est favorable pour l'extraction des antioxydants (Composés phénoliques) du myrte,

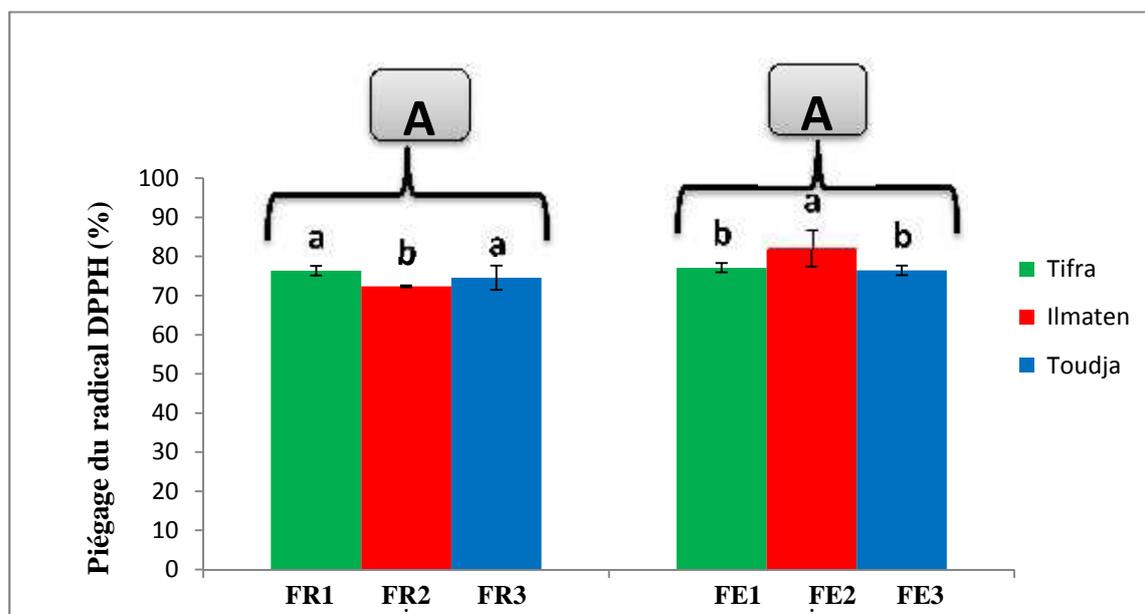
cela signifie que la polarité du solvant influence sa capacité à dissoudre un groupe de composés antioxydants et affecte ainsi l'estimation de pouvoir réducteur.

L'utilisation de l'acide trichloroacétique (10%) se justifie par le fait qu'il améliore l'extraction des antioxydants à partir de la matrice végétale. Cependant, les pouvoirs réducteurs faibles obtenus avec les extraits FR3 et FE3 pourraient être attribués à la concentration de cet acide (10%) qui n'est pas adéquate pour permettre une bonne extraction des antioxydants, ce qui a influencé la capacité réductrice de ces extraits.

Les données de la **figure 25** indiquent que le pouvoir réducteur varie selon l'origine des échantillons ; c'est le cas des échantillons FE2 ( $1,05 \pm 0,024$  mg EAG/g MS) et FE3 ( $0,82 \pm 0,025$  mg EAG/g MS) provenant de deux régions différentes ; Ilmaten et Toudja respectivement. Cela vérifie la constatation de **Zhao (2007)** qui rapporte que les conditions environnementales peuvent largement influencer la synthèse des composés phénoliques responsables de l'activité antioxydante.

## VI-2-2-Mésure de l'activité anti-radicalaire DPPH

La diminution de l'absorbance est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans les extraits à piéger les radicaux libres (**Piljac-Žegarac et al., 2009**). Les résultats du dosage sont illustrés sur la **figure 26**.



**Lettre minuscule** : Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule** : Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.

---

Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 26** : Activité de piégeage du radical DPPH des extraits étudiés.

Les résultats illustrés sur la **figure 26** montrent que les activités anti-radicalaires des fruits et des feuilles ne présentent pas de différences significatives ( $P < 0,05$ ).

En comparant l'activité de piégeage du radical DPPH des extraits des feuilles des trois régions (FE1, FE2 et FE3), on note qu'une forte activité est observée avec l'échantillon FE2 (81,84%) suivie des FE1 (77,11%), tandis que la plus faible capacité à réduire le radical DPPH est signalée avec les extraits des FE3 (76,46%).

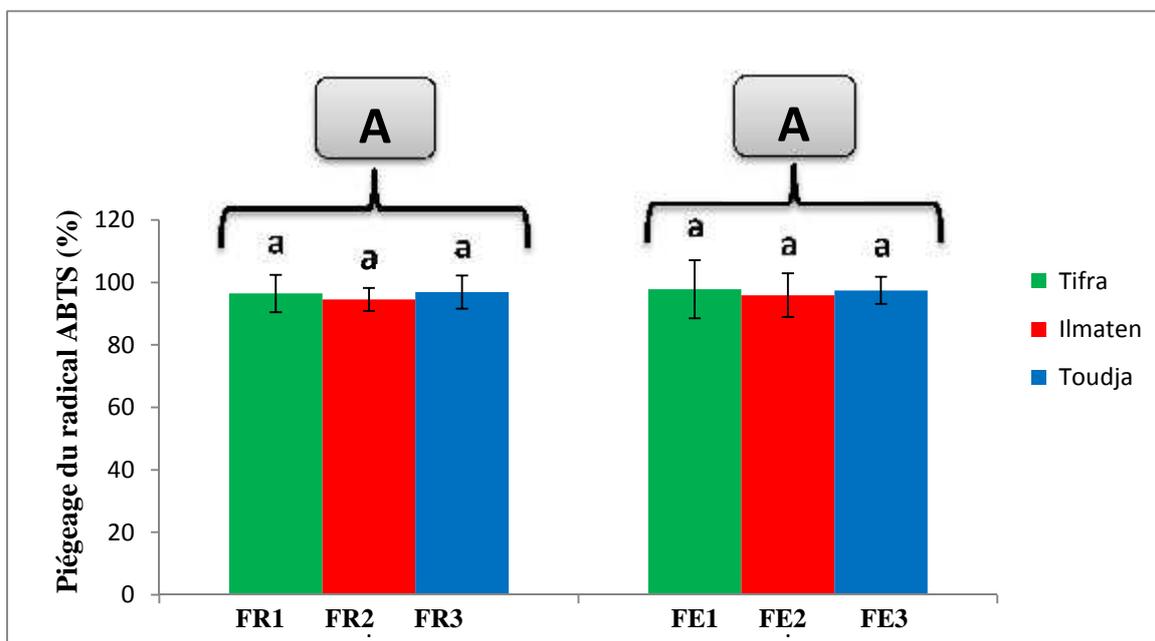
En ce qui concerne les fruits, une forte activité de piégeage du radical DPPH est présentée avec FR1 (76,35%), alors que la plus faible capacité à réduire le DPPH est signalée avec FR2 (72,38%).

