



# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique

Université Ibn-Khaldoun -Tiaret-

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département d'écologie et de biotechnologie

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master académique

**Domaine** : Science de la Nature et de la Vie

**Filière** : Ecologie

**Spécialité** : biodiversité et écologie végétale

Présenter par : MADENE AHLAM

SAFI AYA

**Thème :**

Évaluation des activités biologiques des extraits et des huiles  
essentielles des aiguilles du cyprès vert  
(cupressus sempervirents L )

**Devant les membres du jury :**

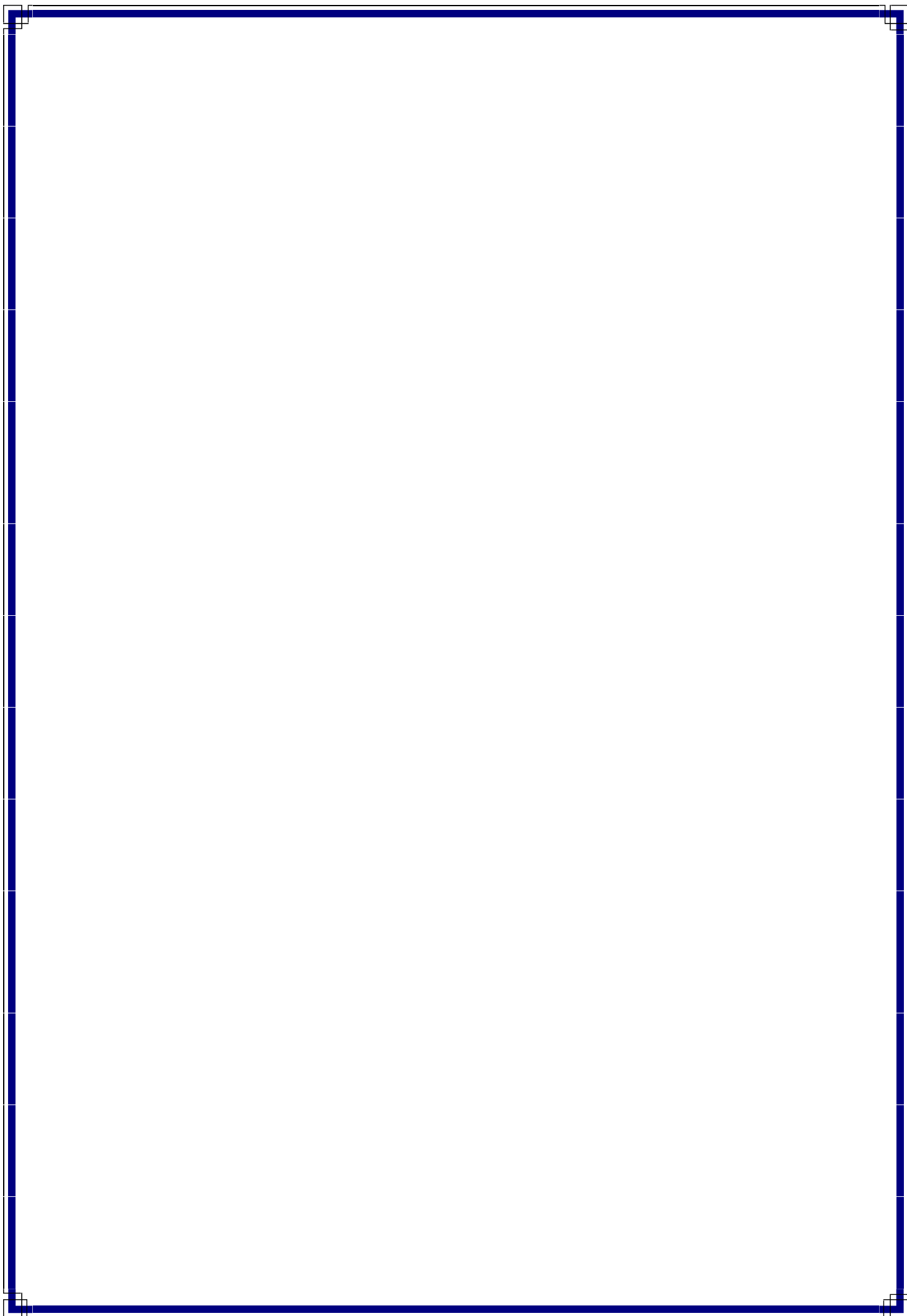
**Grade :**

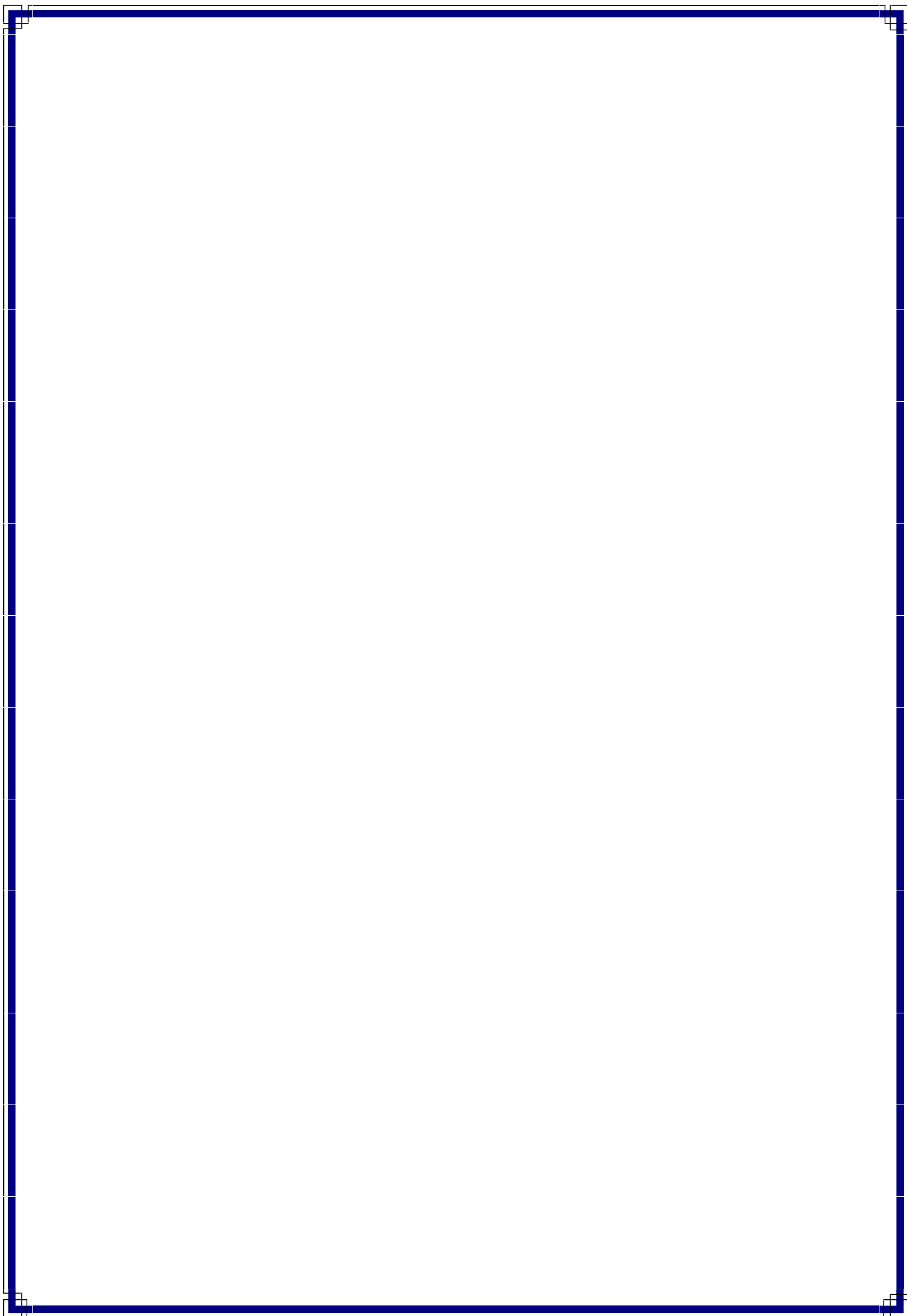
**Président :** DR. OMAR Yamina **MCA**

**Promotrice :** DR. MOKHFI Fatima Zohra **MCB**

**Examinatrice :** DR. BOUZID Assia **MCB**

**Année universitaire : 2022-2023**





## ***Remerciement***

Avant toute chose, nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos plus vifs remerciements vont également à notre encadreur du projet de fin d'études Mme MOKHFI Fatima Zohra, qui nous a accordé l'honneur de diriger ce modeste travail, de nous orienter et de nous aider. Merci à sa disponibilité, sa patience son soutien moral et ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.

Nous remercions le jury d'avoir accepté d'assister et d'évaluer notre modeste travail, Dr OMAR Yamina et Dr BOUZID Assia.

Nos remerciements vont à toutes les techniciennes du laboratoire précisément Mr. SAID Abdelkader, pour son aide continuelle au cours de la réalisation de la partie pratique de ce travail.

On remercie spécialement nos collègues et amis, et toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

***Merci***

## ***Dedicace***

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

A mes frères et sœurs : Imad, Hamouda, Djawad , Hanane , Djihane

Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère binôme, SAFI aya

Pour son entente et sa sympathie

A mes amies et mes camarades de la spécialité de biodiversité et écologie végétale

Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, de secondaire ou de  
l'enseignement supérieur

***MADENE Ahlam***

## ***Dedicace***

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour et leurs encouragements.

A mes frères et sœur : Khaled , Rachid et Khadidja

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère binôme, MADENE Ahlam

Pour son entente et sa sympathie

A mes amies et mes camarades de la spécialité de biodiversité et écologie végétale

***SAFI Aya***

## Résumé

*Cupressus sempervirens*, également connu sous le nom de cyprès toujours vert, est une plante méditerranéenne qui a été utilisée pendant des siècles pour ses propriétés médicinales. Dans cette étude, nous examinons les activités biologiques, notamment son effet anti-bactérien, antifongique et antioxydant des huiles essentielles et des extraits méthanoliques, éthanoliques des aiguilles du cyprès vert qui contiennent des composés bioactifs intéressants tels que les composés phénoliques et flavonoïdes. L'activité antifongique des extraits obtenus a été testée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide sur une souche fongique (*Candida albicans*), et l'activité antibactérienne qui a montré des activités intéressantes contre les trois souches bactériennes (la souche *Pseudomonas aeruginosa* démontre une sensibilité élevée). Les résultats ont révélé que le méthanol a la meilleure efficacité pour piéger le radical DPPH avec un taux de 78,5% comparant à l'extrait éthanolique qui a enregistré une activité antiradicalaire égale à 63.74% des faibles résultats, ces extraits ont montré ainsi une activité inhibitrice sur *Candida albicans*.

## الملخص

*Cupressus sempervirens*، المعروف أيضا باسم السرو دائم الخضرة ، هو نبات متوسطي تم استخدامه لعدة قرون لخصائصه الطبية. في هذه الدراسة ، نبحث عن النشاط البيولوجي ، بما في ذلك تأثيرها المضاد للبكتيريا والفطريات ومضادات الأكسدة للزيوت الأساسية ومشتخلصات الميثانول والإيثانول إلبر السرو الأخضر الذي يحتوي على مركبات نشطة بيولوجيا مثيرة للاهتمام مثل المركبات الفينولية والفانويك. تم اختيار النشاط المضاد للفطريات للمشتخلصات التي تم الحصول عليها من خلال طريقة انتشار الأوراق على وسط أجار صلب على سائلة فطرية (المبيضات البيض) ، والنشاط المضاد للبكتيريا الذي أظهره أنشقة مثيرة للاهتمام ضد السلالات البكتيرية الثلاثة (تظهر سائلة *Pseudomonas aeruginosa* حساسية عالية).

كشنت النتائج أن الميثانول لديه أفضل كفاءة في محاصرة جذور DPPH بنسبة 78.5٪ مقارنة بالمشتخلص الإيثانولي الذي سجل نشاطا مضادا للجذور يساوي 63.74٪ من النتائج المخنضعة ، وبالتالي أظهرت هذه المشتخلصات نشاطا مثبطا على *Candida albicans*



## Abstract

*Cupressus sempervirens*, also known as evergreen cypress, is a Mediterranean plant that has been used for centuries for its medicinal properties. In this study, we investigate the biological activities, in particular the anti-antibacterial, antifungal and antioxidant effects, of essential oils and methanolic and ethanolic extracts of evergreen cypress needles, which contain interesting bioactive compounds such as phenolics and flavonoids. The antifungal activity of the extracts obtained was tested using the disk diffusion method on a solid agar medium against a fungal strain (*Candida albicans*), and the antibacterial activity showed interesting activity against the three bacterial strains (the *Pseudomonas aeruginosa* strain showed high sensitivity). The results revealed that methanol was the most effective at trapping the DPPH radical, with a rate of 78.5%, compared with the ethanolic extract, which recorded an anti-free radical activity equal to 63.74% of the low results, showing inhibitory activity on *Candida albicans*.

## Liste des Abréviations

**UV** : Rayon ultra-violet

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**MH** : Mueller Hinton Agar

**SB** : Gélose Sabouraud

**E. Coli** : *Escherichia Coli*

**P. aeruginosa** : *Pseudomonas aeruginosa*

**S. Aurius** : *staphylococcus aurius*

**C. Albicon** : *Candidat albicon*

**Fusarium** : *Fusarium oxysporum*

**ATCC** : American Type Culture Collection

**AA** : Acide Ascorbique

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

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

**NaNO<sub>2</sub>** : Nitrite de sodium

**At** : Absorbance de l'échantillon

**DPPH** : 1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil

**M** : méthanol

**E** : éthanol

**DO** : Densité optique

**EAG** : équivalent en acide gallique

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 01 :</b> classification de cyprès vert .....	p 05
<b>Tableau 02 :</b> nomenclature de cyprès vert.....	p 11
<b>Tableau 03 :</b> origines des souches bactériennes .....	p28
<b>Tableau 04 :</b> Les appareils, verreries et les produits .....	p28
<b>Tableau 05 :</b> taux de rendement des trois extraits du cyprès vert .....	p38
<b>Tableau 06 :</b> résultats de la teneur en polyphénols totaux des extraits du cyprès vert.....	p39
<b>Tableau 07 :</b> résultats de la teneur en flavonoïdes des extraits du cyprès vert .....	p40
<b>Tableau 08 :</b> activité anti radicalaire des extraits du cyprès vert.....	p44

## Listes des figures

<b>Figure 01 :</b> forme horizontale de cyprès vert.....	p 05
<b>Figure 02 :</b> forme verticale de cyprès vert.....	p 05
<b>Figure 03 :</b> les aiguilles de cyprès vert .....	p 06
<b>Figure 04 :</b> les fleurs de cyprès vert.....	p 07
<b>Figure 05 :</b> les écorces de cyprès vert.....	p 07
<b>Figure 06 :</b> les fruits de cyprès vert .....	p 08
<b>Figure 07 :</b> caractéristique botanique .....	p 09
<b>Figure 08 :</b> répartition géographique dans le monde .....	p 12
<b>Figure 09 :</b> composition chimique.....	p 14
<b>Figure 10 :</b> schéma de hydro distillation .....	p 18
<b>Figure 11 :</b> Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	p 19
<b>Figure 12 :</b> Montage de l'expression à froid .....	p20
<b>Figure 13 :</b> Schéma de L'enfleurage à froid .....	p22
<b>Figure 14 :</b> schéma de macération.....	p 23
<b>Figure 15 :</b> Préparation de cyprès vert.....	p25
<b>Figure 16 :</b> Préparation des extraits .....	p29
<b>Figure 17 :</b> solubilisation des extraits dans le DMSO .....	p30
<b>Figure 18 :</b> Montage de distillation .....	p31
<b>Figure 19 :</b> préparation de dosage de phénol totaux.....	p32
<b>Figure 20 :</b> préparation Dosage des flavonoïdes totaux .....	p33
<b>Figure 21 :</b> préparation des suspensions bactériennes et ensemencement des boîtes .....	p34
<b>Figure 22 :</b> Activité antioxydant de l'huile essentielle et des différentes	

concentrations des extraits.....p35

**Figure 23** : diamètre des zones d'inhibition de la souche fongique en fonction des concentrations des extraits et de l'huile essentielle ..... p41

