

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : *Sciences Biologiques*

Option : *Biochimie Appliquée*

THEME

**Etude comparative de l'activité antioxydant des huiles
essentielles commerciales et fraîchement extraits des
deux plantes (*Thymus vulgaris* et *Mentha Pepirita*)**

Présenté par : Melle MOKDES Oum-kaltoum

Melle SAADI Fatna

Devant le jury composé de :

Président : Pr.GOUZI Hichame

Pr

Rapporteur : Dr. SIFI Ibrahim

MCB

Examineur (rice) s : Mme.KRAZA Lamia

MAA

Soutenu publiquement le : 02/07/ 2019.

*R*emerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier notre dieu tout puissant **ALLAH** qui nous a donné la santé, le courage et la patience pour mener à bien ce modeste travail.*

*Nous remercions particulièrement notre encadreur, Monsieur **Sifi Ibrahim**, Professeur au département de Biologie université Amar Thelidji-Laghouat, d'avoir accepté de diriger ce travail avec beaucoup de disponibilité et d'efficacité, pour nous avoir fait partager son expérience, pour les conseils et encouragements qu'il a su nous prodiguer pendant toute la durée de ce travail.*

Nous tenons à remercions profondément les membres de jury pour la bonne discussion de ce travail.

Nous remercions très chaleureusement nos pères et nos mères et mes frères et mes sœurs et toute la famille.

*Un grand remerciement à tous les enseignants du département de Biologie université **Amar Thelidji-Laghouat** et notre collègues et tous les amis.*

En dernier, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

*A ma chère Mère **Roba***

*A mon Père **Bouderbala***

Dont le mérite, Les sacrifices et les qualités humaines

M'ont permis de vivre ce jour

A mes Frère et mes sœurs

Yaakoub, Mohamed, Khaled, Hocine, Abde Allah

Fatima, Zaineb, Khadedja

A toute ma famille, et mes amis,

*A mon ami et mon binôme **Saadi Fatna.***

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet

soit possible, Je vous dis merci.

Oum Kaltoum

Dédicace

A mon très cher père

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le
dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour mon éducation et
mon bien être*

A ma très chère mère

*Affable, honorable, aimable : vous représentez pour moi le symbole
de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de
dévouement, vous n'avez pas cessé de m'encourager et de prier pour
moi*

A mes très chers frères :

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et
l'affection que je porte pour vous. Mes anges gardiens et mes fidèles
compagnons dans les moments les plus difficiles. je vous souhaite un
avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité*

*A mon cher binôme **oum Kaltoum** qui m'a partagé la difficulté de ce
travail*

A tous mes collègues de la 2ème master biochimie

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail
soit possible, je vous dis merci*

FATNA

ملخص:

نظرا لكثرة و خطورة الامراض الناجمة عن الاجهاد التأكسدي كرس عدد الباحثين جهودهم في البحث عن مواد جديدة مضادة للأكسدة من اجل محاربة الاجهاد التأكسدي و الامراض المتعلقة بها اخترنا لهذا البحث الزيوت الأساسية المنتجة من طرف شركة الكابتن المصرية و التي حاليا تتداول في سوقنا فدرسنا مقارنة لمضادات الاكسدة لهذه الزيوت الاساسية التجارية مع زيوت مستخلصة حديثا في بواسطة التقطير المائي درسنا نبتة النعناع و نبتة الزعتر حيث كان مردود نبتة النعناع بنسبة 0,9% ; و نبتة الزعتر 1,08% من اجل قياس قوة نشاط مضادات الاكسدة و النشاط المثبط للجذور الحرة و ارجاع الحديد لهذه الزيوت الاساسية قمنا باستخدام عدة اختبارات منها DPPH, FRAP, ABTS, النتائج المتحصل عليها اثبتت وجود نشاط خاص بمضادات الاكسدة جد معتبر للزيوت الاساسية المستخلصة حديثا فكانت نسبة قوة نشاط هذه المضادات ونسبة النشاط المثبط للجذور الحرة و ارجاع الحديد للزيوت المستخلصة حديثا كالتالي :

Thymus vulgaris : (DPPH = 47,70%) ; (ABTS=99,86%) ; (FRAP = 94,56)

Mentha piperita : (DPPH = 16%) ; (ABTS = 95, 26%) ; (FRAP = 54,18)

بينما كانت نسبة قوة نشاط مضادات الاكسدة ونسبة النشاط المثبط للجذور الحرة و ارجاع الحديد بالنسبة للزيوت الاساسية التجارية جد منخفضة مما ادى الى استنتاج الفرق بينها و بين الزيوت الاساسية المستخلصة حديثا فكانت النتائج :

Thymus vulgaris : (DPPH = 14,88%) ; (ABTS = 32,57%) ; (FRAP = 18,31)

Mentha piperita : (DPPH = 09 ,40%) ; (ABTS = 18,57%) ; (FRAP = 24,31)

الكلمات المفتاحية :

Thymus vulgaris الزعتر, *Mentha piperita* النعناع, الاجهاد التأكسدي, مضادات الاكسدة, DPPH, FRAP, ABTS,

Abstract:

Due to the greatness and seriousness of diseases caused by oxidative stress, the number of researchers devoted their efforts in the search for new antioxidant materials in order to combat oxidative stress and related diseases. We selected for this research the essential oils produced by the Egyptian Captain Company which are currently trading in our market. For these commercial essential oils with newly extracted oils by water distillation we studied mint and thyme plant where the yield of mint plant was 0.9%; And Thyme plant 1.08% In order to measure the strength of antioxidant activity and inhibitory activity of free radicals and the return of iron to these essential oils we have used several tests, including ABTS, FRAP, DPPH, obtained results proved a very special antioxidant activity of newly extracted essential oils The percentage of the strength of the activity of these antibiotics and the rate of inhibitory activity of the free radicals and the return of iron to the newly extracted oils are as follows:

Thymus vulgaris: (DPPH = 47.70%); (ABTS = 99.86%); (FRAP = 94,56)

Mentha piperita: (DPPH = 16%); (ABTS = 95, 26%); (FRAP = 54,18)

While the percentage of strength of antioxidant activity and the rate of inhibitory activity of free radicals and return of iron for commercial essential oils is very low, which led to the conclusion of the difference between them and among the newly extracted essential oils were the results:

Thymus vulgaris: (DPPH = 14.88%); (ABTS = 32.57%); (FRAP = 18,31)

Mentha piperita: (DPPH = 09, 40%); (ABTS = 18.57%); (FRAP = 24,31)

key words :

, DPPH, FRAP, ABTS, antioxidants, oxidative stress, mint, *Mentha piperita* *Thymus thymus vulgaris*

Résumé:

En raison de la gravité et de la gravité des maladies causées par le stress oxydant, de nombreux chercheurs ont consacré leurs efforts à la recherche de nouveaux matériaux antioxydants afin de lutter contre le stress oxydatif et les maladies associées, pour lesquelles nous avons sélectionné les huiles essentielles produites par la société égyptienne Captain Egypt, qui se négocient actuellement sur notre marché. Pour ces huiles essentielles commerciales avec les huiles nouvellement extraites par distillation à l'eau, nous avons étudié les plantes de menthe et de thym où le rendement en plantes de menthe était de 0,9%; Et Thym plante 1,08% Afin de mesurer la force de l'activité antioxydante et l'activité inhibitrice des radicaux libres ainsi que le retour du fer dans ces huiles essentielles, nous avons utilisé plusieurs tests, notamment ABTS, FRAP, DPPH, dont les résultats ont révélé une activité antioxydante très spéciale des huiles essentielles récemment extraites. Le pourcentage de la force d'activité de ces antibiotiques et du taux d'activité inhibitrice des radicaux libres et du retour du fer dans les huiles nouvellement extraites est le suivant:

Thymus vulgaris: (DPPH = 47,70%); (ABTS = 99,86%); (FRAP = 94,56)

Mentha piperita: (DPPH = 16%); (ABTS = 95, 26%); (FRAP = 54,18)

Alors que le pourcentage de force de l'activité antioxydante et le taux d'activité inhibitrice des radicaux libres et le retour du fer pour les huiles essentielles commerciales sont très faibles, ce qui a permis de conclure à la différence entre eux et parmi les huiles essentielles nouvellement extraites:

Thymus vulgaris: (DPPH = 14,88%); (ABTS = 32,57%); (FRAP = 18,31)

Mentha piperita: (DPPH = 09, 40%); (ABTS = 18,57%); (FRAP = 24,31)

les mots clés :

, DPPH, FRAP, ABTS, antioxydants, stress oxydatif, menthe, Mentha piperita Thymus thymus vulgaris

LISTE DES FIGURES

Figure 01	Structure chimique de l'isoprène (2-methylbuta 1,3-diène) et d'un terpène.....	06
Figure 02	Exemples de structures de mono-et sesquiterpènes.....	07
Figure 03	Schéma des appareils d'Hydro distillation.....	09
Figure 04	Procède de distillation à la vapeur d'eau	09
Figure 05	La balance antioxydant/pro-oxydant.....	15
Figure 06	Électrons de valence de l'oxygène moléculaire.....	16
Figure 07	Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.....	16
Figure 08	Représentation des réductions successives de la molécule de dioxygène formant les différentes espèces oxygénées réactives: les EOR.....	17
Figure 09	Structure chimique de tocophérols.....	21
Figure 10	Structure chimique de β -carotène.....	21
Figure 11	Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation lipidique.	22
Figure 12	Menthe poivrée: <i>Mentha x piperita</i> L.....	26
Figure 13	Schéma représente la plante Thymus vulgarise.....	26
Figure 14	Photos illustres la <i>Menthe poivrée</i> séchée (Original).....	27
Figure 15	Appareil de l'hydro-distillation utilisé (Clevenger).....	28
Figure 16	Huile essentielle obtenir après l'extraction.....	28
Figure 17	Huile essentielle traitée par sulfate de sodium anhydre.....	28
Figure 18	Le réfractomètre.....	29
Figure 19	Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant.....	30
Figure 20	Huile de la Menthe	34
Figure 21	Huile de Thym.....	34
Figure 22	Histogrammes représente les variations des indices des huiles essentielles fraîchement extraites et les huiles essentielles commerciales.....	35
Figure 23	Histogramme représente les pourcentages d'inhibition des huiles essentielles par le test DPPH•.....	37
Figure 24	Pouvoir antioxydant de Trolox, Vitamine C en ($\mu\text{g/ml}$) - Test DPPH•.....	38
Figure 25	Pouvoir antioxydant de Trolox, Vitamine C en ($\mu\text{g/ml}$) - Test ABTS	39
Figure 26	Histogramme présente les pourcentages d'inhibition des huiles essentielles par le test L'ABTS• +.....	40
Figure 27	Pouvoir réductrice de toutes les huiles essentielles (fraichement extraits et les huiles essentielles commercialisées).....	42

Figure 28	Pouvoir antioxydant de Trolox, en (mg/ml) – Test FRAP.....	43
Figure 29	Histogramme présente les pourcentages d’inhibition des huiles essentielles par le test FRAP.....	43