D'après les données de la littérature sur la contribution de flavonoïdes à l'activité anti-oxydante, les mesures des activités de ces composés ainsi que les résultats de la présente figure (**figure 26**), cela peut être attribué à la richesse du myrte en anthocyanes, précisément à la cyanidine-3-O-glucoside qui est l'anthocyanidine majoritaire du myrte (**Serraino et al., 2003**).

L'activité antioxydante des extraits du myrte est influencée par la teneur en antioxydants, les variations génétiques (génotype), le degré de maturité à la récolte, les facteurs climatiques et les conditions de conservation (**Zhao, 2007**).

### VI-2-3-Mésure de l'activité anti-radicalaire ABTS

Nos résultats sont donnés dans la **figure 27** ci-dessous.



**Lettre minuscule :** Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule :** Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.  
 Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 27 :** Activité de piégeage du radical ABTS des extraits étudiés.

Les résultats illustrés sur la **figure 27** montrent que les activités anti-radicalaires des fruits et des feuilles ne présentent pas de différences significatives ( $P < 0,05$ ).

En comparant l'activité de piégeage du radical ABTS des extraits des fruits des trois régions (FR1, FR2 et FR3), on constate qu'une forte activité est enregistrée avec FE1 (97,84%) suivie de FE3 (97,46%).

En ce qui concerne les fruits, une forte activité de piégeage du radical ABTS est présentée par FR3 (96,89%), alors que la plus faible capacité à réduire l'ABTS est signalée avec FR2 (72,38%), tandis que la plus faible capacité à réduire le radical ABTS est signalée avec les extraits FR2 (94,53%).

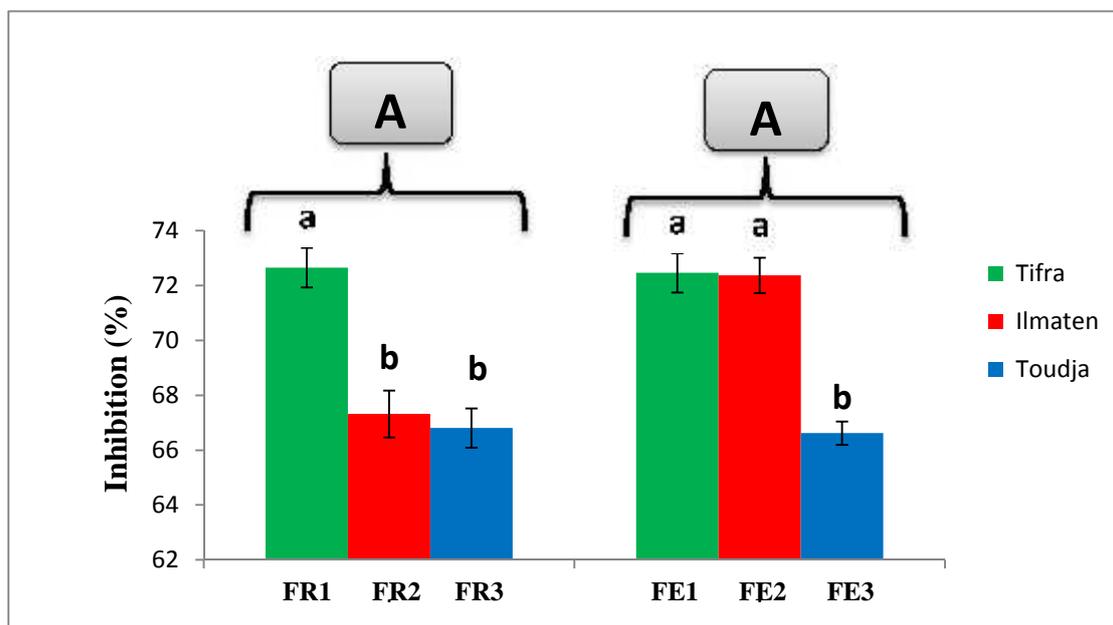
La capacité des composés phénoliques à céder un atome d'hydrogène dépend de leur structure chimique, de nombre de groupements hydroxyles et des interactions entre les différentes molécules de ces composés. En plus, l'efficacité anti-oxydante totale des

antioxydants à piéger les radicaux libres est déterminée non seulement par leur réactivité avec les radicaux libres mais aussi par d'autres facteurs à savoir la position dans le milieu, la nature des radicaux libres et les effets synergiques entre les antioxydants. (**Packer, 2001**).

L'effet de l'origine sur l'activité anti-radicalaire des échantillons analysés ne présente pas une différence significative ( $P < 0,05$ ), cela se justifie par les pourcentages d'inhibition qui sont plus ou moins similaires entre les feuilles et fruits provenant de trois régions différentes. Pour la région de Tifra ; FR1 (96,48%), FE1 (97,84%), pour la région d'Illmaten ; FR2 (94,53%), FE2 (95,90%) et pour la région de Toudja ; FR3 (96,89%), FE3 (97,46%) respectivement pour les fruits et feuilles.

#### VI-2-4-Inhibition du peroxyde d'hydrogène

Ce test est basé sur le piégeage d'une espèce oxygénée réactive non radicalaire (le peroxyde d'hydrogène) par un antioxydant, ce qui entraîne sa décomposition en molécule d'eau selon la réaction suivante :



**Lettre minuscule** : Ensemble des extraits de régions différentes pour la même partie de la plante ;  
**Lettre majuscule** : Ensemble des fruits et feuilles pour la même région.  
 Les lettres sont significativement différentes  $p < 0,05$

**Figure 28** : Pourcentage d'inhibition du peroxyde d'hydrogène des extraits étudiés.

Les résultats illustrés dans la **figure 28** montrent que les effets inhibiteurs des extraits analysés ne présentent pas de différences significatives ( $P < 0,05$ ), l'activité inhibitrice des extraits des feuilles est supérieure à celle des extraits des fruits. Dans les extraits des feuilles, l'effet inhibiteur de FE2 est 72,37% est nettement supérieur à celui des fruits de la même région FR2 (67,32%), par contre pour les extraits de feuilles et fruits provenant des deux autres régions (FE1 ; FR1 et FE3 ; FR3), les activités inhibitrices sont plus ou moins similaires ( $P < 0,05$ ).

Les différences des taux d'inhibition entre les échantillons pourraient être dues à la différence de structures des antioxydants présents dans chaque extrait aussi bien que aux effets synergiques des antioxydants (**Hayouni et al., 2007; Zhao, 2007**).