**Figure 24** : diamètres des zones d'inhibitions des trois souches bactérienne en fonction de l'huile essentielle du cypré vert..... p42

**Figure 25** : diamètre des zones d'inhibitions des trois souches bactériennes en fonction des concentrations des différents extraits du cypré vert .....p43

## Sommaires

Remerciement

Dédicace

Dédicace

Résumé

Listes des abréviations

Listes des tableaux

Listes des figures

Introduction générale.....p01

Chapitre 01

1.historique .....p04

1.2. Définition ..... p04

1.3. classification.....p04

1.4. description ..... p05

1.4.1. les feuilles .....p06

1.4.2. les flores ..... p06

1.4.3.les écorce.....p07

1.4.4. les fruits.....p08

1.5. les caractéristique.....p08

1.5.1. caractéristique botanique ..... p08

1.5.2. caractéristique écologique.....p10

1.5.2.1. Température .....	p10
15.2.2.Précipitations .....	p10
1.5.2.3. Altitude.....	p10
1.5.2.4. Sol .....	p10
1.6. nomenclature .....	p10
1.7. Répartition géographique.....	p11
1.7.1. dans le monde .....	p11
1.7.2.En Algérie.....	p12
1.8. composition chimique .....	p13

## Chapitre 02

2. Les huiles essentielles .....	p16
2.1 définition .....	p16
2.2. Modes d'extraction.....	p16
2.2.1. distillation.....	p17
2.2.1.1. Hydro distillation.....	p117
2.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	p18
2.3. L'expression à froid ou Expression mécanique .....	p19
2-2-4/Enfleurage.....	p21
2.2.4.1.En fleurage à froid.....	p21
2.2.5.Macération.....	p22
3. Matériels et méthodes.....	p25
3.1. Lieu et période de travail.....	p25

3.1.2. Matériel végétal « cyprès vert » .....	p25
3.1.3. Les souches bactériennes .....	p25
3.2. Dispositifs et produits.....	p28
3.3. Préparation des extraits .....	p29
3.3.1. Extraction hydro-alcoolique .....	p29
3.3.2. Solubilisation des extraits a testé.....	p29
3.3.3. Extraction des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau .....	p30
3.3.3. Caractérisation phytochimiques .....	p31
3.3.3.1. Dosage de phénol totaux .....	p31
3.3.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	p32
3.4.Etude de l'activité antibactérienne .....	p33
3.4.1. Préparation de milieux de culture.....	p33
3.4.2. Préparation du milieu de culture .....	p33
3.4.3. Méthode de diffusion sur disques.....	p34
3.5.Etude de l'activité antioxydante .....	p35
4. Résultats .....	p38
4.1. Rendement en extrait.....	p38
4.2.Screening phytochimiques .....	p39
4.2.1. Polyphénols totaux .....	p39
4.2.2. Flavonoïde .....	p40
4.3. Activité Antifongique .....	p41
4.3.1.Activité antifongique des huiles essentielles et des extraits du cyprès vert .....	p41



4.4. Activité antibactérienne.....	p41
4.4.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles du cypré vert .....	p42
4.4.2. Activité antibactérienne des extraits du cypré vert.....	p42
4.5. Activité Antioxydante .....	p44
Conclusion générale .....	p46
REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES .....	p48
Annexe.....	p54

# Introduction

## Introduction

Depuis des milliers d'années, les humains utilisent les différentes plantes présentes dans leur environnement pour traiter et guérir diverses maladies, et ces plantes représentent une immense bibliothèque de composés potentiels attribués à des métabolites secondaires avec diverses structures chimiques prédominantes et leur très large éventail d'activités biologiques. (*brut,2004*)

Les huiles essentielles sont de composition complexe et contiennent des produits volatils. Le principal procédé d'extraction est la distillation à la vapeur. Les huiles essentielles sont un ensemble de molécules complexes qui ont toutes des propriétés spécifiques.

Au début du siècle, des peuplements spontanés de Cyprès ont été découverts. Il y a eu le *Cupressus dupreziana* au Tassili et le *Cupressus atlantica*. Ces deux espèces ont été, à un moment confondu avec le *Cupressus sempervirens*, ce n'est qu'après des études botaniques approfondies qu'il y a eu différenciation des trois espèces. Pense qu'à l'origine il y a eu une seule espèce de *Cupressus* qui recouvrait toute la zone méditerranéenne. La différenciation entre le Cyprès vert, le Cyprès du Tassili et le Cyprès de l'Atlas s'est fait au cours du temps et serait due à l'influence du milieu climatique.

Le Cyprès « *Cupressus sempervirens* » est un genre d'arbres sempervirents de la famille des Cupressacées. Réparties dans le bassin méditerranéen, les huiles essentielles de cette plante utilisées dans le domaine de la médecine et contiennent les propriétés des antioxydants, car elles sont riches en éléments chimiques.

Le cyprès vert est une espèce d'arbre représentative flore méditerranéenne. Il est utilisé en médecine traditionnelle pour soulager les douleurs de l'estomac, inflammation, maux de dents et traitement du diabète (*Renault J (2006)*)

L'activité biologique des extraits de plantes est connue depuis l'Antiquité. Cependant, ce n'est qu'au début du XXe siècle que les scientifiques s'y sont intéressés. Ces propriétés sont principalement dues à la production d'huiles essentielles et de composés phénoliques de la plante. Pour ces raisons, l'étude des activités biologiques des substances d'origine végétale en vue de leur application dans le domaine de la santé humaine, L'agroalimentaire et même le phytosanitaire reste une tâche intéressante et utile (*Debbab, 2017*).

C'est dans cet optique que nous nous sommes intéressés à l'évaluation des activités biologiques (antibactérienne, antifongique, antioxydante) des extraits et des huiles du cyprès vert .

Le présent mémoire se partage en quatre chapitres. Le premier concerne une synthèse Bibliographique sur le cyprès vert , le second correspond aux huiles essentielles et leurs modes d'extractions, la présentation du matériel et des méthodes utilisés à fait l'objet du troisième chapitre et le dernier chapitre aborde les résultats et discussion .

# Chapitre I

### 1.1. Historique

Au dèbut de ce siècle, des bosquets de cypèès spontanèes ont ètè dècouverts. Le tassili a *Cupressus dupreziana* et *Cupressus atlantica*. Ces deux espèces ètaient autrefois confondues avec *Cupressus sempervirens* et ce n'est qu'après des recherches botaniques approfondies que les trois espèces se sont différenciées. (Stewart, 1969)

### 1.2. Définition

*Cupressus sempervirens* L, connu sous le nom de cypèès méditerranéen, est une plante médicinale et aromatique à usage dècoratif (Ilkay et Ibrahim, 2015). *Cupressus sempervirens* L est un arbre d'ornement appartenant à la famille des Cupressacées. L'habitat de l'espèce comprend l'Amérique du Nord, l'Afrique, l'Europe du Sud-Est et l'Asie occidentale. Utilisez ces plantes pour protéger les champs des dommages causés par le vent. De nombreux chercheurs ont signalé que cette espèce présente probablement une croissance rapide et horizontale, d'où son affectation au rang taxonomique de la sous-espèce. (Ilkay et Ibrahim, 2015).

Bien qu'il existe de nombreuses sous-espèces et variétés différentes de cette espèce, les variétés largement acceptées par type de ramification sont le cypèès ramifié ( *Cupressus sempervirens* L. var. horizontalis) et le cypèès pyramidal (Ehrami) (*Cupressus sempervirens* L. var. pyramidalis). un certain nombre de caractéristiques botaniques spécifiques, notamment la tolérance à la sècheresse, aux courants d'air, à la poussière, au grésil et aux gaz atmosphériques entraînès par le vent (Samy et al., 2014).

### 1.3. classification :

Selon (Nichane, 2015 ; Al-Snafi, 2016 ; Hireche et Ferhat, 2019), le Cypèès, *Cupressus Sempervirens* L. est classé comme suit :

Embranchement	Spermaphytes ou phanérogames
Sous- embranchement	Gymnospermes (graine nue)
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressacées
Genre	Cupressus
Espèce	Cupressus sempervirens. L.

#### 1.4. Description

Jusqu'à une hauteur de 30 mètres, on connaît 2 formes très différentes : la forme horizontale, aux branches étalées (ph 01) ; la forme fatiguât, aux branches dressées qui la font ressembler à un pinceau. Elle a une longue vie. (*Becker et al .,1983* )



**Figure 01 :** Forme horizontale



**Figure 02:** Forme verticale

(MADENE,SAFI 2023)

#### 1.4.1. Les feuilles

Les arbres de *Cupressus sempervirens* sont des arbres à feuilles persistantes, de taille moyenne (atteignant une hauteur de 35-40 m (*Caudullo et de Rigo, 2016 ; Sebbane et Khaldi, 2019 ; Afif et al., 2006*)) diamètre du tronc 1 m, feuilles persistantes (*Cheraief et al., 2006 ; Caudullo et al., 2016 ; Hireche et Ferhat, 2019*), l'écorce est dense et les écailles serrées. Les feuilles de cet arbre sont persistantes, parfumées et vert foncé, Ils s'installent sur de courtes branches. Ce sont des glandes foliacées (glandes à résine), écailleuses, nichées sur au moins quatre rangées (*Hireche et Ferhat, 2019*), noires à pointes émoussées, de 2 à 5 mm de long (*Asgary et al., 2012*), elles ont une durée de vie exceptionnelle de 2 000 ans (*Cheraief et al., 2006 ; Hireche et Ferhat, 2019*).



**Figure 03** Les aiguilles (*Madene et Ssafi, 2023*)

#### 1.4.2. Les fleurs

Les fleurs de *Cupressus sempervirens*, apparaissent au début du printemps et peuvent apparaître sur des plantes âgées de 3 à 6 ans. Les fleurs mâles sont cylindriques, de 3 à 5 mm de long, jaunes à brun clair à maturité, disposées en chatons polliniques ovales, terminaux et déhiscents. Les fleurs femelles sont regroupées en grappes vertes et brunes au bout de jeunes pousses de chatons bulbeux, qui sont portées par des rameaux très courts mûrissent en cornes ligneux brun-gris après un an (*Caudullo et de Rigo, 2016 ; Hireche et Ferhat, 2019 et Sebbane et Khaldi, 2019*)





**Figure 04 :** les fleurs du cyprès vert (*Madene et Ssafi ,2023*)

#### **1.4.3. Ecorce**

*Cupressus sempervirens*, écorce gris-brun ; *Caudullo et de Rigo, 2016*), fibreuse et striée verticalement (*Becker et al., 1982 ; Hireche et Ferhat, 2019*), à fines crêtes (*Caudullo et de Rigo, 2019 ) et de Rigo, 2016*)) se regroupent en paires diagonales croisées aux extrémités des branches squameuses (*Becker et al., 1982 ; Sebbane et Khaldi, 2019 ; Hireche et Ferhat, 2019 ; Molino, 2005 ; Caudullo et de Rigo, 2019,2016*)



**Figure 05 :** écorce du cyprès vert (*Madene et Ssafi ,2023*)

#### 1.4.4. Fruits

Le fruit du Cyprès est un cône ovoïde (*Caudullo et de Rigo, 2016 ; Sebbane et Khaldi, 2019*) de 20-25 mm (*Sebbane et Khaldi, 2019*), de 3 à 4 cm de diamètre (*Caudullo et de Rigo, 2016 ; Hireche et Ferhat, 2019*), plus ou moins allongées, virant du vert au brun à maturité (*Sebbane et Khaldi, 2019*). Elles sont sphériques et légèrement mucronées sur ces membres (*Hireche et Ferhat, 2019 ; Amara et Boughérara, 2017*). Ces cônes sont constitués de 6 à 14 écailles (*Caudullo et de Rigo, 2016 ; Hireche et Ferhat, 2019*) opposées (*Caudullo et de Rigo, 2016*) polygones ligneux, brun clair à brun foncé à maturité (*Hireche et Ferhat, 2019*), et tous les deux ans à maturité (*Sebbane et Khaldi, 2019*). Les cônes s'ouvrent à maturité, laissant s'échapper les graines (*Amara et Boughérara, 2017*)



**Figure 06 :** fruit du cyprès vert (Madene et Ssafi ,2023)

#### 1.5. Caractéristiques :

##### 1.5.1. Caractéristiques botaniques :

*Cupressus sempervirens* L. est un arbre pouvant atteindre 25 mètres de haut. Il a un tronc élancé à partir duquel poussent de nombreuses branches disposées en cymes étroites et pointues en forme de cône. L'écorce est gris rougeâtre avec des fissures. Les feuilles persistantes vert foncé en forme d'écailles triangulaires, imbriquées sur quatre rangées, recouvrent complètement les branches. C'est une plante monoïque à cônes à inflorescences, sphériques, verts (3 à 4 cm), luisants, légèrement mucronés, à 6 à 14 cônes brun clair à brun

foncé à maturité (tous les deux ans) Écailles ligneuses polygonales contenant de nombreuses graines ailées (*Camus , 1914*), brun brillant, de 2 à 3 cm de diamètre, constitué de 8 à 12 écailles ligneuses qui se séparent à maturité pour permettre aux graines de s'échapper (*Rawat et al. 2011, Bonnier et al., 1990* ), les graines sont petit, 4 à 7 mm de long. Ils ont deux ailes, de chaque côté de la graine (*Nichane, 2015*).



**Figure 07** : les caractéristique botanique (*nichan ,2015*)



### 1.5.2. caractéristique écologique :

Le cyprès est une plante de climat doux. Il a besoin de chaleur, il doit être protégé des vents froids. Il peut supporter des températures négatives jusqu'à -20°C

**1.5.2.1 \*Température** : D'un point de vue thermique, le cyprès peut supporter des températures jusqu'à -20°C. Comme pour beaucoup de plantes méditerranéennes, les hivers humides et froids peuvent être préjudiciables à leur **longévité** (*Alifrique, 1995*)

**1.5.2.2. \*Précipitations** : Le cyprès est un arbre xérophyte car c'est un arbre rustique qui peut s'adapter aux conditions difficiles. Conditions physiques très dures Mais il peut être plastique, c'est-à-dire pousser dans des climats humides. En effet, le cyprès est un arbre qui ne demande pas de pluie, et 250 à 350 mm/an peuvent être satisfaits

**1.5.2.3. \*Altitude** : Le cyprès vert pousse spontanément dans toutes les zones basses au tour de la mer Méditerranée en dessous de 500 mètres d'altitude. On les trouve souvent en bordure de zones agricoles ou en bordure de parcs ou de propriétés, leur forme fusiforme caractéristique marquant le paysage.