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01	Les plante aromatique utilisée et leur nom scientifique et en arabe.....	25
Tableau 02	La classification botanique de <i>Mentha piperita</i> et <i>Thymus vulgaris</i>	27
Tableau 03	Les caractéristiques de l’huile essentielle de la Menthe et le Thym.....	34
Tableau 04	Les différentes valeurs des indices de réfraction.....	35
Tableau 05	Les valeurs d’EC50 des standards en (µg/ml) –Test DPPH.....	36
Tableau 06	Les valeurs d’EC50 des standards en (µg/ml) –Test ABTS.....	39
Tableau 07	Les composants majoritaires dans l’huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	40
Tableau 08	Les composants majoritaires dans l’huile essentielle de <i>M.piperita</i> (2007)...	41
Tableau 09	Les composants majoritaires dans l’huile essentielle de <i>M.piperita</i> (2017)...	41

Table des matières

ملخص

RESUME

ABSTRACT

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION1

Chapitre I : Les huiles essentielles

I.1	Généralité.....	05
I.1.1	Définition.....	05
I.1.2	Répartition des huiles essentielles dans la plante.....	05
I.1.3	Localisation des huiles essentielles et leurs rôles biologiques Chez les plantes.....	05
I.2	Composition chimique des huiles essentielles.....	06
I.2.1	Composés terpéniques.....	06
I.2.2	Composés aromatiques.....	07
I.2.3	Composés d'origine diverses.....	07
I.3	Aspect et propriétés physiques des huiles essentielles.....	08
I.4	Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	08
I.4.1	Techniques de l'hydro distillation.....	08
I.4.2	Distillation par entraînement à la vapeur.....	09
I.4.3	Expression à froid.....	10
I.4.4	Hydro diffusion.....	10
I.4.5	Extraction par CO ₂ supercritique.....	10
I.4.6	Enfleurage.....	10
I.4.7	Extraction par micro-ondes.....	11
I.5	Les conditions de conservation.....	11

I.6	Les méthodes d'analyse.....	11
I.6.1	La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	11
I.6.2	Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie De Masse (CPG/SM).....	12
I.7	Activité biologique.....	12
I.7.1	Activité antimicrobienne.....	12
I.7.2	Activité antioxydants des huiles essentielles	12
I.7.3	Anti-inflammatoires	13
I.7.4	Antivirales	13
I.7.5	Antiparasitaires.....	13
I.8.	Toxicité des huiles essentielles.....	13

Chapitre II: Le stress oxydant

II.1	Définition.....	15
II.2	Toxicité de l'oxygène.....	15
II.3	Les radicaux libres	16
II. 3.1.	Espèces réactives oxygénées (ROS)	17
II.3.2.1	Espèces réactives de l'azote (RONS).....	19
II.4	La protection contre le stress oxydant.....	19
II.4.1	Défense enzymatique	19
a)	Le superoxyde dismutase (SOD).....	19
b)	La catalase.....	20
c)	La glutathion peroxydase (GPx).....	20
II.4.2	Défense non enzymatique.....	20
a)	La vitamine E	20
b)	La vitamine C.....	19
c)	Le β - carotène.....	21
II.5	La peroxydation lipidique.....	21
II.6	Domages causés à l'ADN.....	22

II.7	Dommages causés aux protéines	23
------	-------------------------------------	----

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1	Les huiles essentielles commerciales utilisées et les plantes.....	25
III.1.1	La plante de la menthe poivrée نعناع	25
a)	Description.....	25
III.1.2	La plante du (thym) زعتر	26
a)	Description.....	26
b)	Classification botanique.....	27
III. 2	Préparation des échantillons (récolte, séchage et conservation.....	27
III.3	L'hydrodistillation.....	28
3.1)	Conservation.....	28
3.2)	Le rendement.....	29
III.4	Détermination de l'indice de réfraction	29
III.5	Evaluation de l'activité antioxydant.....	30
III.5.1	Méthode de piégeage de radical « DPPH• ».....	30
III.5.2	Méthode de piégeage de radical « ABTS•+ ».....	31
III.5.3	Méthode de piégeage de radical « FRAP».....	32

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1	Résultats d'extraction des huiles essentielles	34
IV .1.1	Description des huiles essentielles obtenue.....	34
IV .1.2	Rendement en huiles essentielles.....	34
IV .1.3	Indice de réfraction	35
IV .2	Résultats des tests d'activité antioxydant	36
IV.2.1	Résultats du pouvoir antioxydants « test DPPH• ».....	37
IV.2.2	Résultats du pouvoir antioxydants « test ABTS•+ ».....	39
IV.2.3	Résultats du pouvoir antioxydants « test FRAP ».....	42
	Conclusion.....	46
	Références bibliographiques.....	48

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté où les chercheurs ont mis l'accent sur le développement continu des biotechnologies végétales. **(Goudjil *et al.*, 2015)**

Les plantes aromatiques et médicinales, riches en huiles essentielles, présentent des intérêts particuliers pour traiter des problèmes de santé, puisqu'elles sont utilisées depuis longtemps dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre certaines maladies Infectieuses. Par ailleurs, la découverte des antioxydants synthétiques et des antibiotiques a Provoqué le déclin de la médecine à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire. La famille des Lamiacées contient une très grande variété de plantes aromatiques ; ils ont une grande importance en raison de leur utilisation dans la médecine traditionnelle. **(Goudjil *et al.*, 2015)**

Et Parmi les stratégies diverses concernant à l'amélioration de la conservation alimentaire, les antioxydants jouent un rôle important parce qu'ils peuvent ralentir l'oxydation de lipides non saturés, empêchant le développement de rance dans des produits alimentaires, de ces dernières années les huiles ont été activement examinées pour remplacer des antioxydants synthétiques, les huiles essentielles du Thym et la marjolaine pour neutraliser la corruption oxydative dans divers sortes nourritures . **(Andrea *et al.*, 2017)**

Et La menthe poivrée (*Mentha piperita*). En médecine traditionnelle, il est utilisé pour ses propriétés antiseptiques, antivirales, antispasmodique, antibactérienne et antioxydant. **(Goudjil *et al.*, 2015)**

Au cours de ces dernières années, le secteur des huiles essentielles a bénéficié d'une croissance rapide, soutenue en particulier par l'étendue et la diversité des secteurs d'application de ces extraits naturels. Les huiles essentielles disposent de nombreux atouts. Elles sont utilisées, pendant de nombreux siècles dans la plupart des civilisations, à des fins religieuses, cosmétiques et médicales. Aujourd'hui, ces extraits de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international. **(Bessah et Benyoussef, 2015)**

Donc les produits commerciaux consomment une large gamme de nos vies quotidiennes et les demandes croissantes de la communauté sur ces produits artificiels, cosmétiques ou alimentaires, nous avons souhaité que cette recherche révèle l'efficacité de ces substances mises en avant sur le marché et la découverte de différentes activités

antioxydantes, c'est le sujet de notre recherche: "L'étude Comparative de l'activité antioxydants des huiles essentielles commerciales et les huiles essentielles fraîchement extraites. Afin de comprendre les indices des réfractions des échantillons testés, nous avons étudiée l'évaluation de l'activité antioxydants par trois méthodes : DPPH•, ABTS•+, FRAP.

A cet effet, Notre travail sera illustré par quatre chapitres:

- ✓ Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles.
- ✓ Chapitre II : Stress oxydatives.
- ✓ Chapitre III : Matériel végétal et extraction.
- ✓ Chapitre IV : Evaluation de l'activité antioxydante.

Une conclusion à la fin de notre mémoire qui présente nos résultats ainsi que des perspectives à développer ultérieurement.

I.1 Généralité

I.1.1 Définition

Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétal pour un alchimiste (**Attou, 2017**), que l'on retrouve naturellement dans diverses parties des plantes, des herbes, des fleurs, des fruits, des bois et des épices (**Masso, 2007**), et selon la norme NF T 75-006 de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) une huile essentielle est définie comme « Le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

I.1.2 Répartition des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal, cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que les lamiacées, les conifères, les rutacées, les ombellifères, les myrtacées et les poacées. (**Bendif, 2017**)

Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal, comme les sommités fleuries (ex: Lavande, Menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex: Vétiver, Gingembre), dans les écorces (ex: Cannelles), le bois (ex: Camphrier), les fruits (ex: Citron), les graines (ex: Muscade). Elles sont contenues dans des structures spécialisées, à savoir, les poils, les canaux sécréteurs et les poches. (**Bendif, 2017**)

I.1.3 Localisation des huiles essentielles et leurs rôles biologiques chez les plantes

- Les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines. (**Taleb, 2015**)

- Le rôle exact que jouent les huiles essentielles dans la physiologie de la plante productrice reste encore mal connu. Il a été démontré qu'elles ont un effet attractif envers les animaux qui servent à la pollinisation et à la dispersion des graines, un effet répulsif contre les herbivores, un effet allopathique et servent également de moyen de défense contre les organismes phytopathogènes. (**Bouhdid et al., 2012**)

I.2 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés soit les mono terpènes (myrcène, α pinène, γ -terpinène, etc.) Et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène, etc.). (Marianne, 2008)

I.2.1 Composés Terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C_5H_8) (Figure 01) .

(Ouis, 2015)

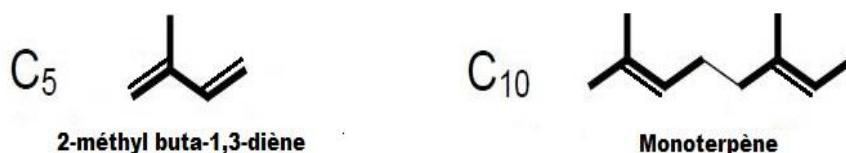


Figure 01 : Structure chimique de l'isoprène (2-méthylbuta 1,3-diène) et d'un terpène
(Tony, 2016)

Selon le nombre d'unités associés, on distingue : les mono-en (C_{10}) ; les sesqui-en (C_{15}) ; les di-en (C_{20}) ; les tri-en (C_{30}) ; les tétraterpènes en (C_{40}) et les polyterpènes. Les huiles essentielles contiennent particulièrement des mono terpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de di terpènes. Les terpènes sont de structures très diverse (acycliques, monocycliques, bi cycliques...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques. A titre indicatif, quelques structures de monoterpènes et de sesquiterpènes sont représentées dans la (figure 02). (Ouis, 2015)

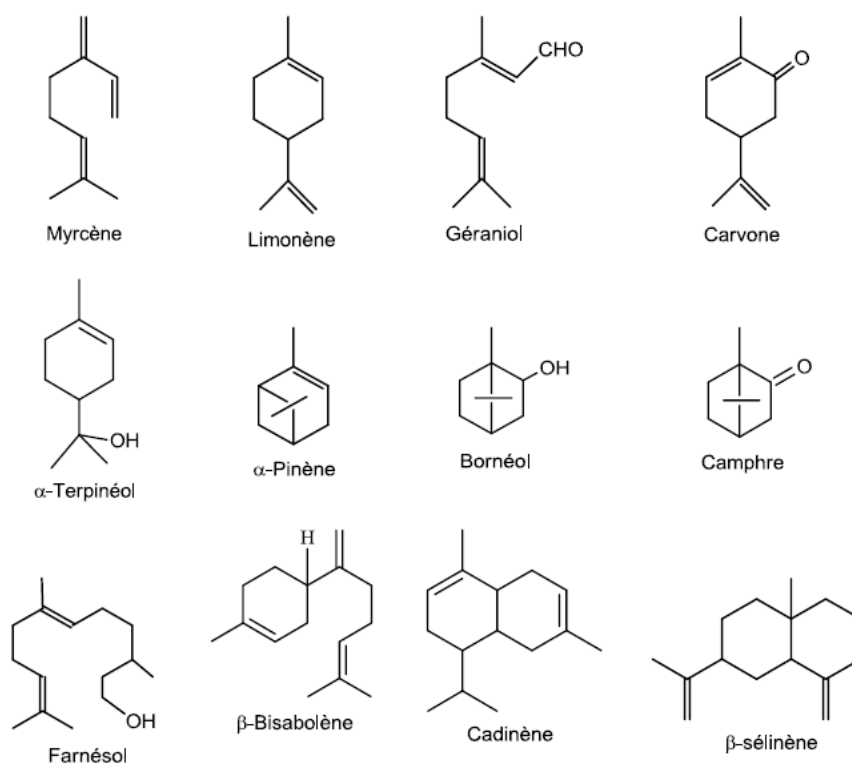


Figure 02 : Exemples de structures de mono-et sesquiterpènes (Ouis, 2015)

I.2.2 Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes. La biosynthèse par voie phénylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine, Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixe à un cycle phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique. Les phénylpropanoïdes sont moins répandus dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae : (anis, fenouil, persil, cannelles (eugénole, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde). (Labioud, 2016)

I.2.3 Composés d'origine diverses

Il s'agit de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composés issus de la dégradation d'acides gras ou d'autres composés), Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits.

Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer ces types de composés. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'elles sont entraînables par la vapeur d'eau. (Labiod, 2016)

I.3 Aspect et propriétés physiques des huiles essentielles

- Ce sont généralement des liquides.
- La coloration varie de l'incolore au brun clair.
- La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0,850 à 0,950).
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240° C.
- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires.
- Elles sont neutres au tournesol, mais elles s'oxydent à la lumière.
- Elles absorbent le chlore, l'iode avec dégagement de chaleur.
- Elles peuvent se combiner à l'eau pour former les hydrates. (Chibani, 2013)

I.4 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction des huiles essentielles dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées. (Chibani, 2013)

I.4.1 Techniques de l'hydro distillation

Le principe de l'hydro-distillation consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un *cluvenger*), que l'on porte ensuite à l'ébullition.

La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. La pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et son appareillage n'est pas coûteux. (Figure 03). (Chibani, 2013)

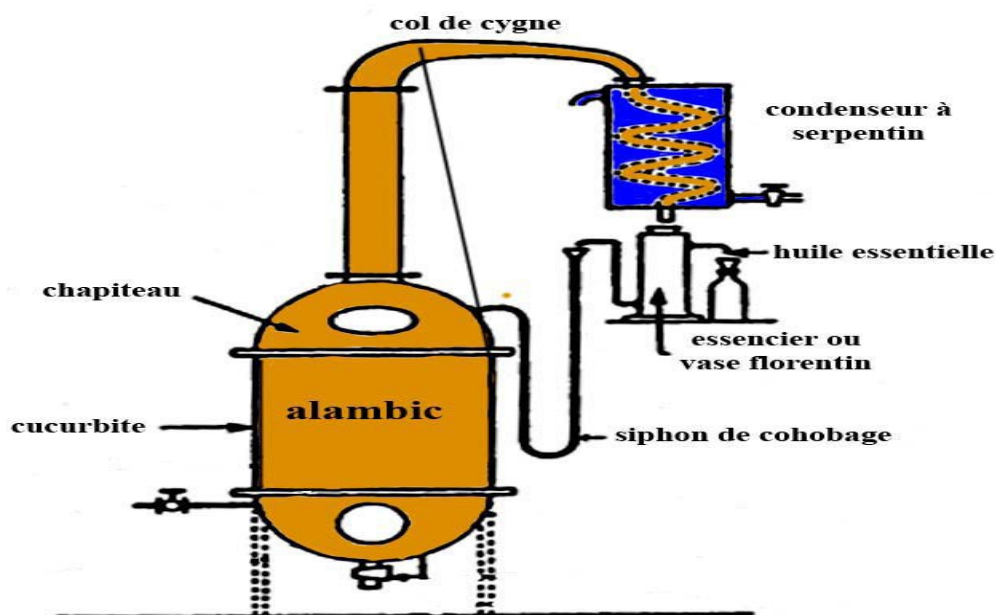


Figure 03 : Schéma des appareils d'Hydro distillation

I.4.2 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques. (Figure 04) (Chibani, 2013)

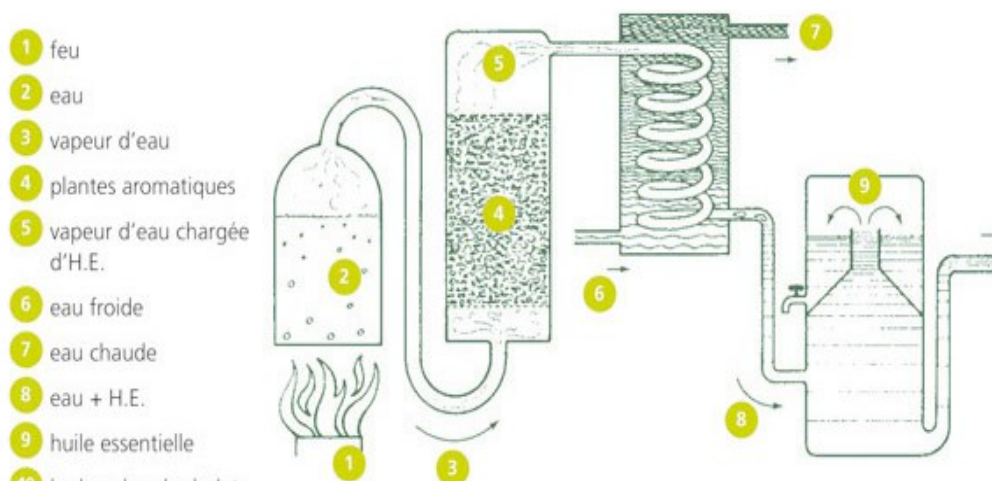


Figure 04 : Procède de distillation à la vapeur d'eau (Aubert, 2016)

I.4.3 Expression à froid

Cette technique sans chauffage est réservée à l'extraction des zestes des agrumes. Le principe est mécanique. Il est fondé sur la rupture des péricarpes, réservoirs d'essences olfactives, en passant les agrumes sur des récipients dont les parois sont recouvertes de pics en métal. L'essence est libérée par un courant d'eau, puis décantée. **(Aubert, 2016)**. La présence de l'eau peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse, de contamination par des pesticides résiduels ou des micro-organismes. Une nouvelle technique physique basée sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous l'effet soit d'une dépression, soit par abrasion de l'écorce fraîche, éliminerait l'eau et diminuerait les effets d'oxydation des composés de ces essences. **(Aubert, 2016)**

I.4.4 Hydro diffusion

L'hydro diffusion est utilisée par certains producteurs. Le principe de l'extraction est basé sur l'action descendante d'un flux de vapeur qui traverse le végétal (utilisation de la pesanteur) ce qui permet globalement un gain de temps d'extraction, et donc une économie d'énergie par rapport à la technique précédente où le courant de vapeur est ascendant. **(Sylvain, 2010)**

I.4.5 Extraction par CO₂ Supercritique

La matière végétale est traversée par un courant de CO₂ à haute pression qui ainsi dissout l'essence pour être ensuite très facilement séparée. La technique utilise une température de 40°C maximum assurant un minimum de dégradation de l'essence. Cette méthode moderne mais coûteuse assure l'obtention d'un produit très proche de l'essence originelle. **(Tony, 2016)**

I.4.6 Enfleurage

Ces procédés d'extraction sont plus rarement utilisés (cout, travail, rendement moindre). Il s'agissait de placer les fleurs sur un corps gras purifié et de laisser les arômes pénétrer le corps gras. Une fois l'arôme des fleurs « pompé », on les retirait et on remettait des fleurs fraîches, jusqu'à saturation du corps gras. La pommade ainsi obtenue, il suffisait de la nettoyer, puis d'y ajouter de l'alcool. Au bout de 24 heures, le corps gras et les huiles essentielles étaient séparés. Il ne restait plus qu'à recueillir la précieuse huile essentielles. **(Masso, 2007)**

I.4.7 Extraction par micro-ondes

Le procédé d' « hydro distillation par microondes » est basé entièrement sur le principe de l'hydro distillation classique. Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages cités sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydro distillation classique. **(Sylvain, 2010)**

I.5 Les conditions de conservation

✓ L'huiles essentielles se conserve bien à condition de ne pas les exposer la lumière, les tenir loin des sources de chaleurs et l'utiliser des bouteilles en verre teinté.

✓ Les huiles essentielles sont volatiles, elles perdent progressivement leurs propriétés et leur arôme.

✓ N'utilise pas un produit dont l'odeur s'est estompée .l'espace d'air dans un bocal favorise l'oxydation des huiles essentielles, donc leur détérioration ; on préférera plusieurs petits contenants lors de l'embouteillage ou de l'achat. **(Masso, 2007)**

I.6 Les méthodes d'analyse

Plusieurs techniques et critères sont utilisés pour l'évaluation de la qualité des huiles essentielles :

I.6.1 La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

la CPG reste l'une des techniques d'analyse les plus utilisée, car les temps de rétention donnent une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative, l'identification des constituants d'une huile essentielle est difficilement réalisable uniquement par CPG. En effet, le temps de rétention, propre à chaque composé qui dépend des conditions opératoires (nature de la phase stationnaire, programmation de la température, vieillissement de la colonne, etc.), ne représente pas une base suffisante pour une identification. **(Sylvain, 2010)**

I.6.2 Le Couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

D'un point de vue analytique, d'important progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec un spectromètre de masse (SM). En effet, le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de la molécule.

Cette technique permet d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier construites au laboratoire ou commerciales. **(Sylvain, 2010)**

Il existe d'autres méthodes d'analyse, qui ont pour objet l'identification qualitative et quantitative, des différents constituants d'une huile essentielle on cite : l'HPLC, l'RMN, l'IR.

I.7 Activité biologique

I.7.1 Activité antimicrobienne

Les HEs sont parmi les métabolites secondaires les plus actifs vis-à-vis des microorganismes. Ces substances volatiles possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne contre non seulement les bactéries, y compris les espèces multi résistantes, mais aussi vis-à-vis des champignons et les virus.