La composition chimique et les structures des composés actifs de l'extrait sont des facteurs important modulant l'efficacité des antioxydants naturels, l'activité antioxydante ne doit pas être expliquée seulement en se basant sur leurs teneurs en composés phénoliques et caroténoïdes mais aussi de caractériser ces composés.

### VI-3-Activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique des échantillons a été réalisée sur deux isolats *Aspergillus Niger* et *Botrytis cinerea*, ceci par la méthode des aromatoigrammes. Le pouvoir antifongique des huiles essentielles (FE1) et des extraits de *M.communis* (FR1, FE1), est exercé par le suivi de la cinétique de croissance mycélienne, les principaux résultats obtenus lors de la détermination de l'effet des huiles essentielles et des extraits sur la croissance mycélienne sont illustrés sur les tableaux II, III et IV.

**Tableau II :** Halos d'inhibition (en mm) produit par l'huile essentielle du myrte

Souche fongique	TEMOIS	V1=5µl	V2=10µl	V3=20µl	V4=30µl	V5=40µl	V6=60µl
<i>Aspergillus Niger</i>	0mm	4mm	6mm	7mm	7mm	54mm	/
<i>Botrytis cinerea</i>	0mm	IT	IT	IT	IT	IT	IT

**Tableau III:** Halos d'inhibition (en mm) produit par l'extrait de fruit du myrte

Souche fongique	TEMOIS	V1=5µl	V5=40µl	V6=50µl	V6=60µl
<i>Aspergillus Niger</i>	0mm	0mm	0mm	16mm	17mm
<i>Botrytis cinerea</i>	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm

**Tableau IV :** Halos d'inhibition (en mm) produit par l'extrait de feuille du myrte

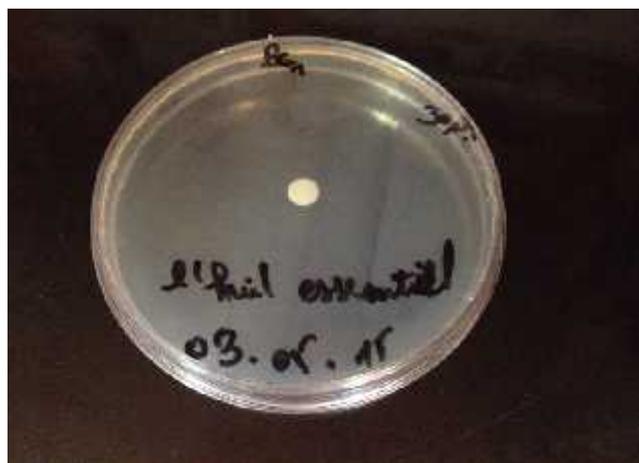
Souche fongique	TEMOIS	V1=5µl	V2=10µl	V3=20µl	V4=30µl	V5=40µl	V6=60µl
<i>Aspergillus Niger</i>	0mm	0mm	0mm	11mm	12mm	17mm	19mm
<i>Botrytis cinerea</i>	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm

D'une manière générale et d'après les résultats illustrés sur les trois tableaux, les huiles essentielles possèdent une activité élevée par rapport aux extraits (Feuilles et fruits) de *M.communis* (FE1et FR1) qui manifestent une faible activité inhibitrice vis-à-vis des souches fongiques testées (**Figure 29**).



**Figure 29** : Zones d'inhibition provoquées par les HE sur les deux souches fongiques *Aspergillus niger* et *Botrytis cinerea*

Il est à noter également que l'huile essentielle de *M.communis* (FE1) a exercé un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne d'une manière considérable vis-à-vis des deux souches fongiques testées. La comparaison de la croissance mycélienne des deux souches traitées avec cette huile révèle que la souche la plus sensible est *Botrytis cinerea* (inhibition totale), tandis que la souche la moins sensible à l'action de cette huile est *Aspergillus Niger* avec une CMI de 5µl avec un diamètre d= 4mm (**Figure 30**).



**Figure 30** : Zone d'inhibition (totale) provoquée par l'HE sur *Botrytis cinerea*

Dans ce sens, une étude publiée par **Valnet, (2005)** a montré que les composés chimiques ayant une efficacité antifongique à large spectre sont des phénols et d'après nos

résultats de dosage, on constate que le *M.communis L* est riche en composés phénoliques, cela pourrait expliquer sa forte activité antifongique.

Pour le cas des extraits, *Aspergillus Niger* est une souche sensible à la fois, aux extraits de feuilles et des fruits de *M.communis*. Les CMI enregistrées sont respectivement 20  $\mu$ l (d= 11mm) pour FE1 et 50 $\mu$ l (d= 16mm) pour l'extrait FR1, pour la souche *Botrytis cinerea* et d'après les résultats des tests réalisés, on constate qu'elle possède une forte résistance vis-à-vis des extraits étudiés (**Figure 31**).



**Figure 31** : Zone d'inhibition des deux extraits (Feuille et fruit) sur *Aspergillus niger*

**Mouden et al. (2010)**, ont étudié *in vitro* l'effet de quatre classes de fongicides sur la croissance mycélienne et la production de six isolats de *Botrytis cinerea* provenant de fraise cultivées au Maroc, dans leur rapport, ils ont montré que la croissance de ces derniers est importante en présence de benomyl même à des concentrations élevées et que le mancozébe représentant des dithiocarbamates qui inhibait faiblement la croissance mycélienne, La présence de ces composés dans le *M.communis* pourrait expliquer les résultats qu'on a obtenus.

---

## Conclusion

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de doser les flavonoïdes, les tanins dans les deux parties de la plante ainsi que les anthocyanes dans la partie fruit de la plante.

L'extraction des différents composés phénoliques les plus abondants dans notre plante nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait notamment les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les flavonols, les tanins et les anthocyanes.

La teneur des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins est variable entre les différentes parties de *Myrtus communis* L. La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans les FE3 avec  $4.77 \pm 0.16$  mg EAG / g MS suivi des fruits de la même région FR3 avec une teneur de  $3.20 \pm 0.13$  mg EAG / g MS. Concernant les flavonoïdes, nous avons observé des teneurs rapprochées, FE1 manifeste la teneur maximale de  $1.50 \pm 0.027$  mg EQ / g MS et pour les fruits, la valeur la plus élevée est observée dans FR3, elle est de  $1.32 \pm 0.029$  mg EQ/g MS. Pour le dosage des tanins, les teneurs obtenues sont classées comme suit : fruits > feuilles qui sont de l'ordre de  $61.60 \pm 3.38$  et  $60.09 \pm 0.31$  mg EC/g respectivement FR1 et FE1.