**1.5.2.4. \* Sol**: La nature chimique du substrat n'a pas d'importance. Il aime les sols profonds et bien drainés, sinon plats, voire les sols calcaires secs. Il ne tolère pas les sols argileux ou trop arrosés. Cependant, le cyprès vert tolère la terre végétale (moins de 50 cm, voire 30 cm) et les sols caillouteux. Un sol trophumide peut favoriser la croissance de champignons parasites (*Benjamaa, 2004*). C'est une excellente espèce d'arbre pour la résistance au vent et à la sécheresse (*Nichane, 2015*)

### 1.6. nomenclature :

Le nom Cupressus vient du latin, qui désigne le genre, du grec "Kuparissos", qui signifie espèce, certains auteurs pensent qu'il serait venu de Chypre plutôt, ce qui suggère qu'il est originaire de Chypre, sempervirens signifie toujours vert, durable , un mot qui vient du latin "semper" toujours et "virens", signifiant vert(*Al-Snafi, 2016*).

<b>Français</b>	cypres d'Italie, cypres de Montpellier, cypres de Provence, cypres pyramidal, cypres sempervirent.
<b>Anglais</b>	Italian cypress.
<b>Allemand</b>	Echte Zypresse
<b>Néerlandais</b>	Italiaanse Cipres
<b>Espagnol</b>	Ciprés común, ciprés fino, xifrer, xiper
<b>Italien</b>	cipresso comune
<b>Arabe</b>	sarwel, سرويل

### 1.7. Répartition géographique :

La répartition naturelle de ce cypres n'est pas claire en raison de sa longue histoire horticole dans la région méditerranéenne. Des peuplements naturels se trouvent dans le bassin sud-ouest de la Méditerranée sur plusieurs zones géographiquement non adjacentes atteignant vers l'Est le Caucase et le sud-ouest de l'Iran, bien que des études récentes sur les enregistrements génétiques et paléobotaniques présument la présence de populations naturelles de la Méditerranée centrale (**Caudullo et de Rigo, 2016**).

#### 1.7.1. dans le monde :

Le cypres est la famille la plus répandue, avec 10 genres par hémisphère, mais la plupart des espèces sont situées dans l'hémisphère nord (**Hireche et Ferhat, 2019**). Plus précisément, les forêts naturelles de cypres trouvées dans le sud de l'Anatolie, à Chypre, en Syrie, en Palestine, au Liban, en Cyrénaïque et dans les îles du sud-est de la Grèce. Des incidents isolés ont été signalés de la région d'Alborz aux montagnes du sud de l'Iran (**Brofas et al., 2006**).

Arbre décoratif *Cupressus sempervirens* L était autochtone du bassin méditerranéen et du Moyen-Orient (**Shahali et al., 2010; Al-Snafi, 2016; Caudullo et de Rigo, 2016; Hireche et Ferhat, 2019**). Cependant, la plante a également été découverte en Europe du Sud (Grèce et Italie), en Amérique du Nord et en Afrique du Nord. (**Al-Snafi, 2016; Hireche et Ferhat, 2019**). Trois espèces d'arbres d'Afrique du Nord connues sous le nom de *Cupressus*

sempervirens sont souvent confondues car elles sont étroitement liées et similaires. (*Molino, 2005; Hireche et Ferhat, 2019*).

Ces espèces globales incluent une espèce endémique marocaine *C. atlantica* Gaussen, une espèce endémique algérienne *C. dupreziana* A. Camus et *C. sempervirens* L., pour cette dernière espèce en Tunisie on retrouve trois variétés, pyramidales, horizontales et numidica, qui diffèrent dans la direction des branches (*Hireche et Ferhat, 2019*).



**Figure 08** de : répartition géographique de cyprès vert Aire et répartition de Cupressus sempervirens L. dans le monde (*Nichane, 2015 ; Hireche et Ferhat, 2019 ; Sebbane et Khaldi, 2019*).

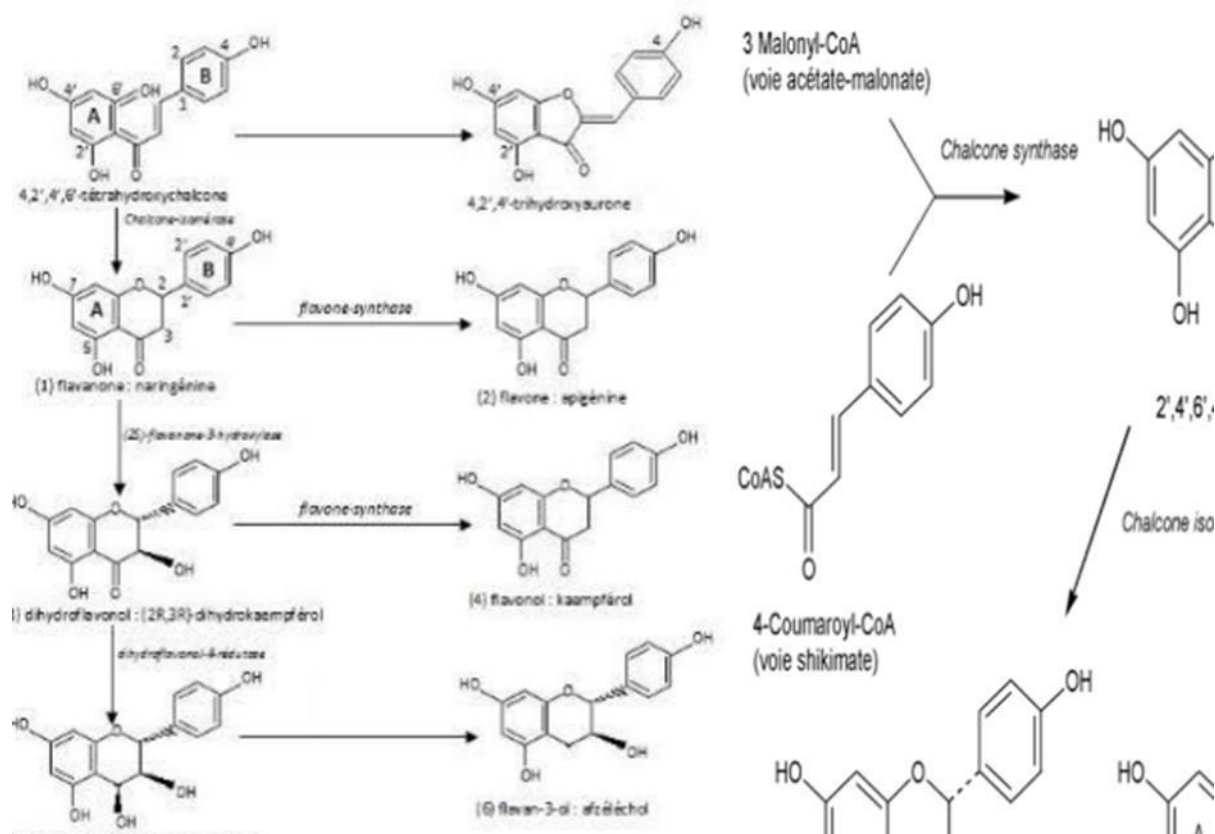
### 1.7.2. En Algérie :

Les prospections botaniques menées en Algérie démontrent clairement la richesse et la diversité de la flore algérienne. Ce pendant , la richesse du couvert forestier est affectée par plusieurs facteurs, notamment l'altitude, le bioclimat, l'influence anthropique et les risques naturels. Les espèces de cyprès endémiques ou naturalisées comprennent: Cyprès du Tassili (*Cupressus du preziana*A. Camus), Cyprès de l'Atlas (*Cupressus atlantica* Gaussen), Cyprès à feuilles persistantes (*Cupressuss empervirens*L). Le cyprès d'Arizona (*Cupressus arizonica* Greene) est une espèce introduite et peut épanouie, qui tolère bien les

conditions de chaleur sèche. Plus répandu est le cypèès vert (*Cupressus sempervirens.L*). Il est très diversifié, notamment en forme, et est utilisé comme arbre ornemental, brise-vent et même forestier. D'autre part, le cypèès de Duprez (*Cupressus du prezianaA.Camus*) est originaire du désert du Tassili-Nager (Algérie) et fait partie des rares espèces menacées. Un inventaire récent fait état de 231 arbres restants dans cette région désertique avec une pluviométrie annuelle d'environ 20mm (*Bouyahyaoui,2017;Hireche et Ferhat,2019*).

### 1.8.composition chimique

*Cupressus sempervirens* est riche en composant flavonoïdes tels que les cupresflavones, les aménoflavones, la rutine, la quercitrine, la quercétine et la myricitrine. Certains composés phénoliques (anthocyanidines, catéchines, flavones, flavonols, isoflavones) Tanins (acide ellagique, acide gallique, phénylisopropanoïdes, acidecaféique, acidecoumarique, acideférulique) Lignans, fourre-tout (*Koreim,2009*) Les branches contiennent des bi flavonoïdes riches en monoterpènes et huiles essentielles (0,3-0,8%). Les cônes contiennent 0,5% d'huile essentielle. Il est riche en apine , en acides diterpéniques de tanin et en dérivés oligomères de proanthocyanidol (*Molino,2005;SebbaneetKhaldi,2019*).Des études antérieures ont identifié l' $\alpha$ -pinène et le  $\Delta$ -3-carène comme les principaux composants des espèces de *Cupressus*. Les feuilles et les fruits de cette plantes ont très riches en tanins et en flavonoïdes, mais ne contiennent pas d'alkaloïdes et sont pauvres en saponines (*Tumenetal.,2011;SebbaneetKhaldi,2019*). Les phénols sont donc présents dans la composition biochimique de *Cupressus sempervirens* (*Al-Snafi, 2016;Sebbane et Khaldi,2019*). (ph09)



**Figure 09** : composition chimique Structure chimique de quelques polyphénols, flavones, flavonoïdes et glycosides de flavones biflavones de *Cupressus sempervirens* (*Khan et al., 2017 ; Sebbane et Khaldi, 2019*).



# Chapitre II

**2. Les huiles essentielles****2.1. définition**

Selon Willem (2010), les huiles essentielles sont définies comme suit: "Les hydrolysats aromatiques sont les extraits de plantes et d'arbres aromatiques par distillation à la vapeur de leurs essences. C'est ainsi que sont distillées les huiles essentielles. Ce sont deux substances différentes, tant dans leur nature que dans leur composition, en raison des modifications biochimiques qu'elles subissent. "les parfums sont volatils et parfaitement formés en huiles essentielles pures sans matière grasse.

Par conséquent, l'huile essentielle a été ainsi nommée parce qu'elle était censée représenter l'incarnation de l'odeur et du goût du royaume des fleurs (*Brut, 2004*). Leurs propriétés de composition diffèrent des huiles grasses, qui sont principalement composées de glycérides et d'huiles minérales ou d'hydrocarbures. Bien qu'une définition scientifique des termes huile essentielle ou huile volatile ne soit pas possible, il existe quelques définitions utiles. Les huiles essentielles sont des liquides hydrophobes concentrés contenant des composés aromatiques volatils de plantes. Également connu sous le nom d'huile de vapeur volatile, d'huile essentielle (*Rassem et al ; 2016*)

L'avantage des huiles essentielles est qu'elles sont similaires en concentration aromatique et leurs sources respectives. La plupart d'entre eux sont assez stables et contiennent des antioxydants naturels et des antimicrobiens naturels.

**2.2. Modes d'extraction**

Les huiles et les extraits sont obtenus à partir de différentes parties de la plante. Feuilles, graines, écorce, racines ou autres structures spéciales. Sa composition est complexe, car constituée d'un mélange de composés appartenant à différentes classes de la chimie organique: phénols, hydrocarbures, alcools, aldéhydes, cétones. La composition d'une même graine peut varier en fonction de la situation géographique, des conditions climatiques, du moment de la récolte, des parties de plantes utilisées, etc. Les caractéristiques peuvent également différer, il est donc nécessaire de travailler dans les mêmes conditions. Reproductibilité des résultats au stade de l'analyse et de l'identification des molécules contenues dans les huiles ou les extraits (*Benmessaoud et al ; 2013*)

En fait, il existe plusieurs méthodes traditionnelles et modernes d'extraction des composés volatils des plantes. Certaines techniques extraient les huiles essentielles, tandis que d'autres produisent des extraits autres que les huiles essentielles.

On peut diviser les méthodes d'extraction des huiles essentielles en deux catégories. La première catégorie comprend les méthodes d'extraction conventionnelles : Hydro distillation (HD), distillation à la vapeur (SD), extraction par solvant, extraction Soxhl et, pressage à froid. La deuxième catégorie regroupe des méthodes d'extraction innovantes et modernes telles que: Méthode d'hydrogénation par diffusion par micro-ondes par gravité (MHG), hydro distillation assistée par micro-ondes (MAHD), extraction par micro-ondes sans solvant (SFME), extraction assistée par ultra sons (EAU) et extraction par fluide supercritique (SFE). ( *Rassem et al ; 2016*).

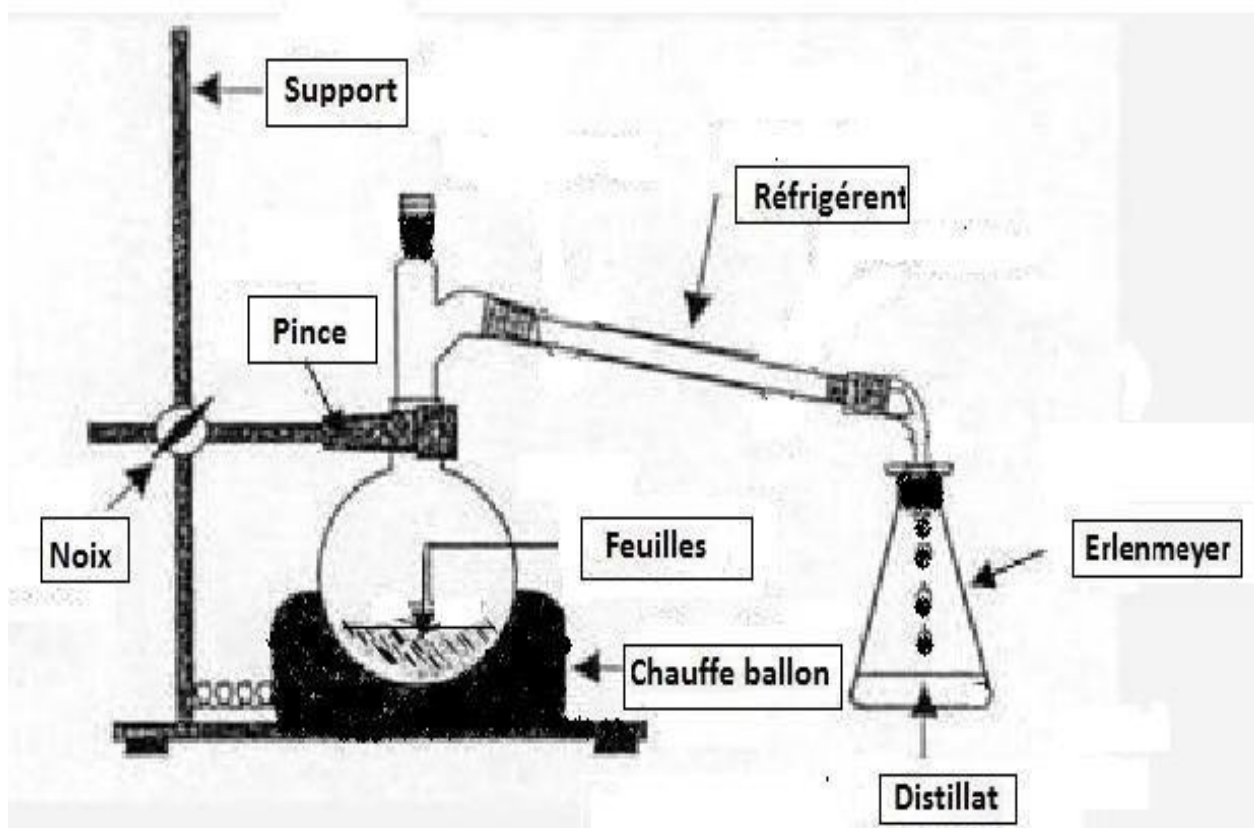
### 2.2.1. distillation

Le principe de la distillation repose sur le caractère volatil des huiles essentielles. Sous l'effet de la chaleur, l'huile est entraînée en vapeur. Après condensation L'huile essentielle est séparée du distillat par décantation ( *abderahim, 2011*). Il existe deux principales méthodes de distillation. Hydro distillation et distillation à la vapeur.

