

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 20 AOÛT 1955 SKIKDA

FACULTE DE TECHNOLOGIE

DÉPARTEMENT DE GÉNIE DES PROCÉDÉS



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie de l'environnement

**Caractérisation chimique, biochimique et biologique
d'une espèce de pinea «*Cupressus sempervirens* »**

Soutenu le/06/2023

Réalisé par : Sedrati Kenza

Meksen Maissa

Encadré par : (MCA) Ammouchi Nesrine

(PhD) Bouzenad Nawal

Année Universitaire 2022- 2023

Remercîment

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide de nos encadreurs de M^{lle} Nawal Bouzenad M^{me} Nesrine Ammouchi on les remercie pour la qualité de leur encadrement exceptionnel, pour leur patience, leur rigueur et leur disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciement s'adresse à M^{me} Houda Brahimi; M^{me} Sabra Drouiche pour leur aide pratique et leur soutien moral.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour
A celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour
incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces
prières ***BOUAKAZ FELLA ma mère***

A mon support dans ma vie, mon pilier, mon ami, qui m'a tout
appris m'a supporté et dirigé vers la gloire ***MEKSEN ADLEN mon
défunt père***

***A mes chères frères BRAHIM, FAICAL EDDINE et à mes chers
sœurs qui m'ont supporté et soutenu et ont toujours été présente
NESRINE et AICHA***

A ma défunte tante MEKSEN MALIKA, ma deuxième maman

A mes petits neveux et petites nièces

A toutes mes amies Meriem, Khadija, Tina, Chaima, Souhir

A mon binôme Kenza

A toute ma famille

Meksen Maissa

Dédicace

Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour,
sincérité et fierté :

A mes chers parents, source de tendresse, de noblesse et
d'affection. Puisse cette étape constituer pour vous un motif de
satisfaction.

A mon frère et mes sœurs, en témoignage de la fraternité, avec
mes souhaits de bonheur, de santé et de succès.

Et à tous les membres de ma famille.

A tous mes amis, tous mes professeurs
Et à tout qui compulse ce modeste travail.

Sedrati Kenza

Liste des abréviations

GC-MS : Chromatographie gazeuse couplé au spectre de masse

UICN : l'Union internationale pour la conservation de la nature

°C : Degrés Celsius

M : mètre

Cm : centimètres

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

ABTS : acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

Hz : Hertz

EAG : Acide gallique

EQ : Quercetine

EC : Catechine

IC50 : la concentration inhibitrice

DMSO : dimethylsulfoxyde

BHIB : Brain heart infusion broth

GN : Gélosé nutritive

DO : Densité optique

MH : Muller Hilton

ATCC : L'American type culture collection

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HDL : Lipoprotéine de haute densité.

LDL : Lipoprotéine de basse densité

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Position taxonomique de <i>Pinus halepensis</i> Mill., <i>Pinus pinea</i> L (Smaïhi, 2009).	8
Tableau I.2 : caractéristique physico–chimique des graines de <i>P. halepensis</i> Mill., <i>P. pinea</i> L.(Kadri et al., 2015)	10
Tableau I.3 : Activité antimicrobienne de l’huile essentielle du <i>P. halepensis</i> Mill. provenant de l’ouest d’Algérie (Macchioni et al., 2002).....	11
Tableau I.4 : Activité antifongique de l’huile essentielle du <i>P. halepensis</i> Mill.(Fekih et al., 2014).....	12
Tableau IV.1 : Dosages physiques du <i>Cupressus sempervirens</i>	45
Tableau IV.2 : Rendement des différents extraits	46
Tableau IV.3 : Dosage chimique du <i>Cupressus sempervirens</i>	46
Tableau IV.4 : Composition chimique de l’extrait gras du <i>Cupressus sempervirens</i>	47
Tableau IV.5 : Dosage biochimique du <i>Cupressus sempervirens</i>	50
Tableau IV.6 : Inhibition du radical DPPH des extraits de <i>Cupressus sempervirens</i>	51
Tableau IV.7 : Inhibition du radical ABTS des extraits de <i>Cupressus sempervirens</i>	52
Tableau IV.8 : Activité d’inhibition antibactérienne du <i>Cupressus sempervirens</i>	52

Liste des figures

Figure I.1 : Répartition géographiques au niveau de la mer méditerranée du Pinus Pinea	4
Figure I.2 : Pinus halepensis Mill (a), Aiguilles et cônes de Pinus halepensis Mill.	7
Figure I.3 : P. pinea L (a), Aiguilles et cônes de P. pinea L.	8
Figure II.1 : Structure chimique des Flavonoïdes	16
Figure II.2 : Structure chimique de la cellulose.....	17
Figure II.3 : Structure chimique des acides gras.....	21
Figure II.4 : Structure chimique des phospholipides	21
Figure II.5 : Structure chimique des caroténoïdes	23
Figure II.6 : Structure chimique des polyphénols.....	24
Figure II.7 : Structure chimique de l'acide ellagique	24
Figure II.8 : Structure chimique des catéchines	25
Figure II.9 : Structure chimique de l'acide gallique.....	25
Figure III.1 : Localisation de la zone d'échantillonnage du Cupressus sempervirens	28
Figure III.2 : Arbre et cônes de Cupressus sempervirens	29
Figure III.3 : Préparation du matériel végétale.....	29
Figure III.4 : Etuve utilisé pour l'étude de la teneur en matière sèche.....	30
Figure III.5 : Four à moufle utilisé pour l'étude de la teneur en cendre.....	31
Figure III.6 : Etape de détermination de la teneur en protéines brutes	31
Figure III.7 : Appareils Soxtherme pour la détermination des teneurs en lipides	33
Figure III.8 : Montage d'extraction de l'extrait gras par soxhlet	35
Figure III.9 : Chromatographie gazeuse couplé au spectre de masse (Shimadzu).....	36
Figure III.10 : Dispositif à ultrasons.....	37
Figure III.11 : Lecteur microplaque et microplaque 96 puits	41
Figure III.12 : Etape de préparation des tests antibactériens	43
Figure IV.1 : Chromatogramme de l'extrait gras de l'espèce Cupressus sempervirens	47
Figure IV.2 : Résultats des tests antibactériens	53

Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale.....	1
Chapitre I	
I.1 Introduction.....	4
I.2. Répartition géographique	4
I.2.1. Origine	4
I.2.1.1. Cupressus dupreziana var. dupreziana dans le Sahara algérien	5
I.2.1.2. Cupressus dupreziana var. atlantica au Maroc	5
I.2.2. Découverte	5
I.2.3. Habitat.....	6
I.2.4. Particularité de cette variété	6
I.3. Description botanique.....	6
I.3.1. <i>Pinus halepensis</i> Mill	6
I.3.2. <i>Pinus pinea</i> L. (Pin parasol).....	7
I.4.Taxonomie	8
I.5. Appellation locale	8
I.6.Utilisations traditionnelles	9
I.7. Etude Chimique.....	9
I.9. Définition Acides Gras Pinéa.....	10
I.10 Etude biologique	11
I.10.1.Activité antimicrobienne.....	11
I.10.2.Activité antifongique :	11
I.10.3. Activité anti angiogénique	Error! Bookmark not defined.

I.11. Domaine d'application	12
I.11.1 La foresterie	12
I.11.2 L'écologie	12
I.11.3 La recherche médicale	12
I.11.4 L'aménagement paysager	12
I.12. Conclusion	13

Chapitre II

II. Introduction	15
II.1. Les compositions chimiques de pin	15
II.1.1. Terpènes.....	15
II.1.2. Résines.....	15
II.1.3. Flavonoïdes.....	16
II.1.4. Composés phénoliques	16
II.1.5. Cellulose et lignine.....	16
II.2. La fraction minérale de pin.....	17
II.2.1. Macroéléments	17
II.2.2. Microéléments.....	17
II.2.3. Autres éléments.....	18
II.3. Les polysaccharides	18
II.3.1. Cellulose	18
II.3.2. Pectines.....	18
II.3.3. Polysaccharides de réserve	19
II.4 Les protéines	19
II.4.1. Protéines de la graine de pin.....	19
II.4.2. Protéines de la paroi cellulaire	19
II.4.3. Protéines de signalisation	20
II.4.5. Protéines de défense	20

II.5. Les lipides.....	20
II.5.1.Huiles essentielles	20
II.5.2. Acides gras.....	20
II.5.2.1. Stérols	21
II.5.2.2. Phospholipides	21
II.6. Les vitamines	22
II.7. Les caroténoïdes	22
II.8. Les poly phénols	23
II.8.1. Acide ellagique	24
II.8.2. Catéchines.....	24
II.8.3. Acide gallique	25
II.8.4. Les tannins	25
II.8.4.1. Les tannins condensés	26
II.8.4.2. Les tannins de pin.....	26
II.9. Conclusion.....	26

Chapitre III

III.1. Introduction	28
III.2. Présentation de la région de collecte du matériel végétale.....	28
III.3. Présentation du matériel végétal.....	28
III.4. Préparation du matériel végétale	29
III.5. Caractérisation chimique.....	30
III.5.1. Détermination de la teneur en eau	30
III.5.2. Détermination de la teneur en cendres	30
III.5.3. Détermination de la teneur en protéines brutes	31
III.5.3.1. La minéralisation	31
III.5.3.2. La distillation	32
III.5.3.3. La titration	32

III.5.4. Détermination de la teneur en lipides.....	32
III.5.5. Dosage des carbohydrates	33
III.5.5.1. Principe.....	33
III.5.5.2. Procédé.....	33
III.5.6. Dosage des sulfates.....	34
III.5.6.1. Principe.....	34
III.5.7. Caractérisation des acides gras par Chromatographie gazeuse	34
III.5.7.1 Extraction des acides gras par Soxhlet	34
III.5.7.2. Analyse chromatographique gazeuse couplé par le spectre de masse	35
III.6. Analyse biochimique	36
III.6.1. Préparation des extraits bruts.....	36
III.6.1.1. Extraction par Ultrasons	36
III.6.1.2. Extraction par macération.....	37
III.6.2. Détermination du rendement	37
III.6.3. Analyse quantitative des composés secondaires des extraits organiques etaqueux	38
III.6.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	38
III.6.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	38
III.6.3.3. Dosage des tannins condensés	39
III.6.4. Détermination du pouvoir antioxydant du <i>Cupressus</i>	39
III.6.4.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	40
III.7. Etude de l'activité antibactérienne	41
III.7.1. Mode opératoire.....	42
III.7.1.1. Revivification des souches	42
III.7.1.2. Repiquage des souches.....	42
III.7.1.3. Préparation des extraits	42
III.7.1.4. Préparation des inoculum.....	42
III.7.1.5. Réalisation du tapis bactérien	42

III.7.1.6. Dépôt des disques	43
III.7.1.7. Souches microbiennes utilisées	43

Chapitre IV

IV.1. Introduction	45
IV.2. Caractérisation du <i>Cupressus sempervirens</i>	45
IV.2.1. Caractérisation physique	45
IV.2.2. Rendement d'extraction	45
IV.2.2. Caractérisation chimique.....	46
IV.2.2.1. Evaluation des composants chimiques de l'extrait gras de l'espèce <i>Cupressus sempervirens</i> par CG-MS	47
IV.2.3. Caractérisation biochimique.....	50
IV.3. Activité antioxydantes du <i>Cupressus sempervirens</i>	50
IV.3.1. Activité antiradicalaire au DPPH	50
IV.3.1. Activité antiradicalaire a l'ABTS	51
IV.4. Activité antibactérienne du <i>Cupressus sempervirens</i>	52
IV.4.1. L'extrait méthanoïque.....	53
IV.4.2. L'extrait ultrasons.....	53
Conclusion générale	56
Référence bibliographique	59

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale

Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager ses maux. On sait que les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques (*Ruhlmann, 2021*). .

Il est intéressant de noter que sur les 877 substances organiques introduits dans le monde comme médicaments entre 1981 et 2002, 61 % étaient des produits naturels, des dérivés ou des imitations de produits naturels (*Sakhri et al., 2020*), récemment, l'attention est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peut être utilisé pour prévenir les effets du stress oxydatif (*Benaissa, 2020*).

La famille des Cupressacées comprend l'arbre à feuilles persistantes *Cupressus sempervirens*, également connu sous le nom de cyprès toujours vert ou cyprès méditerranéen. Il est largement répandu dans les régions méditerranéennes où il est originaire.

En raison de ces nombreuses applications et des effets thérapeutiques et bénéfiques sur la santé, notre étude se veut donc une contribution à une meilleure appréciation des cônes de *Cupressus sempervirens* cultivées en Algérie.

Dans ce travail, nous avons examiné les caractéristiques chimiques, biochimiques et biologiques de divers extraits de *Cupressus sempervirens*. Notre projet de master sera intégré dans ce cadre. Pour ce faire, nous avons établi des objectifs à atteindre :

La récolte des cônes de *Cupressus sempervirens* de la région d'Azzaba à Skikda

- Préparation de la matière végétale ;
- Extraction des composés bioactives par différentes méthodes ;
- Caractérisation chimique de l'extrait gras par la méthode chromatographique GC/SM ;
- Mesure de l'activité biologique anti-oxydante et antibactérienne.

Pour atteindre ces objectifs les laboratoires, cités ci-dessous, ont apporté leurs contributions :

- Observatoire nationale de l'environnement et du développement durable- Skikda ;
- Laboratoire de microbiologie- Département de génie des procédés- Faculté de technologique ;
- Laboratoire de chimie organique- Hall de technologie- Université du 20 août 1955- Skikda ;

Introduction générale

- Laboratoire de contrôle de qualité alimentaire ; laboratoire d'environnement ; laboratoire des Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie - Centre de recherche en biotechnologie- Constantine.

Ce mémoire est réalisé en quatre chapitres :

- **Le premier chapitre** présente une synthèse bibliographique sur le *Cupressus sempervirens*. Il aborde les connaissances théoriques sur les différents types de *Pinea*, et un aperçu des principales données bibliographiques concernant l'étude du *Piena* et du *Cupressus sempervirens*.
- **Le deuxième chapitre** décrit des généralités sur les caractéristiques chimiques et biochimiques des différentes variétés de pomme de pins, pour comprendre leur composition, leur structure et leur fonctionnement.
- **Le troisième chapitre** décrit les matériaux utilisés et les protocoles expérimentaux suivis pour les différents types d'extraction ainsi que les techniques d'analyse et de caractérisation utilisées.
- **Le quatrième chapitre** est assez explicite, où nous avons discuté des résultats que nous avons obtenus après avoir conclu nos recherches et expériences.

Notre mémoire se termine par une conclusion générale qui fait le bilan de la problématique, objectifs visés par notre étude, et méthodologie de recherche suivie, ainsi que les principaux résultats obtenus.

Chapitre I

I.1 Introduction

Le *Pinea*, également connu sous le nom scientifique de *Cupressus sempervirens*, est une espèce d'arbre de la famille des *Cupressaceae*.

Le *Pinea* est apprécié pour son bois de qualité, qui est résistant et durable. Il est utilisé pour la construction, les poteaux de clôture, les meubles et les instruments de musique. L'huile essentielle de *Pinea* est également utilisée en aromathérapie pour ses propriétés relaxantes et purifiantes (*Hamey-Warou et al., 2014*).

En raison de sa forme élégante et de sa tolérance à la sécheresse, le *Pinea* est souvent utilisé comme arbre d'ornement dans les jardins et les parcs. Il est également utilisé pour la stabilisation des sols en raison de sa croissance rapide et de sa capacité à prospérer dans des sols pauvres et arides (*Luc et al., 2013*).

I.2. Répartition géographique

Il est originaire du bassin méditerranéen, mais on le trouve aujourd'hui dans de nombreuses régions du monde en raison de sa popularité comme arbre d'ornement et de sa culture pour la production de bois d'œuvre.



Figure I.1 : Répartition géographiques au niveau de la mer méditerranéenne du *Pinus Pinea*

I.2.1. Origine

Endémique du plateau de Tassili – massif montagneux au centre du Sahara et au sud-est Algérien, sur une bande de 120 kms de long jusqu'à 15 kms de large.

Ce peuplement unique de 231 spécimens a été recensé en 2001. Ce peuplement isolé rappelle la présence d'eau et donc de forêts présentes autrefois dans le Sahara.

Certains considèrent qu'il existe deux variétés très similaires :

I.2.1.1. *Cupressus dupreziana* var. *dupreziana* dans le Sahara algérien

Cupressus dupreziana var. *dupreziana*, également connu sous le nom de cyprès de Tassili, est une espèce de cyprès endémique du Sahara algérien, plus précisément des montagnes du Tassili n'Ajjer et du Tassili n'Ouanechra. Cette espèce de cyprès peut atteindre jusqu'à 20 mètres de hauteur et est connue pour sa résilience aux conditions climatiques extrêmes du Sahara (*Benzineddar et al., 2009*).

Le cyprès de Tassili est une espèce rare et menacée en raison de la dégradation de son habitat naturel et de la collecte illégale de ses graines pour la production d'huile essentielle. En 2013, l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN) a classé l'espèce comme "en danger critique d'extinction".