On peut conclure que les feuilles et les fruits étaient particulièrement riches en tanins, tandis que les fruits apparaissent pauvres en flavonoïdes par rapport aux feuilles qui présentent des teneurs plus ou moins importantes. Ces résultats importants reflètent les rendements élevés et la richesse de chaque partie de la plante en polyphénols à savoir les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant de tous les extraits des différentes parties de la plante par la capacité de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>, du radical ABTS<sup>+</sup>, du pouvoir réducteur ainsi que l'inhibition du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> afin de localiser la fraction qui représente l'activité la plus élevée.

Nous avons constaté pour l'activité antioxydante par le pouvoir réducteur que tous les extraits de la plante étudiée ont la capacité de réduire le fer, notamment pour FE2 avec une valeur maximale de réduction  $1.055 \pm 0.024$  mg EAG / g MS, pour le piégeage du radical DPPH, l'inhibition est maximale pour FE2 (81,84 %). En revanche, FE1 représentent le pouvoir d'inhibition maximal pour le peroxyde d'hydrogène.

La méthode de diffusion des disques nous a permis également de mettre en évidence le pouvoir antifongique des huiles essentielles vis-à-vis des deux souches (*Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*). Les résultats indiquent que l'huile essentielle du *Myrtus communis*

manifeste une bonne capacité inhibitrice de la croissance mycélienne des souches testées, notamment celle des feuilles provenant de la région de Tifra.

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons dire que les extraits de *Myrtus communis* ont une bonne activité antioxydante et une capacité de piégeage de radicaux libres importante, aussi une bonne capacité d'inhibition de la croissance fongique. Cette analyse trouve une importante application dans l'industrie pharmaceutique comme elle peut trouver également une application dans l'industrie alimentaire.

Comme complément à la présente étude, il serait nécessaire de l'étayer par :

- Estimation de l'activité antioxydante et antiradicalaire pour d'autres parties de la plante de *Myrtus communis* L à savoir la fleur, la tige et la racine.
- Estimation de l'activité antifongique des huiles essentielles de la partie fruit de la plante.
- Carracterisation des composés phénoliques des huiles essentielles du *Myrtus communis* L.
- Réalisation d'un test in-vivo des huiles essentielles du *Myrtus communis* L
- Etude antimicrobienne des extraits de plante sur des souches bactériennes.

### *Références bibliographiques*

#### *A*

- Abderrazak M. et Joël R. (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
- Abu Bakar M.F., Mohamed M., Rahmat A. et Fry J. (2009).** Phytochemicals and antioxidant activity of different parts of bambangan (mangifera pajang) and tarap (artocarpus odoratissimus). *Food chemistry*.113:479–483.
- Adedapo A., Jimoh F., Afolayan A. et Masika P. (2008).** Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 8 (54): 1-7.
- Aissat K., Nicot P.C., Guechi A., Bardin M. et Chibane M. (2008).** Grey mould development in greenhouse tomatoes under drip and furrow irrigation. *Agronomy for sustainable development*, 28(3), 403-409.
- Ajouz S., Walker AS., Fabre F., Leroux P., Nicot P., et Bardin M. (2011).** Variability of *Botrytis cinerea* sensitivity to pyrrolnitrin, an antibiotic produced by biological control agents. *Bio Control*, 56(3), 353-363.
- Akin M., Aktumsed A. et Nostro . (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.
- Allard J., Royall D., Kurian R., Muggli R., Jeejee bhoy K. (1994).** Effects of  $\beta$ -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans, *American Society for Clinical Nutrition*, 59: 884 - 90.
- Amira S., Dade M., Schinella G. et Ríos JL. (2012).** Anti-inflammatory, anti-oxidant, and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 25(1), 65-72.
- Amrouche A., Benmehdi H., Dalile H., Chabane S., Zaaboub I., Smahi D., Moussaoui A., Chabane D. (2013).** Evaluation of antifungal activity of free fatty acids methyl esters fraction isolated from Algerian *Linum usitatissimum* L. seeds against toxigenic *Aspergillus*, 3(6): 443-448.
- Amzad Hossain M., Ismail Z., Rahman A. et Kang SC.(2008).**Chemical composition and anti-fungal propereties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Industrial crops and products*,27,328-334.
- Anderson CM., Hallberg A., Hogberg T. (1996).** Advances in the developpement ofpharmaceutical antioxidant drug. *Food chemistry*, 28: 65-180.
- Appendino G., Maxia L., Bettoni P., Locatelli M., Valdivia C., Ballero M., Stavri M., Gibbons S.et Sterner O.(2006).** Antibacterial galloyted S.alkylphoroglucinol glusides from myrtle (*Myrtus comminis*). *Journal of Natural Product.*, 69,251-254.

## Références bibliographique

---

**Aravodis, E. (2005).** Antioxdant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4 (2):128-133.

**Avissar N., WhitinJ.C., et Allen PZ. (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase *Journal of Biological Chemistry*. 2: 15850-15855.

**Aydın C. et Özcan MM. (2007).** Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of Food engineering*, 79(2), 453-458.

### B

**Baba Aissa, F. (1991).** Les plantes médicinales d'Algérie, Ed .Edman, 93 P.

**Bahorun T. (1997).** Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritiu* , p 83.

**Baytop, T. (1999).** Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). Publication of the Istanbul University, 312.

**Bekro J.A.M., Konan K.M., Békro Y.A., Djié Bi M.G., Zomi Bi T.J., Mambo V., Boua B.B . (2008).** Phytocompounds of the extracts of four medicinal plants of Cote D'ivoire and assenssment of their potential antioxdant by thin layer chromatography. *Euro Journal Publishing*, 24(2), 219-228.

**Beloued, A. (1998).** les plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires (O.P.U), Algie, 277P.

**Berka-Zougali B., Hassani A., Besombes C., et Allaf K.,(2010).** Extraction of essential oils from Algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology. *Journal of Chromatography A*, 1217(40), 6134-6142.

**Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M. (2007).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.

**Biesalski H., Hemmes C., Hopfenmaller W., Schmid C. et Gollnick HP. (1996).** Effects of controlled exposure of sunlight on plasma and skin levels of -carotene. *Free radical research*, 24(3), 215-224.

## Références bibliographique

---

**Bloui J., Iorça L., Montreau FR. et Dufour JH. (1998).** Etude des Conditions Optimales Pour la Détermination des Composés Phénoliques Totaux par le Réactif de Folin Ciocalteu. *Connaissance de la Vigne et du Vin*, 6, 405-413.

**Boizot N. et Charpentier JP. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA-Amélioration, Génétique et physiologie Forestières, Laboratoire d'analyses Biochimique :79.

**Bouattoura, N. (1988).** Les ressources phylogénétiques. Importance Préservation-Utilisation. *Annales, INA, El Harrach-Alger*, vol 12 (1), T 1: pp. 43-63.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

**Bruneton, J. (2008).** Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed. Technologie et documentation Lavoisier pp.198-260. Paris, France.