#### 2.2.1.1. Hydro distillation

C'est la technique la plus simple et la plus courante. Ce la implique une immersion. Les ingrédients sont mis directement dans l'eau et bouillis entiers. Cette opération est généralement réalisée sous pression atmosphérique. La vapeur formée est condensée par un système de refroidissement par jet d'eau. Des expériences menées jusqu'à épuisement de l'essence matricielle ont montré que le temps de distillation des organes végétaux ligneux (*chrair et kadari,2019*) est plus long que celui des plantes herbacées. Cette différence est étroitement liée à la localisation des systèmes de production ou de stockage des H.E, soit à la surface de la plante, soit dans les tissus végétaux. Ces structures influencent donc le processus de distillation de l'eau, un mécanisme continu et donc la durée du processus d'extraction. Lors que ces structures sont superficielles, la membrane externe ou couche cornée s'effondre dès qu'elle bout et les composés volatils s'évaporent rapidement. Se trouvant sous la peau de l'HE, elle doit d'abord diffuser dans l'épaisseur du tissu végétal

puis entre recontact avec l'eau ou ses vapeurs pour s'évaporer comme les sécrétions de surface (*Attou ;2017*).

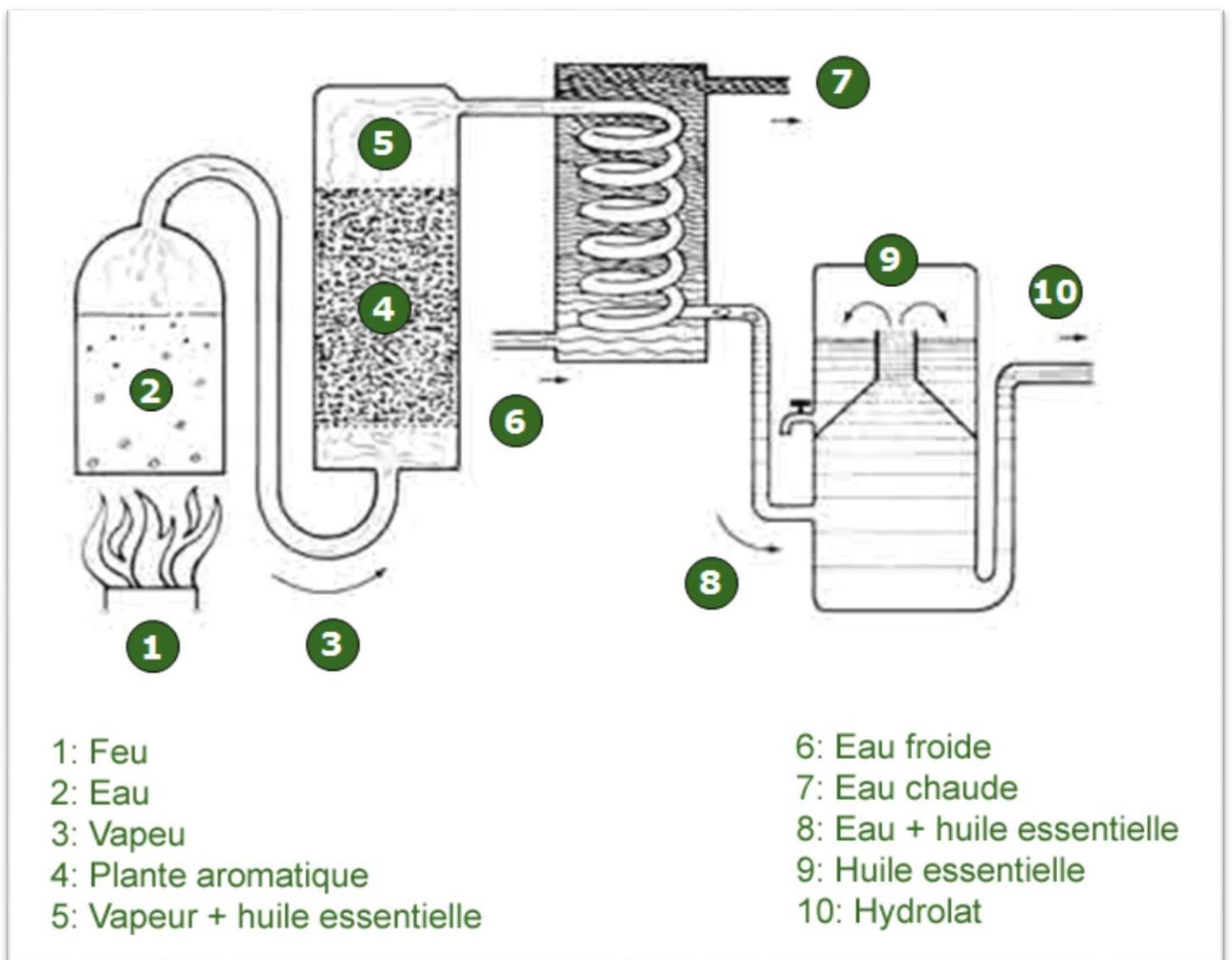


**Figure 10:** schéma de hydro distillation (*site web 01*)

### 2.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau

La distillation à la vapeur comme l'hydro distillation, est une technique très ancienne. Elle consiste à récupérer les huiles essentielles contenues dans les cellules végétales à l'aide de la vapeur. En mettant des matières premières aromatiques naturelles dans un distillateur et en injectant de la vapeur générée par une chaudière ou un générateur, la structure des cellules végétales est transformée. Détruite et libère des molécules odorantes. Les vapeurs contenant des huiles essentielles sont condensées par refroidissement dans un condenseur avant d'être recueillies dans l'essence. Hydrolats et huiles essentielles de différentes densités se séparent naturellement dans l'essence. L'avantage de cette technique réside dans la température de

distillation plus basse, de sorte que les composés sont entraînés bien en dessous de leur point d'ébullition pour éviter la décomposition. Cela permet d'extraire des substances à point d'ébullition élevé. Cette méthode est principalement utilisée en parfumerie, comme l'extraction des huiles essentielles de roses et de bois de santal. (Tuley de silva 1995).



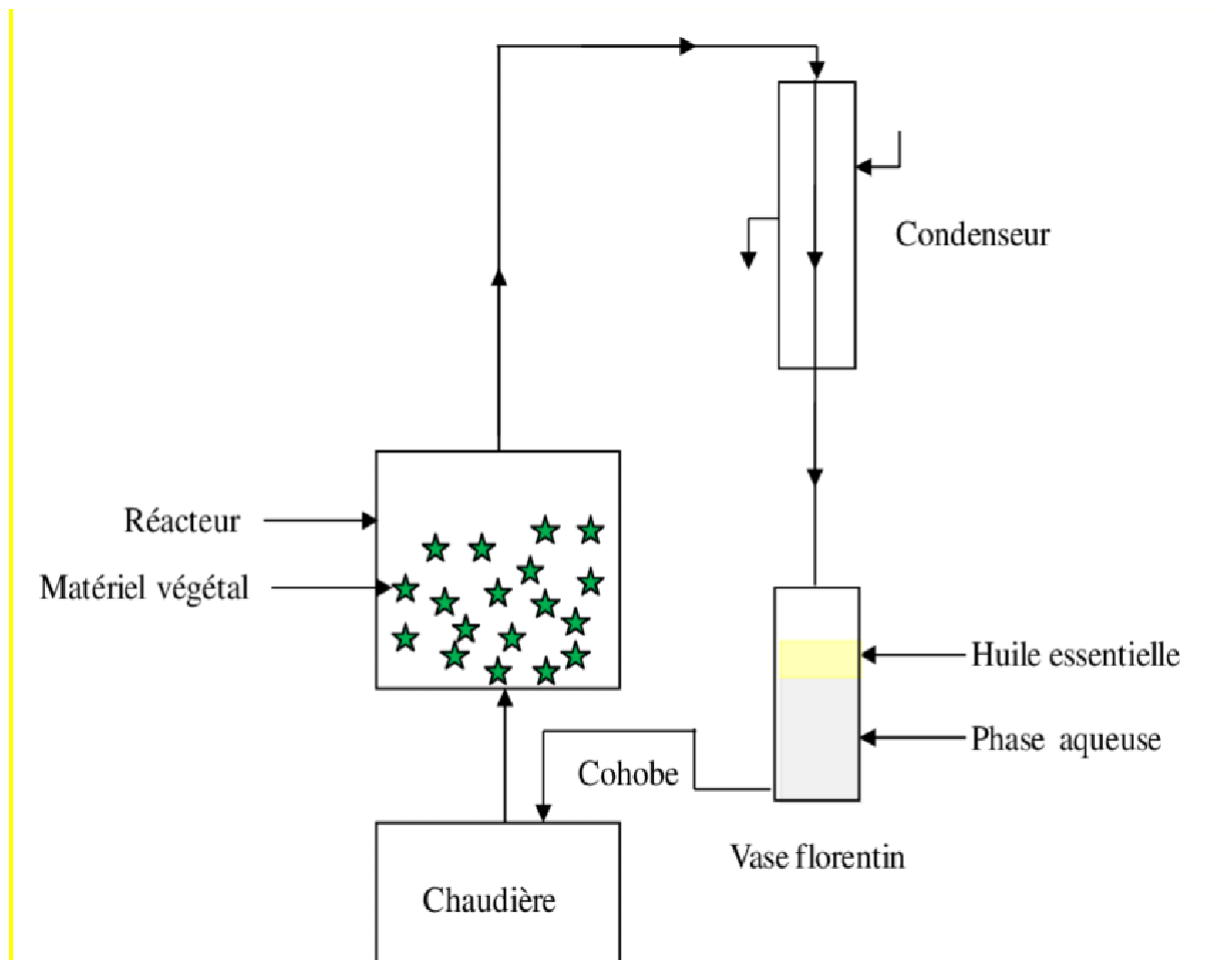
**Figure11:** Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (site web 02)

### 2.3. L'expression à froid ou Expression mécanique :

Ce procédé est spécialisé pour une variété de fruits et de plantes tels que les agrumes (oranges, citrons, mandarines, etc.). Les huiles essentielles de ces fruits sont contenues dans

de petites glandes de la peau (écorce). Cette procédure peut être effectuée sans chauffage. Une presse hydraulique est utilisée pour mettre le matériel végétal sous haute pression.

Le pressage à froid des fruits entiers (c'est-à-dire le jus et la pulpe) consiste à trier les plantes par taille et à les presser à froid sans chauffage pour extraire les huiles essentielles de la plante. Celle-ci remonte à la surface du jus séparé par centrifugation. L'extraction de l'écorce consiste à enlever l'écorce, à l'écraser et à la gratter avec un appareil équipé de pointes métalliques pour briser les sacs d'huile qui contiennent l'essence végétale (*Boudilmi et al ;2019*).



**Figure12:** Montage de l'expression à froid (*site web03*)

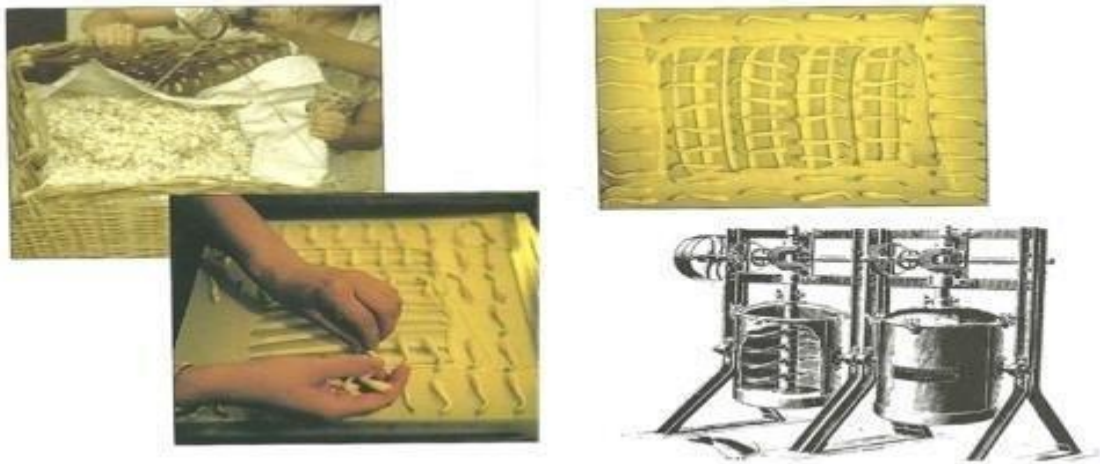
## 2.4. Enfleurage

L'enfleurage est un procédé d'extraction très ancien utilisé notamment pour les fleurs délicates, comme les roses et les jasmins, les artisans déposent des pétales de fleurs sur des corps gras raffinés. Absorbe progressivement le parfum à mesure que les substances grasses atteignent et tombent en dessous du poids de saturation. L'artisan nettoie la pommade obtenue afin qu'elle puisse absorber plus de parfum.

Cette méthode n'est plus très courante. En fait, l'enfleurage est un processus très laborieux et prend beaucoup de temps, Cependant, l'huile l'essentiel obtenu de cette manière coûte très cher.

### 2.4.1. Enfleurage à froid

Ce procédé d'extraction, qui est destiné à des huiles de fleurs de très haute qualité. Un arôme particulièrement délicat est également absorbé par l'enfleurage gras à froid. (*Brunton ;1993*).L'enfleurage est la référence dans le domaine de la parfumerie, car il préserve les senteurs les plus fines, les plus pures et les plus délicates. Le trempage dans l'alcool est beaucoup plus facile et moins coûteux. (*Naver ,1974*).

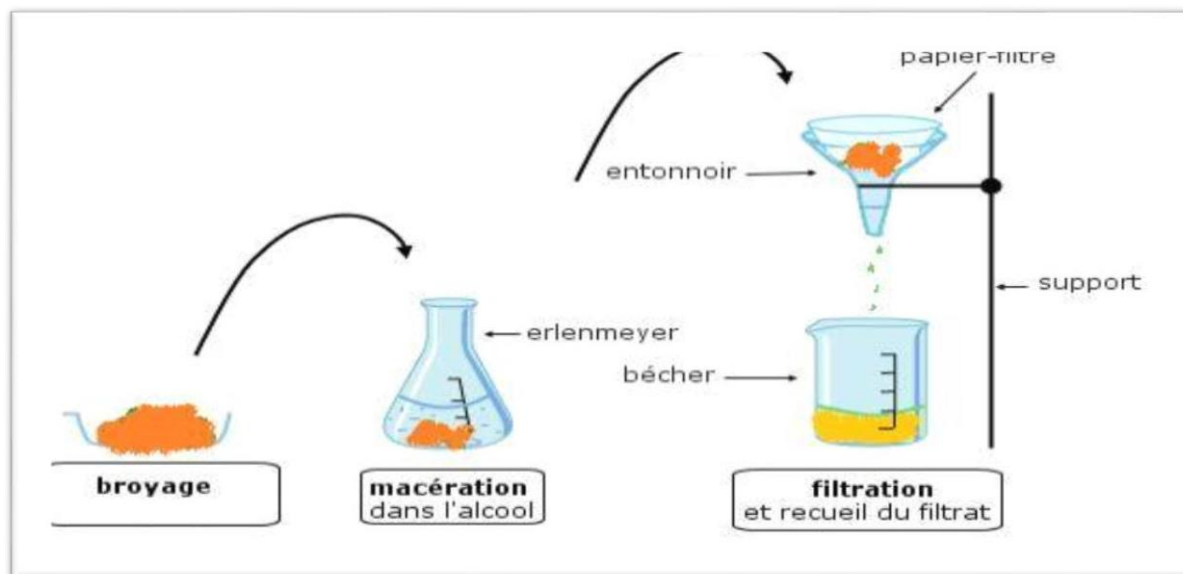


**Figure 13:** Schéma de L'enfleurage à froid (*site web04*)

### 2.5. Macération :

Dans ce processus, les fleurs sont trempées dans de la graisse animale liquide, légume. Cette immersion a lieu dans un ballon en cuivre chemisé intérieurement d'une couche de zinc. Placer ces flacons dans un bain d'eau bouillante et Un mélange lipidique, centrifuger ce mélange pour récupérer les huiles essentielles Les couches restantes sont traitées avec de l'alcool à 90%. Après refroidissement, remuer le mélange jusqu'à ce que l'alcool soit saturé d'huile En plus d'être indispensable, la phase alcoolique est également récupérée, Le résidu résultant est appelé huile anhydre. (*site web05*)





**Figure14** : schéma de protocole de macération (*site web06*)

La paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée par une seule couche composée de peptidoglycanes, à laquelle sont associés des polymères d'acides téichoïques alors que celle des Gram négatif a une paroi plus complexe la couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. La partie lipo-polysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine (lipide A) qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien (Prescott et al ;2003).