Toutefois, il existe une disparité dans l'activité antimicrobienne des HEs, car elle est plus dirigée envers les champignons que les bactéries et beaucoup plus actives contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. **(Benbelaid, 2015)**

I.7.2 Activité antioxydants des huiles essentielles

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir. Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène. **(Labiod, 2016)**

I.7.3 Anti-inflammatoires

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre. **(Florence, 2012)**

I.7.4 Antivirales

Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. **(Florence, 2012)**

I.7.5 Antiparasitaires

Comme c'est le cas dans la lutte contre les bactéries, les phénols manifestent une action puissante à l'encontre des parasites. Les monoterpénols sont ici d'une efficacité proche de celle des phénols. Certains oxydes comme l'ascaridole contenu notamment dans l'huile essentielle de Chénopode (*Chénopodium ambrosioides* var. *anthelminthicum*) sont très spécifiques de la lutte antiparasitaire, et constituent de bons antihelminthiques. **(Pierron, 2014)**

I.8 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde, ou phototoxique, huiles de citrus contenant des (furocoumarin). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux. **(Marianne, 2008)**

Cependant quelques informations sur certaines toxicités sont décrites par la littérature : En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une Toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 5g/kg. En ce qui concerne la lavande la toxicité est faible autour des 5g/kg (donnée observée chez l'animal). Chez l'homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles. **(Laib, 2011)**

II.1 Définition

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et le système antioxydant d'un organisme. Il est susceptible d'entraîner une immunodépression. (Fabrice *et al.*, 2009). L'origine de cet équilibre peut également être de nature exogène : une alimentation pauvre en antioxydants, une exposition aux rayons ultraviolets à l'action de substance oxydante (solvants, pesticide, anesthésique, tabac, métaux lourds) (Benyamina, 2017)

Ou de nature endogènes comme les réactions enzymatiques (NADPH oxydase, lipoxygénase et la xanthine oxydase (Enzyme dans le foie)), Mitochondries, Phagocytoses, Peroxysomes, Métaux de transition, Exercice physique, Inflammation, Choc.(Bendif, 2017), cette surproduction au-delà des capacités antioxydants des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies, inflammatoires, auto-immunes, neurodégénératives, cardiaques, diabète ou certains cancers. Pour échapper à ces graves conséquences du stress oxydant, l'apport d'antioxydants s'avère nécessaire. (Figure 05). (Amarti *et al.*, 2013)

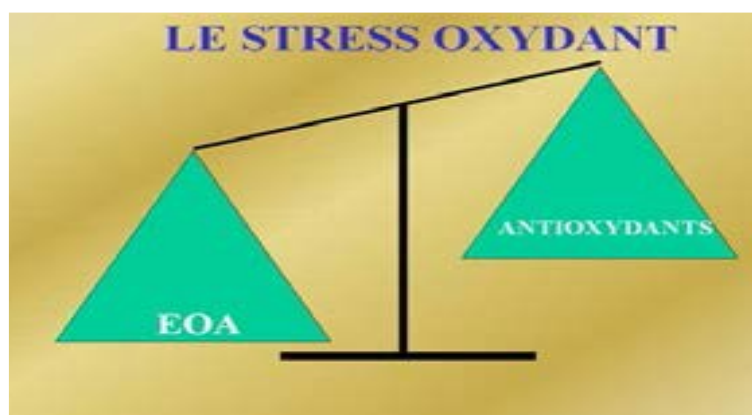


Figure 05 : La balance antioxydant/pro-oxydant

II.2 Toxicité de l'oxygène

La toxicité de l'oxygène est due à sa capacité à entretenir des réactions radicalaires dans les tissus de l'organisme.

L'oxygène que nous respirons est un bi radical stable comportant deux électrons célibataires de spins parallèles, sur sa couche externe O_2 ou état triplet. (Figure 06).

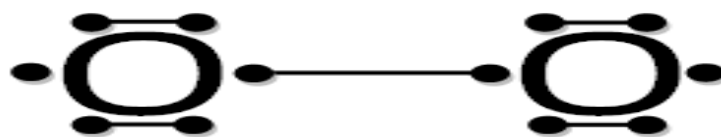


Figure 06 : Électrons de valence de l'oxygène moléculaire.

Le point représente un électron et un trait un appariement entre deux électrons. (Magali, 2013)

✓ Il est donc susceptible de capter facilement 1 puis 2 électrons pour être partiellement réduit en $O_2^{\bullet-}$ puis en H_2O_2 . Il est ainsi à l'origine de la formation d'espèces réactives oxygénées (Reactive Oxygen Species : ROS). L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). (Blandine, 2006)

II.3 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte. (Figure 07).

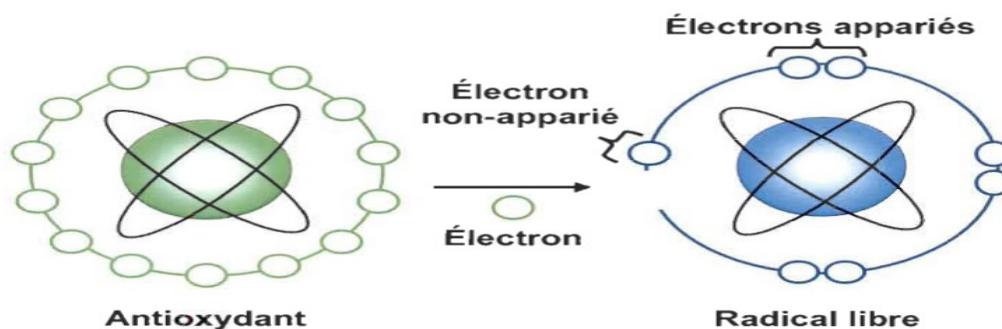


Figure 07 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

Les radicaux libres agissent comme des accepteurs d'électrons et arrachent, donc des électrons à d'autres molécules. Cette perte caractéristique d'un électron correspond au phénomène d'oxydation et les radicaux libres sont donc considérés comme des agents oxydants puisqu'ils incitent les molécules à donner des électrons. (Carange, 2010)

II.3.1 Espèces réactives oxygénées (ROS)

L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit (radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$), monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$), et certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante (peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$)) (Figure 08). (Oueslati, 2017)

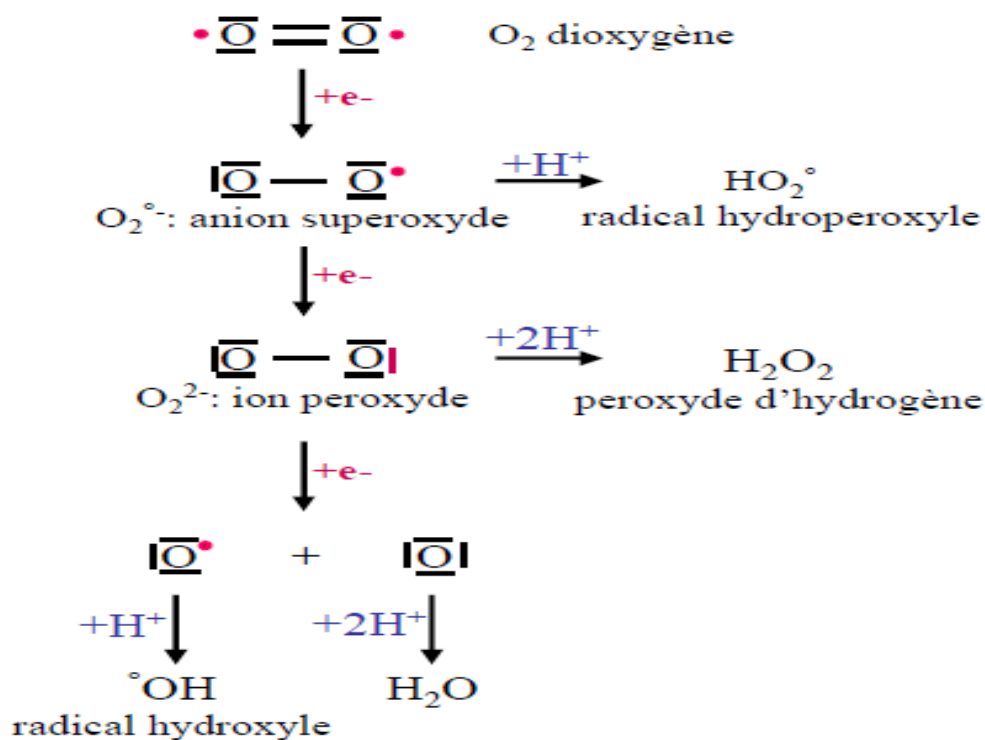


Figure 08: Représentation des réductions successives de la molécule de dioxygène formant les différentes espèces oxygénées réactives: les EOR. (Eléonore, 2012)

L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. La dismutation de cet $O_2^{\bullet-}$ entraîne la formation d'oxygène fondamental et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). L' H_2O_2 n'est pas un radical libre au sens propre mais il est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant.

De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production. Selon la réaction de Fenton, l' H_2O_2 se décompose, en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}), en un ion OH^- et un radical hydroxyle ($OH^{\bullet}$)



Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$) qui régénère Fe^{3+} en Fe^{2+} selon la réaction d'Haber-Weiss [$\text{O}_2\cdot^- + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$]. Ainsi, la présence simultanée de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), d'anion superoxyde ($\text{O}_2\cdot^-$) et de fer permet la production de radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$). L' $\text{OH}\cdot$, avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, est la plus instable et la plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. **(Blandine, 2006)**

Les ERO sont principalement formés lors de l'oxydation des lipides par le cycle de Krebs et lors de la chaîne de transport mitochondriale d'électrons qui a pour but de produire de l'énergie.

Les radicaux libres sont formés suite à l'oxydation des glucides, la glycation non enzymatique des protéines et leur subséquente dégradation. **(Baratli, 2016)**

- **Caractéristiques biologiques**

- ✓ La production excessive d'ERO provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. **(Oueslati, 2017)**

- ✓ Un grand nombre de fonctions physiologiques sont sous le contrôle des ERO et de leurs effets activateurs/régulateurs dans les voies de signalisation. De nombreux ligands peuvent être à l'origine d'une production d'ERO : des facteurs de croissance comme le PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) ou l'EGF (Epidermal Growth Factor), des cytokines telles que l' $\text{INF}\gamma$ (Interféron γ) ou le $\text{TNF}\alpha$ (Tumor Necrosis Factor α) et des peptides comme l'angiotensine II. Ces ligands se fixent à leurs récepteurs spécifiques (récepteurs des cytokines, récepteurs à activité tyrosine kinase, sérine/thréonine kinase, récepteurs couplés aux protéines G ou à des canaux ioniques) et induisent des ERO qui participent alors à la transduction et à l'amplification du signal. **(Camille et Mireille, 2011)**

II.3.2.1 Espèces réactives de l'azote (RONS)

✓ En réalité Les RNS sont un sous-groupe des ROS puis que le (NO•) contient déjà l'atome d'oxygène, que la formation des dérivés du (NO•).

✓ En condition physiologique, les RNOS seront des éléments normaux (seconds messenger) qui régulent la signalisation intracellulaires. (Serteyn *et al.*, 2002)

✓ Le monoxyde d'azote peut réagir avec l'O₂^{•-} et générer ONOO⁻ : le peroxynitrite composé encore plus réactif. Le temps de demi-vie *in vivo* du peroxynitrite est relativement élevé environ 20 ms.

✓ Il peut notamment oxyder directement les thiols en sulfates, et être une des causes de la peroxydation des lipides. (Eléonore, 2012)

✓ Le NO•, molécule gazeuse hautement diffusible, est présent dans tous les types de cellules, puisque produit par l'enzyme ubiquitaire NO-synthase (NOS).

De nombreuses fonctions lui ont été découvertes : (neurotransmetteur, messenger, détecteur d'oxygène, poison ou protecteur cellulaire). Au niveau cardiaque par exemple, le NO• est impliqué dans la modulation physiologique des différentes fonctions (contractilité, relaxation, fréquence) et dans son métabolisme (respiration mitochondriale, utilisation des substrats, équilibre ionique), ainsi que dans la physiopathologie de l'ischémie, de l'insuffisance cardiaque, de la dépression septique, du rejet de greffe et de la myocardite.