### C

**Carrasco-Pancorbo A., Cerretani L., Bendini A., Segura-Carretero A., Gallina-Toschi T et Fernandez-Gutiérrez A. (2005).** Analytical determination of polyphenols in olive oils. *Journal of separation science*, 28(9-10), 837-858.

**Cavin, AL. (2007).** Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre *Detarium* (Fabaceae-Caesalpinioideae) : *D. microcarpum* Guill. Et Perr. Et des formes comestibles et toxiques de *D. seneegalense* J.F.Gmel. Thèse de doctorat. Genève, 277p.

**Chalchat J C., Garry R P., et Michet A. (1998).** Essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral. *Journal of essential oil Research*, 10(6), 613-617.

**Chira K., Suh J H., Saucier C. et Teissedre P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, 75- 82.

**Ciftci S., Keskin F., Ozcan S K., Erdem M A., Cankaya B., Bingol R., et Kasapoglu C. (2011).** In vitro antifungal activity of Ankaferd Blood Stopper against *Candida albicans*. *Current Therapeutic Research*, 72(3), 120-126.

**Combrinck S., Regnier T. et Kamatou G.P.P.(2011).** In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Industrial Crops and Products*,33,344-349.

**Cox S D., Mann C.M. et Markham J L. (2001).** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*, 91,492-497.

## Références bibliographique

---

**Cowan, M M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents *Clinical microbiology review*, 12: 564-582.

### D

**Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta. Paris. 317p.

**Desmares C., Laurent A. et Delerme C. (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Saint Denis, France, 3-12.

**Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A A. et Capasso F. (1999).** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life science*. 65 (4): 337-53.

**Dina Atmani, N C., Meriem B., Karima A., Hakima L., Hania B. et Nadjat D A. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *journal homepage*: 112, 303–309.

**Djebaili S. (1984).** Steppe algérienne. Phytosociologie et écologie. Ed. OPU, Ben-Aknoun, Alger, p177.

**Dixon R A., Dey P M. et Lamb C. (1983).** Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 55, 1-136..

**El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Amarti F., Rahouti M., Aafi A., Ismaili M R. et Farah A. (2010).** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois. *Acta Botanica Gallica*, 157(2), 285-294.

### E

**Elfellah M., Akhter M., et Khan M. (1984).** Anti-hyperglycaemic effect of an extract of *Myrtus communis* in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Journal Ethnopharmacol*, 11(3), 275-281.

**Elisia I., Hu C., Popovich D G. et Kitts D D. (2007).** Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. *Food Chemistry* 101: 1052-1058.

**Evans J L., Goldfine I D., Maddux B A. et Grodsky G M. (2002).** Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes, *Endocrine reviews*, 23: 599-622.

**Fillatre, Y. (2011).** Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la

## Références bibliographique

---

spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse doctorat de l'école doctorat: matières molécules, matériaux des pays de Loire, 20.

### F

**Fosting, S. (2004).** Etude phytochimique et des activités biologiques de *Maerua angensis* (Cappridaceae).Thèse de doctorat. Bamako, 149p.

### G

**Ganther, H E. (1999).** Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxinreductase. *Carcinogenesis*.20 (9): 1657- 1666.

**Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2<sup>ème</sup> Ed Technique et Documentation Paris. pp275.

**GholamhoseinianNajar A., Mansouri S., et Rahighi S. (2009).** Effects of Sub-Inhibitory Concentrations of *Myrtus communis* Leave Extracts on the Induction of Free Radicals in *Staphylococcus aureus*; A Possible Mechanism for the Antibacterial Action. *Asian Journal of Plant Sciences*. 8,551-556.

**Goetz P. et Ghedira K. (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse. collection phytothérapie pratique,Ed.Springer-Verlag france, paris,382P

**Goussard, J P. (1999).** Les radicaux libres et antioxydants, p 7-11.

**Govaerts R., Sobral M., Ashton P., Barrie F., Holst B., Landrum L., Matsumoto K., Mazine F., Lughadha E N. et Proneça C. (2008).** World checklist of Myrtaceae: Royal Botanic Gardens.15,455 P

**Govindarajan R., Agnihotri A K., Khatoon S., Rawat A K.S. et Mehrotra S.(2003).**Pharmacognostical evaluation of an antioxidant plant.9,264-269.

**Gravot, A. (2008).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.

**Gülçin Í., Oktay M., Küfreviöglu Í. Et Aslan A. (2002).** Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology* 79: 325-329.

### H

**Halliwell, B. (1999).** How to characterize a biological antioxydant free radical. *Research.Campus*, 9:1-32.

## Références bibliographique

---

**Harborne J B. et Williams C A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*. 55: 481-504.

**Harborne J B. (1998).** How to characterize a biological antioxydant free radical How to characterize a biological antioxydant free radical *International Standard Book Numbe*.

**Harrisson D., Griendling K K., Landmesser U., Hornig B. et Drexler H. (2003).** Role of oxidative stress in artherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 91:7-11.

**Hayder N., Skandrani I., Kilani S., Bouhlel I., Abdelwahed A., Ammar R. B., Mahmoud A., Ghedira K., et Chekir-Ghedira L. (2008).** Antimutagenic activity of *Myrtus communis* L. using the Salmonella microsome assay. *South african journal of botany*, 74(1), 121-125.

**Hussain S P., Hofseth L J. et Harris C C. (2003).** Radical causes of cancer. *Nature*. 3: 276-285.

**Hu S G., Li L. et He X W. (2005).** Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 1062:31-37.

### J

**Jacques B. et André R. (2004).** Biochimie métabolique .Ed. Ellipses .Paris. p: 217-225.

**Jakobek L., Šeruga M., Medvidovic-Kosanovic M. et Novak I. (2007).** Antioxidant Activity and Polyphenols of Aronia in Comparison to other Berry Species. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72 (4): 301-306.

### K

**Kansole, M. (2009).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir undiplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

**Khanbabae K. et Ree T R. (2001).** Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 18: 641-649.

**King A. et Young G. (1999).** characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*. 99:213-218

**Klaunig J E., Kamendulis L M. ( 2004).** The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44: 239-267.

## Références bibliographique

---

**Ko F N., Cheng Z J., Lin C N., et Teng C M. (1998).** Scavenger and antioxydant properties of prenylflavones isolated from *Artocarpus heterophyllus*. *Free Radical Biology and Medicine*. 25:160-168.

### L

**Lee Jungmin K W., Barnes T., Eisele M M., Giusti J., Haché H., Hofsommer S., Koswig D A., Krueger S., Kupina S K., Martin B K., Martinsen T C. Miller F., Paquette A., Ryabkova G., Skrede U. et Trenn J. (2005).**

Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. Department of *Food Science and Technology*, Corvallis, 88:1269-1277.