En revanche *S. aureus* est légèrement moins sensible à l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Malgré l'existence des zones d'inhibition relativement faible, nos résultats prouvent l'existence d'activité antibactérienne vis-à-vis *S. aureus* qui est un micro-organisme pathogène impliqué dans les intoxications alimentaires.

L'activité anti radicalaire élevée de la fraction d'éthanol peut être due à la présence des tanins ou bien des anthocyanines. Il a été rapporté que les polyphénols sont des donateurs efficaces d'atome d'hydrogène au radical DPPH en raison de leurs structures chimiques idéales (Erol et al., 2010). D'autre part, les résultats trouvés par Mohammed et al. (2018) montrent que l'extrait aqueux de *Pistacia lantiscus* est plus actif. Kang et al. (2003) ont suggéré que les extraits des végétaux qui contiennent des molécules polaires montrent une activité antiradicalaire élevée.

# Chapitre III

### 3. Matériels et méthodes

#### 3.1. Lieu et période de travail

Ce travail a été réalisé de 14/02/2023 jusqu'au 23/05/2023 niveau des laboratoires protection des végétaux, biotechnologie végétale et laboratoire de microbiologie au sein de faculté de science de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun Tiaret.

#### 3.1.2. Matériel végétal « cyprès vert »

Les échantillons prélevés (aiguilles) sont récoltés dans les dates et les lieux suivants :

- ❖ 1/jour : 14/02/2023 {forêt de Sougueur }
- ❖ 2/jour : 10/04/2023 {résidence Carman }
- ❖ 3/jour : 27/04/2023 {résidence Carman }
- ❖ 4/jour : 28/04/2023 {forêt de Rahouia }

Les échantillons ont été triées, lavées et séchées à l'air libre à l'abri de la lumière et de l'humidité et à une température ambiante. Une fois séchées, elles étaient conservées dans des sacs à une température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure origine 15 : MADENE,SAFI 2023

Préparation de cyprès vert

#### 3.1.3. Les souches bactériennes

Trois souches bactériennes ont été utilisées pour cette études : *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*, elles ont été repiquées dans la gélose nutritive et incubés pendant 24h à 38C°.

*E. coli* :est un membre de la famille des Enterobacteriaceae. C'est un bacille à Gram négatif, court, non sporulant et est un anaérobie facultatif (*Rivas et al., 2015*). Elle est classée comme suit :

Règne : Bacteria

Embranchement :Pseudomonadota

Classe :Gammaproteobacteria

Ordres :Enterobacterales

Famille :Enterobacteriaceae

Genre :Escherichia

***S. aureus*** : C'est des bactéries à Gram positif appartenant à la famille des Micrococcaceae, d'un diamètre de 0,5 à 1,5 µm et caractérisées par des coques individuelles, qui se divisent dans plusieurs plans pour former des grappes ressemblant à des raisins. Ce sont des anaérobies facultatifs non mobiles, non sporulés, qui se développent par respiration aérobie ou par fermentation (**Harris et al., 2002**). Elle est classée comme suit :

Règne :Bactérie

Classe :Bacilli

Ordre :Bacillales

Famille :Staphylococcaceae

Genre :*Staphylococcus*

Espèce :*Staphylococcus aureus*

***P. aeruginosa*** : C'est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet de 0,5 à 0,8µm de diamètre sur 1 à 3µm de long, mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique, dépourvu de spores et de capsules, possède une oxydase positive et aérobie strict (**Hafiane et Ravaoarinoro, 2008**).

Règne : Bacteria

Embranchement :Pseudomonadota

Famille :Pseudomonadaceae

Ordre :Pseudomonadales

Genre :*Pseudomonas*

Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*

Les références des trois souches sont résumées dans le tableau N°03.

**Tableau N°03 : origines des souches bactériennes**

Souche bactérienne	Origine	Test de standardisation
<i>E. coli</i>	ATCC 8739	0.081
<i>S. aureus</i>	ATCC 43300	0.084
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 9027	0.080

Une souche fongique a été employée pour cette étude il s'agit de *Candida albicans* dont la référence ATCC 10231. *Candida albicans* est une levure pathogène opportuniste responsable d'infection appelée candidos

### 3.2. Dispositifs et produits

Les appareils, verreries et les produits utilisés pour la réalisation de ce travail sont mentionnés dans le tableau N°04

**Tableau 04 : dispositifs et produits utilisés**

Les appareils utilisés	La verrerie utilisée	Les produits utilisés
Autoclave	Bécher	Méthanol
Bain Marie	Boîtes pétrie	Ethanol
Etuve	Papier filtre	DPPH
Rota vapeur	pipettes pasteur	DMSO
Balance	les tubes	Eau distillé
Bec benzène	spatule	Gélose
Agitateur	entonnoir	Folin
Micropipette		NA2 CO3
vortex		ALCL3
		NANO2

### 3.3. Préparation des extraits

#### 3.3.1. Extraction hydro-alcoolique

Les préparations à été réalisés par l'ajout de 20g des aiguilles du cyprès sèches broyées dans 100 ml de solvant, dans l'exemple de l'éthanol (70ml d'éthanol + 30 ml d'eau distillée), placé sous un agitateur pendant 24 h. Les extraits bruts sont obtenus après une évaporation à sec du filtrat dans un rotavapeur. Le même protocole sera appliqué pour l'extrait méthanoliques.



**Figure 16 :** Préparation des extraits secs (Madene et Safi 2023)

#### 3.3.2. Solubilisation des extraits a testé

Les deux extraits secs sont solubilisés dans le DMSO pur, par la dilution de 250mg de d'extrait sec dans 5ml de DMSO. Trois concentrations pour chaque extrait ont été préparés pour tester l'activité antibactérienne et antifongique (20%, 30% et 60%).



**Figure N°17 :** solubilisation des extraits dans le DMSO (Madene et Safi 2023)

### **3.3.3. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau**

suite au manque de dispositif de distillation à la vapeur d'eau , nous avons opté à utilisé le montage figurant dans la figure n 18, une quantité de 2kg a été placé dans une cocotte-minute avec 4 litres d'eau mise sous un feux moyen ( les aiguilles ne sont pas en contact direct avec de l'eau et le temps de distillation durant 2heures ), reliée à un tube en plastique passant dans un seau d'eau froide avec des glaçons ajoutés, la vapeur d'eau chargée des huiles essentielles est versé dans un bocal en verre recouvert d'aluminium pour préserver la qualité de la séparation du produit de l'huile provenant du processus de distillation.





**Figure N°18 :** Montage de distillation (Madene et Safi 2023)

La décantation est réalisée dans une ampoule à décanter de 250 ml, dans laquelle, l'huile extraite, se sépare en deux phases non miscible. La phase organique en dessus reste au niveau de l'ampoule à décanter et la phase aqueuse est récupérée dans un bécher.

### 3.3.3. Caractérisation phytochimiques

Cette étude consiste à déterminer deux métabolites secondaires les plus abondants dans les plantes tel que les phénols totaux et les flavonoïdes totaux.

#### 3.3.3.1. Dosage de phénol totaux

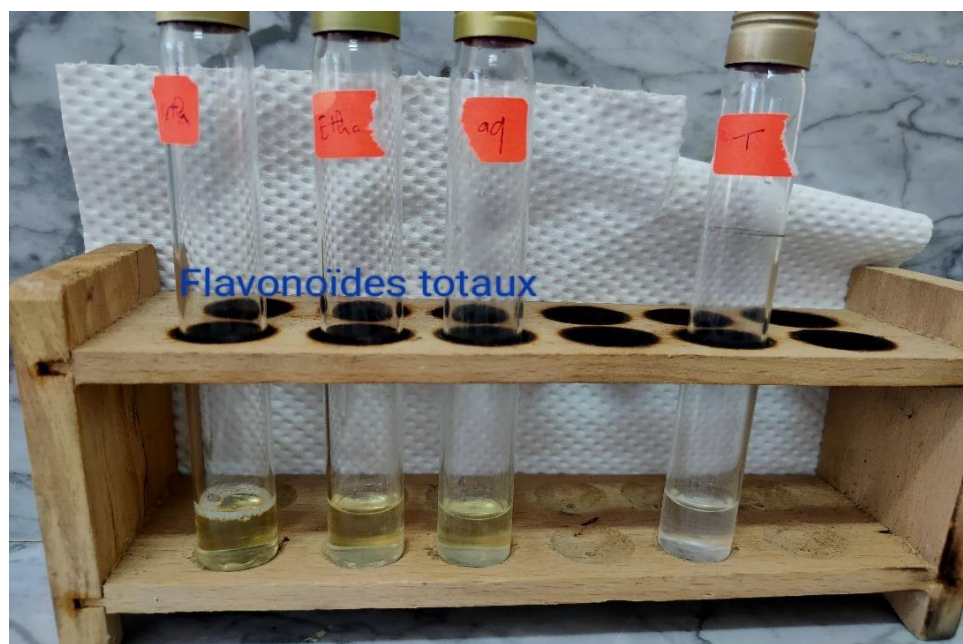
La teneur en phénol totaux des extraits a été déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu (*AL-Farsi et al., 2005 ; Agbonon et Gbeassor, 2009*). Une quantité de 200µl de l'extrait (1mg/ml) est mélangée avec 1500µl du réactif de Folin-Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué). Après 5 minutes de réaction, 1500µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 60% ont été incubé à température ambiante pendant 90 minutes et la lecture a été effectuée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.



**Figure N°19 : dosage de phénol totaux(Madene et Safi 2023)**

### **3.3.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au  $AlCl_3$  (Kim *et al.*, 2003 ; Bougandoura et Bendimerad, 2013). Une quantité de 200 $\mu$ l de l'extrait a été mélangée avec 1,2 ml d'eau distillée et par la suite avec 0,09 ml d'une solution de  $NaNO_2$  à 5%. Après 5min, 0,06 ml d'une solution d' $AlCl_3$  à 10% a été ajouté. On a additionné au mélange précédent 0,6 ml de solution de  $Na_2CO_3$  (1M) et 0,75 ml d'eau distillée après 5min repos. L'ensemble a été finalement agité à l'aide d'un vortex et l'absorbance a été mesurée à 510 nm.



**Figure N°20 : Dosage des flavonoïdes totaux (Madene et Safi 2023)**

### **3.4. Etude de l'activité antibactérienne**

#### **3.4.1. Préparation de milieux de culture**

Pour l'étude de l'activité antibactérienne, la gélose nutritive a été utilisée comme milieu d'enrichissement pour toutes les souches bactériennes repiquées. Pour obtenir des colonies jeunes des bactéries afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles, végétales et les extraits déjà préparés. Pour l'activité antibactérienne la gélose Mueller Hinton Agar 39g/l a été utilisée, ça préparation consiste à mettre 39g de poudre de MHA dans 1litre de l'eau distillé, placé sou un agitateur pendant 15min a une température ambiante, puis versé dans des flacons de 200ml et autoclavé a 121C° de 15 a 20min. En effet il s'agit d'un milieu non sélectif et qui comporte des ions favorisant une bonne diffusion des antibiotiques. Tous les milieux de culture sont de Pronadisa.

Après l'obtention des jeunes souches, on réalise le teste de standardisation pour obtenir une charge bactérienne de  $10^7$ , cette étape est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV, avec une densité optique de 0,08 à 0,13 à une longueur d'onde 625-630 nm.



**Figure origine N°21:** préparation des suspensions bactériennes et ensemencement des boîtes (Madene et Safi 2023)

### 3.4.2. Préparation du milieu de culture

Pour le milieu de culture pour la souche *Candida*, on a préparé 50g de SB dans 1000ml de l'eau distillée chauffée, le mélange a été mis sous l'agitation pendant 15 à 20 min jusqu'à l'homogénéisation de la solution, cette dernière a été stérilisée à l'aide d'un autoclave pendant 15 min.

Les spores de *Candida* ont été repiquées et incubées pendant 24h, après la récupération des spores dans un tube contenant de l'eau distillée on réalise la standardisation de la suspension pour une DO qui varie entre 0,15 et 0,25 à une longueur d'onde 620 nm.

### 3.4.3. Méthode de diffusion sur disques

Pour mettre en évidence les activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles et les extraits du *Cyprès vert*, la méthode utilisée repose sur la diffusion de ces derniers à partir des disques sur un milieu solide qui contient le MH ensemencé par les suspensions bactériennes, le SB ensemencé par les suspensions fongiques. Les résultats sont exprimés par l'apparition d'une zone d'inhibition au tour des disques, plus la zone est grande plus la sensibilité des souches est élevée.



### 3.5. Etude de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des extraits et des huiles essentielles a été étudiée selon la méthode basée sur la réduction de DPPH par les antioxydants selon le protocole décrit par (*Sanchez, 2002*). Après avoir solubilisé 5mg de DPPH dans 25ml d'éthanol absolu, trois tubes ont été préparés séparément :

- Échantillons : 0,4 ml de DPPH +100 µl de l'extrait +1,5 éthanol absolu
- Contrôle négatif : 0,4 ml DPPH + 1,6 ml d'éthanol
- Contrôle Blanc : 1,9 ml d'éthanol absolu seul

Après agitation, les tubes ont été placés à l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture a été effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 2 fois. Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-Activité anti-radicalaire (%) = ((Ac-At) /Ac) x100 (*Dongmoet al ;2010*)

D'après (*Dung et al ; (2008) et Eyob et al ;(2008)*), la variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l'extrait végétal et de l'acide ascorbique, permet également de calculer le paramètre CE50 qui représente la concentration efficace. Cette dernière est définie comme étant la concentration de l'extrait végétal ou de l'acide ascorbique nécessaire pour réduire 50% de l'activité de DPPH (*Molyneux, 2004*).



**Figure N 22:** Activité antioxydant des différentes concentrations des extraits  
(Madene et Safi 2023)

# Chapitre IV

## 4. Résultats

### 4.1. Rendement en extrait

Le rendement en extrait sec obtenu après évaporation a été déterminé par rapport à 40g de matière végétale (poudre des aiguilles).

$$R = (P_E/P_P) \times 100$$

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du cristalliseur plein après évaporation et le poids du cristalliseur vide.

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le tableau 05.