Réciproquement, le manque de NO• est responsable d'une dysfonction endothéliale. (Massion *et al.*, 2002)

II.4 La protection contre le stress oxydant

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression de ces oxydant à divers mécanismes de défense largement enzymatiques que non enzymatiques.

II.4.1 Défense enzymatique**a) Le superoxyde dismutase (SOD)**

Cette enzyme catalyse la dismutation de l'O₂^{•-} en H₂O₂. La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). Il a

été récemment montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace inter membranaire. (Blandine, 2006)

b) La catalase

Cette enzyme est localisée essentiellement dans les peroxysomes. Elle permet de convertir deux molécules de H₂O₂ en H₂O et O₂. (Belyagoubi, 2012)



c) La glutathion peroxydase (GPx)

Présente dans les mitochondries et dans le cytoplasme, elle métabolise le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes, en se servant du glutathion réduit comme donneur d'hydrogène. (Caillot, 2004)

II.4.2 Défense non enzymatique

a) La vitamine E

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, nom proposé pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs. Ce nom provient du grec tokos pour progéniture et pherein pour porter. Cette famille comprend 4 substances : l' α -tocophérol, qui est la vitamine E proprement dite, le β -tocophérol, le γ -tocophérol et le δ -tocophérol. (Cuvelier, 2003)

La vitamine E est un composé liposoluble présent dans la double couche phospholipidique des membranes cellulaires et mitochondriales, ainsi que dans les lipoprotéines. Son rôle antioxydant est connu depuis longtemps puis 'quelle' est utilisée comme additif alimentaire, pour éviter le rancissement des graisses insaturées. Elle agit en bloquant la lipidoperoxydation en chaîne en captant les radicaux peroxydes ROO• à l'endroit même de leur formation pour donner un radical tocophéryle plus stable et de faible réactivité. Elle réagit également avec O₂, O₂•, OH•.(Figure 09) (Cerou, 1994)



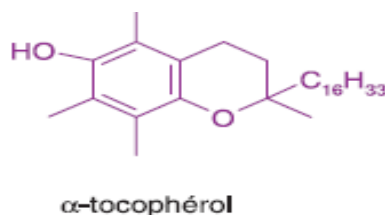


Figure 09: Structure chimique de tocophérols. (Gardès-Albert *et al.*, 2003)

b) La vitamine C

La vitamine C est un cofacteur de nombreuses enzymes. Elle peut capter directement l' $O_2^\bullet$ et l' $OH^\bullet$. Cette vitamine permet de piéger différentes ERO, et aussi de régénérer la vitamine E. (Baratli, 2016)

c) Le β -carotène

À un stade précoce de l'oxydation, les caroténoïdes peuvent bloquer les composés initiateurs d'oxydation (radiations UV, métaux de transition, réactifs chimiques...) et ainsi empêcher la formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO).

Lorsque l'oxydation est déjà initiée, les caroténoïdes peuvent interrompre la propagation en piégeant les radicaux libres formés (peroxydes...) au niveau des membranes. (Figure 10) (Charlotte, 2011).

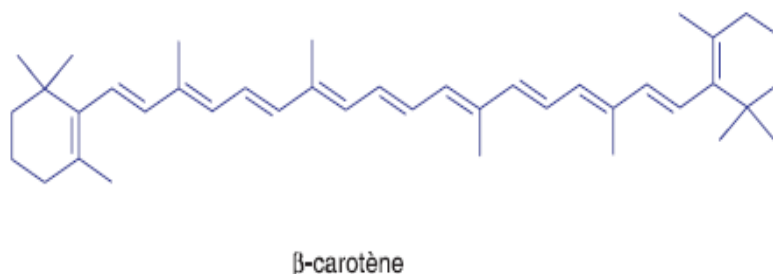


Figure 10 : Structure chimique de β -carotène. (Gardès-Albert *et al.*, 2003)

II.5 La peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides polyinsaturés (LH), en présence d'oxygène, est un processus radicalaire de réactions en chaîne, connue sous le nom de peroxydation lipidique, qui se décompose en trois étapes : L'initiation, la propagation et la terminaison. (Figure 11)

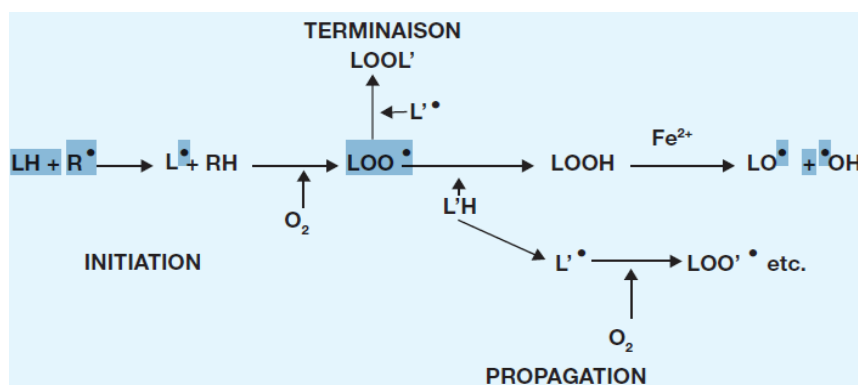


Figure 11 : Phases d'initiation, de propagation et de terminaison de la peroxydation Lipidique. $R^\bullet$: radical initiateur (ERO) ; LH : acide gras polyinsaturé ; $L^\bullet$: radical lipidique ; $LOO^\bullet$: radical pyroxyde ; LOOH : hydro peroxyde ; $LO^\bullet$: radical alkoxyde ; $^\bullet OH$: radical hydroxyle ; O_2 : oxygène ; LOOL' : produit stable. (Michel *et al.*, 2008)

Les lipoperoxydes sont produit par l'attaque des lipides insaturées (LH) par une espèce radicalaire .cette attaque produit un radical $R^\bullet$ par enlèvement d'un $H^\bullet$.la présence d' O_2 .en réagissant avec le radical formé, empêche la recombinaison des radicaux entre eux, ce qui arrêterait le cycle. O_2 entraîne la formation d'un radicale pyroxyde $LOO^\bullet$ qui évolue vers un hydro peroxyde lipidique et non provoquant une réaction en chaine .les lipoperoxydes LOOH peuvent réactivés en espèce radicalaires par les métaux de transition complexés. (Serteyn *et al.*, 2002)

La peroxydation lipidique peut créer une désorganisation membranaire. (Hiltensbrand, 2016), telles que la modification de sa fluidité, mais aussi l'inactivation de récepteurs ou d'enzymes. (Michel *et al.*, 2008)

II.6 Dommages causés à l'ADN

Les radicaux libres comme le radical hydroxyle peuvent causer des dommages à tous les composants de l'ADN. Il altéré à la fois les bases des purines et des pyrimidines et également le squelette désoxyribose.

Les ROS peuvent causer la suppression des bases, la formation des dimères de pyrimidine, la rupture des brins d'ADN, les modifications des bases par leur alkylation et leur oxydation peuvent casser les brins d'ADN. (Benhamdi, 2014)

L'ADN endommagé entraîne des mutations, par altération directe du code génétique ou par erreur dans la réparation de l'acide nucléique. (Caillot, 2004)

II.7 Dommages causés aux protéines

Les ERO radicalaires et non radicalaires altèrent l'extrémité des chaînes protéiques de façon réversible ou irréversible (carbonylations, oxydations, pontages...) provoquant une dégradation de l'activité protéique pouvant aller jusqu'à une perte complète de fonction ou une agrégation protéique. Les dysfonctionnements sont nombreux :

Récepteurs cellulaires : Anticorps ; Signaux de transduction, Fonctions de régulation ; Transport protéique ; Activité enzymatique. **(Magali, 2013)**

En effet, la tyrosine est un acide aminé particulièrement impliqué dans les voies de signalisation, en particulier par les réactions de phosphorylation/déphosphorylation. Ainsi le stress oxydant peut avoir un effet sur la fonction propre d'une protéine mais peut également avoir des répercussions sur l'ensemble de la régulation cellulaire. **(Zerargui, 2015)**

III.1 Les huiles essentielles commerciales utilisées et les plantes

Dans notre travail nous avons utilisé des HE commerciales procurées auprès d'un herboriste locale de wilaya de Laghouat. Ces HE sont de la marque CAPTAIN produites par une société Egyptienne., les plantes aromatiques dont les HE font l'objet de cette étude sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 01 : les plante aromatique utilisée et leur nom scientifique et en arabe.

Plantes aromatiques	Nom scientifique	Nom arabe	Fabricant
Menthe	<i>Mentha piperita</i>	نعناع	CAPTAIN-Egypt
Thym	<i>Thymus vulgaris</i>	زعتر	CAPTAIN- Egypt

III.1.1 La plante de la *Mentha piperita* نعناع

a) Description

✓ Le genre *Mentha* appartient à la famille des Labiées ou Lamiacées et comprend environ 25 espèces hybrides. *Mentha piperita* L. est l'une des espèces de ce genre.

Celle-ci est originaire d'Europe, et s'est répandue en Chine, en Inde, aux États Unis, en Afrique. Elle est particulièrement présente dans les régions tempérées et surtout méditerranéennes,

Dans les zones fraîches et dans les milieux neutres. *Mentha piperata* est appelée communément menthe poivrée. (Ndzeli likidi *et al.*, 2015)

✓ *Mentha piperita* c'est l'hybride stérile issu du croisement *M. aquatica* L. x *M. spicata* L.

✓ *Mentha x piperita* L. est une menthe vivace à tiges dressées, tétragones, rameuses au sommet. Les feuilles sont d'un vert intense. Elles sont ovales, oblongues ou lancéolées. Les fleurs sont d'un rose violacé, en glomérules plus ou moins nombreux, disposés eux-mêmes en épis terminaux, cylindriques-oblongs (Figure12). Le calice est glabre ainsi que la corolle et les étamines sont saillantes. (Figure 12). (Benabdallah, 2017)



Figure 12 : Menthe poivrée : *Mentha piperita* L

III.1.2 La plante du *Thymus vulgaris* زعتر

a) Description

- ✓ Thym élément caractéristique de la flore méditerranéenne, le Thym est la célèbre farigoule des garrigues provençales. Connue surtout pour ses qualités aromatiques, il a aussi de très nombreuses propriétés médicinales. (Iserin, 2001)
- ✓ Elle est une plante sous ligneuse, odorante, formant des touffes compactes très ramifiées qui s'élèvent à une vingtaine de centimètres au-dessus du sol. Le thym est un genre de plantes (couramment appelées Thym ou serpolet) de la famille Lamiacées. Ce sont des plantes rampantes ou en coussinet, portant de petites fleurs rose pâle ou blanches. Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques. (Zeghib, 2013) (Figure 13)



Figure 13 : schéma représente la plante *Thymus vulgaris*. (Iserin, 2001)

b) Classification botanique

Tableau 02 : la classification botanique de *Mentha piperita* et *Thymus vulgaris*

	Menthe	Thym
Règne	Plantae	Plantae
Division	Magnoliophyta	Magnoliophyta
Classe	Magnoliospida	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales	Lamiales
Famille	Lamaiceae	Lamiaceae
Genre	<i>Mentha</i>	<i>Tymus</i>
Espèce	<i>Mantha Piperita</i>	<i>Tymus vulgaris</i>

III.2 Préparation des échantillons (récolte, séchage et conservation)

Les échantillons utilisé est d'origine commerciale (herboriste) ; qui provient de Wilaya El-Bayadh.