I.2.1.2. *Cupressus dupreziana* var. *atlantica* au Maroc

Cupressus dupreziana var. *atlantica* est une variété de cyprès endémique des montagnes de l'Atlas dans le sud-ouest du Maroc. Cette espèce est souvent appelée le cèdre de l'Atlas, bien que cela soit techniquement incorrect car elle ne fait pas partie de la famille des cèdres. *Cupressus dupreziana* var. *atlantica* pousse dans les zones de montagne de l'Atlas, généralement entre 1 800 et 2 400 mètres d'altitude, où elle forme souvent des forêts denses. Elle est bien adaptée aux conditions environnementales difficiles des montagnes de l'Atlas, avec une croissance lente, une forme conique étroite et une écorce épaisse et fibreuse qui l'aide à résister aux incendies de forêt (*Saidi et al., 2010*).

I.2.2. Découverte

La découverte du *Pinus pinea* remonte à l'Antiquité. Les Romains ont utilisé le bois de pin parasol pour la construction navale, ainsi que pour la production de poutres et de planches. Ils ont également consommé les graines de pin, appelées "pignons", qui sont riches en nutriments et en saveur. Au fil du temps, le *Pinus pinea* est devenu un symbole de la culture méditerranéenne, et est souvent représenté dans l'art et la littérature de la région. Aujourd'hui, il est largement cultivé pour l'ombre et l'esthétique de son feuillage, ainsi que pour la production de pignons, qui sont utilisés dans une variété de plats méditerranéens (*Aubaile-Sallenave, 1996*).

I.2.3. Habitat

On le trouve sur les rocailles du Sahara jusqu'à 1800 m et sur des sols de graviers ou sableux peu profonds. C'est une des espèces les plus résistantes à la sécheresse par contre sa tolérance au gel ne dépasse pas les -7°C au maximum, la variété *atlantica* pourrait supporter -15°C.

I.2.4. Particularité de cette variété

Dans des conditions similaires, il se développe moins vite que *sempervirens* à qui il ressemble fort. Il a une longévité qui peut atteindre jusqu'à 2000 ans. Le plus vieux serait âgé de 2200 ans avec un diamètre de 1,26 m. Dans le Tassili n'Ajjer, en 2001, on pouvait découvrir un arbre de plus de 20 m et de 12 m de circonférence, probablement âgé de 2000 ans. Cet arbre de 16 à 18 m peut atteindre jusqu'à 20 m et pour la variété *atlantica* jusqu'à 35 m. Il est très résineux, son port touffu est pyramidal quand il est jeune puis plus rectiligne. Ses branches assez étalées finissent par se courber vers le haut. Son écorce brun-rouge à brun-gris et épaisse se fissure profondément en bandes longitudinales. Son feuillage en écailles a une couleur tirant vers le bleu. Les feuilles présentent une tache blanche de résine, elles sont opposées, décussées, imbriquées, acuminées (*Kaf et al., 2015*).

Pour résumé, le genre *Pinus* se répartie dans le monde. Nous le trouvons dans des régions assez variées et essentiellement autour des côtes méditerranéennes, plus particulièrement en Afrique du nord et en Espagne. En Algérie, les *Pinus* font partis de la richesse floristique à cause de la nature du climat et du sol qui s'y prête bien. En effet, ils préfèrent les zones à climat tempéré-froid de l'hémisphère septentrional, où ils occupent tous les étages de végétation, du niveau de la mer jusqu'à la limite supérieure des forêts, même en terrain en permanence gelé (*Liston et al., 2003*).

I.3. Description botanique

Le *Pinus* est un arbre conique ou en colonne qui peut atteindre une hauteur de 20 à 30 mètres. Il possède une écorce grise et fibreuse et des feuilles en forme d'écailles qui sont disposées en paires opposées le long des branches. Les cônes femelles sont sphériques et de petite taille, tandis que les cônes mâles sont plus petits et cylindriques (*Planchon et al., 1895*).

I.3.1. *Pinus halepensis* Mill

C'est l'arbre le plus répandu en Algérie, avec une surface qui avoisine 900 000 hectares. La hauteur du pin d'Alep est très variable, de 6 à 20 mètres dans les conditions de

milieux les plus diversifiées. L'écorce des jeunes sujets est lisse, de couleur gris argenté ; celle des arbres adultes est épaisse, profondément crevassée, de couleur noirâtre à rougeâtre. Les feuilles sont fines, longues de 5 à 10 cm, réunies par deux dans une même gaine, larges au plus de 1 mm, d'un vert clair. Les cônes persistent indéfiniment sur l'arbre après avoir perdu leurs graines. Le cône est long de 8 à 12 cm, large de 3,5 à 4,5 cm, d'abord vert, puis devient rouge violacé, finalement arrivé à maturité brun rougeâtre à jaunâtre (**Figure I.2**).

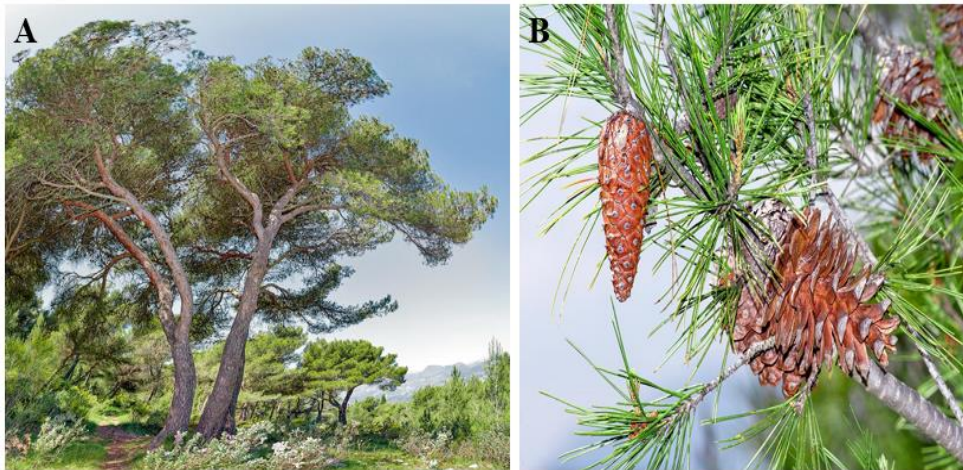


Figure I.2 : Pinus halepensis Mill (a), Aiguilles et cônes de Pinus halepensis Mill.

Le Pin d'Alep s'étend dans toute la région méditerranéenne. En Algérie, on le trouve depuis le littoral jusqu'à 2000 mètres d'altitude, dans l'Atlas Saharien (**Quèzel and Santa, 1963**).

I.3.2. *Pinus pinea* L. (Pin parasol)

Comme l'indique son nom, ce Pin a un port se terminant par une cime en parasol (**Figure I.3**). Les feuilles sont assez longues, de 8 à 20 cm, réunies par deux et quelques fois par trois. Les cônes sont aussi très caractéristiques de ce Pin, presque globuleux, long de 8 à 15 cm, large de 7 à 10 cm, composés d'écaillés à larges écussons. Les graines sont grosses de 1,5 à 2 cm, longues avec une coque dure. La graine appelée "Zgougou" est comestible, utilisée dans la pâtisserie. Il a été introduit en Algérie, a donné de bon résultat avec une croissance plus que satisfaisante (**Quèzel and Santa, 1963**).



Figure I.3 : *P. pinea L* (a), Aiguilles et cônes de *P. pinea L*.

I.4. Taxonomie

La place de *Pinus* dans la taxonomie botanique est représentée dans le **Tableau I.1**:

Tableau I.1 : Position taxonomique de *Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea L* (Smaïhi, 2009).

Taxonomie	Description
Règne	<i>Plante</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes (phanérogames)</i>
Sous-embranchement	<i>Gymnospermes</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinale</i>
Famille	<i>Pinacée</i>
Sous-famille	<i>Pinoidée</i>
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i> Mill., <i>Pinus pinea L</i> .

I.5. Appellation locale

« Pin » est la désignation générique des conifères appartenant au genre *Pinus*, de la famille des Pinacées. Ce sont des résineux à feuilles en aiguilles groupées en faisceaux par 2, 3 ou 5 et dont les fructifications sont des cônes constitués d'écaïlles à l'aisselle desquelles on trouve les graines. Ce genre est de loin le plus important des conifères. Au moins 111 espèces ont été décrites¹, parmi lesquelles beaucoup sont des essences forestières importantes. Plusieurs espèces, introduites hors de leur habitat naturel sont localement devenues envahissantes (*Ducatillion et al., 2015*).

D'autres espèces de conifères sont appelées improprement « pins » alors qu'elles ne font

pas partie du genre *Pinus*. C'est le cas du pin d'Oregon, plus souvent appelé « sapin de Douglas » en Europe, qui n'est en fait ni un pin ni un sapin mais un membre du genre *Pseudotsuga*.

I.6. Utilisations traditionnelles

Le genre *Pinus* est très connu pour ses propriétés en médecine traditionnelle algérienne comme (Lucienne, 2010) :

- Antiseptique puissant à action dynamisante ; recommandé dans toutes les infections des voies respiratoires, les infections urinaires, les calculs biliaires.
- Rubéfiant et balsamique, efficace dans les affections pulmonaires : la grippe, la sinusite, les rhumatismes.

Les sirops, les infusions, les tisanes, les jus de *Pinus halepensis* Mill. sont connus par leur effet balsamique pour vaincre les affections catarrhales du système respiratoire.

On utilise les bourgeons de cette espèce en parfumerie et en savonnerie.

I.7. Etude Chimique

Le genre *Pinus* a fait l'objet de beaucoup d'études publiées se rapportant à la chimie et à la pharmacologie de ses extraits bruts ou purifiés. Plusieurs équipes de recherche ont mené des études sur la chimie de *Pinus halepensis* Mill. et *Pinus pinea* L. Permettant ainsi l'isolation d'un grand nombre de métabolites secondaires. (Kadri et al., 2015)

Les graines de *Pinus* d'Algérie (*P. halepensis* Mill., *P. pinea* L.,) possèdent une très large échelle des nutriments bénéfiques pour la santé humaine, ils constituent une source importante de sucres, protéines et acides gras (Tableau I.2).

Ils sont aussi une source non négligeable des complexes phénoliques et des huiles essentielles qui sont des bons agents thérapeutiques qui peuvent être orientés vers l'utilisation de ces graines dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques. (Kadri et al., 2015).

Les graines de *Pinus* Algérienne sont très riches en huile totaux de 36,73 %, 19,78%. Elles peuvent représenter source importante en acides gras essentielles notamment les insaturés et par conséquent une bonne source d'énergie (Kadri et al., 2015).

Chapitre I Généralité sur le Pinea « Cupressus sempervirens »

Tableau I.2 : caractéristique physico-chimique des graines de *P. halepensis* Mill., *P. pinea* L. (Kadri et al., 2015)

Caractérisation	Paramètre	<i>Pinus halepensis</i> Mill.	<i>Pinus pinea</i> L.
Physique	Volume des graines (cm ³) ^a	51,00±0,816	904,33±1,299
	Index des graines (g) ^b	26,63±0,236	608,90±0,123
	Masse volumique	0,52±0,004	0,69±0,003
Chimique (%)	Humidité	7,86±0,042	8,47±0,840
	Matière sèche	92,12±0,042	91,52±0,840
	Teneur en lipide	36,73±1,420	19,78±0,497
	Teneur en sucre	5,55±0,113	1,16±0,173
	Teneur en sucre réducteur	0,51±0,001	0,45±0,002
	Sucrose	5,13±0,108	0,68±0,162
	Teneur en protéine	26,62±0,129	14,25±0,034
	Teneur en phénols totaux	3,71±0,434	7,99±0,211
	Teneur en flavonoides	0,80±0,048	2,17±0,118

^a volume des graines = volume de 1000 graines dans cm³ / ^b indice des graines = la masse de 1000 graines dans gramme

I.9. Définition Acides Gras Pinéa

Les acides gras sont des composés organiques constitués d'une chaîne d'atomes de carbone avec un groupe carboxyle (-COOH) à une extrémité et un groupe méthyle (-CH₃) à l'autre extrémité. Les acides gras sont un composant important des lipides, qui sont des molécules de stockage d'énergie dans les cellules (Haller et al., 2015).

Les acides gras présents dans le *Pinéa* sont principalement des acides gras insaturés, tels que l'acide oléique et l'acide linoléique, qui sont bénéfiques pour la santé cardiovasculaire. Le pinéa contient également des acides gras saturés, tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique,

qui peuvent augmenter le taux de cholestérol dans le sang s'ils sont consommés en excès (Benaicheta et al., 2008).

En général, les acides gras du *Pinéa* ont une composition similaire à celle des autres fruits à coque, tels que les noix et les amandes. Ils sont souvent utilisés dans la production d'huile de pinéa, qui est appréciée pour sa saveur et sa teneur élevée en acides gras bénéfiques pour la santé.

I.10 Etude biologique

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Pinus pinea* L. ont montré une inhibition significative de la croissance de dix champignons pathogènes des plantes. De plus, une étude réalisée en 2012 révèle qu'elles ont des propriétés herbicides. En effet, testées sur *Sinapis arvensis* L., *Lolium rigidum* Gaud. Et *Raphanus raphanistrum* L., les résultats montrent une inhibition complète de la germination des graines à des concentrations élevées. D'autre part à de faibles doses, les huiles agissent en retardant la germination et en inhibant la croissance des semis de toutes les mauvaises herbes testées (Amri et al., 2012).

I.10.1. Activité antimicrobienne

L'huile essentielle des épines de *P. halepensis* Mill. provenant de l'ouest d'Algérie a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque contre 11 bactéries. Les tests ont montré que l'huile a une activité antibactérienne variable contre les souches testées. La zone maximale d'inhibition a été enregistrée contre les cinq souches mentionnées dans le **tableau I.3**.

Tableau I.3 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *P. halepensis* Mill. provenant de l'ouest d'Algérie (Macchioni et al., 2002)

Micro-organismes	Diamètres d'inhibition (mm)
<i>Enterococcus faecalis</i>	9,0
<i>Lysteria monocytogenes</i>	10,0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	9,5
<i>Citrobacter freundii</i>	8,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10,0

I.10.2. Activité antifongique

L'huile essentielle de *P. halepensis* Mill. extraite à partir des aiguilles montre une activité antifongique contre les champignons suivants.

Tableau I.4 : Activité antifongique de l'huile essentielle du *P. halepensis* Mill. (Fekih et al., 2014)

Champignons	Diamètres d'inhibition (mm)
<i>Aspergillus flavus</i>	3
<i>Aspergillus niger</i>	3,75
<i>Fusarium oxysporum</i>	9
<i>Rhizopus stolonifer</i>	3,5

I.11. Domaine d'application

Le domaine d'application de la biologie du pinéa est vaste et comprend plusieurs sous domaines (Loisel roger ,1967), qui se présentent comme suit

I.11.1 La foresterie

Le *Pinéa* est une espèce d'arbre importante pour les industries forestières, car il est utilisé pour produire du bois de construction, du bois de chauffage, de la pâte à papier et d'autres produits forestiers. La biologie du *Pinéa* est donc importante pour comprendre les cycles de croissance, les régimes de coupe, les techniques de plantation et les méthodes de reboisement (Derbal, 2016).

I.11.2 L'écologie

Le *Pinéa* est une espèce clé des écosystèmes méditerranéens, où il fournit de l'ombre et de l'habitat pour de nombreuses espèces animales et végétales. La biologie du *Pinéa* est donc importante pour comprendre les interactions entre les espèces, la régulation des sols et des régimes hydriques et la gestion des écosystèmes forestiers (Alexande, 2002).

I.11.3 La recherche médicale

Les noix de *Pinéa* sont riches en acides gras monoinsaturés et polyinsaturés, qui ont des effets bénéfiques sur la santé humaine. La biologie du *Pinéa* est donc importante pour comprendre les propriétés chimiques et nutritionnelles des noix de *Pinéa* et leur potentiel en tant que source d'acides gras bénéfiques pour la santé (Gossa et al., 2014).

I.11.4 L'aménagement paysager

En raison de sa beauté esthétique, le *Pinéa* est souvent utilisé à des fins d'aménagement paysager, notamment dans les parcs et les jardins. La biologie du *Pinéa* est donc importante pour comprendre les techniques de culture, les méthodes de transplantation et les soins

appropriés pour assurer la croissance et la survie de l'arbre dans des environnements urbains (*Bennour, 2014*).

I.12. Conclusion

Le *Cupressus sempervirens* est une espèce de cyprès méditerranéen à feuilles persistantes, également connu sous le nom de cyprès d'Italie ou de cyprès de Provence. Voici quelques conclusions que l'on peut tirer à propos de cette plante :

Le *Cupressus sempervirens* est un arbre à feuilles persistantes il possède un port élancé et conique d'origine méditerranéenne et est largement cultivé comme arbre d'ornement dans de nombreuses régions du monde, pour ses qualités esthétiques

Le *Cupressus sempervirens* a également été utilisé à des fins médicinales depuis l'Antiquité, pour traiter les maladies respiratoires. Il est également connu pour ses propriétés antiseptiques et astringentes

Chapitre II

II. Introduction

Les caractéristiques chimiques et biochimiques sont des propriétés importantes des molécules et des organismes, qui sont étudiées en chimie et en biochimie pour comprendre leur composition, leur structure et leur fonctionnement. Les caractéristiques chimiques se réfèrent aux propriétés physico-chimiques des molécules, tandis que les caractéristiques biochimiques sont spécifiques aux composés biologiques et aux processus qui se produisent dans les organismes vivants.