**Tableau05** : taux de rendement des trois extraits du cypré vert

Extrait	Poids d'extrait sec	Rendement
Extrait méthanolique	7.54g	37.7%
Extrait éthanolique	8.81g	44.05%

A partir des résultats obtenus, il en ressort que la méthode d'extraction en utilisant l'éthanol est la méthode la plus efficace avec un rendement égale à 44,05% suivi par l'extraction par méthanol avec un rendement de 37, 7%.

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (*Quy Diem Do et al ; 2014*).

D'après (*Quy Diem Do et al ; 2014*), l'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et / ou dans le solvant organique.



## 4.2. Screening phytochimiques

### 4.2.1. Polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des extraits et des huiles essentielles du cypré vert est faite par l'utilisation de réactif de Folin Ciocalteu. La concentration en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de la courbe d'étalonnage d'acide gallique ( $y=0,0056x+1,0519$ ). La teneur en polyphénols est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/100 g MS) selon la formule suivante :

$$T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$$

Avec :

**T** : Teneur en polyphénols

**C** : Concentration en polyphénols déduite de la courbe d'étalonnage ;

**V** : Le volume de la prise d'essai ;

**D** : nombre de dilution ;

**P** : Prise d'essai initiale.

**Tableau 06 : résultats de la teneur en polyphénols totaux des extraits du cypré vert**

Echantillon	DO	Teneur déduite à partir de la formule	teneur en polyphénols mg EAG /100g
Extrait méthanolique	1,293	43.05	162.86
Extrait éthanoliques	1,515	81.43	86.1

En vue d'ensemble, il est évident que les deux extraits des aiguilles du cypré vert sont moyennement riches en polyphénols totaux. Les teneurs minimales enregistrées pour ce composé dépassent les 86.1mg EAG/100 g MS. Aussi, il est clair que les extraits méthanoliques sont plus riches en polyphénols totaux par rapport aux extraits éthanoliques.

Dans ce contexte, (*Rhazi et al ; 2005*) ont observé que le solvant le plus efficace pour extraire les polyphénols à partir de la plante marocaine *Acacia mollissima* est le méthanol

aqueux (80%) suivie par l'éthanol aqueux (80%) et enfin l'eau, ce qui concorde avec nos résultats.

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (*Békro et al ; 2007 ; Kebièche et al ; 2011*).

#### 4.2.2. Flavonoïde

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). La concentration en flavonoïdes de chaque extrait de plante a été calculée à partir de l'équation de la droite de régression de courbe d'étalonnage de Quercitine ( $y=0.0692x+0,0188$ ) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligrammes équivalent de Quercétine par gramme de la matière végétale sèche (mg EQ/ 100g MS) selon la formule suivante :  $T = [(C \times V \times D) / P] \times 100$

**Tableau 07 : résultats de la teneur en flavonoïdes des extraits du cypré vert**

Echantillon	DO	Teneur déduite à partir de la formule	teneur en polyphénols mg EAG /100g
Extrait méthanolique	0,140	1.75	35
Extrait éthanoliques	0,149	1.88	37.6

A partir des résultats obtenus, il en ressort que les extraits des aiguilles du cypré vert contiennent des faibles quantités de flavonoïdes. En remarque que les teneurs les plus élevées sont enregistrés pour les extraits éthanoliques avec une valeur de 37.5mg. Le screening phytochimiques (dosage des polyphénols totaux et flavonoides), a révélé la richesse des extraits des aiguilles du cypré vert en polyphénols. D'autre études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le degré de durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (*Özcan et al., 2009; Özcan, 2004; Couladis et al., 2003*).

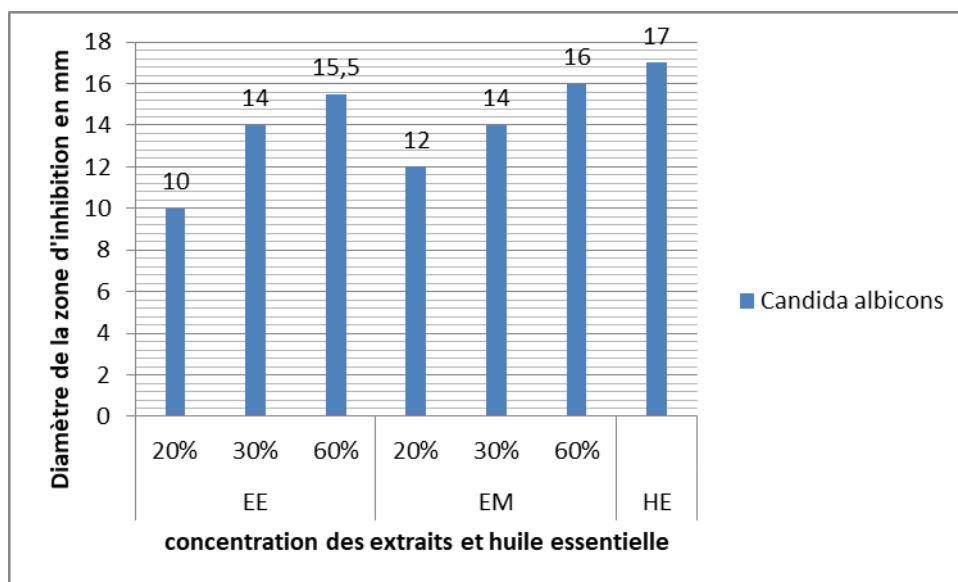
### 4.3. Activité Antifongique

L'effet antifongique des extraits et des huiles essentielles a été estimé pour la méthode de diffusion sur disques en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis *candida albicans*

#### 4.3.1. Activité antifongique des huiles essentielles et des extraits du cyprès vert

A partir des résultats obtenus, il en ressort l'huile essentielle du cyprès vert démontre une bonne activité fongicide contre la souche fongique étudiée. Il est à noter que le diamètre de la zone d'inhibition enregistré est de 17mm.

Les résultats obtenus par l'application des différents extraits à différentes concentrations (20%, 30% et 60%), démontre une activité fongicide contre la souche *Candida albicans*, on remarque que le diamètre des zones d'inhibition de la souche *Candida albicans* oscille entre 10mm et 16mm pour les trois concentrations des deux extraits. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour les concentrations 60%. Cette souche fongique est sensible aux deux extraits utilisés.



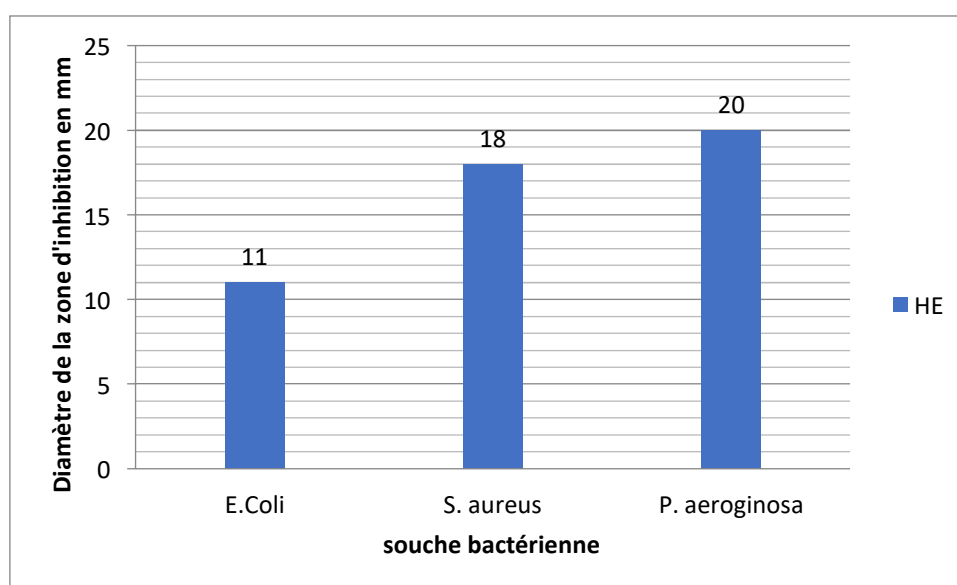
**Figure 23 :** diamètre des zones d'inhibition de la souche fongique en fonction des concentrations des extraits et de l'huile essentielle

### 4.4. Activité antibactérienne

L'effet antibactérien des extraits et des huiles essentielles a été estimé pour la méthode de diffusion sur disques en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis trois souches bactériennes (*E.coli*, *S.aureus* et *P.aerogenosa*).

#### 4.4.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles du cypré vert

A partir des résultats obtenus, il en ressort que les trois souches bactériennes sont sensibles à l'huile essentielle du cypré vert. La souche *Pseudomonas aerogenosa* est la plus sensible avec un diamètre de la zone d'inhibition égale à 20mm. La valeur la plus faible des zone d'inhibition est enregistré pour la souche *E.coli*(11mm).

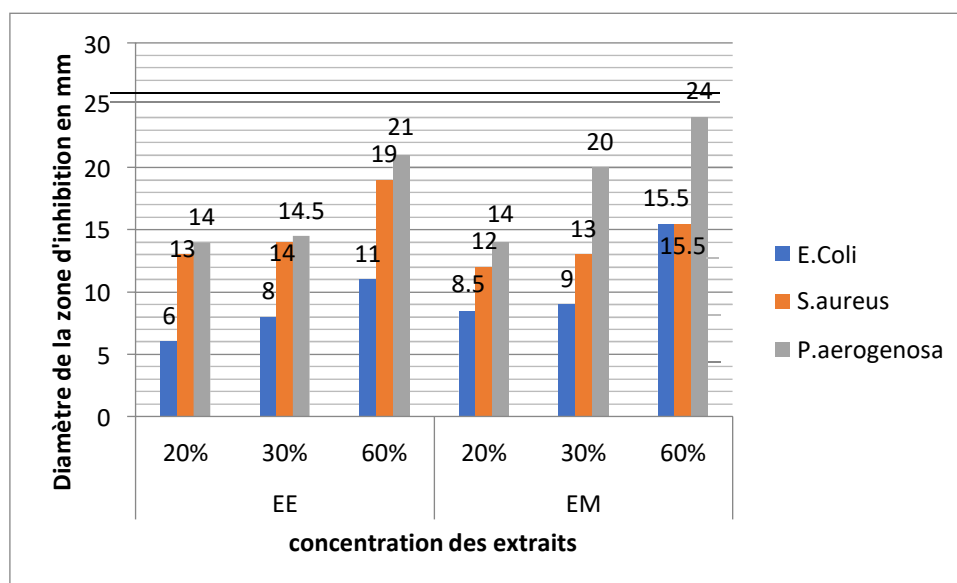


**Figure 24:** diamètres des zones d'inhibitions des trois souches bactériennes en fonction de l'huile essentielle du cypré vert

#### 4.4.2. Activité antibactérienne des extraits du cypré vert

Les résultats obtenus par l'application des deux extraits préparés à partir des aiguilles du cypré vert, démontrent une activité antibactérienne pour les trois souches utilisées. A travers la figure 25, il en ressort que la souche bactérienne *P. aerogenosa* est la plus sensible aux deux méthanoliques. On enregistre une zone d'inhibition d'un diamètre de 24 mm à une concentration de 60% de l'extrait méthanoliques.

La souche *E. coli* est la plus résistante vis-à-vis des deux extraits, avec un diamètre de zone d'inhibition minimal de 6mm et une valeur maximale égale à 15.5 mm à une concentration 60% de l'extrait méthanoliques.



**Figure 25 :** diamètre des zones d'inhibitions des trois souches bactériennes en fonction des concentrations des différents extraits du cypré vert.

D'après les résultats obtenus, on remarque que indépendamment de la nature de l'extrait ou de sa concentration, les bactéries à Gram(-) possèdent une forte résistance. Cette résistance n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides) (*Faucher et Avril, 2002*).

Il apparaît que *S. aureus* est la bactérie la plus sensible par comparaison à *E. coli*, ceci peut être attribué à la différence de la structure de la paroi entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif (*Djemai-zoughlache, 2009*).

La paroi cellulaire des bactéries Gram positif est constituée par une seule couche composée de peptidoglycane, à laquelle sont associés des polymères d'acides teichoïques alors que celle des Gram négatif a une paroi plus complexe la couche de peptidoglycane est plus fine que celle des Gram positif, et elle est entourée par une membrane externe composée de lipopolysaccharides et de lipoprotéines. La partie lipo-polysaccharidique de la paroi des Gram négatif comprend les molécules d'endotoxine (lipide A) qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien (*Prescott et al ;2003*).

#### 4.5. Activité Antioxydante

Les mesures de la diminution de l'absorbance du radical DPPH provoquée par la présence des extraits après 30 minutes ont permis de déterminer le pouvoir antioxydant des différents extraits. Le pouvoir d'inhibition (PI) a été exprimé en présence de différentes dilutions (PI% en fonction de la concentration après 30 min d'incubation à température ambiante à l'obscurité). Le pouvoir d'inhibition est calculé à

A partir de la relation suivante.

$$PI(\%) = \text{Activité anti-radicalaire } (\%) = ((A_c - A_t) / A_c) \times 100$$

PI(%) : pouvoir d'inhibition en %

A t: absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait.

A c: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait.

A partir des résultats de PI(%) obtenue, on note que les deux extraits démontrent une activité antioxydante très importante. les résultats pour les différents extraits à une concentration de 1mg/ml sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 08 :**activité anti radicalaire des extraits du cypré vert

	Extrait méthanolique	Extrait éthanolique
Pouvoir antioxydant	78.5%	63.74%

A partir de ces résultats, on remarque que les extraits éthanoliques présentent une activité anti radicalaire de DPPH les plus élevés qui dépassent les 78%, le plus faibles pourcentage anti-radicalaire (63.74%) est enregistré pour les extraits éthanoliques. On générale, on remarque que les deux extraits possèdent un pouvoir antioxydant très élevé.

# Conclusion

### Conclusion générale

La caractérisation phytochimiques et la détection des substances bioactives, la caractérisation quantitative des teneurs en poly phénols totaux, en flavonoïdes, ainsi que les activités antioxydante et antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles et des extraits méthanoliques, éthanoliques des aiguilles du cyprès vert ont été évalués dans le présent travail.

Après le screening phytochimiques, nous avons pu mettre en évidence la présence polyphénols et des flavonoïdes. L'extraction des composés polyphénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

Les différents extraits et l'huile essentielle ont montré des activités intéressantes sur la souche fongique *Candida albicans*.

En revanche, Les différents extraits et l'huile essentielle ont montré des activités antibactériennes sur trois souches bactériennes testées : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogenosa* et *Escherichia coli*. Les trois souches testés démontrent une certaine sensibilité aux extraits et l'huile essentielle du cyprès vert.

La souche *Pseudomonas aerogenosa* montre une sensibilité remarquée pour les deux extraits à différentes concentrations.

De cette étude, il ressort que le méthanol est le meilleur pour l'extraction des polyphénols. L'étude des propriétés antioxydante des trois extraits par la méthode de piégeage du DPPH nous montre l'efficacité de la fraction de méthanol de piéger le radical DPPH (78.5%). Ce résultat prometteur et très encourageant nous offre une grande possibilité d'obtenir des molécules dotées d'activité antioxydante très élevée.

Un travail complémentaire s'impose en vue d'identifier les différentes molécules bioactives et les purifier en utilisant diverses techniques chromatographiques et spectrales.



# Référence bibliographique

### REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES

**Ajif H., Mokahli S., Bourra H., Aichane A., Bouayad Z., 2006.** Sensibilisation cutanée au cyprès à Casablanca Cutaneous sensitisation to cypress in Casablanca. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 46(7): 633-639

**Alifrique M., 1995** – La Cupressacée endémique de *Cupressus atlantica* Gaussen, un espace près steppique de montagne menacé dans le Haut Atlas Occidental marocain. France, pp. 163 – 172.