**Lagouri V. et Boskou D. (1995).** Screening for antioxidant activity of essential oils obtained from spices. *Developments in Food Science*, 37, 869-879.

**Leonard E., Yan Y. et Koffas M A. (2006).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metabolic engineering*, 8(2), 172-181.

**Li H., Deng Z., Wu T., Liu R., Loewen S. et Tsao R. (2012).** *Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. Food Chemistry*, 130(4), 928-936.

**Lim T K. (2012).** *Myrtus communis: Edible Medicinal And Non- Medicinal plants*. Volume 3, Fruit. Springer Netherlands, p.898.

**Lugasi A., Hovari J., Sagi K. et Biro L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta. biologica. szegediensis*. 47 (1-4):119-125.

**Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation*. Lavoisier .Paris. 211p.

### M

**Maizak K.; Brac P. et Hammiche V. (1993).** *Pharmacopée traditionnelle: Sahara septentrional*. Actes du 2<sup>ème</sup> colloque européen d'ethnopharmacologie, Heidelberg, p 169-181.

**Marfak A. (2003).** Thèse de doctorat Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools. pp: 6-7-10.

## Références bibliographique

---

**Martinez-Cayuella, M. (1995).** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*.77: 147-161.

**Mayer F. (2012).** utilisation Therapeutique des huilles essentielles : étude de cas en maison de retraite .Thèse doctorat, Lorraine, 16.

**Mélo E A., Lima V., Maciel M., Caetano A. et Leal F. (2006).** Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables. *Journal Food Technology*. 9 (2): 89-94.

**Mimica-Duki N., Bugarin D., Grbovi S., Miti - ulafi D., Vukovi -Ga i B., Or i D., Jovin E. et Couladis M. (2010).** Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molécules*, 15(4), 2759-2770.

**Montoro P., Tuberoso C I., Piacente S., Perrone A., De Feo V., Cabras P. et Pizza C. (2006).** Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1614-1619.

**Mouden N., Benkirane R., Ouazzani Touhami A., Badoc A. et Douira.(2010).** Effet de six fongicides sur le développement de six souche de *botrytis cinerea* isolées de fraises,149,85-102.

### N

**Nacz M. et Shahidi F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in foods. *Journal of chromatography A*, 1054: 95-111.

**Negi P S., Jayaprakasha G K., et Jena B S. (2003).** Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food Chemistry*. 80: 393–397.

### O

**Osaman A.,Wong K. et Ferrhough. (2006).** ABTS Radical driven oxidation of polyphenols,Isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 346: 321–329

**Ohrvall M., Vessby B. et Sundlöf G. (1996).** Tocopherols and heart disease nutrition report: 20/ Gamma, but not alpha, tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients, *Journal of Internal Medicine*, 239:111-117.

### P

**Packer L., Tritschler H J. et Wessel K. (1997).** Neuroprotection by the metabolic antioxidant -lipoic acid, *Free Radical Biology Medicine*, 22: 359 – 378.

## Références bibliographique

---

**Pastre J., Priymenko N. (2007).** Intérêt des antioxydants de l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Médecine Vétérinaire*, 158(4): 180-189.

**Paris M. et Hurabielle. (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.

**Pincemail j., Bonjean K., Cayeux K. et defraigne J.O. (2002).** Physiological action of antioxydant defences. *Nutrition Chimique et Metabolisme*, 16:233-239.

### Q

**Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore d 'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed.CNRS,Paris.

### R

**Recio M C., Rios J L. et Villar A. (1989).** A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988, *Phototherapy Research*, 3, 117-125.

**Reed J D. (1995).** Nutritional Toxicology of tannins and related polyphenils in forage legumes. *Jornal of animal Science*.73:1516-1528.

**Rehman A., Nouroozj. Et Moller W. (1999).** Increased oxidative damage to all DNA bases in patients with type II diabetes mellitus. *EEBS*, 488:120-122.

**Ribéreau-Gayon, P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris 254pp

**Rice-Evans C A., Miller N J., Bolwer P G., Bramley P M. et Ridham J B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Radical Researc.* 22: 375-383.

### S

**Sass-Kiss A., Kiss J., Milotay P., Kerek M M. et Toth-Markus M. (2005).** Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International* 38: 1023-1029.

**Seyoum A., Asres K. et El-Fiky F K. (2006).** Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058–2070

## Références bibliographique

---

**Skerget M., Kotnik P., Hadolin.M., Hras A., Simoncic M. et Knez Z. (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry*. 89: 191-198.

**Snoussi A., Essaidi I., Ben Haj Koubaier H., Chaabouni M M. et Bouzouita N. (2012).** Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and ethanol extracts of *Myrtus communis L.* organs (berries, leaves and floral buds). *Journal de la société chimique de Tunisie*, 14, 69-76.

**Surveswaran S., Cai Z Y., Cark H., Sun M. (2007).** Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food chemistry*, 102: 938-953.

### T

**Tapiero H., Tew K D., Nguyen B G. et Mathé G. (2002).** Polyphenols do they play a role in the prevention of human pathologies, *Biomed. pharmacother.* 56: 200-207.

**Teixeira B., Marques A., Ramos C., Nuno R., José M.F., Nogueira., Saraiva J A. et Nunes M.L., (2013).** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils, 43, 587-595.

**Tohda M., Marikami Y., Mastsumoto K., Watanabe H., (2004).** Antioxidant and free radical scavenging activity of choto-san and its related constituents. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 27:38-46.

**Tsimidou M., Papavergou E. et Boskou D. (1995).** Evaluation of oregano antioxidant activity in mackerel oil. *Food research international*, 28(4), 431-433.

**Tuberoso C I G., Rosa A., Bifulco E., Melis M P., Atzeri A., Pirisi F M. et Dessi M A. (2010).** Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis L.* berries extracts. *Food chemistry*, 123, 1242-1251.

**Tuberoso C I G., Rosa A., Bifulco E., Melis M P., Atzeri A., Pirisi F M. et Dessi M. A. (2010).** Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis L.* berries extracts. *Food Chemistry*, 123(4), 1242-1251.

**Turrens J F., Alexandre A. et Lehninger A L. (1985).** Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, 237: 408-414.

### V

**Valnet, J. (2005).** L'aromathérapie. Ed. Maloine S.A. 633p.

## Références bibliographique

---

**Velioglu Y S., Mazza G., Gao L. et Oomah B D. (1998).** Antioxidant activity and total phenolics in; selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal Agricole Food Chemistry*, 46: 4113–17.

### W

**Wannes W A., Mhamdi B. et Marzouk B. (2009).** Variations in essential oil and fatty acid composition during *Myrtus communis* var. *italica* fruit maturation. *Food Chemistry*, 112(3), 621-626.