Figure 14 : Photos illustres la *Menthe poivrée* séchée (Original)

III.3 L'hydro-distillation

La méthode la plus adaptée pour l'extraction des huiles essentielles est l'hydro distillation. Les échantillons d'huiles essentielles ont été obtenus par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type *Clevenger*.

Le montage est constitué d'un ballon en verre (de 2 litres) contenant 100g de chaque matériel végétal, des deux espèces (Menthe poivrée et Thym) additionné d'un litre d'eau, placé au-dessous d'un chauffe ballon. Ce dernier est surmonté d'une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargées de gouttelettes d'huile essentielle, qui sont ensuite recueillies sous forme de distillat dans une ampoule à décanter. L'extraction dure trois heures. Les étapes d'extraction représentée dans figure (15 et 16) :

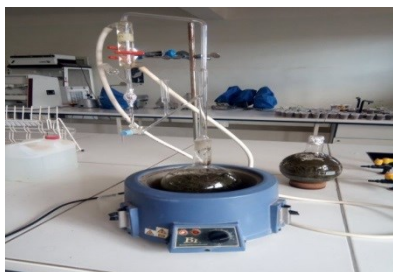


Figure 15 : L'appareil de l'hydro-distillation utilisé (*Clevenger*)



Figure 16: l'huile essentielle obtenir après l'extraction

3.1) Conservation

Afin d'éliminer toute trace d'eau, dans les huiles essentielles obtenue, on ajoute une petite quantité de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) (Figure 17). Par la suite, on les transfère dans des tubes en verre, hermétiquement fermé et couverts de papier aluminium. (Figure 17)



Figure 17 : l'huile essentielle traitée par sulfate de sodium anhydre.

Nos huiles essentielles ont été conservées à froid (congélateur au réfrigérateur à +4°C) dans des flacons verre fumé, à l'abri de la lumière, jusqu'à moment de l'analyse.

3.2) Le rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le volume de L'huile extraite et le poids de la plante utilisé. Le rendement exprimé En pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (ml) / (mg) \times 100$$

R% : rendement en huile en pourcentage (v/m)

V : volume de l'huile (g)

M : poids de l'échantillon sec (g)

III.4 Détermination de l'indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans huile essentielle maintenue à une température constante.

L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière et ralentir, plus la matière a un indice de réfraction élevé. L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. il est supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1,3356 et de huile d'olive à 20°C = 1,4684. Ceci montre leur richesse en composant qui devient la lumière polarisée.

L'appareil employé pour mesurer l'indice de réfraction est le réfractomètre (Figure 18) qui est un instrument optique servant à détermine l'indice de réfraction d'une substance c'est-à-dire la mesure dans laquelle la lumière est déviée en traversant la substance. (Figure 18)



Figure 18 : le réfractomètre

III.5 Evaluation de l'activité antioxydant

L'évaluation de l'activité anti-oxydante de huile essentielle des deux espèces (Menthe poivrée, Thym) font généralement intervenir à la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'un antioxydant. Parmi ces technique d'analyse on a utilisé le test DPPH• (2,2 diphenyle-1-pikryl-hydrazyle), ABTS•+ jouent sur le transfert d'électron singulet pour déférentes concentration de l'extrait (huile essentielle), et le FRAP (*Feric Reducing Antioxydant*), et comparai le résultat avec des antioxydants synthétiques ; trolox et Vitamine C.

III.5.1 Méthode de piégeage de radical libre DPPH•

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et les composés phénoliques font généralement intervenir à la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'un antioxydant. Parmi ces technique d'analyse on a utilisé le test DPPH• (2,2 diphenyle-1-pikryl-hydrazyle), joue sur le transfert d'électron singulet pour déférentes concentration de l'extrait et une comparaison avec des antioxydants de références (Trolox, BHA et Vitamine C).

Principe

La méthode est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH• en présence d'un donneur d'hydrogène H• (le cas d'un antioxydant). La solution de DPPH• montre une forte bande d'absorption à 515 ~ 517 nm, avec une couleur violet foncé et qui se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure 15).

La décoloration qui en résulte est stœchiométrique ; elle concerne le degré de réduction. Le DPPH• restant, mesuré après un certain temps, correspond inversement à l'activité de piégeage des radicaux libres par l'antioxydant (**Brand-Williams *et al.*, 1995; Molyneux, 2004**). (Figure 19)

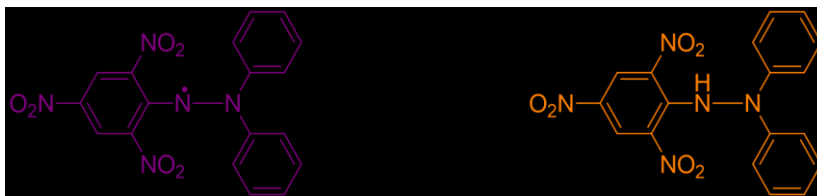


Figure 19 : Réduction du radical libre DPPH• (Molyneux, 2004)

Mode opératoire

Un volume de 1 ml, de chaque solution fille (Extrait brut de chaque solvant), récemment préparée dans le MeOH, est ajouté à 1 ml de solution de DPPH[•] (100µM) fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation, à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lu contre le blanc A₀ (1ml de la solution de DPPH et de 1ml de méthanol) à 517 nm par spectrophotomètre (UV/Vis).

Le pourcentage (%) d'inhibition des radicaux libres de DPPH[•] a été calculé par la relation suivante :

$$I\% = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \times 100$$

A : Absorbance de la solution de DPPH[•] en présence de l'échantillon

A₀ : Absorbance de la solution de DPPH[•] en absence de l'échantillon

A partir de la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons, les valeurs EC₅₀ ont été déterminées en (µg/ml), qui représentent les concentrations des échantillons à 50% de neutralisation des radicaux libres (DPPH[•]).

III.5.2 Méthode de piégeage de radical ABTS^{•+}

Ce test est basé sur la réaction entre un radical cationique stable ABTS^{•+} (2,2-azinobis-(3-éthyl benzothioazoline-6-sulfonic acide) (générateur de radicaux libres) et une substance donneur de protons, se produit immédiatement après l'ajout d'une solution de potassium persulfate K₂S₂O₈, ce radical cation ABTS^{•+} est un chromogène stable à température ambiante, peut être mesure dans un spectromètre à λ = 734 nm.

Mode opératoire

Utilisant la méthode modifiée de **Re et al. (1999)**. Le radical ABTS^{•+} a été préparé par l'ajout de 7mM de ABTS avec 2,45mM de potassium persulfate incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 24 heures. Une série des dilutions ont été préparés en MeOH de volume 1ml, est ajouté à 1ml d'une solution d'ABTS^{•+} (Absorbance ≈ 0,700). Le mélange est incubé pendant 15 min à l'obscurité. Ensuite l'absorbance a été mesurée contre le blanc à 734nm par spectrophotomètre (UV-Visble). Le pourcentage de piégeage du radical ABTS^{•+} a été calculé par la formule suivante :

$$I\% = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \times 100$$

A : Absorbance de la solution de ABTS^{•+} en présence de l'échantillon

A₀ : Absorbance de la solution de ABTS^{•+} en absence de l'échantillon

III.5.3 Méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). En effet le Fe³⁺ participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 750 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Berker *et al.*, 2007).

Mode opératoire

400 µl de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 1ml de l'acide chlorhydrique HCl (1M) et 200 µl de SDS (1%) et 300µl d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ (1%), L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes puis refroidi à température ambiante. 200µl d'une solution de chlorure ferrique FeCl₃ (0,1%) a été ajouté au mélange réactionnel. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 750nm à l'aide de spectrophotomètre UV-Vis contre, un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil. Les résultats ont été exprimés par *Trolox Equivalent antioxidant capacities* (TEAC).

L'indice de TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) a été calculé selon la formule suivante : **TEAC (mg Trolox /g de Résidu) = Pente Extrait / Pente Trolox**

IV .1 Résultats d'extraction des huiles essentielles

IV .1.1 Description des huiles essentielles obtenue

Les figures en dessous nous montrent des photos des huiles essentielles extraites par la méthode de hydrodistillation :

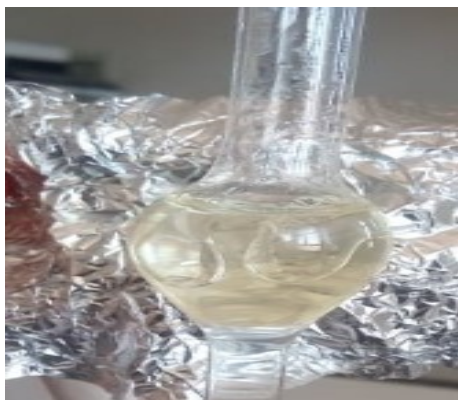


Figure 20 : l'huile de la Menthe



Figure 21 : l'huile de Thym

Tableau 03 : les caractéristiques de l'huile essentielle de la Menthe et le Thym

	Aspect	Couleur	Odeur
L'huile essentielle de la Menthe	Liquide, mobile, limpide	Jaune pâle	Fraichement mentholé
L'huile essentielle de Thym	Liquide, mobile,	couleur Foncée,	d'odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante.

IV .1.2 Rendement en huiles essentielles

Nous avons constaté que la partie aérienne de *Thymus vulgaris* (TF) a donnait un rendement (1,08%) et la *Mentha piperita* presente un rendement égale (0,9%). Le rendement en huiles essentielles de la *Mentha piperita* et le *Thymus vulgaris*.

Nous avons comparé nos résultats avec ceux donnés par la littérature pour les huiles du *Thymus vulgaris* aux résultat obtenu par (**Dahou et Bouakkaz, 2015**), a rendement 1,15 % et aussi nous avons utilisé d'autres études, celles effectuées au en Algérie (**Haddouchi et al., 2009**) de *Thymus fontanesii* a rendement 2% . Et pour l'huile essentielles de *Mentha piperita* la compariation effectue avec le résultat obtenu par (**Abaddlai et chebbour, 2014**) a

rendement 0,64%, et avec (Ndzeli Likibi *et al.*, 2015) 0,52% et (Dahou et Bouakkaz, 2015) 0,7%. et (Laghouiter *et al.*, 2015) avec le rendement à 1,325%.

Nous attribuons un rendement presque élevée observé dans ces travaux, comparés à celle que nous avons révélée, à une différence climatique ou bien une différence dans les périodes du cycle végétatif où la prise d'échantillon a été effectuée. De même, ces différences de rendements en huiles essentielles pourraient être expliquées par plusieurs facteurs notamment, l'origine de récolte, les facteurs génétiques, la position Géographique, la nature du sol, les conditions climatiques, le temps et l'appareillage d'extraction (Amarti *et al.*, 2013)

IV.1.3 L'indice de réfraction

L'indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre) d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielles maintenue à une température constante.