Les caractéristiques chimiques et biochimiques sont étroitement liées et interagissent souvent les unes avec les autres. De plus, l'étude des caractéristiques chimiques et biochimiques est essentielle pour comprendre de nombreux processus biologiques, tels que le métabolisme, la signalisation cellulaire, la régulation génétique et l'interaction entre les molécules biologiques et leur environnement (*Prudent et al., 2013*).

II.1. Les compositions chimiques de pin

Le pin est un type d'arbre appartenant à la famille des Pinacées, qui comprend plusieurs espèces réparties dans différentes régions du monde. La composition chimique du pin peut varier selon l'espèce, la partie de l'arbre (aiguilles, écorce, bois, résine, etc.) et les conditions environnementales (*Celhay, 2013*). Cependant, voici une liste générale des composés chimiques couramment présents dans les pins :

II.1.1. Terpènes

Les pins sont riches en terpènes, qui sont des composés organiques volatils responsables de leur odeur caractéristique (*Chiron et al., 2005*). Les terpènes couramment présents dans les pins comprennent le pinène, le limonène, le β -phellandène, le camphène, et d'autres. Les terpènes ont des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, et sont souvent utilisés dans l'industrie des parfums, des arômes alimentaires, des produits de nettoyage et des médicaments (*Arar et al., 2021*).

II.1.2. Résines

Les pins produisent de la résine, qui est une substance collante et visqueuse qui est sécrétée par l'arbre en réponse à des blessures ou à des infections (*Ait el hadj et al., 2021*). La résine de pin contient divers composés chimiques, tels que des terpènes, des acides résiniques, des alcools gras et des esters. La résine de pin est utilisée dans la fabrication de produits chimiques, de vernis, de colles et de médicaments (*Haichour, 2021*).

II.1.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés chimiques présents dans les plantes, y compris dans les pins. Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, et sont impliqués dans de nombreux processus biologiques dans les plantes, y compris la protection contre les stress environnementaux. Certains flavonoïdes couramment trouvés dans les pins comprennent la quercétine, la lutéoline et la kaempférol (*Ziani, 2017*).

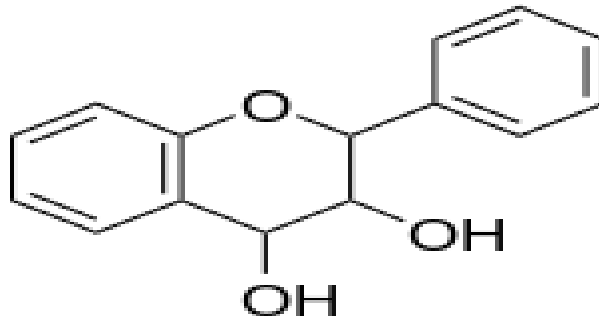


Figure II.4 : Structure chimique des Flavonoïdes

II.1.4. Composés phénoliques

Les pins contiennent également des composés phénoliques, tels que les acides phénoliques et les flavanols. Les composés phénoliques sont des antioxydants naturels qui peuvent contribuer aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des pins (*Adjine et al., 2020*).

II.1.5. Cellulose et lignine

La cellulose et la lignine sont des composants majeurs de la paroi cellulaire du bois de pin (*Létourneau, 2006*). La cellulose est un polysaccharide composé de chaînes de glucose, tandis que la lignine est un polymère complexe de phénylpropanoïdes. La cellulose et la lignine sont des composés structuraux importants dans le bois de pin, qui confèrent sa résistance et sa rigidité (*Chaouch, 2011*).

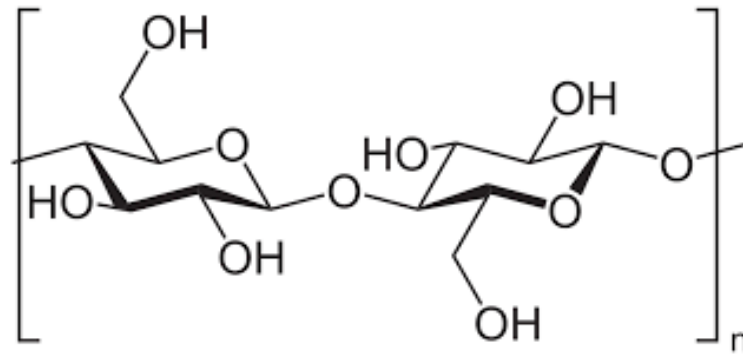


Figure II.5 : Structure chimique de la cellulose

Il est important de noter que la composition chimique du pin peut varier en fonction de nombreux facteurs, tels que l'espèce, la région géographique, la saison, les conditions de croissance et les méthodes de traitement. De plus, la plupart des composés chimiques présents dans les pins ont des propriétés bénéfiques, mais certains peuvent également être toxiques ou allergènes pour certaines personnes (*Krief, 2003*).

II.2. La fraction minérale de pin

La fraction minérale du pin, comme pour la plupart des plantes, comprend les éléments minéraux ou minéraux présents dans le bois, les aiguilles, l'écorce et les autres parties de l'arbre (*Lemoine et al., 1990*). Les principales fractions minérales du pin comprennent.

II.2.1. Macroéléments

Les macroéléments sont les éléments minéraux nécessaires en grandes quantités pour la croissance et le développement des plantes. Les macroéléments les plus couramment présents dans le pin sont l'azote (N), le phosphore (P), le potassium (K), le calcium (Ca), le magnésium (Mg) et le soufre (S). Ils jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques des plantes, tels que la formation des protéines, la photosynthèse, la croissance des racines et la résistance aux maladies (*Harkat et al., 2021*).

II.2.2. Microéléments

Les microéléments, également appelés oligo-éléments, sont les éléments minéraux nécessaires en petites quantités pour la croissance des plantes, mais sont tout de même essentiels pour leur développement (*Coic et al., 1989*). Les microéléments couramment présents dans le pin comprennent le fer (Fe), le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le bore (B), le molybdène (Mo) et le nickel (Ni). Ils jouent un rôle important dans la catalyse des réactions

chimiques, la régulation des processus enzymatiques et la résistance aux stress environnementaux (*Djeddi et al., 2007*).

II.2.3. Autres éléments

Outre les macroéléments et les microéléments, d'autres éléments minéraux peuvent également être présents dans la fraction minérale du pin en quantités variables. Cela peut inclure des éléments tels que le sodium (Na), le silicium (Si), l'aluminium (Al), le cuivre (Cu), le plomb (Pb) et d'autres éléments qui sont présents dans le sol et peuvent être absorbés par l'arbre (*Akrad, 2014*).

Il est important de noter que la composition minérale du pin peut varier en fonction de nombreux facteurs, tels que l'espèce, la région géographique, la saison, les conditions de croissance et les méthodes de traitement. Les éléments minéraux sont essentiels pour la croissance et le développement des plantes, et peuvent avoir un impact sur leur santé, leur résistance aux maladies et leur qualité globale (*Djebaili et al., 2013*).

II.3. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des glucides complexes composés de multiples unités de monosaccharides liées entre elles. Les polysaccharides sont largement présents dans les plantes, y compris dans les pins (*Gobat et al., 2010*). Les principales classes de polysaccharides présentes dans les pins sont :

II.3.1. Cellulose

La cellulose est le polysaccharide le plus abondant dans le règne végétal, y compris dans les pins. Elle est composée de longues chaînes linéaires de glucose liées par des liaisons glucosidiques $\beta(1\rightarrow4)$. La cellulose est un composant structurel important de la paroi cellulaire des plantes, conférant rigidité et résistance (*Akroun et al., 2020*).

II.3.2. Pectines

Les pectines sont des polysaccharides présents dans la matrice extracellulaire des plantes, y compris dans les pins. Elles sont composées de monosaccharides tels que l'acide galacturonique, la rhamnose, l'arabinose et le galactose, liés par des liaisons glycosidiques complexes. Les pectines contribuent à la stabilité et à la texture des parois cellulaires des plantes (*Leroux, 2015*).

II.3.3. Polysaccharides de réserve

Les pins peuvent également stocker des polysaccharides de réserve dans leurs tissus de stockage, tels que l'amidon et les fructanes. L'amidon est un polysaccharide composé de glucose et sert de source d'énergie pour les plantes. Les fructanes sont des polysaccharides composés de fructose et peuvent servir de source d'énergie et de carbone dans certaines conditions de stress (*Akroun et al., 2020*).

Il est important de noter que la composition et la quantité des polysaccharides dans les pins peuvent varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre, du stade de développement et des conditions environnementales. Les polysaccharides de pin ont diverses fonctions biologiques et peuvent jouer un rôle important dans la structure, la fonction et les propriétés physiologiques des arbres (*Duponnois et al., 2011*).

II.4 Les protéines

Les protéines sont des macromolécules composées d'acides aminés et sont essentielles pour de nombreuses fonctions biologiques, notamment la structure cellulaire, la régulation des réactions chimiques et la signalisation cellulaire. Les pins, en tant que plantes, contiennent également des protéines. Cependant, la composition protéique spécifique des pins peut varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre, du stade de développement et des conditions environnementales (*Krief, 2003*). En général, les protéines de pin peuvent être classées en plusieurs catégories, notamment :

II.4.1. Protéines de la graine de pin

Les graines de pin contiennent des protéines qui sont impliquées dans la régulation du développement embryonnaire, la réserve d'énergie et la protection contre les stress environnementaux (*Gallardo et al., 2013*). Par exemple, les protéines de réserve comme la viciline et la legumine sont présentes dans les graines de pin et servent de sources d'énergie et de nutriments pour le développement du nouvel arbre (*Morel, 2014*).

II.4.2. Protéines de la paroi cellulaire

Les parois cellulaires des plantes, y compris celles des pins, sont composées de diverses protéines qui contribuent à la structure et à la fonction des cellules végétales. Par exemple, les protéines de la famille des extensines sont impliquées dans la rigidité et l'élasticité des parois cellulaires (*Amara, 2020*).

II.4.3. Protéines de signalisation

Les pins peuvent également produire des protéines de signalisation, telles que des facteurs de transcription, des récepteurs de signal et des enzymes de signalisation, qui régulent divers processus biologiques, tels que la croissance, le développement, la réponse aux stress et la défense contre les pathogènes (*Loubeau, 2012*).

II.4.5. Protéines de défense

Les pins peuvent produire des protéines impliquées dans la défense contre les pathogènes et les ravageurs, telles que les protéines antimicrobiennes, les protéines de résistance aux maladies et les protéines de dégradation des insectes (*Mazard, 2021*).

Il est important de noter que la composition protéique spécifique des pins peut varier en fonction de nombreux facteurs, et que notre compréhension des protéines présentes dans les pins est en constante évolution grâce à la recherche scientifique (*Chabri et al., 2014*).

II.5. Les lipides

Les lipides sont des composés organiques constitués principalement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, et sont un groupe important de macromolécules biologiques. Les pins, en tant que plantes, contiennent également des lipides qui jouent différents rôles dans leur physiologie (*Albrecht, 2007*). Voici quelques exemples de lipides que l'on peut trouver dans les pins :

II.5.1. Huiles essentielles

Les pins sont connus pour leur production d'huiles essentielles, également appelées résines ou térébenthines, qui sont extraites des aiguilles, des branches et de l'écorce des arbres. Ces huiles essentielles sont composées de divers lipides volatils, tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes, qui donnent aux pins leur odeur caractéristique et sont impliqués dans la défense de l'arbre contre les herbivores et les pathogènes (*Francezon, 2018*).

II.5.2. Acides gras

Les pins peuvent également contenir des acides gras, qui sont des lipides constitutifs des membranes cellulaires et sont impliqués dans le stockage et la mobilisation de l'énergie. Les acides gras dans les pins peuvent varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre et des conditions environnementales (*Nandillon, 2019*).

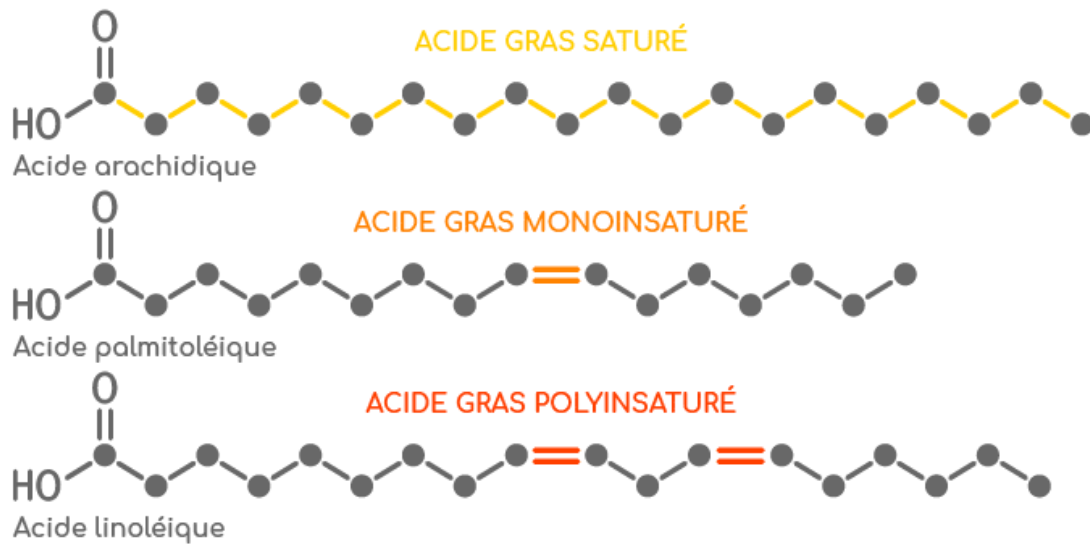


Figure II.6 : Structure chimique des acides gras

II.5.2.1. Stérols

Les pins contiennent également des stérols, qui sont des lipides impliqués dans la régulation de la croissance et du développement des plantes. Les stérols dans les pins peuvent inclure le bêta-sitostérol, le campestérol et d'autres stérols végétaux (*Bouledra et al., 2012*).

II.5.2.2. Phospholipides

Les phospholipides sont des lipides qui sont des composants majeurs des membranes cellulaires. Bien que les pins soient des plantes à aiguilles et n'aient pas de feuilles larges typiques avec des membranes cellulaires riches en phospholipides, ils peuvent encore contenir de petites quantités de phospholipides dans certaines parties de l'arbre, comme les aiguilles et les tissus internes (*Brault, 2015*).

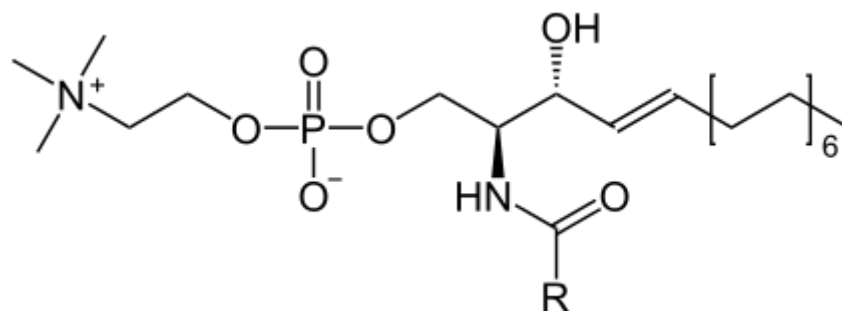


Figure II.7 : Structure chimique des phospholipides

Il est important de noter que la composition lipidique spécifique des pins peut varier en fonction de divers facteurs, tels que l'espèce, la partie de l'arbre, le stade de développement et les conditions environnementales, et que notre compréhension des lipides présents dans les pins est en constante évolution grâce à la recherche scientifique (*Celhay, 2013*).

II.6. Les vitamines

Les pins sont des plantes qui sont principalement riches en résines, huiles essentielles et autres composés chimiques spécifiques, mais ils ne sont généralement pas considérés comme une source significative de vitamines (*Bousbia, 2011*). Les vitamines sont des nutriments essentiels nécessaires en petites quantités pour maintenir la santé et le fonctionnement normal du corps. Elles sont généralement produites par des organismes vivants, tels que les plantes et les animaux, et sont essentielles pour de nombreuses réactions biochimiques dans le corps (*Gobat, 2010*).

Cependant, bien que les pins ne soient pas connus pour leur teneur en vitamines, ils peuvent contenir de faibles quantités de certaines vitamines, principalement les vitamines C et E, sous forme de composés antioxydants. Les aiguilles de pin, en particulier, sont riches en composés antioxydants, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui peuvent avoir des propriétés antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine (*Boukroufa, 2012*).