**Amara N., Boughérara Y. 2017-** Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprès Vert (*Cupressus Sempervirens* L. *Algerian Journal of Natural Products* 5:2 , 455462

**Al-Sanafi A S. 2016-** Medical importance of *Cupressus sempervirens*. Department of Pharmacology, College of Medicine, Thi qar University, Nasiriyah, P O Box 42, Iraq. *IORES Journal of Pharmacy*

**Attou A. 2017.** Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne. Thèse de Doctorat en Biologie Option: Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse Présentée, Université Abou BekrBelkaid Tlemcen.

**Benkadouri ,A. 2011** Etudes des huiles essentielles de l'*Opuntia ficus indica* Région de Mascara, Université d'Oran.

**Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Barron M, Shahidi F. 2005.** Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (*Phoenix dactylifera* L.) Varieties Grown in Oman. *J. Agric. Food Chem*, **53** : 7592-7599

**Benjamaa M L. 2004** – Dépérissement d'arbres forestiers (Cyprès, Eucalyptus, Pins) dans le Golf de Carthage. Rapport de tournée, Tunisie, 3p.

**Bonnier, G. 1990** - La grande flore en couleur. Tome 4, Ed Belin, Paris (pp. 1354-1355

## REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES

- Boudilmi Imane** et Mehoulas Yasmina, Huile essentielle de figue de barbarie (*Opuntia ficus-indica*),; UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA, 2019
- Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier,. (Technique et documentation. 1993.
- Bouyahyaoui A.**, 2017. Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Thèse Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences biologiques. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 89p
- Burt, S.A.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. International Journal of Food Microbiology. 2004.
- Brofas G.**, Karetsos G., Dimopoulos P., Tsagari C., 2006. The natural environment of *Cupressus sempervirens* in Greece as basis for its use in the Mediterranean region. Land Degrad. Develop. 17:659.
- Becker M ., Picard J-F., Timbale J.**, 1983. Les arbres méditerranéens. Paris New York Barcelone Milan Mexico Sao Paulo p 36
- Békro Y.A , Janat a, Békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E.** 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (baill.) Herend et Zarucchi (caesalpiniaceae). Sciences & nature. vol4 n°2: 217 –225
- Camus A.** 1914 – Les Cypres (genre *Cupressus*) : Monographie, systématique, biologie, culture et principaux usages. Ed. Paul Le chevalier. Paris, 106 p
- CHARIK Safia**, KADRI Yamina. Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *Lavandula officinalis* , Mémoire de Master Académique ; Chimie Pharmaceutique , UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA. 2019
- Caudullo G.**, de Rigo D., 2016. *Cupressus sempervirens* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. European Atlas of Forest Tree Species, 3:87-89.
- Cherief I.**, Ben Jannet H., Hammami M., Gannoun S., 2006. « Composition chimique de l'huile Essentielle des cônes du *Cupressus sempervirens* L. » poussant en Tunisie, Journal de la société Algérienne de chimie, 16(1), pp 91-98

## REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES

**MNAYER ,D.2014.** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants, Thèse Présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

**Debbab S.,** 2017. Etude in vitro et in vivo des pouvoirs biofongicides des extraits naturels vis-à-vis de l'agent de la fusariose de la tomate : *Fusarium oxysporum* f.s.p *radicis lycopersici*. Mémoire de fin d'études Pour l'obtention du diplôme de Master en sciences agronomique. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 69p

Djemai-zoughlache S., 2009.Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L. mémoire de fin d'étude option biochimie appliquée. Université El-hadj lakhder-BATNA, 56 p.

Dongmo P, Tchoumboungang F, Ndongson B, Agwanande W, Sandjon B , Amvam Zollo ,Dung C .2010 . Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea*

*klaineana* (Burseraceae) growing in Cameroon. Agriculture and biology journal of America Issn print: 2151-7517, issn online: 2151-7525

Faucher J.L., Avril, J.L., 2002. "Bactériologie générale et médicale". Tome I. Ellipses (Éd). Paris, P : 214.

**Hireche B.,** Ferhat H., 2019. Etude de l'effet inhibiteur des huiles essentielles de Cyprés (*Cupressus Sempervirens*. L) sur la corrosion de l'acier X70 (sans et avec soudure). Mémoire de master. Université Mohamed Khider de Biskra, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature,154p.

Harris L., Foster S., Richards R. 2002.An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review. Eur. Cells Mater.;4:39–60

Eyob S,Berit Karoline, Baardsen Martinsen, Admasu Tsegaye, M. Appelgren.2008 Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen) ,african journal of biotechnology 7(15)

**Ilkay E O** et Ibrahim T . 2014- Potential of *Cupressus sempervirens* (Mediterranean Cypress) in Health. Published online 2014 Dec 12. doi : 10.10162FB978-0-12-4078499.0005

## REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES

**Koreim K.**, 2009. Lead toxicity and the protective role of *Cupressus sempervirens* seeds growing in Egypt. *Rev. Latinoamer. Quím*, 37 (3):230-242.

Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.*, 51(22) : 6509-6515. DOI : 10.1021/jf0343074.

Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z etSoulimani R. (2011) Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens*L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*. 9: 274-282

**Marie Elisabeth LUCCHESI**, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, UNIVERSITE DE LA REUNION, Faculté des Sciences et Technologies. 2005.

**Molino P.**, 2005. A guide to medicinal plants in North Africa.Spain. IUCN centre for Mediterranean cooperation, 269p.

Molyneux, P., 2004. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." *Songklanakarin journal . Sci. Technol* 26(2): 211-219.

**Nichane N.** 2015 - Contribution à l'étude du dépérissement du Cypres vert (*Cupressus sempervirens* L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen). Département d'Ecologie et Environnement. Université Tlemcan. Algerie.Pp :22-26

**Naves Y.R.** Qu'est ce qu'une huile essentielle. Ed. Masson, Paris 1974

Ozcan A,Mehmet A. Oturan , Oturan N, Yücel .2009.Removal of Acid Orange 7 from water by electrochemically generated Fenton's reagent *J. Hazard Mater.*

Özcan,A. 2004.Adsorption of acid dyes from aqueous solutions onto acid-activated bentonite, *Journal of Colloid and Interface Science*, volume 276,issue 1

Prescott L., Harley J., Klein D., 2003.*Microbiologie*. Ed. De Boek université, 1137 p.

Quy Diem Do , Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen , Lien Huong Huynh , Felycia Edi Soetaredjo , Suryadi Ismadji , Yi-Hsu Ju .2014. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* *J Food Drug Anal* ;22(3):296-302

## REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES

**Rawat R.**, Kumar R., Mutande T., and Bux F. 2011- Dual role of microalgae phytoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. Applied Energy, vol 88 no 10, pp.3411–3424

**Raynaud J.**, 2006. Prescription et conseil en aromathérapie. Edition TEC et DOC, Lavoisier

Rhazi N.Oumam M Hannache A.Sesbou B.Charrier A .Pizzi F.Charrier – El Bouhtoury ; 2005 Comparison of the impact of different extraction methods on polyphenols yields and tannins extracted from Moroccan *Acacia mollissima* barks

**Samy A.**, Selim ., Mohammed E., Adam., Sherif M., Hassan et Abdulrhman R., Albalawi. 2014 - Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.), MC Complementary and Alternative Medicine, 14:179

**Sebban B.**, Khaldi M., 2019. Quelques composés secondaires isolés à partir des plantes de la famille de Cupressacée (*Cupressus sempervirens*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus communis*) : extraction, caractérisation et activité antibactérienne. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme master. Université Ali Mohand Oulhadj – Bouira, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, 67p.

**Shahali Y.**, Sutra J.P., Peltre G., Charpin D., Sénéchal H. Poncet P ; 2010 IgE Reactivity to common Cypress (*C. sempervirens*) pollen Extracts : Evidence for Novel Allergens. WAO Journal. 3:229-234.

**Stewart P H.** 1969 – Quotient pluviométrique et dégradation biosphérique. Bull. Soc. Afrique du Nord, 59 p

Sanchez, A, Ysunza, F, Beltran-Garcia, MJ, Esqueda, M, 2002. Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. J. Agric. Food Chem., 50 (9): 2537-2542

**Tumen I.**, Süntar I., Keleş H., Küpeli Akkol E., 2012. A therapeutic approach for wound healing by using essential oils of *Cupressus* and *Juniperus* species growing in Turkey. Evidence- based complementary and alternative medicine, 2012:1-7.

Site web 1 : <https://www.researchgate.net/profile/Hamdani-Fatima-Zohra/publication/324165311/figure/fig2/AS:971565856473092@1608650759824/Schema-du-montage-dhydrodistillation.jpg>

## REFERENCES BIBIOGRAPHIQUES

Site web 2 : <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRCiSNd0oBwFiNIAPtGULLWEh4gOCXYCGBFZg&usqp=CAU>

Site web 3: [https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Ffigure%2FSchema-du-montage-de-l'expression-a-froid-32\\_fig5\\_278635494&psig=AOvVaw1Pu4oqayf8vHeVMuEVigCH&ust=1687253372591000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCLDgx46Dz\\_8CFQAAAAAdAAAAABAD](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Ffigure%2FSchema-du-montage-de-l'expression-a-froid-32_fig5_278635494&psig=AOvVaw1Pu4oqayf8vHeVMuEVigCH&ust=1687253372591000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCLDgx46Dz_8CFQAAAAAdAAAAABAD)

Site web 4: [https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Ffigure%2FPhotos-du-dispositif-de-lenfleurage-a-froid-27\\_fig3\\_335505290&psig=AOvVaw0bSgWCrSR3sqGh\\_UzTUjn&ust=1687253609528000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCPiY59yDz\\_8CFQAAAAAdAAAAABAD](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Ffigure%2FPhotos-du-dispositif-de-lenfleurage-a-froid-27_fig3_335505290&psig=AOvVaw0bSgWCrSR3sqGh_UzTUjn&ust=1687253609528000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCPiY59yDz_8CFQAAAAAdAAAAABAD)

Site web 5: <https://fr.wikipedia.org/wiki/Mac%C3%A9ration>

Site web 6: [https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fles-colorants-jaunes-des-bonbons-21.webself.net%2Fi-extraction-et-identification-des-colorants&psig=AOvVaw2HUV3m1r5knLoINmGFrSrP&ust=1687253927537000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCMjyrfKEz\\_8CFQAAAAAdAAAAABAD](https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fles-colorants-jaunes-des-bonbons-21.webself.net%2Fi-extraction-et-identification-des-colorants&psig=AOvVaw2HUV3m1r5knLoINmGFrSrP&ust=1687253927537000&source=images&cd=vfe&ved=0CA4QjRxqFwoTCMjyrfKEz_8CFQAAAAAdAAAAABAD)

## Annexe 1

### Photos des essais expérimentales



Spectrophotomètre



Etuve



Milieu MH





Balance

écoulement des boîtes



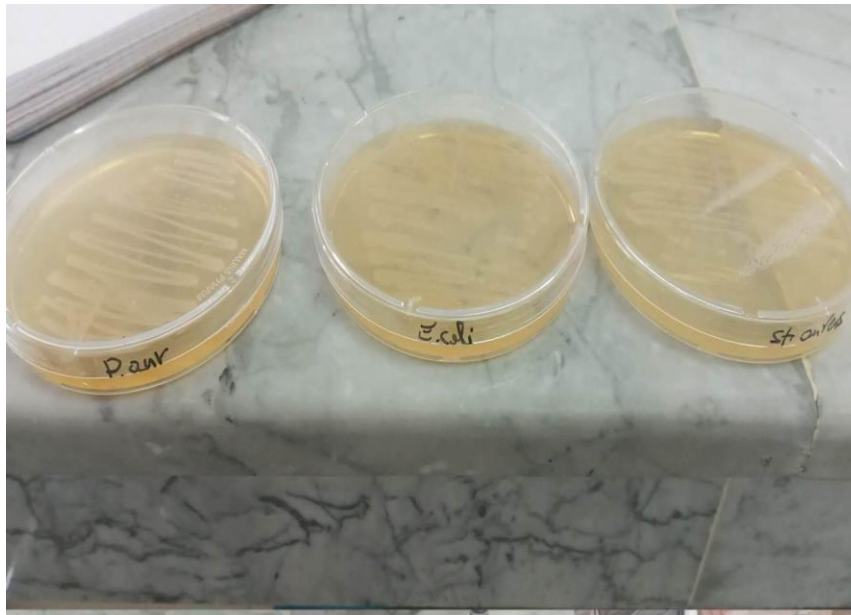
extraction par vapeur d'eau



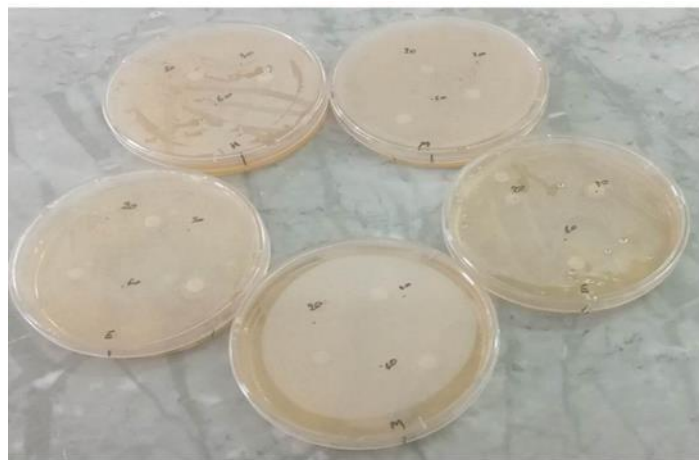
Balance mg

**annexe 2**

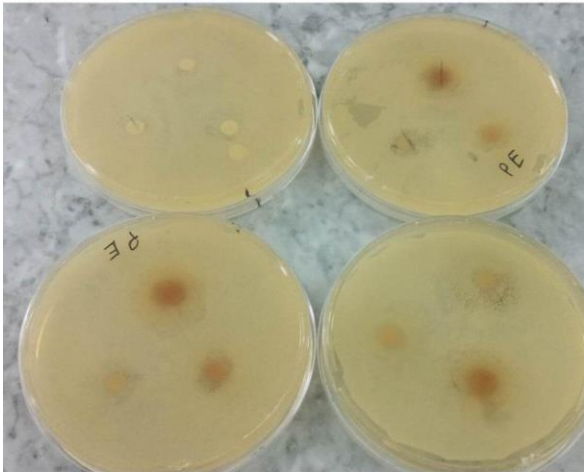
**résultats du test anti bactérienne sur trois souches  
bactériennes et résultats du test antifongique sur condida albicans**



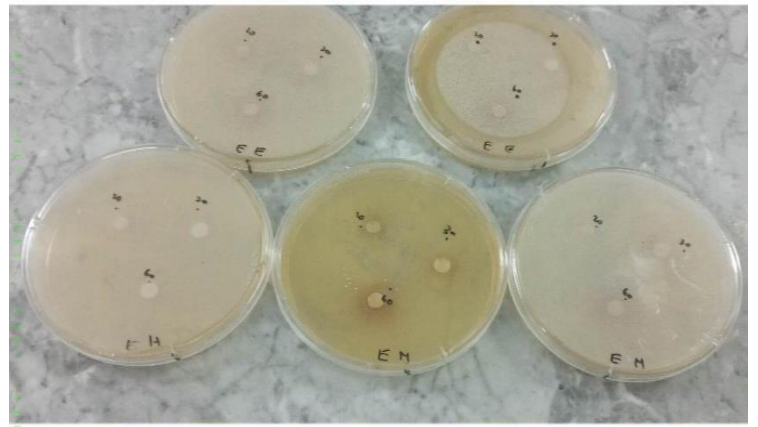
les souche bactérienne (Ecoli, s.aureus, p ,aeruginosa)



condida albicans



*p.aeruginosa* ( extrait éthanol, méthanol, hile)