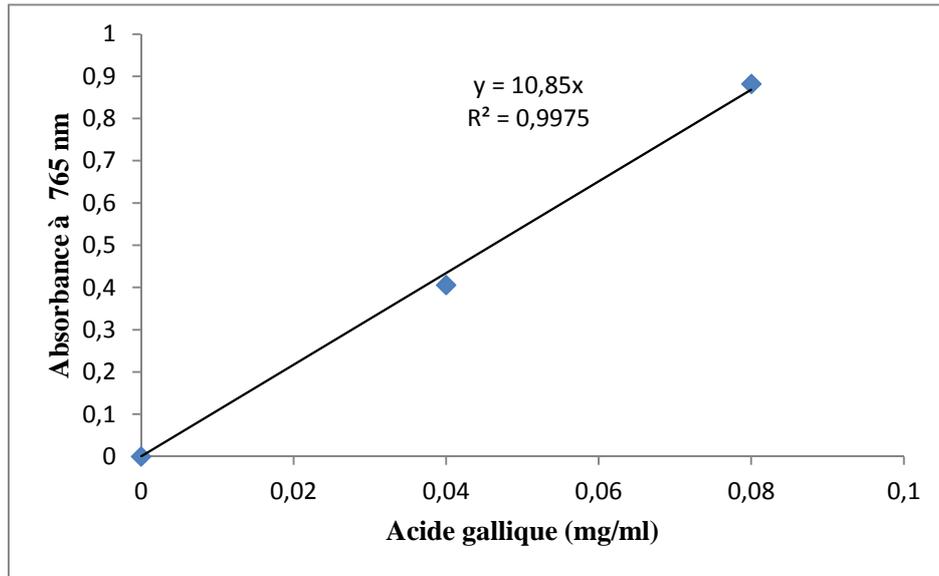
**Wolff, J P. (1968).** Méthodes générales d'analyse ; dosage des produits d'oxydation. Ed ; Azoulay ; Paris : 259-266.

### Y

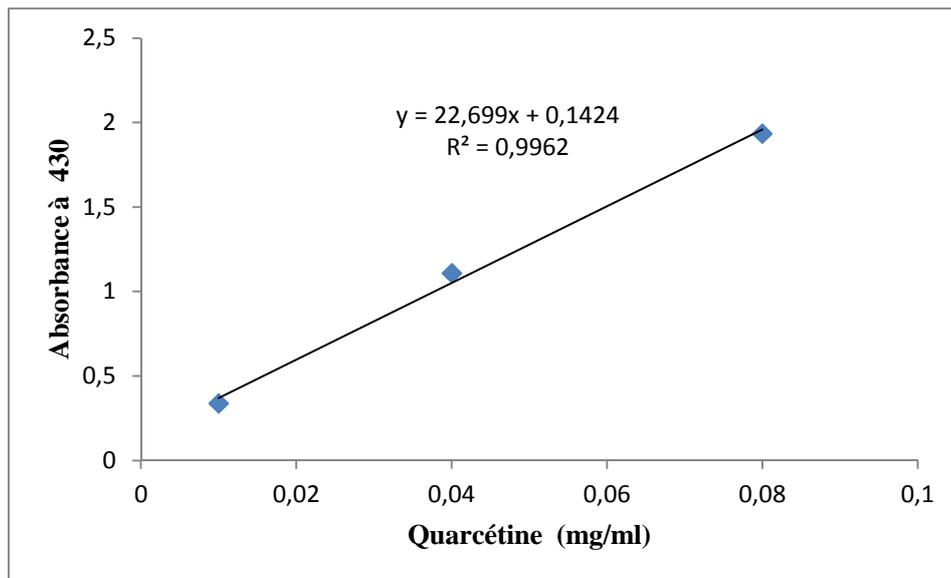
**Yadegarinia D., Gachkar L., Rezaei M B., Taghizadeh M., Astaneh S A. et Rasooli I. (2006).** Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67, 1249-1255.

### Z

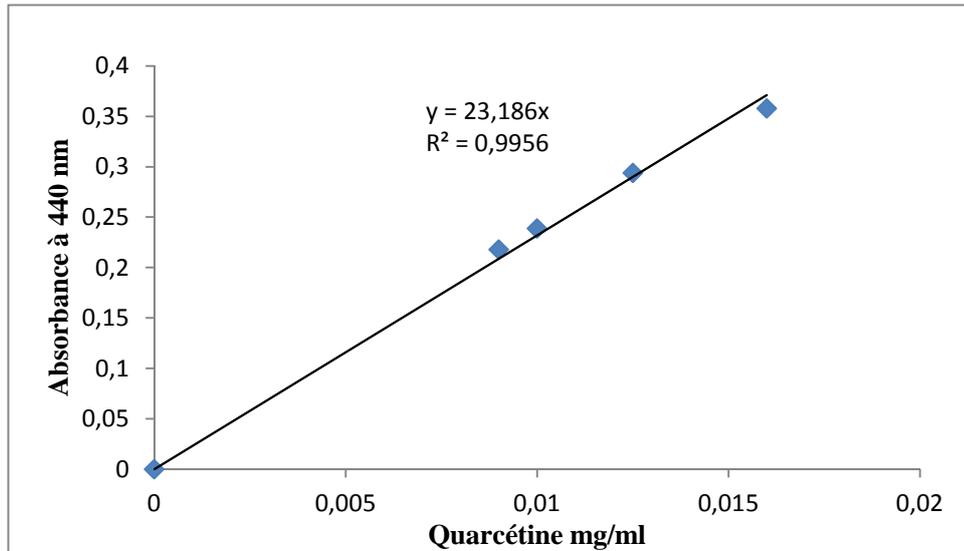
**Zanetti S., Cannas S., Molicotti P., Bua A., Cubeddu M., Porcedda S., Marongiu B. et Sechi L. A. (2010).** Evaluation of the Antimicrobial Properties of the Essential Oil of *Myrtus communis* L. against Clinical Strains of *Mycobacterium* spp. Interdisciplinary perspectives on infectious diseases.