Il est important de noter que les pins ne sont généralement pas consommés en tant que source alimentaire pour les vitamines, mais plutôt pour leurs propriétés aromatiques, médicinales ou pour d'autres utilisations spécifiques. Pour obtenir des vitamines de manière adéquate dans votre alimentation, il est recommandé de consommer une variété d'aliments frais et variés, tels que fruits, légumes, viandes, poissons, produits laitiers, céréales complètes, et autres aliments riches en vitamines (*Madjour, 2014*).

II.7. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels présents dans les plantes et les organismes photosynthétiques, tels que les algues, les champignons et les bactéries. Cependant, les caroténoïdes ne sont généralement pas considérés comme des composés chimiques prédominants dans les pins, qui sont principalement riches en résines, huiles essentielles et autres composés spécifiques (*Daghouché et al., 2021*).

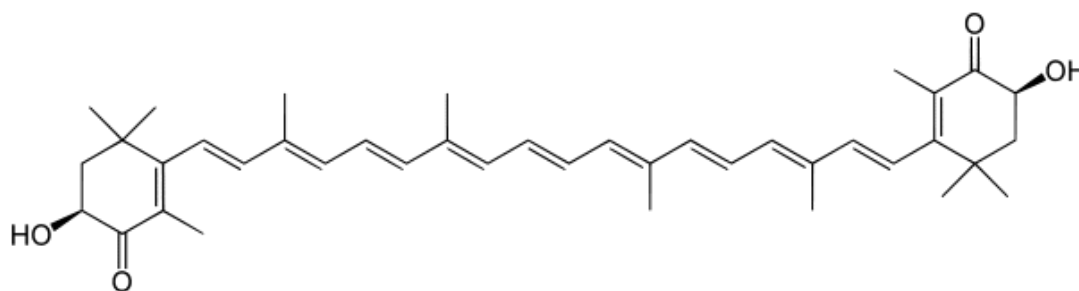


Figure II.8 : Structure chimique des caroténoïdes

Les pins sont principalement connus pour leur teneur élevée en composés résineux, tels que les terpènes et les flavonoïdes, qui leur confèrent leur arôme caractéristique et leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Les caroténoïdes, tels que le β -carotène, la lutéine et la zéaxanthine, qui sont souvent présents dans d'autres plantes, ne sont généralement pas considérés comme des composés prédominants dans les pins.

Il est important de noter que la composition chimique des pins peut varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre, du stade de développement, des conditions environnementales et des méthodes de traitement et de conservation. Si vous recherchez des sources spécifiques de caroténoïdes, il est généralement recommandé de se tourner vers d'autres aliments tels que les fruits et légumes colorés, qui sont des sources bien connues de ces pigments naturels (*Mosoni et al., 2019*).

II.8. Les poly phénols

Les polyphénols sont un groupe de composés chimiques présents dans de nombreux aliments d'origine végétale, y compris les pins. Les polyphénols sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et autres bienfaits potentiels pour la santé (*Boubekri, 2014*). Voici quelques exemples de polyphénols qui peuvent être présents dans les pins :

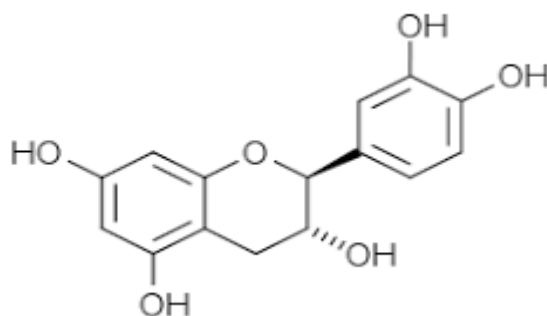


Figure II.9 : Structure chimique des polyphénols

II.8.1. Acide ellagique

C'est un polyphénol qui est souvent présent dans les fruits à coque, tels que les noix et les amandes, ainsi que dans certains fruits et légumes. L'acide ellagique est connu pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Proanthocyanidines : Ce sont des polyphénols également connus sous le nom de tanins condensés, qui sont présents dans de nombreux aliments d'origine végétale, y compris les pins (*Rahmoune et al., 2017*). Les proanthocyanidines sont connues pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et leur capacité à renforcer le système immunitaire.

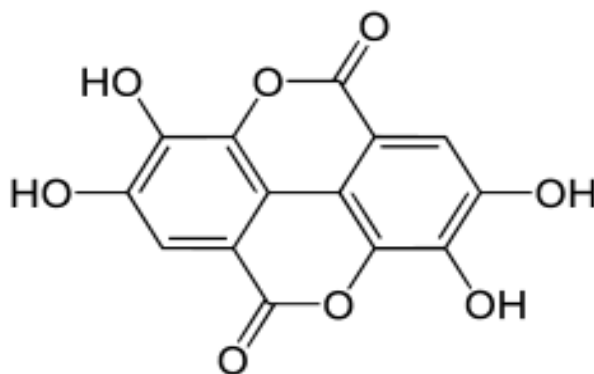


Figure II.10 : Structure chimique de l'acide ellagique

II.8.2. Catéchines

Ce sont des flavonoïdes, un type spécifique de polyphénols, qui sont présents dans certains aliments tels que le thé, le cacao et les fruits. Les catéchines sont connues pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, et peuvent contribuer à la protection contre les maladies cardiovasculaires et autres maladies chroniques (*Hmid, 2013*).

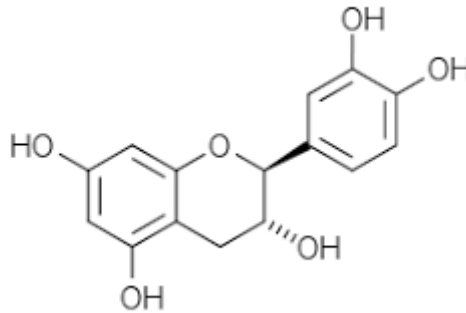


Figure II.11 : Structure chimique des catéchines

II.8.3. Acide gallique

C'est un polyphénol présent dans de nombreux aliments, y compris les pins. L'acide gallique est connu pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, et peut contribuer à la protection contre les dommages oxydatifs (*Boubekri, 2014*).

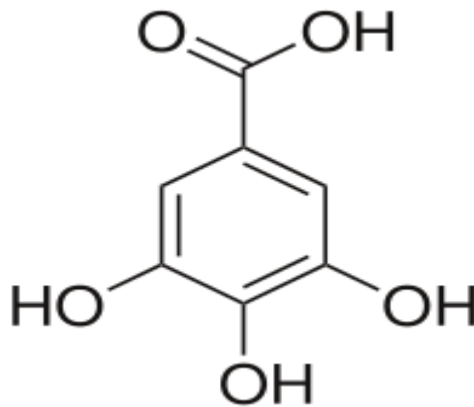


Figure II.12 : Structure chimique de l'acide gallique

Il est important de noter que la teneur et le type spécifique de polyphénols dans les pins peuvent varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre, du stade de développement et des conditions de croissance. La recherche sur les polyphénols des pins est encore en cours, et il existe de nombreuses autres classes de polyphénols qui peuvent être présentes dans les pins en plus de celles mentionnées ci-dessus (*Celhay, 2013*).

II.8.4. Les tannins

Les tannins sont un type de polyphénols qui sont souvent présents dans les plantes et qui sont connus pour leur capacité à former des complexes avec les protéines et d'autres macromolécules, ce qui peut conférer des propriétés astringentes et antimicrobiennes. Les pins sont connus pour contenir des tannins, notamment des tannins condensés ou proanthocyanidines, qui sont un type spécifique de tannins (*Aissous et al., 2016*).

II.8.4.1. Les tannins condensés

Sont des polymères de flavonoïdes qui se forment par condensation de sous-unités de flavonoïdes, tels que les catéchines et les épicatechines. Les tannins condensés sont largement présents dans le règne végétal, y compris dans les pins, et sont responsables des propriétés astringentes de nombreux aliments et boissons, tels que le thé, le vin rouge et certains fruits (*Amiour et al., 2010*).

II.8.4.2. Les tannins de pin

Sont connus pour leurs propriétés astringentes et peuvent également avoir des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Ils peuvent contribuer à la défense de l'arbre contre les herbivores, les pathogènes et d'autres stress environnementaux. Les tannins de pin peuvent être présents dans diverses parties de l'arbre, y compris l'écorce, les feuilles, les aiguilles, les cônes et le bois (*Saidi, 2019*).

Il est important de noter que la teneur en tannins et le profil spécifique des tannins dans les pins peuvent varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre, du stade de développement, des conditions environnementales et des méthodes de traitement et de conservation. La recherche sur les tannins de pin est encore en cours pour mieux comprendre leur composition chimique, leurs propriétés et leurs applications potentielles (*Hani et al., 2022*).

II.9. Conclusion

En conclusion, les caractéristiques chimiques et biochimiques du pin sont complexes et diversifiées. Le pin est composé d'un large éventail de composés chimiques, notamment des polysaccharides, des protéines, des lipides, des vitamines, des caroténoïdes, des polyphénols et des tannins. Ces composés sont responsables des propriétés physiologiques, nutritionnelles, antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et autres propriétés du pin (*Boughanbouz et al., 2019*).

Cependant, il est important de noter que la composition chimique et biochimique du pin peut varier en fonction de l'espèce, de la partie de l'arbre, du stade de développement, des conditions de croissance, des méthodes de traitement et de conservation, et de nombreux autres facteurs (*Djebaili et al., 2013*).

Chapitre III

III.1. Introduction

Dans le présent chapitre nous allons présenter la zone d'étude, le matériel végétal, les méthodes et les procédés utilisés pour la préparation de l'échantillon, l'obtention de différents types d'extraits. Il y sera aussi décrit les différentes caractérisations effectuées que ce soit chimique, biochimique et biologique. Les travaux expérimentaux ont été finalisés au niveau des laboratoires pédagogiques du département de génie des procédés de l'université de Skikda et du centre de recherche en biotechnologie de Constantine.

III.2. Présentation de la région de collecte du matériel végétale

Le matériel végétal de la présente d'étude est échantillonné de la région Azzaba qui est une commune de la wilaya de Skikda en Algérie est située à l'est de la wilaya de Skikda, à environ 40 km au nord-est de Skikda à 73 kilomètres d'Annaba, à 59 km de Guelma et à 89 kilomètres de Constantine. Sa localisation géographique est comprise entre latitude : 36.7333, longitude : 7.1 36° 43' 60" Nord, 7° 6' 0" Est.

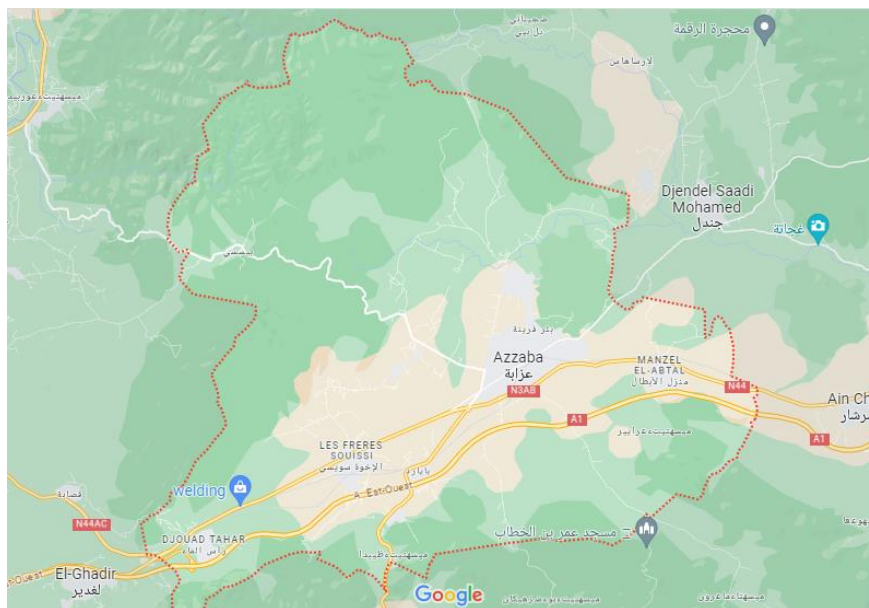


Figure III.13 : Localisation de la zone d'échantillonnage du *Cupressus sempervirens*

III.3. Présentation du matériel végétal

Le matériel végétal, est les cônes de *Cupressus sempervirens*, collecté au niveau de la commune de Azzaba en hiver pendant la phase nouaison entre la mi-décembre et la mi-janvier



Figure III.14 : Arbre et cônes de *Cupressus sempervirens*

III.4. Préparation du matériel végétale

Après collecte les cônes récoltés ont été transporté au laboratoire, ou nous les avons lavés plusieurs fois à l'eau de robinet puis avec de l'eau déminéralisée jusqu'à complète disparition d'impureté telle que les feuilles, poussière et résidu de sol dans les eaux de lavage. Puis les cônes ont été séché dans l'étuve à 60°C pendant 24h, Ces derniers ont été transformé en poudre à l'aide d'un broyeur électrique.

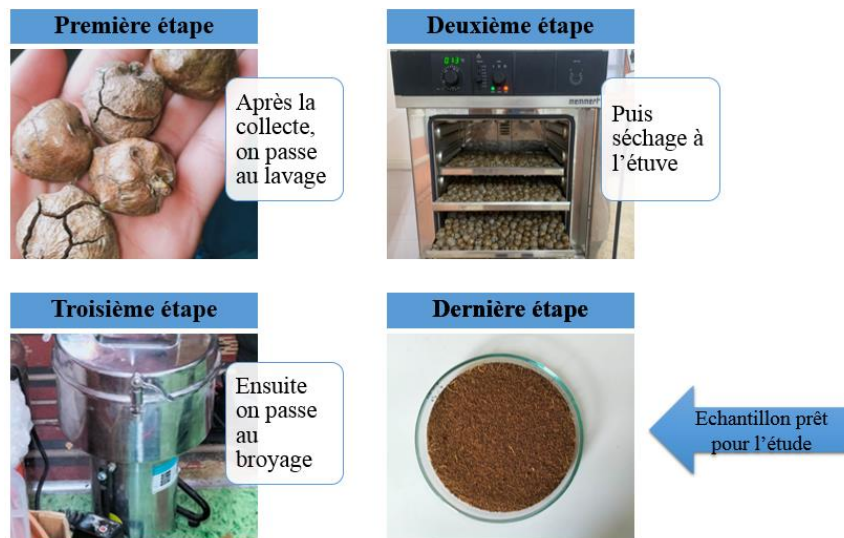


Figure III.15 : Préparation du matériel végétale

III.5. Caractérisation chimique

III.5.1. Détermination de la teneur en eau

Elle est déterminée par dessiccation dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant selon la méthode officielle (AOAC, 1995). Le taux d'humidité correspondent à la différence de pesée entre le poids d'un gramme de poudre d'échantillon et son poids une fois chauffé à 105 ± 2 °C pendant 2 heures. Les résultats sont exprimés en g/100 g matière fraîche (MF) ou bien en g/100 g matière sèche (MS).

$$\text{Teneur en matière sèche} = \frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} * 100$$

- M_0 : la masse en g de la creuser ;
- M_1 : la masse en g du creuser avec la prise d'essai ;
- M_2 : la masse en g de la capsule avec la matière sèche.



Figure III.16 : Etuve utilisé pour l'étude de la teneur en matière sèche

III.5.2. Détermination de la teneur en cendres

Cette analyse est réalisée selon la méthode officielle (AOAC, 1995), et consiste à placer dans un creuset en porcelaine 2 g de poudre préalablement séchés, tarer puis incinérer dans un four à moufle à 550 °C pendant 4 heures. Le poids du résidu correspond à la matière minérale. Les résultats sont exprimés en g/100 g de matière sèche (MS).

$$\text{Teneur en cendre} = \frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} * 100$$

- M_0 : la masse en g de la capsule d'incinération ;

- M_1 : la masse en g de la capsule avec la prise d'essai ;
- M_2 : la masse en g de la capsule avec les cendres.



Figure III.17 : Four à moufle utilisé pour l'étude de la teneur en cendre

III.5.3. Détermination de la teneur en protéines brutes

L'azote total (N) est déterminé par la technique de Kjeldahl, selon la procédure alternative II (AOAC, 1995). Cette méthode de dosage comporte trois étapes : la minéralisation, la distillation et la titration.