*s. aureus* ( extrait éthanol, méthanol, huile)



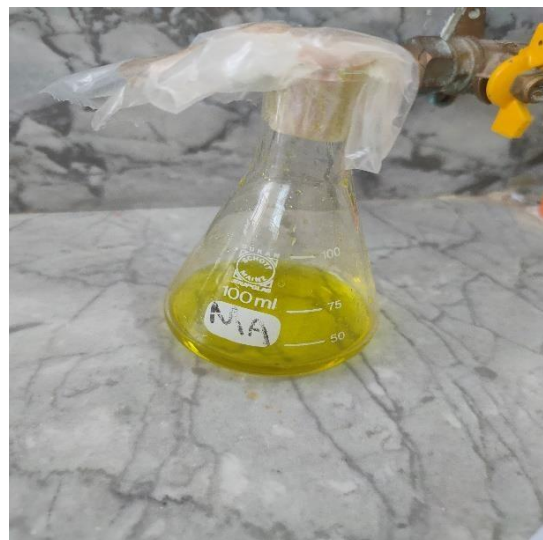
*Ecoli* (extrait éthanol, méthanol, huile)

### Annexe 3

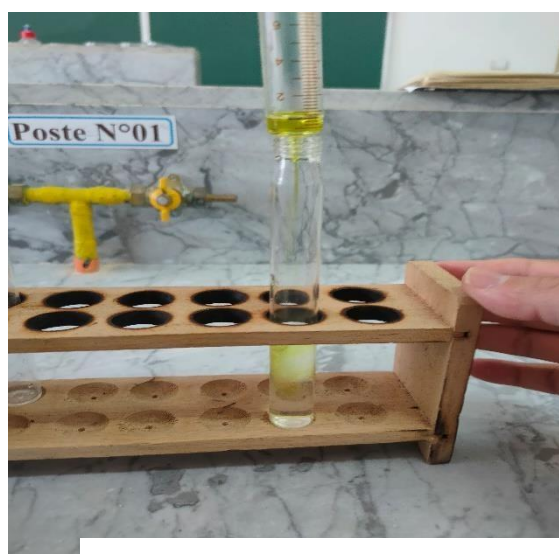
#### Activités photochimique



Produit chimique de dosage des phénol et flavonoïde



Folin -ciocalteu







#### **Annexe 4**

#### **Activités antioxydante**



Préparation de différents contrôles pour l'activité anti-radicalaire des extraits









ue Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de  
Recherche Scientifique



Université Ibn Khaldoun–Tiaret Faculté des Sciences de la Nature et de

la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Décision ministérielle dans le cadre d'une institution émergente pour l'obtention d'un certificat de  
projet:

Caractérisation et valorisation des huiles essentielles du cyprès vert en aromathérapie

Nom de l'entreprise

*HOPPE COMPANY*



To Start New Life

Nom commercial

*Psycho Cyprés*

Année universitaire 2022\_2023.

## I. Le premier axe:

Extraction des huiles essentielles du cyprès vert et préparer une mélange d'huiles essentielles.

### I.I. Valeurs suggérées

Extraction de l'huile essentielle à partir des aiguilles du cyprès vert, le produit final sera sous la forme d'un mélange de cinq huiles essentielles.

#### a. Des valeurs innovantes et nouvelles:

Le produit est considéré comme un remède pour le stress, les dépressions, Réduire les symptômes de la dépendance, Sensation de confort lors de l'utilisation

#### a. Valeur par conception:

Le produit n'est pas disponible sur le marché sur cette formule ni par un guide d'utilisation, mais il respecte les normes d'aromathérapie.



#### b. Valeur de prix:

Selon la disponibilité de la plante dans la région, le produit sera moins couteux et à la portée de la population.

### **c. Valeur de haute performance:**

La qualité de produit et son développement vas nous permettre de le commercialisé au niveau national, et dans la prospection de préparer une formulation parapharmaceutique , le produit sera commercialisé avec le temps à l'international.

## **I.2. Equipe de travail:**

L'équipe de travail est composée par deux étudiant MADEN AHLEM et SAFI AYA en Ecologie, spécialisées en biodiversité et écologie végétale, et Dr MOKHFI Fatima Zohra.

### **I.2.1. Les objectives du propjet:**

Notre mission est le développement, fabrication conditionnement et commercialisation d'un produits parapharmaceutique.

#### **a. Chronologie de réalisation du projet:**

La mission	Temps
Collecte de matières premières 01tonne	01 jour à 2 jours
Purification	6 heures
Séchage-stockage	7 à 10 jours
Extraction	2 a 3 heures
Total	12jours

### **Le deuxième axe:**

#### **I.1. Aspects innovants:**

Quoique l'utilisation de mélange huiles est très utilisé en aromathérapie, mais elle n'est pas disponible sur le marché. Notre préparation sera considérée comme une démarche première

dans le marché national.

### **III- Le troisième axe: Analyse stratégique du marché**

#### **III.1. La main d'œuvre:**

Collecteur de la matière première

Biochimistes et chimiste pour développer le produit.

Transport et emballage.

#### **III.2. Concurrent:**

L'utilisation de l'huile essentielle de cyprès recentre et ramène à l'essentiel un individu dispersé, déconcentré, déstructuré. L'huile essentielle conforte et redonne de la force et des certitudes aux personnes fragilisées et sensibles. Elle est le symbole de la transformation et de la force bien enracinée. Il existe des ateliers actifs dans le même concept à l'échelle mondiale. Nous ambitionnons de renforcer notre position dans le système national de la biotechnologie, pharmaceutique et parapharmaceutique, à travers la mise à disposition aux clients une huile de qualité et efficace tout en préservant la santé, et l'environnement. En termes de prix, notre stratégie est de combiner avec les stratégies nationales, le développement socio-économique durable et les politiques pharmaceutiques nationales pour augmenter la capacité de production et élargir la gamme de produits afin que nos produits puissent être largement utilisés sur le marché. Obtenez le succès et la popularité à un prix raisonnable.

Sur le marché international, les produits à base d'huiles essentielles Du cyprès fluctuent entre 8 et 9 euros et devraient se situer entre 1190 et 1339DA pour un flacon de 12ml. Nos analyses et notre stratégie sur le marché national indiquent que notre mélange d'huile essentielle du cyprès vert et les cinq huiles végétales sera à un prix compétitif de 750 DA à 800 DA pour une bouteille de 12 ml.

#### **Marché ciblé:**

Les laboratoires pharmaceutiques et parapharmaceutiques et les médecins psychiatres, Les interactions et les transactions se déroulent exclusivement entre deux entreprises plutôt qu'avec des consommateurs individuels. (Business to business)

## Les exigences légales

Le responsable du système management de la qualité doit s'assurer que des processus appropriés de communication soient établis au sein de l'entreprise et que la communication concernant l'efficacité du système management de la qualité ait bien lieu.

Réglementaire et paiement:

La demande de notre produit Demande directe par e-mail et le site web de l'entreprise.

Adresse de notre société **HOPPE COMPANY**.

### Quatrième axe :

Plan de production et organisation.

#### IV.1. Plan d'organisation :

La chaîne de production de **psycho-cyprés** se résume par une description générale des étapes impliquées dans la production de notre produit :

a-Pré-traitement :

Après la récolte de matières premières, ces derniers sont d'abord nettoyées pour éliminer les impuretés et les résiduelle des autres organismes indésirables ainsi pour éliminer les feuilles attaqués.

b-séchage :

Les matières premières prétraitées sont ensuite séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant une période de 7 à 10 jours.

c-Extraction :

Après le séchage, les matières premières sont soumises à une extraction des huiles essentielles réalisées par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau.



c. décantation et purification : l'huile essentielle obtenue fera l'objet d'une décantation pour séparer la phase aqueuse (l'hydrolat) de l'huile essentielle pure. Ce dernier fera l'objet d'analyse biochimique .

f. préparation de la formulation des huiles : Une fois décantée et purifiée, l'huile essentielle de cyprès sera mélangée avec cinq huiles végétales reconnues par leurs effets calmants à raison de volume pour chaque huile en respectant les normes d'aromathérapie il s'agit des huiles de l'Anis étoilé ou Badiane de Chine ,la menthe, camomille, la lavande et le romarin .

d. Conditionnement : le mélange obtenu est ensuite conditionné dans des flacons Roll on de 12 ml de volume, puis misent dans l'emballage approprié, prête à être expédiée et distribuée pour une utilisation ultérieure.

Stockage : le produit final est stocké dans des endroits appropriés (sec et à l'abri de la lumière)

#### **IV.2.Plan De Financement**

Pour soutenir les activités de l'entreprise HOPPE COMPANY. Notre plan de financement d'entreprise comprenant les éléments clés suivantes :

a-Investissements initiaux : On berge notre projet sous la direction de fond national d'investissement. Prêts initiaux : Montant emprunté auprès de banques pour financer les investissements de démarrage. b-Investissements à moyen/long terme : Équipements et immobilisations : Montant nécessaire pour acquérir des équipements, des locaux ou d'autres actifs à moyen/long terme.

Tableau de Financement de l'équipement. Moyen terme

Les machines / produits chimiques	Montant empreint
Extracteur	250 millions de centimes
Réservoir d'eau	5 millions de centimes
Distilleur	150 million de centimes
Réfrigérateur	10 millions de centimes
Flacon et emballage	40 millions de centimes
Loyer	30 millions de centimes
Autres (mains d'œuvres, factures.....)	150 millions de centimes

Tableau de Financement de l'équipement /long terme.

Les machines	Montant empreint
Véhicule	250 millions de centimes
Terrain et acte concession	80 millions de centimes
Extracteur d'huile végétale	245 millions de centimes

#### IV.3.Le Bénéfice de l'entreprise HOPPE COMPANY :

Au dépend de plusieurs facteurs, notamment les revenus, les coûts et les dépenses. Et selon la formule universelle pour calculer le bénéfice d'une entreprise :

**Bénéfice = Revenus totaux - Coûts totaux - Dépenses totales.**

Les revenus totaux correspondent à l'ensemble des revenus générés par notre entreprise pour un début : 2000 kg feuilles de cyprès vert peut établir environs 5 L d'huile essentielle pendant 14 jours qui sera mélangé avec cinq huiles végétales, ce qui vas remplir environ 2000 flacon de 12 ml.

$RT = 2000 \times 800da$  (2000 flacons)= 1.600.000 DA

Revenus totaux = 1.600.000 da.

Cout Totaux :

Matières premières= 2000kg (1kg estimé a 100DA)=  $2000 \times 50 = 1.00.000$  da

La main-d'œuvre directe= Nbr des travailleurs (laborantins : 1 biochimiste, 1 chimiste, 1comptable, 4 agent polyvalents).

Salaire des Laborantin=  $2 \times 35000 = 70000/2 = 35000$ DA

Salaire des agents polyvalents=  $4 \times 20000 = 80000$  DA

Salaire comptable=35000 DA

Emballage : le mélange de l'huile essentielle et huiles végétale sera emballée dans flacons roll on.

Prix unitaire flacon de 12 ml (prenant en compte les tickets de publicité de notre produit)

$PU = 250 \times 2000 = \mathbf{500.000}$  DA.

Produits chimique

Huiles végétale =10 litres

$PU = 20100 \times 10 = \mathbf{201.000}$  DA

Dépenses totales.

Electricité et gaz =  $150.000 \text{ DA} / 6 = 25.000 \text{ DA}$

Facture d'eau =  $40000 / 6 = 6600 \text{ DA}$

Bénéfice HOPPE COMPANY = Revenus totaux - Coûts totaux - Dépenses totales.

Bénéfice =  $1.600.000 - 986.000 - 31.600$

Bénéfice= 582.400 DA.

Bénéfice pendant 1 année :  $360 / 12 = 30$

$30 \times 582.400 = 17.472.000 \text{ DA}$

Notre bénéfice pour la première année est de 17.472.000 DA.



Tableau : coûts totales de production de la première année

	Unité	Cout unitaire (DA)	Pris
Matière première (feuilles)	1000 kg	50	100.000DA
flacons	2000	250	500.000 DA
Huile végétale	10 L	20100	201.000 DA
Salaire employés			
Biochimiste	1	35.000	35.000 DA
Chimiste	1	35.000	35.000 DA
Comptable	1	35.000	35.000DA
Agents polyvalents	4	20.000	80.000DA
<b>Total</b>			<b>986.000 DA</b>
Factures			
Gaz et Electricité	Par mois	27.000	25.000 DA
Eau	Par mois	8000	6.600 DA
Dépenses totales			<b>31.600 DA</b>
Coût total de production			<b>1017.600 DA</b>

Pour déterminer les bénéfices potentiels au cours des trois premières années de notre startup fabriquant un mélange d'huile essentielle du cyprès vert et 5 huiles végétales utilisé en aromathérapie vue son activité neurotonique qui agit lors des fatigues mentales, il est important de prendre en compte plusieurs facteurs tels que les revenus prévus, les coûts de production, les investissements initiaux et les dépenses opérationnelles. Il est à noter que ces chiffres sont hypothétiques et peuvent varier considérablement en fonction de la situation réelle de votre startup. Investissements initiaux et les dépenses opérationnelles s'élèvent à 17.472.000 DA pour la première année.

#### **Revenu de la deuxième Année :**

Espérons une croissance de 8 %, ce qui signifie des ventes de :  $1600000 + 1600.000 \times 8/100 = 1728.000 \text{ DA}$

Coûts de production :

Les coûts de production peuvent augmenter en raison de l'expansion de l'activité.

Supposons que les coûts de production s'élèvent à 1.086.000 DA.

Dépenses opérationnelles :

Les dépenses opérationnelles augmentent légèrement pour atteindre 40 000 DA.

**Tableau** : coûts totales de production de la deuxième année

	Unité	Cout unitaire (DA)	Pris
Matière première (feuilles)	1000 kg	50	100.000DA
flacons	2000	300	600.000 DA
Huile végétale	10 L	20100	201.000 DA
Salaire employés			
Biochimiste	1	35.000	35.000 DA
Chimiste	1	35.000	35.000 DA
Comptable	1	35.000	35.000DA
Agents polyvalents	4	20.000	80.000DA
<b>Total</b>			<b>1.086.000 DA</b>
Factures			
Gaz et Electricité	Par mois	25.000	32.000 DA
Eau	Par mois	6600	8000 DA
Dépenses totales			<b>40.000 DA</b>
Coût total de production			<b>1.126.000 DA</b>

**Bénéfice :**

Le bénéfice brut pour la deuxième année serait de  $1728000 - 1086000 - 40\,000 = 602.000$

$602000 \times 30 = 18.060.000$  DA

Notre bénéfice pour la deuxième année est de **18.060.000 DA**

### **Revenu de la troisième année :**

Croissance continue :

La startup poursuit sa croissance en consolidant sa clientèle existante et en attirant de nouveaux clients. Espérons pour la troisième année une croissance de 10%, ce qui signifie des ventes de **1728.000 + 1728.000 × 10/100 = 1.900.800 DA**

La startup continue à innover pour rester compétitive, en introduisant de nouvelles fonctionnalités, en explorant de nouveaux marchés ou en développant de nouveaux produits.

Qui va augmenter les dépenses au même temps les coûts de production.

La Production s'élève à 1100000 DA et les dépenses 55000 DA

Le bénéfice de la troisième année serait de :

$1900800 - 1100000 - 55.000 = 745.800$  DA soit

$745800 \times 30 = \mathbf{22.374.000\ DA}$