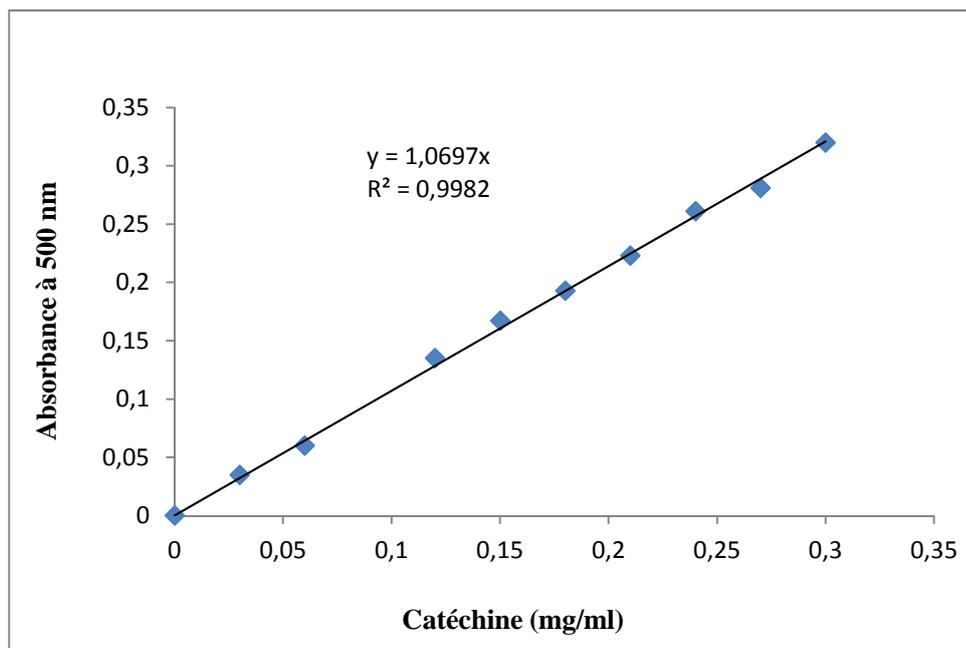
**Annexe 1 :** Courbe standard des composés phénoliques (Acide gallique)



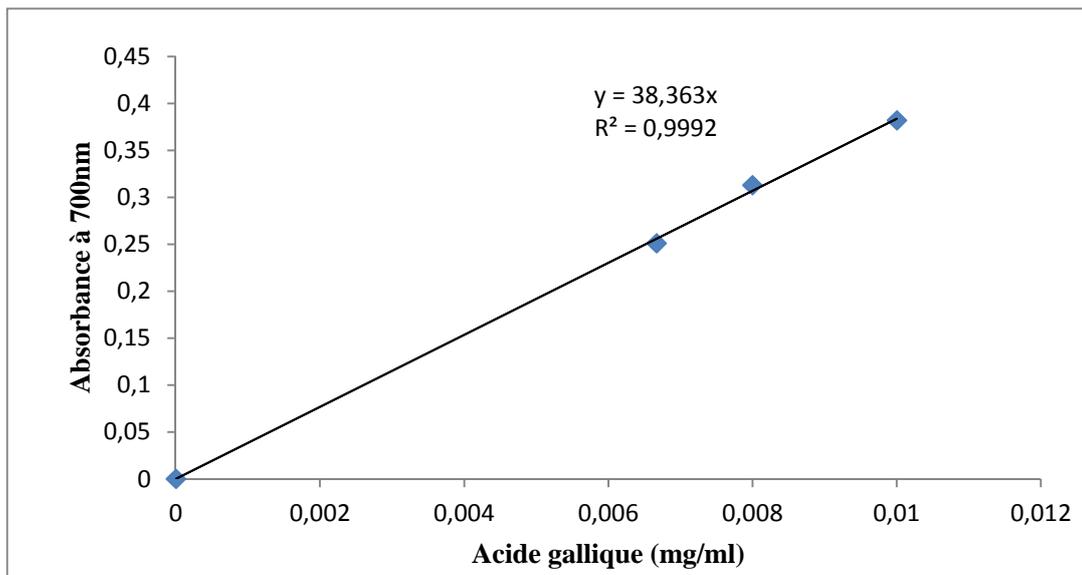
**Annexe 2 :** Courbe standard des flavonoïdes (la quercétine)



**Annexe 3 :** Courbe standard des flavonols (la quercétine)



**Annexe 4 :** Courbe standard des Tanins (la catéchine)



**Annexe 5 :** Courbe standard du pouvoir réducteur (Acide gallique)

## Résumé

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes d'origine naturelle.

Notre travail vise à faire une étude phytochimique et une activité antioxydante des extraits de deux parties de *Myrtus communis* L. Feuilles et fruits.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins dans les deux parties de la plante ainsi que la présence des anthocyanes dans les fruits.

Le *myrtus communis* constitue aussi une bonne source en substances bioactives telles que les composés phénoliques, la teneur en phénols totaux est variable, elle est de  $4.77 \pm 0.16$  et  $3.20 \pm 0.13$  mg GAE/g respectivement pour les feuilles et les fruits. Les flavonoïdes représentent  $1.50 \pm 0.027$  et  $1.32 \pm 0.029$  mg EQ/g MS respectivement pour les feuilles et les fruits.

Les tanins ont des teneurs plus ou moins similaires entre les feuilles et les fruits, on a observé les valeurs  $61.60 \pm 3.38$  mg EC/g MS et  $60.09 \pm 0.31$  mg EC/g MS respectivement pour les fruits et feuilles.

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par quatre méthodes ; le pouvoir réducteur ( $1.04 \pm 0.031$  mg EAG/g MS pour FR1), le piégeage du radical libre DPPH (81,84% pour FE2), le piégeage du radical libre ABTS (97,84% pour FE1) et l'inhibition du peroxyde d'hydrogène (72,65%).

**Mots clés :** *Myrtus communis* L. Flavonoïdes, tanins, anthocyanes, activité antioxydante, FRAP et DPPH, ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et Activité antifongique.

## Abstract

Most of the interest of current research relates to the study of molecules antioxidant of natural origin.

Our work aims to make a phytochemic study and an antioxidant activity of the extracts of two parts of *Myrtus communis* L. Leaves and fruits.

The tests phytochemic carried out made it possible to total phenols, flavonoids and tannins in the two parts of the plant as well as the presence of the anthocyanins in the fruits.

The *myrtus communis* constitutes also a good source in bioactives substances such as the phenolic compounds, the content total phenols is variable, it is of  $4.77 \pm 0.16$  and  $3.20 \pm 0.13$  Mg GAE / g MD respectively for the leaves and the fruits. The flavonoids represent  $1.50 \pm 0.027$  and  $1.32 \pm 0.029$  Mg EQ /g MD respectively for the leaves and the fruits.

Tannins have more or less similar contents between the sheets and the fruits, we observed the values  $61.60 \pm 3.38$  Mg EC/g MD and  $60.09 \pm 0.31$  Mg EC/g MD respectively for the fruits and leaves.

The antioxidant activity of the various extracts was evaluated by four methods; ferric reducing power ( $1.04 \pm 0.031$  Mg EAG/g ms for FR1), trapping of free radical DPPH (81,84% for FE2), trapping of free radical ABTS (97,84% for FE1) and the inhibition of hydrogen peroxide (72,65%).

**Key words:** *Myrtus communis* L. Flavonoids, tannins, anthocyanes, antioxidant activity, FRAP and DPPH, ABTS, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and antifongic Activity.