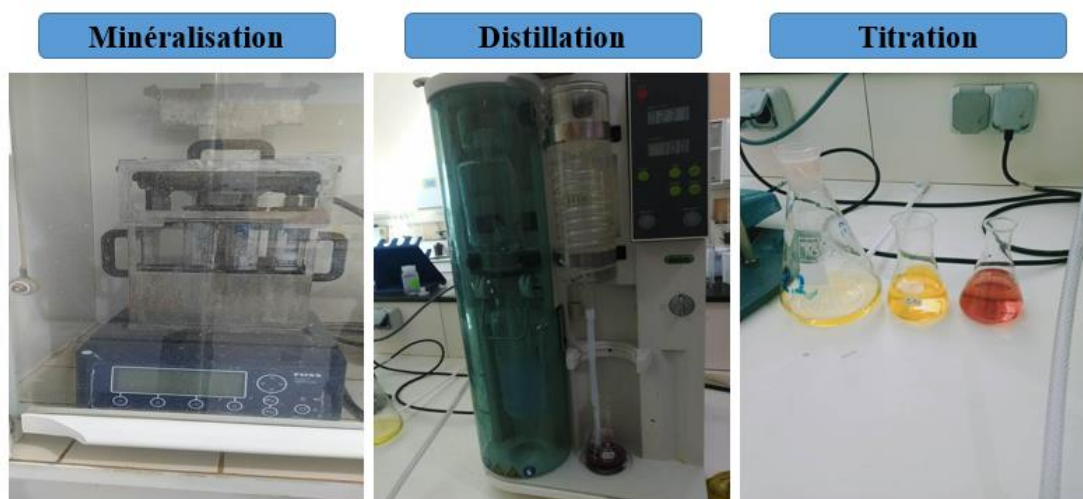


Figure III.18 : Etape de détermination de la teneur en protéines brutes

III.5.3.1. La minéralisation

La minéralisation est la transformation de l'azote organique de l'échantillon sec (0,5g) en azote minéral (sulfate d'ammonium), en présence de 10 ml d'acide sulfurique concentré et d'un catalyseur dans notre étude nous avons utilisé 0,5g de sulfate de cuivre CuSO_4 (Kjeltabs

CT, Thompson et Capper LTD), chauffé à 450 °C pendant 4h.

III.5.3.2. La distillation

Le minéralisât est ensuite placé dans un système de distillation automatique, type Kjeldahl VELP Scientifica UDK 129. Après transformation du sulfate d'ammonium en ammoniac par une base forte (NaOH, 35%), l'ammoniac est entraîné par la vapeur d'eau et repris dans une solution d'acide borique contenant un indicateur coloré.

III.5.3.3. La titration

Le distillat ainsi obtenu est titré par une solution d'H₂SO₄ (0,05N). La teneur en azote de la matière sèche est obtenue par l'équation suivante :

$$\text{Azote total (N) en mg/g} = \frac{(V_1 - V_0) * M * 14 * 100}{m}$$

- V₀: la Volume en ml d'acide sulfurique utilise pour le blanc ;
- V₁ : Volume en ml d'acide sulfurique utilise pour la prise d'échantillon ;
- M : la concentration de l'acide sulfurique.
- m : la masse en g de l'échantillon
- 14 : masses molaires de l'azote

La teneur en protéines totales est obtenue en multipliant la teneur en azote par 6,25 et exprimée en g/100 g de matière sèche (MS).

III.5.4. Détermination de la teneur en lipides

Une quantité de 1g de l'échantillon est placée dans une cartouche en cellulose d'un système d'extraction au « Soxhlet » on met 25 ml d'Hexane dans des creusets en aluminium (ou pyrex) préalablement lavé, séché et taré. L'extraction se fait par ébullition du solvant et condensation de ses vapeurs par un réfrigérant. Cette extraction dure environ 1 heure. Ensuite, on met les creusets dans l'étuve à 105°C pendant 24h pour éliminer complètement le reste du solvant. Les creusets sont ensuite refroidis dans un dessiccateur et pesé de nouveau. La teneur en matière grasse est calculé par :

$$\text{Teneur en lipides} = \frac{(P_2 - P_1)}{P_0} * 100$$

- M₀: la masse en g de l'échantillon ;
- M₁ : la masse en g du creuser vide ;
- M₂ : la masse en g du creuser contenant la matière grasse.



Figure III.19 : Appareils Soxtherme pour la détermination des teneurs en lipides

III.5.5. Dosage des carbohydrates

III.5.5.1. Principe

Le dosage des sucres totaux est effectué par la méthode de phénol /acide sulfurique (*Dubois et al., 1956*). Cette dernière nécessite une hydrolyse acide qui permet la rupture de toutes liaisons glucidiques dans le polysaccharide. Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol.

A ce moment-là, il se forme des chromophores de couleur jaune-orange, leur apparition est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490 nm. La teneur des sources est exprimée en $\mu\text{g} / \text{ml}$ (convertie en grammes / litre de α D (+) Glucose à partir d'une courbe d'étalonnage.

III.5.5.2. Procédé

On additionne à 0,5 g d'échantillon, 2 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) 0,5 M, puis on place l'ensemble dans une étuve réglée à 105°C pendant 3 heures ; On transfère la solution dans une fiole de 50 ml tout en ajustant le volume par de l'eau distillée jusqu'à 500 ml ; On filtre la solution puis on réalise trois répétitions, Dans les tubes on met 1ml de chaque dilution, ensuite on ajoute dans chaque tube 1ml de phénol 5% et 5ml d'acide sulfurique H_2SO_4 à 98% , Les tubes sont maintenus dans l'étuve pendant 5 minutes à 105°C , puis laissés dans l'obscurité pendant 30 minutes, On maintient les tubes dans une étuve pendant 5 min à 105°C , ensuite on les laisse dans l'obscurité pendant 30 min. Enfin, à l'aide d'un spectromètre, la densité optique est lue à une longueur d'onde de 490 nm ; X : quantité de sucres totaux $\mu\text{g} / \text{mg}$ MF

III.5.6. Dosage des sulfates

III.5.6.1. Principe

Les ions sulfates du polysaccharide sont libérés au cours d'une hydrolyse chlorhydrique, et vont former, en présence de chlorure de baryum, un précipité de sulfate de baryum (maintenu en suspension par la gélatine), dont l'apparition est suivie en spectrophotométrie à 550 nm.

III.5.6.2. Procédé

Chlorure de baryum (BaCl_2)/Gélatine où 600 mg de gélatine sont dissous dans 200 ml d'eau osmosé portée à 60-70 °C. La solution est refroidie puis mise à 4°C pendant 16 heures. Elle est ensuite réchauffée 1 à 2 heures à température ambiante, et 2g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sont ajoutés (réactif stable un mois). Le dosage turbidimétrique est réalisé en plaçant dans un tube :

- 1 mL de surnageant (ou de solution étalon)
- 9 mL d'eau osmosée
- 1 mL d'HCl 0,5N
- 0.5 mL de réactif BaCl_2 /Gélatine

Le tube est laissé 30 min à température ambiante, agité, et l'absorbance est lue à 550 nm contre un blanc. La teneur en sulfates du polysaccharide est déterminée par rapport aux absorbances mesurées de la courbe étalon.

III.5.7. Caractérisation des acides gras par Chromatographie gazeuse couplé au spectre de masse

III.5.7.1 Extraction des acides gras par Soxhlet

- **Principe**

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction continue d'un solide par un solvant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps en verre, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles.



Figure III.20 : Montage d'extraction de l'extrait gras par Soxhlet

III.5.7.2. Analyse chromatographique gazeuse couplé par le spectre de masse GCMS

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS) de chaque extrait hexanique silylé a été réalisée à l'aide d'un GC-MS QP2010 Ultra Shimadzu équipé d'une colonne capillaire DB-5- J & W (30 m x 0,25 mm de diamètre intérieur et une épaisseur de film de 0,25 μm). Les échantillons ont été injectés avec un rapport de division 1:50 et de l'hélium comme gaz porteur avec un flux de 1,13 ml/min. La température de la colonne a été maintenue à 130 °C pendant 1 min, puis augmentée, d'abord à 6 °C/min. jusqu'à 190 °C, puis à 1,2 °C/min. jusqu'à 205 °C et enfin à 3 °C/min. jusqu'à atteindre 300 °C, température qui a été maintenue pendant 5 min. La température de l'injecteur était de 320 °C et celle de la ligne de transfert de 200 °C. Le spectromètre de masse a fonctionné en mode impact électronique (EI) avec une énergie de 70 eV, et les données ont été collectées à une vitesse de 1 scan/s sur une gamme de m/z 50-1000. La chromatographie réalisée a duré au total 60,2 minutes et les étalons ont été analysés séparément par GC-MS dans les mêmes conditions chromatographiques. Les composants photo des extraits des différentes espèces ont été identifiés par comparaison directe avec les entrées de la bibliothèque de la base de données des spectres de masse (NIST14 Mass spectral et WILEY Registry TM of Mass Spectra Data) et en comparant les temps de rétention et les données des spectres de masse des composés standard injectés dans les mêmes conditions chromatographiques. L'identification des composés a été

réalisée à l'aide d'une base de données locale (*Faustino et al., 2017*).

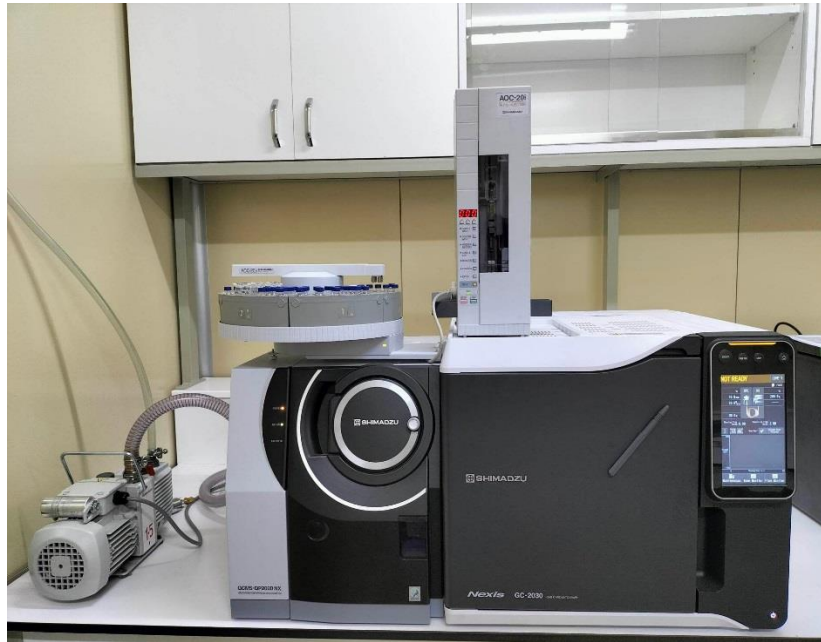


Figure III.21 : Chromatographie gazeuse couplé au spectre de masse (Shimadzu)

III.6. Analyse biochimique

III.6.1. Préparation des extraits bruts

III.6.1.1. Extraction par Ultrasons

- **Principe**

L'application des ondes ultrasonores améliore la cinétique de l'extraction par solvant de l'huile, car certains auteurs ont relevé que l'effet mécanique de ces vibrations favorise le transfert de masse et ce, pour plusieurs raisons (*Tritiaux et al, 1997*). Le pouvoir des ultrasons facilite une meilleure pénétration du solvant dans les cellules. Ils provoquent la destruction des parois cellulaires et par conséquent la libération de l'huile.

- **Procédé**

40 g de poudre de *Cupressus sempervirens* ont été ajoutés à 400 ml d'eau ultrapure . Le mélange est soumis à l'ultrason à un niveau d'intensité correspondant à 60 hz, pendant 6h.



Figure III.22 : Dispositif à ultrasons

III.6.1.2. Extraction par macération

- **Principe**

Dans des conditions de température optimale et d'obscurité assurant la préservation des composés bioactifs du *Cupressus sempervirens*, l'obtention de l'extrait brut méthanolique, est réalisée tout d'abord par macération. Cette méthode consiste à laisser une quantité de chaque poudre précédemment obtenue en contact avec un volume de solvant d'extraction.

- **Procédé d'extraction**

La technique consiste à mettre 10 g de cupressus sepervirens dans un volume de 100 ml de solvant (méthanol, éthanol ou eau distillée). Une macération est lancée à l'abri de la lumière sous agitation magnétique, à température ambiante (25 °C) pendant 24 heures. Les extraits obtenus sont centrifugés à 3500 rpm pendant 10 min à 4 °C et filtrés. Cette étape est répétée trois fois pour une extraction optimale. Les extraits organiques sont évaporés à sec à 50°C avec un évaporateur rotatif de type Haeldolph laboratora 4000. Les résidus secs des différents extraits obtenus sont pesés et conservés au frais et à l'obscurité.

III.6.2. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait brut déterminée après évaporation du solvant organique, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la poudre de pinea soumise à l'extraction. Le rendement (R) est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M}{M_0} * 100$$

Où :

R : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M_0 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

III.6.3. Analyse quantitative des composés secondaires des extraits organiques et aqueux

III.6.3.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe**

Le dosage des phénols totaux des extraits est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (*Singleton & Rossi, 1965*). Ce réactif jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange bleu d'oxydes de tungstène et de molybdène possédant une absorption maximale aux environs de 765 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (*Boizot & charpentier, 2006*).

- **Procédé**

Un volume de 20 μl de chaque extrait de *Cupressus sempervirens* est ajouté à 100 μl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois), ensuite, 75 μl de Na_2CO_3 (7,5 %) sont additionnés. La microplaque est incubée pendant 2 heures à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc. La concentration des extraits en polyphénols totaux est déduite à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (15 - 250 $\mu\text{g/ml}$), et exprimée en mg équivalents d'acide gallique par gramme de matière cupressus sempervirens (mg EAG/g MS).

III.6.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

- **Principe**

La teneur en flavonoïdes des extraits est déterminée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium (*Bahorun et al., 1996*). Cette méthode est basée sur les propriétés chélatrices de l'ion aluminium. Le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes. Ce complexe de couleur jaune absorbe dans la lumière visible à une longueur d'onde de 415 nm.

- **Procédé**

On mélange 50 μl de l'extrait de plante avec 130 μl de MeOH au quel on rajoute 10 μl CH_3COOK et 10 μl $(\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O})$ on procède à une incubation pendant 40 mn à température ambiante, l'absorbance se fait grâce à un lecteur microplaque à 415 nm. Un échantillon est préparé comme un blanc en remplaçant les réactifs par le méthanol (50 μl extrait + 150 μl méthanol). Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes

conditions opératoires en utilisant la Quercétine (5 - 50 µg/ml). La teneur en flavonoïdes des extraits est calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe, et exprimée en mg équivalents de Quercétine par gramme de matière sèche algale (mg EQ/g MS).

III.6.3.3. Dosage des tannins condensés

- **Principe**

Les tannins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (Julkunen-Titto, 1985). Cette méthode consiste à faire réagir les tannins avec de la vanilline, qui libèrent après leur dépolymérisation en présence d'acide, par rupture de la liaison intermonomérique des anthocyanidols de couleur rouge spécifique mesurée à 500 nm.

- **Protocole**

Dans un erlenmeyer, 1 ml de l'échantillon (préparé dans le méthanol) est ajouté à 5 ml du réactif d'analyse (20ml de la solution de vanilline à 1% mélangée à 2.5 ml de la solution du HCl à 8% (8ml HCl complétées à 100 ml avec du méthanol), le mélange est vigoureusement agité. après 1 min ; 5 ml de la solution HCl à 4% sont additionnée. L'erlenmeyer est ensuite introduit au bain marie à 30°C et laissées pendant 20min. la lecture des absorbances est lue à 500 nm en respectant l'intervalle d'une minute. Une courbe d'étalonnage établie par la Catéchine servira à la quantification des tanins condensés. La teneur en tanins condensés est exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par 100 gr d'extrait (mg EqC/100 gr d'ext).

III.6.4. Détermination du pouvoir antioxydant du *Cupressus*

sempervirens

Il est recommandé d'utiliser au moins deux tests pour confirmer une activité antioxydante (*Lehtonen et al., 2009 ; Yang et al., 2011*). Le choix s'est porté sur l'utilisation du test de l'activité antiradicalaire (DPPH) évaluant la capacité de piégeage des radicaux libres, et le test déterminant le pouvoir réducteur.

III.6.4.1. Activité antiradicalaire : test de piégeage du radical libre DPPH

- **Principe**

L'activité antiradicalaire des extraits est testée par la méthode au DPPH (*Yen & chen, 1995*). Le DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en 2,2-diphényle-1-picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration qui explique le pouvoir de l'extrait à piéger ce radical. L'intensité de la couleur (coloration jaune pâle) est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des

protons (*Sanchez-Moreno, 2002*).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où :

(AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical **DPPH*** (violet) pour le transformer en diphenyle picrylhydrazine (**DPPH-H**) (jaune) (*Brand-William et al., 1995*).

- **Procédé**

Plusieurs concentrations de nos différents extraits sont ~~prés~~ La solution au DPPH est préparée dans du méthanol pour une concentration de 0,16 mM.

Un volume de 40 µl de chaque extrait aux sept concentrations à tester est ajouté à 160 µl de solution au DPPH dans une microplaque à 96 puits. Celle-ci est placée à l'obscurité, à température ambiante pendant 30 min. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance au spectrophotomètre à 517 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant synthétique ; le BHT et d'un antioxydant naturel la vitamine E et l'acide ascorbique à différentes concentrations : l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions expérimentales que les extraits.

L'IC50 est déterminée pour chaque extrait, elle est définie comme étant la concentration nécessaire pour inhiber 50% du radicale libre DPPH. La valeur IC50 est calculée graphiquement par la régression linéaire du pourcentage d'inhibition.