Tableau 04 : représente les différentes valeurs des indices de réfraction

IR d'HE étudiée	Les huiles essentielles	Menthe	Thym	Norme AFNOR (NFT 75-006)
Menthe	Extraits	$\alpha = 1,4840$	$\alpha = 1,5000$	1,4600-1,5000
Thym	Commercialisé	$\alpha = 1,4680$	$\alpha = 1,4670$	1,495-1,5050

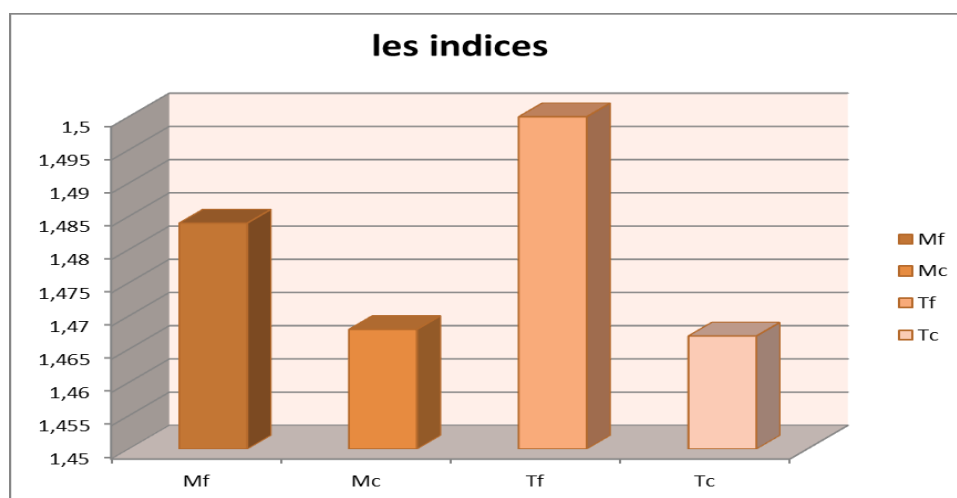


Figure 22 : Histogrammes représente les variations des indices des huiles essentielles fraîchement extraites et les huiles essentielles commerciales.

Les valeurs des indices de nos extraits (Menthe et le Thym) presque similaires pour la Menthe 1,4800 (Abaddlai, et chebbour, 2014). Selon (Haddouchi *et al.*, 2009) nous avons comparé nos résultats avec ceux donnés par la littérature pour les huiles du *Thymus fontanesii* a indice de réfraction $\alpha = 1.4999$. Généralement l'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme critère de pureté des huiles essentielles et de composés liquides divers.

Chaque substance a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. Cette pureté est définie dans des intervalles considérés comme acceptable. Dans ce cas on peut considérer que les huiles commercialisée non pure par rapport nos extraits.

IV.2 Résultats des tests d'activité antioxydant

IV.2.1 Résultats du pouvoir antioxydants « Test DPPH »

La méthode DPPH a été largement appliquée pour estimer l'activité antioxydant, les mesures de densités optiques de notre solution d'huile (commercialisées et nos extraits) à différentes dilutions nous ont permis de calculer le pourcentage d'inhibiteur nécessaire pour diminuer le taux des radicaux libres et permis de tracer les histogrammes du pourcentage d'inhibition % en fonction de la concentration d'un (1mg /ml) d'huile essentielles. En effet, plus le pourcentage d'inhibition plus grande plus l'activité anti-radicalaire important.

Egalement, on a testé le Trolox, la vitamine C comme des antioxydants pris comme antioxydants de référence (figure 24). Par la calcule de paramètre EC50 : Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydant (Laib, 2012) et permis de tracer les courbes du pourcentage d'inhibition % en fonction de la concentration de chaque antioxydant de référence. En effet, plus la valeur de l'EC50 est faible plus l'activité anti-radicalaire est importante. Les valeurs de l'EC50 des standards ont été présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05 : Les valeurs d'EC50 des standards en (µg/ml) –Test DPPH

Standards	EC 50 (µg/ml)
Vitamine C	3,77 ± 0,17
Trolox	1,85 ± 0,12

✓ Les huiles essentielles

L'habilité des huiles essentielles à donner des atomes d'hydrogène et des électrons au radical DPPH• pour le transformer à sa forme réduit DPPH-H est mesurée au spectrophotomètre. Les valeurs calculées des pourcentages d'inhibition pour les différents échantillons d'huile essentielle sont regroupées dans l'histogramme ci-dessous.

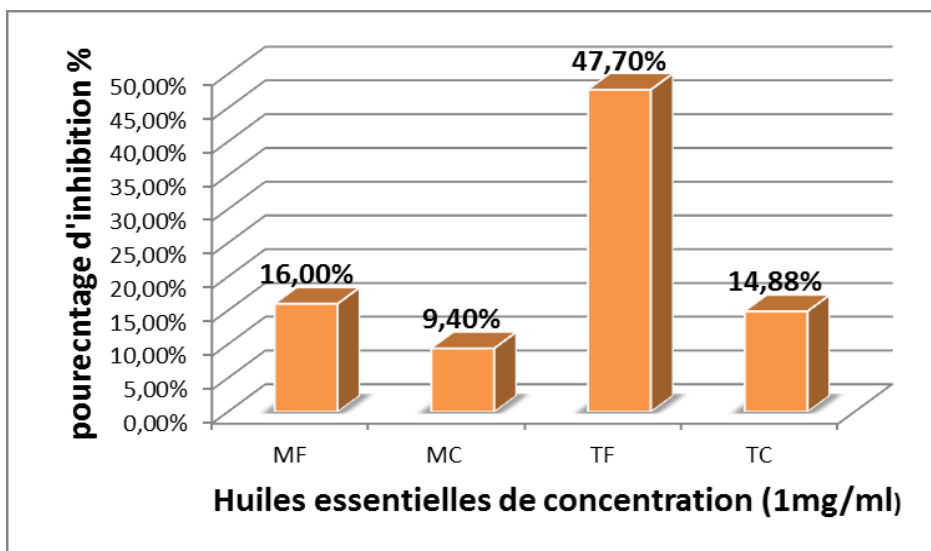


Figure 23 : Histogramme représente les pourcentages d'inhibition des huiles essentielles par le test DPPH•.

Le DPPH a été fortement inhibé par les huiles essentielles des différents échantillons des huiles essentielles, le thym a révélé une activité plus importante que les autres huiles essentielles. Selon les résultats enregistrés, les huiles essentielles sont dotées d'une différente activité à céder le proton pour neutraliser le radical DPPH• qui diminue de la manière suivante :

TF (Thym fraîche) 47,70 % > MF (Menthe fraîche) 16 % > TC (Thym commerciale) 14,88 % > MC (Menthe commerciale) 9,40%

Généralement, les huiles essentielles fraîchement extraites de la (Menthe et le Thym), présentent une capacité de réduction du radical libre DPPH• (figure 24), cette activité due à la composition chimique complexe de ces huiles (monoterpènes, sesquiterpènes). (Mini-Dukic *et al.*, 2004). Cette différence observée peut être expliquée par : Le Thymol a montré une meilleure activité scavenger de radical DPPH• (Aeschbach *et al.*, 1994).

Les travaux effectués par **Mastelic *et al.* (2008)**, ont montré que le Thymol qui est un composé de nature phénolique possède une capacité anti-radicalaire importante. De plus, Tepes et ses collaborateurs (2007), ont prouvé que l'un des principaux constituants responsables de l'activité antioxydante des huiles essentielles est le Thymol qui est capable de piéger significativement le radical DPPH. Les huiles essentielles des plantes de la famille des Lamiacées sont connues par leur forte activité antioxydante (**Bozin *et al.*, 2008**).

Selon **Amarti *et al.*, (2010)**, qui ont étudié l'activité antioxydante de quatre espèces de thym du Maroc, qui ont enregistré un bon effet antioxydant tel que *T. capital us*, *T. ciliatus* et *T.bleicherianus* avec EC50 0,069mg/ml, 0,074mg/ml et 0,078mg/ml respectivement, Ces résultats montrent que l'huile essentielle de *Thymus ciliatus* possède une bonne activité antioxydante. Selon (**Mimica-dukić *et al.*, 2003**) qui ont rapporté que l'EC50 de l'huile essentielle de *M. piperita* était de 0,00253 mg/ml.

D'après la comparaison avec les antioxydants de référence (figure 25), nous avons constaté que les huiles essentielles commerciales, présente une faible activité, en termes de piégeage des radicaux libres DPPH•, qui probablement l'huile commerciales perdre quelques principes actifs donnant plus d'efficacité sur la neutralisation du radical DPPH•.

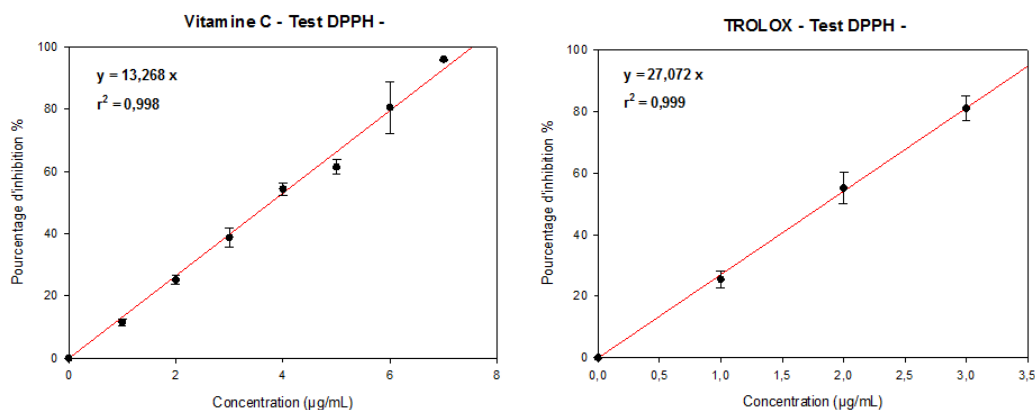


Figure 24 : Pouvoir antioxydant de Trolox, Vitamine C en (µg/ml) - Test DPPH•

IV .2.2 Résultats du pouvoir antioxydants « Test ABTS•+ »

Pour évaluer l'activité antioxydant de nos échantillons d'huiles essentielles, nous avons utilisé dans notre travail une méthode récente basé sur la réaction entre un radical cationique stable ABTS•+ (générateur de radicaux libres) et nos huiles essentielles (fraichement extraits et les huiles essentielles commercialisées). La mesure de l'absorbance a été faite par spectrophotomètre à $\lambda=734$ nm. Le Trolox, Vitamine C ont été utilisé comme des standards (figure 26). Les valeurs de l'EC50 des standards ont été présentées dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Les valeurs d'EC50 des standards en ($\mu\text{g/ml}$) –Test ABTS– :

Standards	EC50 ($\mu\text{g/ml}$)
Vitamine C	$1,38 \pm 0,01$
Trolox	$2,84 \pm 0,03$

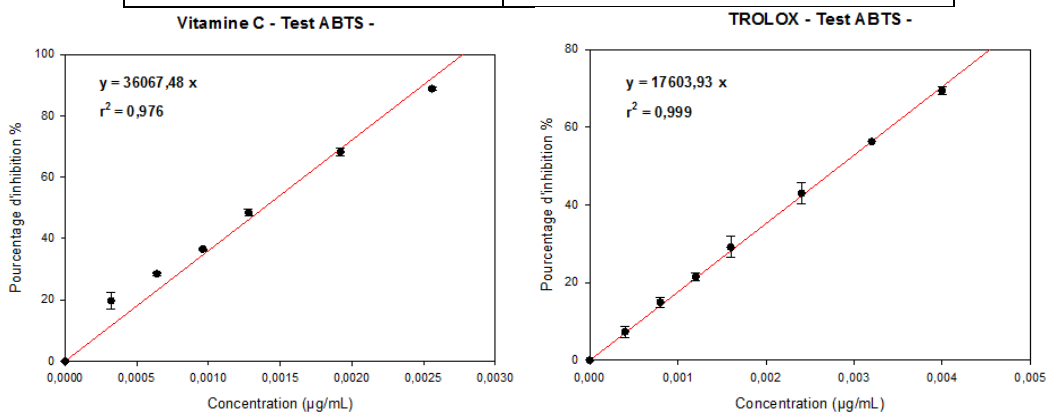


Figure 25 : Pouvoir antioxydant de Trolox, Vitamine C en ($\mu\text{g/ml}$) - Test ABTS•+ :

✓ Les huiles essentielles

L'activité antioxydant des extraits phénoliques est évaluée quantitativement par la méthode d'ABTS•+. On réagit le radical cation stable avec nos extraits. Le pourcentage d'inhibition est mesuré au spectrophotomètre à 734nm. Les valeurs des pourcentages d'inhibition des radicaux libres en fonction des concentrations des échantillons étudiés, sont regroupées dans l'Histogramme suivant.