III.6.4.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS•+

- **Principe**

L'ABTS (acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) : est un radical stable, incolore, en présence de persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) il va s'oxydé en $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est formé par extraction d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS). Le test ABTS montre la capacité de piégeage de l'activité antioxydante, il est basée sur l'aptitude des composés à piéger le radical-cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$, ce dernier acquise une coloration bleu turquoise. En existence d'un antioxydant (donneur de H^{\bullet}), se fait la formation de ABTSH^+ à partir de l' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ en piégeant un H^{\bullet} , ce qui enlève la coloration de la solution. (L'intensité de la coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire). Son absorption est mesurée à 734 nm.

- **Procédé**

L'activité de l'ABTS est déterminée par (*Re et al., 1999*), avec une légère modification. On prépare la solution ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (2.45 Mm) pour

proliférer la formation de l'ABTS^{•+}, on laisse le mélange pendant 12 à 16h à l'abri de la lumière et dans une température ambiante. Ensuite, on dilue le mélange avec l'eau distillé jusqu'à l'obtention d'une absorbance $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. Dans les microplaques on verse 160 µl de solution d'ABTS fraîche, on l'ajoute 40 µl de l'extrait à différentes concentrations. Dans les derniers puits on prépare le blanc par remplacement d'extrait par le MeOH. La dernière étape est l'Incubation pendant 10 min dans l'obscurité et à température ambiante, suivie par la lecture dans le spectrophotomètre de microplaques à 734nm. Les standards utilisés dans les mêmes conditions réactionnelles sont : le BHA et BHT. L'activité de piégeage des radicaux de l'ABTS a été appréciée comme un pourcentage d'inhibition (%). Les résultats sont exprimés en IC50.

IC50 : la concentration inhibitrice de l'extrait à éliminer 50% des radicaux ABTS dans la solution réactionnelle (si IC50 est plus faible, l'activité est plus élevée et meilleure).

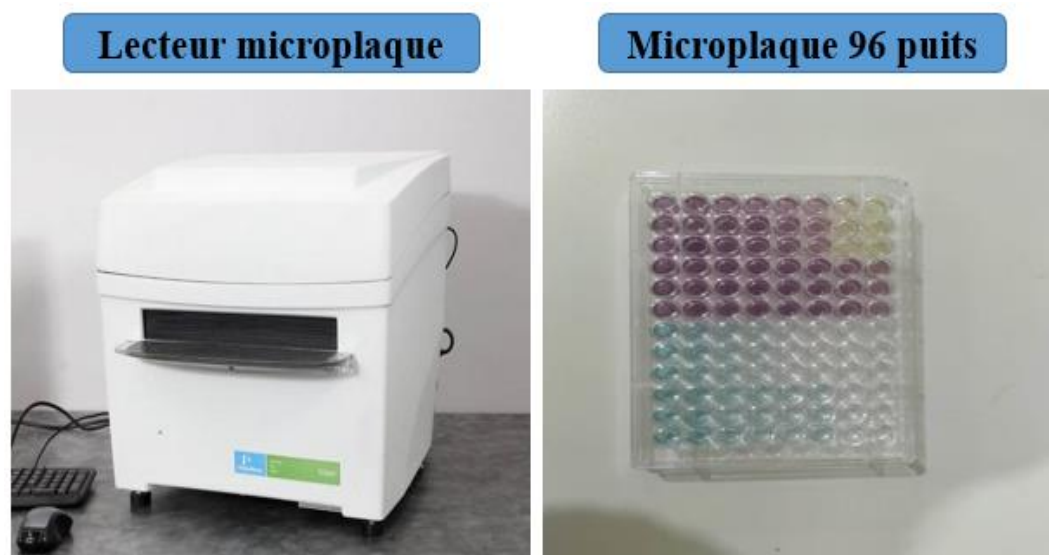


Figure III.23 : Lecteur microplaque et microplaque 96 puits

III.7. Etude de l'activité antibactérienne

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *Cupressus sempervirens* est celle de la diffusion sur gélose en utilisant des disques stériles en papier Wattman décrite par (Ouelhadj *et al.*, 2014).

- **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur la diffusion des composés antibactériens sur le tapis bactérien. S'il y a des composés à activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque. Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à l'activité antimicrobienne de l'échantillon.

III.7.1. Mode opératoire**III.7.1.1. Revivification des souches**

Les souches ont été conservées à -20°C , une revivification est donc nécessaire afin d'effectuer les tests sur des souches jeunes de moins de 24h. Pour cela, les souches sont repiquées aseptiquement dans le bouillon BHIB (Brain heart infusion broth) et incubées dans une étuve à 37° pendant 18 à 24 heures.

III.7.1.2. Repiquage des souches

Après revivification, les souches bactériennes sont ensuite repiquées sur le milieu GN gélosé par la technique des trois quadrants et incubés à 37° pendant 24 heures.

III.7.1.3. Préparation des extraits

Des solutions mères sont préparées à partir de chaque extrait (aqueux, méthanolique et l'extrait obtenu par ultrasons) à une concentration de 1000 mg/ml chacun. Dans du DMSO (diméthylsulfoxyde) .

III.7.1.4. Préparation des inoculums

Les inoculums sont standardisés afin d'avoir un tapis bactérien d'une opacité égale et correcte. A partir des souches jeunes, on racle quelques colonies bactériennes isolées à l'aide d'un écouvillon et on les dépose dans un tube à vis qui contient préalablement 10 ml de l'eau physiologique stérile. A l'aide d'un Vortex, l'inoculum est bien homogénéisé. Sa densité optique doit être comprise entre $0,08 \leq \text{D.O} \leq 0,1$.

La lecture est faite avec le spectrophotomètre à une longueur d'ondes de 625nm. L'inoculum peut être ajusté, soit par l'ajout de la culture s'il est faiblement chargé, ou bien par l'ajout de l'eau physiologique stérile s'il est trop chargé.

III.7.1.5. Réalisation du tapis bactérien

L'antibiogramme consiste à réaliser un tapis bactérien et y déposer les disques imbibés de l'extrait à tester. Le tapis est réalisé par la technique de l'écouvillonnage.

Un écouvillon stérile est imprégné dans l'inoculum standardisé, serré aux parois du tube pour éliminer le maximum de liquide et ne garder que les cellules bactériennes et est étalé sur une boîte de gélose MH. L'étalement doit être fait par des traits très serrés 3 fois en tournant la boîte de 40° à chaque fois.

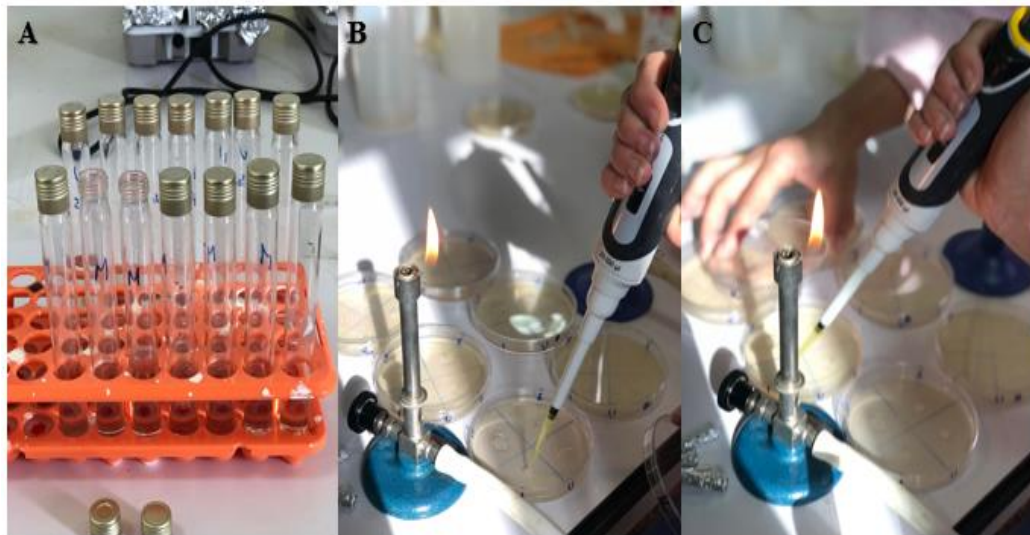


Figure III.24 : Etape de préparation des tests antibactériens

III.7.1.6. Dépôt des disques

Les disques stériles sont déposés à l'aide d'une pince sur la gélose puis imbibés avec 30 μ l d'extrait. Les boîtes sont ensuite laissées 4 heures à 4°C pour une meilleure diffusion de l'extrait sur la gélose puis incubées à 37°C pendant 18h.

Le témoin négatif représente le solvant.

III.7.1.7. Souches microbiennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail sont des souches alimentaires majoritairement référencées de l'American type culture collection (ATCC) fournies par M^{lle} **Bouzana Amina** et M^{lle} **Bouzenad Nawal** (Laboratoire d'interaction, biodiversité, écosystème et biotechnologie, Université 20 août 1955, Skikda).

Chapitre IV

IV.1. Introduction

Cette partie est consacrée essentiellement à la présentation et à la discussion des différents résultats obtenus. On commencera par l'interprétation des différents dosages effectués durant notre étude, les tests d'activités antioxydantes, les tests d'activités antibactérienne et la composition de l'extrait d'acide gras par chromatographie en phase gazeuse couplé avec le spectre de masse.

IV.2. Caractérisation du *Cupressus sempervirens*

IV.2.1. Caractérisation physique

Le tableau IV.1 montre les différents résultats obtenus dans la partie caractérisation physique dont les teneurs en matières sèches, teneur en eau, teneur en cendre et la teneur en matières volatils. Nous constatons que *Cupressus sempervirens* est composé de $70,35 \pm 0,82$ de matière sèche et que la teneur en eau représente $29,65 \pm 0,83$ de la matrice végétale. Cette caractéristique contribue à la résistance et à la longévité de l'arbre, lui permettant de prospérer dans des environnements méditerranéens souvent chauds et secs

Quant à la teneur en cendre elle égale à $4,18 \pm 0,69$ cette valeur est nettement inférieure à la teneur en matière volatile $95,82 \pm 0,69$. Ce résultat montre que le *Cupressus sempervirens* est composé majoritairement par des composés organiques volatils. La teneur en cendre reflète la proportion de minéraux et de sels présents dans l'arbre. Les cendres résultent de la combustion complète de la matière organique et peuvent contenir des éléments tels que le calcium, le potassium, le magnésium, le phosphore et d'autres minéraux.

Tableau IV.5 : Dosages physiques du *Cupressus sempervirens*

Extrait	Teneur en matière sèche		Teneur en eau		Teneur en cendre		Teneur en matière volatil	
	Valeur	Sd	Valeur	Sd	Valeur	Sd	Valeur	Sd
<i>Cupressus sempervirens</i>	70,35	0,82	29,65	0,83	4,18	0,69	95,82	0,69

IV.2.2. Rendement d'extraction

Le tableau IV.2. Représente les différents rendements obtenus pour les différents extraits ; on constate que pour les extraits bioactifs le meilleur rendement est celui du méthanol avec 12,5% ; en ce qui concerne l'extrait gras obtenu par Soxhlet est relative aux études antérieures.

Tableau IV.6 : Rendement des différents extraits

Extrait	Extrait méthanol	Extrait ultrasons	Extrait soxhlet
	Valeur	Valeur	Valeur
<i>Cupressus sempervirens</i>	12,5 %	6.25	17,26 %

IV.2.2. Caractérisation chimique

Le tableau IV.3 présente les différents résultats de dosage obtenue durant notre étude sachant que certains d'entre eux ont été effectués sur le *Cupressus sempervirens* brut et d'autre sur les différents extraits que ce soit l'extrait méthanoïque ou l'extrait ultrasons ; car certains dosages comme la teneur en glucide et sulfate ne peuvent être faites sur l'échantillon en lui-même, il doit d'abord subir une extraction.

Tableau IV.7 : Dosage chimique du *Cupressus sempervirens*

Extrait	Dosage en glucide		Dosage en sulfate		Teneur en azote		Teneur en protéine		Teneur en lipide	
	Val	Sd	Val	Sd	Val	Sd	Val	Sd	Val	Sd
<i>Cupressus sempervirens</i>	/	/	/	/	0,16	1,16	10,5	1,16	5,47	0,17
Extrait Méthanol	26,2	0,07	9,01	0,01	/	/	/	/	/	/
Extrait Ultrasons	4,3	0,01	Nd	/	/	/	/	/	/	/

Tout d'abord pour l'échantillon *Cupressus sempervirens* brut on a noté $168,16 \pm 1,16$ de teneur en azote $1050,98 \pm 1,16$ de teneur en protéine et $5,47 \pm 0,17$ en lipide. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés dans la littérature qui cite que le *Cupressus sempervirens* n'est pas une plante riche en azote est comme ce dernier n'est qu'une mesure indirecte de la teneur en protéines ; le résultat obtenu est relativement correct pour cette espèce de *Pinus*. La teneur en lipide indique une quantité relativement faible dans cet échantillon. Les lipides sont des composés organiques présents dans les plantes. La teneur en lipides dans les plantes, y compris le *Cupressus sempervirens*, est généralement plus faible par rapport à certaines sources animales et à certaines graines oléagineuses, qui sont connues pour avoir des teneurs en lipides plus élevées.

En ce qui concerne les dosages en glucide et sulfate elles semblent être des concentrations relativement élevées pour ces composés dans une plante ; tout particulièrement l'extrait méthanoïque avec $2,62 \pm 0,07$ en glucide et $0,09 \pm 0,01$ en sulfate

IV.2.2.1. Evaluation des composants chimiques de l'extrait gras de l'espèce *Cupressus sempervirens* par CG-MS

L'analyse chromatographie gazeuse couplé au spectre de masse nous a permis d'obtenir les résultats décrits dans la figure et le tableau IV.4 ci-dessous.

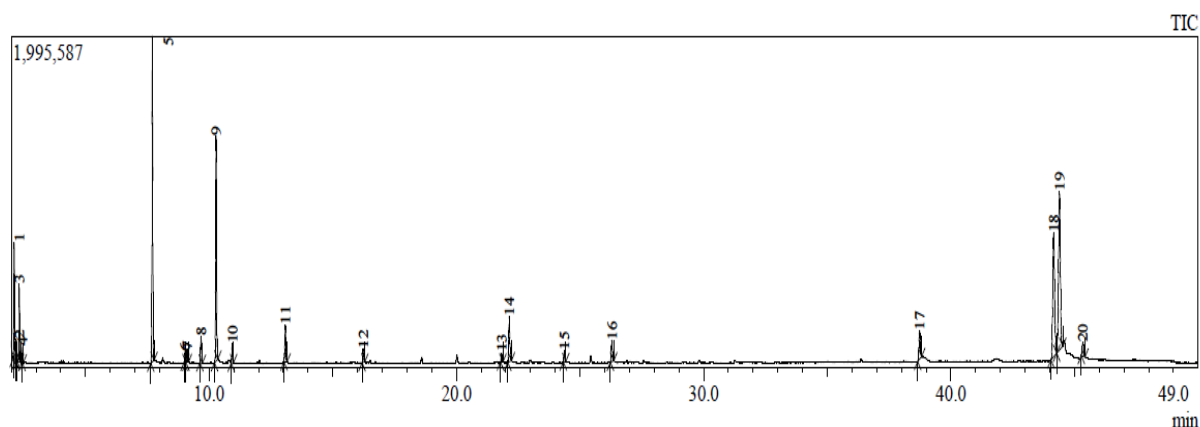
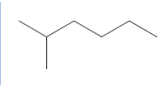
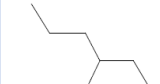
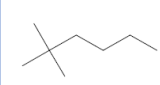
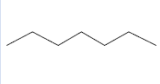
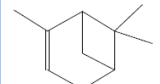
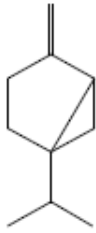
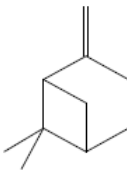
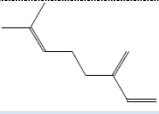
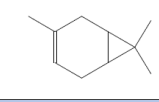
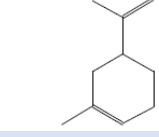
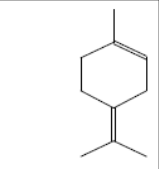
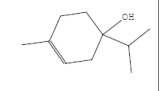
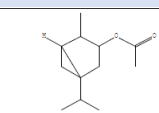
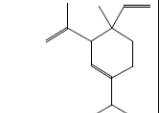
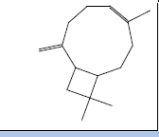
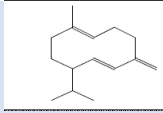
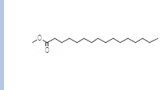
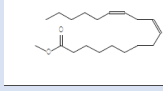
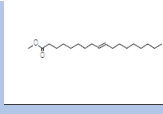



Figure IV.25 : Chromatogramme de l'extrait gras de l'espèce *Cupressus sempervirens*

Tableau IV.8 : Composition chimique de l'extrait gras du *Cupressus sempervirens*

Pic	Temps de rétention	Area	Composant	Structure	Famille
1	2,118	5.19	Hexane, 2-methyl-		Hydrocarbure saturé de la famille des Alcane
2	2,203	0.64	Hexane, 3-methyl-		Hydrocarbure saturé de la famille des Alcane
3	2,327	2.57	Hexane, 2,2-dimethyl-		Hydrocarbure saturé de la famille des Alcane
4	2,459	0.51	Heptane		Hydrocarbure saturé de la famille des paraffines
5	7,708	19.87	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene		Composé spécifique du pinea qui appartient aux cycloalcanes

6	9.030	0.62	4(10)-Thujene		hydrocarbure cyclique qui fait partie de la classe des terpénoïdes
7	9.108	0.72	2(10)-Pinene		hydrocarbure cyclique qui fait partie de la famille des monoterpènes
8	9.676	1.62	beta.-Myrcene		hydrocarbure non cyclique qui fait partie de la famille des monoterpènes
9	10.286	14.59	delta-3-Carene		hydrocarbure bicyclique qui fait partie de la famille des monoterpènes
10	10.938	1.20	Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (R)-		hydrocarbure insaturé appartenant à la famille des alcènes
11	13.084	2.48	4-Isopropylidene-1-cyclohexene		cyclohexènes
12	16.239	0.97	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-		un alcool appartenant à la famille des cyclohexénols
13	21.830	0.68	(1R,3S,4S,5S)-1-Isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexan-3-yl acetate-rel-		Acétate d'isopropyl
14	22.139	3.95	Terpinyl acetate <alpha->; Cyclohex-3-ene-1-methanol <alpha,alpha,4-trimethyl-> acetate		ester dérivé de l'alcool terpinyle
15	24.372	0.88	Caryophyllene		un hydrocarbure cyclique insaturé de la classe des sesquiterpènes

16	26.289	1.77	(-)-Germacrene D		un composé organique appartenant à la classe des sesquiterpènes
17	38.734	3.00	Hexadecanoic acid, methyl ester		acide gras saturé
18	44.159	16.57	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester		acide gras polyinsaturé de la famille des oméga-6
19	44.391	20.66	9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-		acide gras monoinsaturé de la famille des oméga-9
20	45.337	1.51	Methyl stearate		Ester

L'analyse par chromatographie gazeuse couplé au spectre de masse a permis d'identifier les composants de notre extrait gras obtenue par extraction au Soxhlet. a permis d'identifier 20 Constituants représentant (20,6 %) acide gras monoinsaturé, (16,5 %), (3%) acide gras saturé, (20,6%) terpénoides, (16,8%) monoterpènes, (2,5%) sesquiterpènes, et 19% autres composés.

On constate que les composés majoritaire son le « 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E) », « (1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene » et « 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester » avec des superficies de 20,66 , 19,87 et 16,57 respectivement. Ces composés sont des acides gras polyinsaturés de la famille des omégas 6 et omégas 9

Les acides gras oméga-6 et 9 sont essentiels pour le bon fonctionnement du corps humain. Ils sont nécessaires à la formation des membranes cellulaires, à la production d'hormones et à la régulation de divers processus biologiques. Ils sont couramment utilisés comme compléments alimentaires pour aider à atteindre un équilibre adéquat d'acides gras dans l'alimentation. Ils sont aussi utiliser dans le domaine de la cosmétiques et produits de soins personnels : Les acides gras oméga-6 et 9 sont utilisés dans l'industrie cosmétique et des produits de soins personnels pour leurs propriétés hydratantes et émoullientes. Ils sont souvent présents dans les crèmes, les lotions, les baumes à lèvres et les produits capillaires pour aider à maintenir l'hydratation de la peau et des cheveux. C'est aussi un composé souvent utilisé en industrie pharmaceutique pour la formulation de médicaments. Ils peuvent être utilisés comme excipients pour améliorer la biodisponibilité des médicaments liposolubles ou comme

ingrédients actifs dans certains médicaments ayant des effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire et l'inflammation

IV.2.3. Caractérisation biochimique

Le tableau IV.5 montre les teneurs en composés bioactives présents dans nos deux différents extraits. En premier lieu nous pouvons remarquer une nette différence entre les deux extraits ; l'extrait méthanoïque est largement supérieur à l'extrait obtenu par ultrasons ils sont similaire uniquement pour la teneur en tannins qui n'a pu être détecté dans aucun des deux ce qui veut dire qu'ils sont soit inexistant ou sous forme de trace contrairement au polyphénol totaux et aux flavonoïdes. Nous constatons que la teneur en polyphénol totaux et de flavonoïdes totaux sont respectivement de $295,44 \pm 2,90$ et $16,18 \pm 1,68$ pour l'extrait méthanoïque et de $115,61 \pm 1,10$ et $8,68 \pm 0,84$ pour l'extrait obtenu par ultrasons ces résultats montrent que l'extraction méthanoïque est de meilleure efficacité pour l'extraction de composition chimique et biochimique des extraits.

Tableau IV.9 : Dosage biochimique du *Cupressus sempervirens*

Extrait	Teneur en polyphénol totaux		Teneur en flavonoïdes totaux		Teneur en tannins	
	Val	Sd	Val	Sd	Val	Sd
Extrait Méthanol	295,44	2,90	16,18	1,68	Nd	/
Extrait Ultrasons	115,61	1,10	8,68	0,84	Nd	/

IV.3. Activité antioxydantes du *Cupressus sempervirens*

IV.3.1. Activité antiradicalaire au DPPH

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% .L'Extrait méthanoïque présenté une meilleure activité anti radicalaire ($IC_{50}=162,89 \pm 5,46 \mu\text{g.mL}^{-1}$), en comparaison avec l'extrait obtenu par ultrasons. Cependant les standard utilisé BHA ($IC_{50}= 45,37 \pm 0,47 \mu\text{g.mL}^{-1}$), BHT ($IC_{50}= 12,99 \pm 0,41 \mu\text{g.mL}^{-1}$) et α -Tocopherol ($IC_{50}= 13,02 \pm 5,17 \mu\text{g.mL}^{-1}$) sont nettement plus puissant que notre extrait. Cela suggère que la plante contient des composés dotés de propriétés anti oxydantes qui peuvent aider à protéger

contre les dommages causés par les radicaux libres. Toutefois l'extrait obtenu par ultrasons montre une absence d'inhibition contre les radicaux libre ceci confirme que la méthode d'extraction joue un rôle fondamental dans la composition biochimique de l'échantillon. Celui-ci a sûrement un pouvoir inhibant mais à condition d'augmenté les concentrations des extraits.

Tableau IV.10 : Inhibition du radical DPPH des extraits de *Cupressus sempervirens*

Extrac		% Inhibitionin DPPH assay							
ts		12.5 µg/ml	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
E Methanol		nd	nd	4,49±2,0 1	14,66±0, 44	46,75±0, 73	52,62±0, 20	78,49±0, 89	162,89±5, 46
E Ultrasound		nd	nd	nd	nd	nd	nd	6,06±2,9 7	>800
BHA ^b		76,55±0, 48	79,89±±0, 26	81,73±0, 10	84,18±0, 10	87,13±0, 17	89,36±0, 19	90,14±0, 00	45,37±0,4 7
BHT ^b		49,09±0, 76	72,63±±2, 06	88,73±0, 89	94,00±0, 31	94,97±0, 08	95,38±0, 41	95,02±0, 23	12,99±0,4 1
α- Tocopherol b		37,21±1, 82	81,53±1,5 1	89,23±0, 12	89,38±0, 19	89,45±0, 22	89,99±0, 23	89,52±0, 33	13,02±5,1 7

IV.3.1. Activité antiradicalaire a l'ABTS

Les résultats de l'activité anti radicalaire ABTS sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50%. Concernant l'activité du piégeage du radical-cation ABTS^{•+}, les deux extraits du *Cupressus sempervirens* ont montré une bonne activité surtout l'extrait méthanoïque. (IC₅₀=62,47±5,33 µg.mL⁻¹), en comparaison avec l'extrait obtenu par ultrasons (IC₅₀=257,28±7,08 µg.mL⁻¹). Cependant les standard utilisé BHA (IC₅₀= 1,81±0,10µg.mL⁻¹), et BHT (IC₅₀= 1,29±0,30µg.mL⁻¹) sont nettement plus puissant que notre extrait. Cela suggère que la plante contient des composés avec des propriétés antioxydantes qui peuvent aider à protéger contre les dommages causés par les radicaux libres. Cependant, l'absence d'inhibition contre les radicaux libres dans l'extrait obtenu par ultrasons confirme que la méthode d'extraction joue un rôle essentiel dans la composition biochimique de l'échantillon. Il a certainement un effet inhibiteur, mais il faut augmenter les concentrations des extraits.

Tableau IV.11 : Inhibition du radical ABTS des extraits de *Cupressus sempervirens*

Extracts	% Inhibition in ABTS assay							
	12.5 µg	25 µg	50	100	200 µg	400 µg	800	IC50
E Methanol	Nd	25,42±6,78	41,87±5,60	73,79±2,47	85,41±1,69	86,84±1,14	88,70±1,16	62,47±5,33
E Ultrasound	Nd	16,21±3,10	29,70±6,45	28,38±3,23	38,69±4,49	72,14±1,66	87,17±0,33	257,28±7,08
BHT	69.21±0,40	78.23±1,34	88.12±1,28	88,76±3,07	90,85±1,74	90,95±0,51	96,68±0,39	1,29±0,30
BHA	92.83±1,42	94.68±0,42	94.95±0,90	95,32±0,25	95,59±0,47	95,83±0,15	95,86±0,10	1,81±0,10

IV.4. Activité antibactérienne du *Cupressus sempervirens*

Le tableau IV.8 montre l'activité antibactérienne (zones d'inhibition) des deux extraits évalué durant cette étude, l'extrait méthanoïque et l'extrait obtenu par ultrasons à des concentrations de 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL et 125 µg/m, contre trois bactéries de microbe de gram (+) : *Bacillus* et *Staphylococcus aureus* ; bactérie de gram (-) : *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau IV.12 : Activité d'inhibition antibactérienne du *cupressus sempervirens*

Extrait	Microorganismes	Zone d'inhibitions (mm)			
		1000	500	250	125
E. Méthanol	<i>Bacillus cereus</i>	18	15	14	13
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	14	12	11
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	19	14	12
E. Ultrasons	<i>Bacillus</i>	17	15	13	12
	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	12	12	11
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	15	15	14

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (*Moreira et al., 2005*). Ils ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

Pas d'inhibition (-) : $D \leq 8$ mm

Inhibition (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm

Bonne inhibition (++) : $15 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm

D'après les résultats obtenus dans le tableau on peut conclure les deux extraits ont une bonne activité.

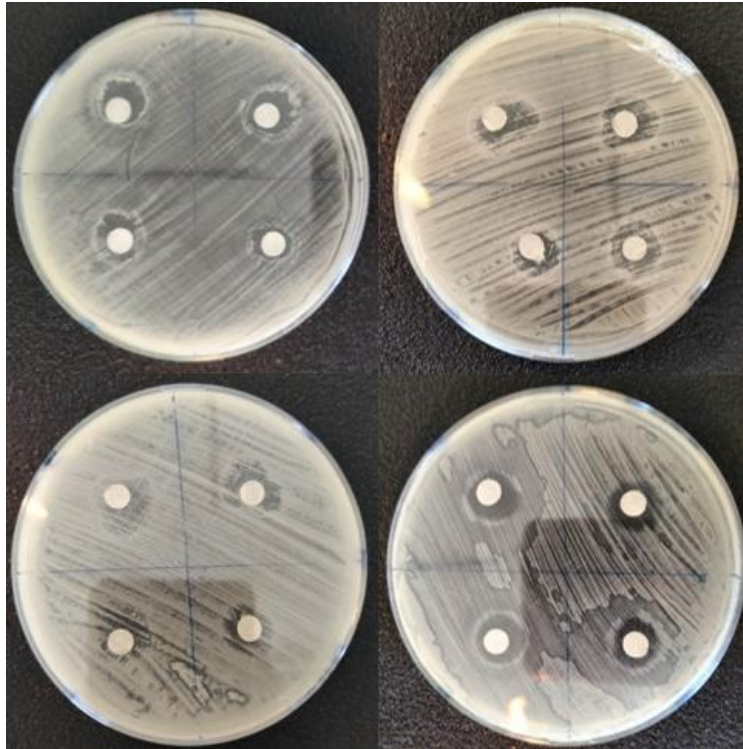


Figure IV.26 : Résultats des tests antibactériens

IV.4.1. L'extrait méthanoïque

- ✚ *Bacillus cereus* pour les concentrations 125 µg/mL et 250 µg/mL nous avons 13 et 14 mm de diamètre respectivement ce qui démontre une présence d'inhibition ; les concentrations entre 1000 µg/mL et 500 µg/mL on constate une bonne inhibition avec des diamètres de 18 et 15 mm.
- ✚ *Staphylococcus aureus* les concentrations 125 µg/mL, 250 µg/mL et 500 µg/mL nous avons 11, 12 et 14 mm de diamètre respectivement ce qui démontre une présence d'inhibition ; la concentration 1000 µg/mL a une bonne inhibition de 15 mm
- ✚ *Klebsiella pneumoniae* pour les concentrations 125 µg/mL et 250 µg/mL nous avons 12 et 14 mm de diamètre respectivement ce qui démontre une présence d'inhibition ; les concentrations entre 1000 µg/mL et 500 µg/mL on constate une bonne inhibition avec des diamètres de 20 et 19 mm.

IV.4.2. L'extrait ultrasons

- ✚ *Bacillus cereus* pour les concentrations 125 µg/mL et 250 µg/mL nous avons 13 et 12 mm de diamètre respectivement ce qui démontre une présence d'inhibition ; les

concentrations entre 1000 $\mu\text{g/mL}$ et 500 $\mu\text{g/mL}$ on constate une bonne inhibition avec des diamètres de 17 et 15 mm.

- ✚ *Staphylococcus aureus* les concentrations 125 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ et 1000 $\mu\text{g/mL}$ nous avons 11, 12, 12 et 14 mm de diamètre respectivement ce qui démontre une présence d'inhibition.
- ✚ *Klebsiella pneumoniae* la concentration 125 $\mu\text{g/mL}$ présente 14 mm de diamètre qui démontre une présence d'inhibition ; par contre les concentrations entre 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$ et 250 $\mu\text{g/mL}$ révèle une bonne inhibition avec des diamètres respectifs de 16, 15 et 15 mm.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce mémoire contribuent à la valorisation de l'espèce *Cupressus sempervirens* du nord-est d'Algérie. Après avoir obtenue 3 différents types d'extraits dont deux bioactives et un lipidique.

On s'est consacré par la suite à leur valorisation par le biais de différents type de dosage que ce soit physique, chimique et biochimique. L'analyse chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM) a été utilisé dans le but d'avoir une étude approfondie de la composition de l'extrait gras.

Le présent travail constitue une contribution à une meilleure connaissance des caractéristiques du *Cupressus sempervirens* afin de promouvoir sa mise en valeur. L'analyse biochimique, chimique et physique des cônes a donné les résultats suivants : une teneur en humidité de 29,63 %, 4,18 % de cendres, 10,5 % de protéines, 5,47 % de matières grasses, 26,2 % en sucres totaux et 9,01 % en teneur en sulfate. Ces teneurs sont conformes à celles signalées dans la bibliographie

Le pourcentage élevé en matière grasse trouvé dans le *Cupressus sempervirens* fait de cette dernière un important potentiel dans les industries des huiles.

La composition chimique de l'extrait gras a permis d'identifier 20 Constituants représentant (20,6 %) acide gras monoinsaturé, (16,5 %) acide gras polyinsaturé, (3%) acide gras saturé, (20,6%) terpénoïdes, (16,8%) monoterpènes, (2,5%) sesquiterpènes, et 19% autres composés.

Les tests antimicrobiens des deux extrait obtenue par ultrasons et macération méthanol effectués, par la méthode de diffusion en disque et la dilution, sur les souches bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae*. Les deux extraits ont montré une très bonne inhibition contre la croissance des différentes souches utilisés surtout par rapport à la *Klebsiella pneumoniae*.

D'autre part, l'activité antioxydante des extraits bioactives, également, testée avec deux méthodes, à savoir la réduction relative du radical (DPPH) et l'activité anti radicalaire ABTS. Les tests montrent un pouvoir antioxydant surtout pour l'extrait méthanolique que ce soit pour l'activité DPPH et ABTS ; Cependant l'extrait aqueux obtenue par le dispositif à ultrasons n'a montré aucun pouvoir antioxydant pour le test de DPPH pour une concentration de 800 µg/ml

En conclusion, l'espèce *Cupressus sempervirens* étudié peut être utilisée dans le domaine médical et pharmaceutique en raison de ses propriétés potentiellement bénéfiques .Certains composés présents dans le *Cupressus sempervirens* peuvent aider à améliorer la circulation sanguine. Les

Conclusion générale

extraits de l'arbre ont été utilisés dans des formulations pour réduire les problèmes veineux tels que les varices, les hémorroïdes et la sensation de jambes lourdes. Il présente une activité antimicrobienne contre certaines bactéries et champignons pathogènes. Ces propriétés peuvent être exploitées dans le développement de nouveaux agents antimicrobiens.

Référence bibliographique

Référence bibliographique

Référence bibliographique

Aissous, W., Boultif, F., & Boutennoun, H. E. (2016). *Etude phytochimique et activité antioxydante de deux plantes médicinales de la région de Jijel* (Doctoral dissertation, université de jijel).

Ait Elhadj, D., & Heddar, K. (2021). *Recherche des propriétés antibactériennes chez les gommes de plantes* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

AKRAD, N. (2014). La micronutrition Aspects théoriques et pratiques.

Akroun, S., & Tellab, L. (2020). *Extraction, purification et caractérisation des polysaccharides végétaux* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Al-Amri, K. (2015). Takaful insurance efficiency in the GCC countries. *Humanomics*, 31(3), 344-353.

Albrecht, R. (2007). *Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts: nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique* (Doctoral dissertation, Université de droit, d'économie et des sciences-Aix-Marseille III).

Alexandre, D. Y. (2002). *Initiation à l'agroforesterie en zone sahélienne: les arbres des champs du Plateau Central au Burkina Faso*. KARTHALA Editions.

Amara, H. (2020). *Influence de l'aluminium et des sols acides sur la croissance du sapin de Douglas (Pseudotsuga menziesii, Mirb.): rôle de la paroi dans les réponses au stress aluminique* (Doctoral dissertation, Université de Limoges).

Amiour, N., Aziz, A., & Zouaghi, A. (2010). *Extraction étude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire de quelques variétés de thé algérien et chinois* (Doctoral dissertation, université de jijel).

ARAR Dhikra, A. R. A. R., & Dhikra, S. E. B. I. A. A. (2021). *Dangers d'utilisation des huiles essentielles: le romarin comme exemple* (Doctoral dissertation, Universite laarbi tebessi tebessa).

Aubaile-Sallenave, F. (1996). La Méditerranée, une cuisine, des cuisines. *Social science information*, 35(1), 139-194.

Référence bibliographique

Bâ, A., Duponnois, R., Diabaté, M., & Dreyfus, B. (2011). *Les champignons ectomycorhiziens des arbres forestiers en Afrique de l'Ouest: méthodes d'étude, diversité, écologie, utilisation en foresterie et comestibilité*. IRD Editions.

BENAICHETA, N., LABBACI, F. Z., BOUCHENAK, M., & BOUKORTT, F. O. Aliments et nutriments. *Nutrition & Santé*, 6.

Bennour, M. (2014). *La patrimonialisation des arbres urbains: le cas de Tunis* (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).

Benzineddar, N., Bouchrim, S., & Benterrouche, I. E. (2009). *Biologie et Ecologie de quelques espèces végétales endémiques d'Algérie* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

BOUGHANBOUZ, I., & SOUALMIA, D. (2019). *Caractérisation ethnopharmacologique et anti-oxydante de quelques plantes médicinales utilisées traditionnellement à Tébessa pour le traitement des troubles gastro-intestinaux* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

Boukroufa, M. (2012). *Extraction de composés végétaux à propriétés biocides* (Doctoral dissertation).

Bouledra, A., Chalaal, F., & Bensam, M. E. (2012). *Les phytostérols dans la nutrition humaine et leur effet hypocholestérolémiant* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Bousbia, N. (2011). *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

Brault, A. (2015). *Etude de l'efficacité de la fonctionnalisation des acides aminés au MTBSTFA après hydrolyse acide et dans différentes matrices minérales analogues martiennes: application aux expériences Sample Analysis at Mars (SAM) et Mars Organic Molecule Analyzer (MOMA)* (Doctoral dissertation, Ecole Centrale Paris).

Celhay, C. (2013). *Fractionnement de coproduits de pin maritime (Pinus pinaster) et de peuplier (Populus tremula) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante:*

Référence bibliographique

procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques (Doctoral dissertation).

CHABRI, Z., HAMLIA, F., HANINI, S., & KHAOUANE, L. (2014). Etude théorique de l'Adsorption des protéines sur les nanomatériaux: Compréhension et application.

Chaouch, M. (2011). *Effet de l'intensité du traitement sur la composition élémentaire et la durabilité du bois traité thermiquement: développement d'un marqueur de prédiction de la résistance aux champignons basidiomycètes* (Doctoral dissertation, Nancy 1).

Chiron, N., & Michelot, D. (2005). Odeurs des champignons: chimie et rôle dans les interactions biotiques-une revue. *Cryptogamie-Mycologie*, 26(4), 299-364.

Coïc, Y., & Coppenet, M. (1989). *Les oligo-éléments en agriculture et élevage: Incidence sur la nutrition humaine*. Editions Quae.

Daghouch, N., & Grama, B. S. (2021). Valorisation des sous-produits d'origines algales.

Derbal, W. (2016). *Elaboration et caractérisation d'un composite massif de type "trio"(carrelet 3 plis) en pin d'Alep pur ou associant pin d'Alep et chênes algériens* (Doctoral dissertation, Université M'Hamed Bougara).

Djebaili, H., & Zellagui, A. (2013). L'Effet des facteurs d'environnement sur la variation de quelque métabolites secondaires chez deux espèces médicinales.

Djebaili, H., & Zellagui, A. (2013). L'Effet des facteurs d'environnement sur la variation de quelque métabolites secondaires chez deux espèces médicinales.

Djeddi ép Bouatia, H., & Rahmoune, C. (2007). *Utilisation des eaux d'une station d'épuration pour l'irrigation des essences forestières urbaines* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

Ducatillion, C., Badeau, V., Bellanger, R., Buchlin, S., Diadema, K., Gili, A., & Thevenet, J. (2015). Détection précoce du risque d'invasion par des espèces végétales exotiques introduites en arboretum forestier dans le Sud-Est de la France. Émergence des espèces du genre *Hakea*. Mesures de gestion. *Revue d'Ecologie, Terre et Vie*, 139-150.

El Kadri, M., Yokokawa, M., Labounty, T., Mueller, G., Crawford, T., Good, E., ... & Bogun, F. (2015). Effect of ablation of frequent premature ventricular complexes on left

Référence bibliographique

ventricular function in patients with nonischemic cardiomyopathy. *Heart Rhythm*, 12(4), 706-713.

Fekih, R., Tamiru, M., Kanzaki, H., Abe, A., Yoshida, K., Kanzaki, E., ... & Terauchi, R. (2015). The rice (*Oryza sativa* L.) LESION MIMIC RESEMBLING, which encodes an AAA-type ATPase, is implicated in defense response. *Molecular Genetics and Genomics*, 290, 611-622.

Francezon, N. (2018). *Valorisation de l'écorce de Picea mariana par la production d'extraits naturels: les extraits aqueux et l'huile essentielle* (Doctoral dissertation, Université Laval).

Gallardo, K., Le Signor, C., Vernoud, V., D'erfurth, I., Noguero, M., Poignavent, G., ... & Thompson, R. (2013, October). Biologie intégrative du développement de la graine chez *M. truncatula*. In *4. colloque national du Réseau Français de Biologie des Graines* (p. 1).

Gobat, J. M., Aragno, M., & Matthey, W. (2010). *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols* (Vol. 14). PPUR Presses polytechniques.

Gossa, F., & Mekchiche, K. (2014). *Extraction et caractérisation physico-chimique des huiles des graines de conifères* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH-OUARGLA).

Haichour, N. (2021). *Etude des effets biologiques de la résine de pin* (Doctoral dissertation).

Haller, A., & Muller, P. T. (2015). *Traité élémentaire de chimie... Chimie organique*.

Hamey-Warou, F., & Leray, C. (2014). L'arbre à palabres et à récits: de l'Afrique au Brésil en passant par la Bretagne. *L'arbre à palabres et à récits*, 1-232.

Hani, I., & Rached Kanouni, M. (2022). *Caractérisation et valorisation du pin d'Alep*.

Harkat, Y., Ziad, A., & Arabi, A. (2021). La Tolérance au cuivre chez des isorats rhizosphériques de *pseudomonas fluorescents*.

Hmid, I. (2013). *Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (Punica granatum L.): Caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).

Référence bibliographique

Kaf, A., & Saheb, M. (2015). Inventaire et écologie des oiseaux urbains de la ville d'Oum-El-Bouaghi.

Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

Lemoine, B., Ranger, J., & Gelpe, J. (1990). Interprétation et modélisation de la distribution des éléments nutritifs dans les différents compartiments de la biomasse d'un jeune peuplement de pin maritime. In *Annales des sciences forestières* (Vol. 47, No. 2, pp. 101-115). EDP Sciences.

Leroux, C. (2015). *Implication des pectines méthyl-estérases (PMEs) et de leurs inhibiteurs (PMEIs) au cours de la germination du grain de pollen et de la croissance polarisée du tube pollinique chez Arabidopsis thaliana* (Doctoral dissertation, Université de Rouen Normandie).

Létourneau, D. (2006). *Évaluation de l'influence de la température de traitement sur les propriétés du pin gris Pinus banksiana Lamb* (Doctoral dissertation, Université du Québec à Chicoutimi).

Liston, A., Lesage, S., Wilson, J., Peltonen, L., & Goodnow, C. C. (2003). Aire regulates negative selection of organ-specific T cells. *Nature immunology*, 4(4), 350-354.

Loisel, R. (1967). Contribution à l'étude biologique des Pins de Basse-Provence. Germination du Pin pignon au niveau de certaines associations végétales. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 114(5-6), 163-174.

Loubeau, G. (2012). *Impact de la surexpression de la protéine nucléophosmine (NPM1) sur la progression des cancers de la prostate* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

Luc, C., & Muriel, C. (2013). *Camargue: Un écosystème entre terre et eau*. Editions Quae.

Lucien, K., Clement, A., Fon, N., Weledji, P., & Ndikvu, C. (2010). The effects of antiretroviral treatment on liver function enzymes among HIV-infected out patients attending

Référence bibliographique

the central hospital of Yaounde, Cameroon. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 11(3).

Macchioni, F., & Cecca, F. (2002). Biodiversity and biogeography of middle–late Liassic ammonoids: implications for the early Toarcian mass extinction. *Geobios*, 35, 165-175.

Madjour, S. (2014). *Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis* (Doctoral dissertation).

Manal, A., & Racha, B. (2020). Effet de la digestion gastro-intestinale in vitro sur l'activité antioxydante des composés phénoliques des graines de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill).

Mazard, J. (2021). *Rôle de la protéine de la signalisation du calcium CML8 dans la réponse d'Arabidopsis thaliana à de multiples stress: implication dans l'immunité contre plusieurs pathogènes et importance de l'auxine* (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).

Morel, A. A. (2014). *Physiologie moléculaire du développement des embryons somatiques de pin maritime (Pinus pinaster Ait.): approches transcriptomique et protéomique* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).

Mosoni, P., Forano, E., Bernalier-Donadille, A., & Fonty, G. (2019). Consommation et digestion des végétaux: Rôles des microbiotes et fonctions essentielles à la biodiversité. *Consommation et digestion des végétaux*, 1-176.

Nandillon, R. (2019). *Phytostabilisation des éléments métalliques d'un technosol minier végétalisé par le genre Salix assistée par du Biochar* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).

Planchon, G., & Collin, E. (1895). *Les drogues simples d'origine végétale* (Vol. 1). O. Doin.

Prudent, R., Soleilhac, E., Barette, C., Fauvarque, M. O., & Lafanechère, L. (2013). Les criblages phénotypiques ou comment faire d'une pierre deux coups-Découvrir la cible et la molécule pharmacologique capable de la réguler. *médecine/sciences*, 29(10), 897-905.

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (No. 581.965 Q8).

Référence bibliographique

Rahmoune, C., & Kechebar, M. S. A. (2017). Caractérisation de l'arganier (*Argania spinosa* L.) en Algérie et impact de la salinité.

SAIDI, I. (2019). *Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives* (Doctoral dissertation).

Saïdi, S., Gazull, L., Burnod, P., & Fallot, A. (2010). Atlas mondial du potentiel de mise en place de cultures dédiées à la production de biocarburants de seconde génération:" Un état des lieux pour 10 genres végétaux à fort potentiel lignocellulosique".

Smaïhi, A. H. (2009). *Influence du type de pineraies (pineraie, pineraie chenaie) sur la mobilisation de N, P et le comportement de plantules de pin d'alep dans des sols forestiers de la région de Batna* (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des Sciences).

ZIANI, B. E. C. (2017). *Extraits de douze plantes médicinales poussant en Algérie: Etude phytochimique, activité biologique et essai d'incorporation des extraits de deux plantes dans une huile d'olive* (Doctoral dissertation, ENSA).

Résumé

L'objectif de cette étude est la caractérisation globale de la *Cupressus sempervirens* en vue de cibler son domaine d'application. L'extraction et la caractérisation physico-chimique, biochimique et biologique des extraits bioactives et de l'extrait gras du *Cupressus sempervirens* pour une contribution à une meilleure appréciation de ces derniers. L'extraction de l'extrait gras par la méthode chimique Soxhlet (extrait à l'hexane) a donné un rendement en huile de l'ordre de 17,26 %. L'analyse de la composition chimique par GC/MS a révélé la richesse acide gras monoinsaturé et en acide gras polyinsaturé. Par contre l'analyse physique a révélé des teneurs relativement faibles en cendre de 4,18 % et en humidité 29,65%. Pour l'analyse chimique la teneur en sucre totaux est de l'ordre de 26,2 % suivi d'une teneur en protéine de 10,5% et 9,01 % de teneur en sulfate. Cependant l'analyse biochimique a relevé un très bon taux en composé phénolique ce qui a donné un excellent taux d'inhibition pour les activités antiradicalaire DPPH et ABTS. Aussi l'extrait bioactive du *Cupressus sempervirens* a présenté un très bon pouvoir inhibant contre la croissance microbienne test contre trois souches bactérienne dont le *Staphylococcus aureus*. Ce résultats ont permis de conclure que le *Cupressus sempervirens* peut être utilisé dans de multiples domaine que ce soit l'industrie pharmaceutique comme agroalimentaire.

Mot clés : Activité antioxydant, Activité antibactérienne, Composé phénolique, *Cupressus sempervirens*, GC/MS

Abstract

The aim of this study is the global characterization of *Cupressus sempervirens* in order to target its field of application. Physico-chemical, biochemical and biological extraction and characterization of *Cupressus sempervirens* bioactive extracts and fatty extracts, to contribute to a better appreciation of the latter. Extraction of the fatty extract by the Soxhlet chemical method (hexane extract) gave an oil yield of around 17.26%. Analysis of the chemical composition by GC/MS revealed monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. On the other hand, physical analysis revealed relatively reliable ash contents of 4.18% and moisture 29.65%. For chemical analysis, the total sugar content was 26.2%, followed by a protein content of 10.5% and a sulfate content of 9.01%. However, biochemical analysis revealed a very high phenolic compound content, giving an excellent inhibition rate for DPPH and ABTS free radical scavenging activities. The bioactive extract of *Cupressus sempervirens* also showed excellent inhibition of microbial growth, tested against three bacterial strains including *Staphylococcus aureus*. These results led to the conclusion that *Cupressus sempervirens* can be used in a wide range of fields, from the pharmaceutical industry to the food industry.

Key words: Antioxidant activity, Antibacterial activity, Phenolic compound, *Cupressus sempervirens*, GC/MS

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو التوصيف العالمي لـ *Cupressus sempervirens* من أجل استهداف مجال تطبيقها. الاستخراج والتوصيف الفيزيائي والكيميائي والبيوكيميائي والبيولوجي للمستخلصات النشطة بيولوجيًا والمستخلص الدهني من *Cupressus sempervirens* للمساهمة في تقدير أفضل لهذا الأخير. استخلاص المستخلص الدهني بالطريقة الكيميائية Soxhlet (المستخلص مع الهكسان) لإعطاء مردود زيت حوالي 17.26%. أظهر تحليل التركيب الكيميائي بواسطة GC / MS ثراء الأحماض الدهنية الأحادية غير المشبعة والأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة. من ناحية أخرى، كشف التحليل الفيزيائي عن محتويات موثوقة نسبيًا من الرماد بنسبة 4.18% ورطوبة نسبتها 29.65%. بالنسبة للتحليل الكيميائي، يبلغ إجمالي محتوى السكر حوالي 26.2% يليه محتوى البروتين بنسبة 10.5% ومحتوى الكبريتات بنسبة 9.01%. ومع ذلك، أظهر التحليل البيوكيميائي وجود معدل جيد جدًا للمركب الفينولي مما أعطى معدل ممتاز من تثبيط النشاطات المضادة للفطريات DPPH و ABTS. كما قدم المستخلص النشط بيولوجيًا من *Cupressus sempervirens* قوة تثبيط جيدة جدًا ضد اختبار النمو الميكروبي ضد ثلاث سلالات بكتيرية بما في ذلك *Staphylococcus aureus*. أدت هذه النتائج إلى استنتاج مفاده أنه يمكن استخدام *Cupressus sempervirens* في العديد من المجالات، سواء في صناعة الأدوية أو صناعة الأغذية.

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم، مركب الفينول، كبريسوس سيمبيرفيرينز،

GC / MS.