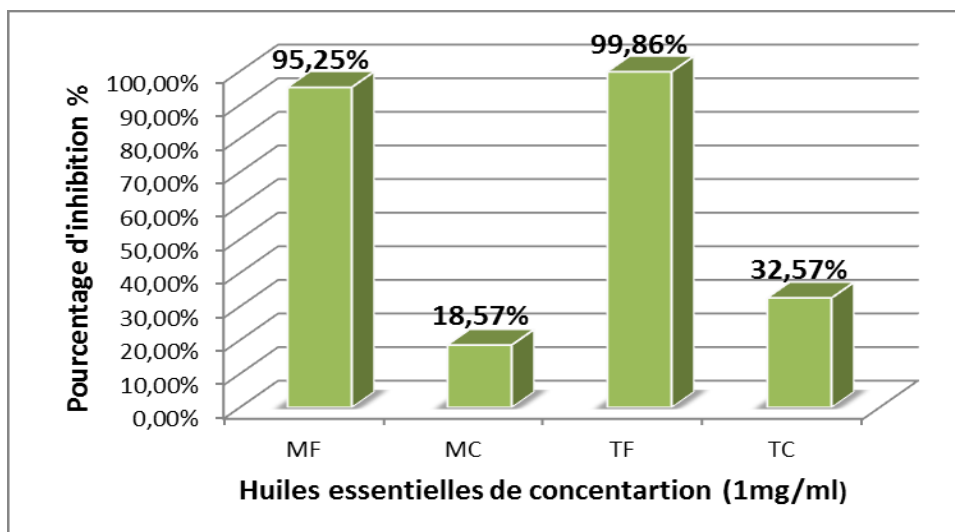


Figure 26 : Histogramme présente les pourcentages d'inhibition des huiles essentielles par le test L'ABTS^{•+}.

Les résultats de l'activité antioxydante par le piégeage du radical ABTS^{•+} montrent que nos huiles essentielles extraites, possèdent une importante activité avec des pourcentages d'inhibitions respectives à celles des huiles essentielles commercialisées :

$$\text{TF } 99,86\% > \text{MF } 95,25\% > \text{TC } 32,57\% > \text{MC } 18,57\%$$

On constate que l'huile essentielle du Thym fraîchement extraits a présenté une activité plus élevée où le taux d'inhibition est proche de 100%, tandis que l'huile commerciale a un faible pourcentage d'inhibition. Cette activité pourrait être liée aux composés majeurs. Selon la littérature les composés majoritaires identifiés dans l'espèce *Thymus vulgaris*

Tableau 07 : les composants majoritaires dans l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (Bouhdid *et al.*, 2006)

Composé majoritaire	Pourcentages
Carvacrol	59,50%
Thymol	36,58%
p-cymène	16,51%
γ-terpinène	13,70%

Le Thym est considéré comme un antioxydant puissant vue la composition chimique en Thymol et carvacrol. Ils sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composées de ce type ont des propriétés oxydo-réductrice et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Edris, 2007).

Selon la littérature les composés majoritaire identifié dans l'espèce *Mentha piperita* (Brian., 2007).

Tableau 08 : les composants majoritaires dans l'huile essentielle de *M. piperita*

Composé majoritaire	Pourcentage
menthol	(50%)
menthone	(25%)
menthofuran	(2%– 15%)
pulegone	(2%)
piperitone	(1%)
piperitenone	(1%)

Selon Benabdallah, (2015) elle est aussi identifié les composants majoritaires dans l'huiles essentielles de *M.piperita*.

Tableau 09 : les composants majoritaires dans l'huile essentielle de *M.piperita*

Les composées majeures	Pourcentages
Menthol	49,89%
Menthone	20,84%
Isomenthone	7,25%
1.8-cineole	6,73%

On comparant les résultats obtenus à celle des standards (Trolox, et Vit C), une différence nettement remarquer qui nous permettent de classé les antioxydants de référence comme des agents à pouvoir antioxydant plus importants par rapport nos huiles essentielles fraîchement extraits et même pour les huiles essentielles commercialisé.

La technique ABTS^{•+} révèle une capacité d'inhibitions des radicaux libres par nos échantillons d'huile essentielle plus importante par rapport la méthode DPPH. **Montoro** et ses collaborateurs (2007), ont déduit que l'activité anti-ABTS^{•+} des échantillons dépend de leurs polarités, c'est les échantillons les plus polaires qui ont présentés les meilleures capacités antioxydantes, cela peut être justifiée par la présence de composé polaires doués d'un grand potentiel antioxydant, qui agissent comme des donneurs d'hydrogène ou d'électron. Elle dépend aussi de la structure chimique des composés phénoliques de nombre de OH ainsi que leur position (**Montoro et al., 2004**).

IV .2.3 Réduction du fer FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (**Li et al., 2007**). Le trolox est un puissant antioxydant, il est utilisé comme antioxydants de référence. La (figure 28) nous donne une idée sur l'efficacité de nos huiles essentielles des différentes échantillons pour réduire les ions Ferriques (Fe^{3+}) en Ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction est fortement liée aux concentrations de ces huiles essentielles.

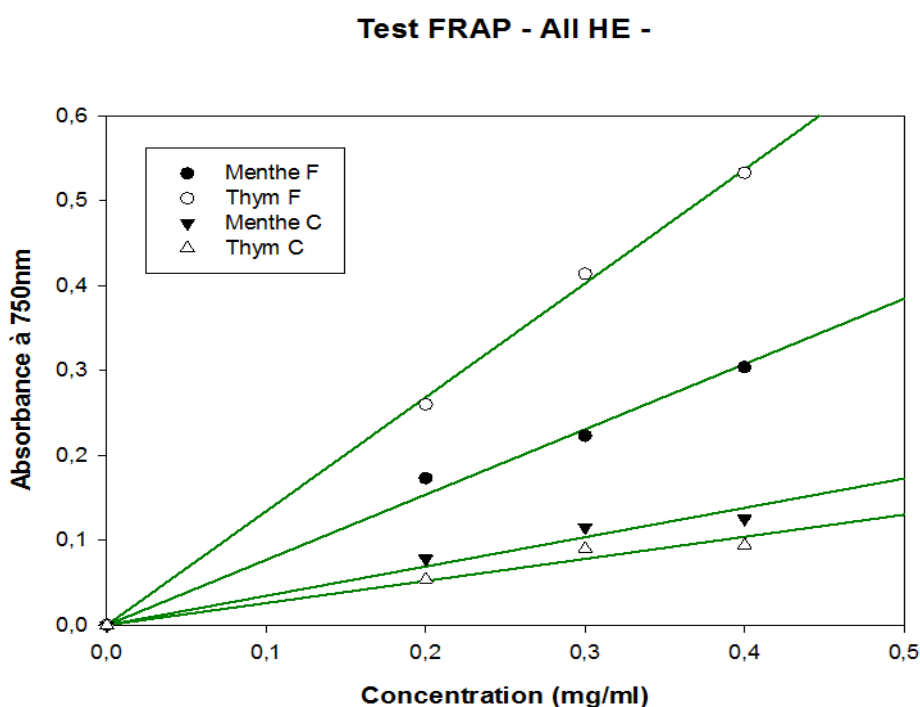


Figure 27 : Pouvoir réductrice de tous les huiles essentielles (fraichement extraits et les huiles essentielles commercialisées)

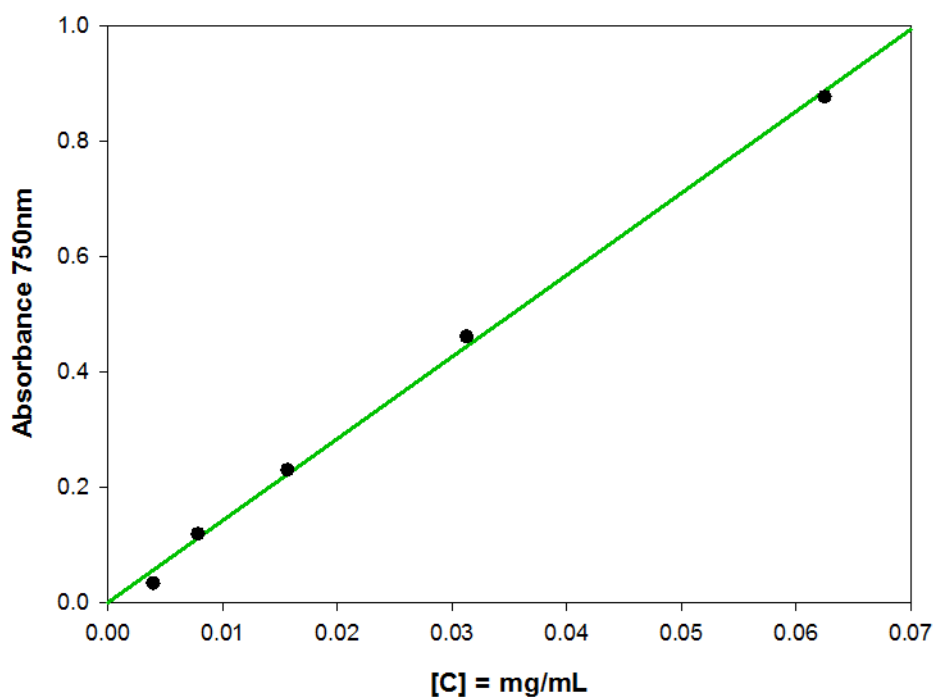


Figure 28 : Pouvoir antioxydant de Trolox, en (mg/ml) – Test FRAP

Les valeurs de TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity).ont été déterminées pour nos huiles essentielles à partir de la représentation graphique (figure 28).Les valeurs de TEAC sont regroupées dans le histogramme suivant :

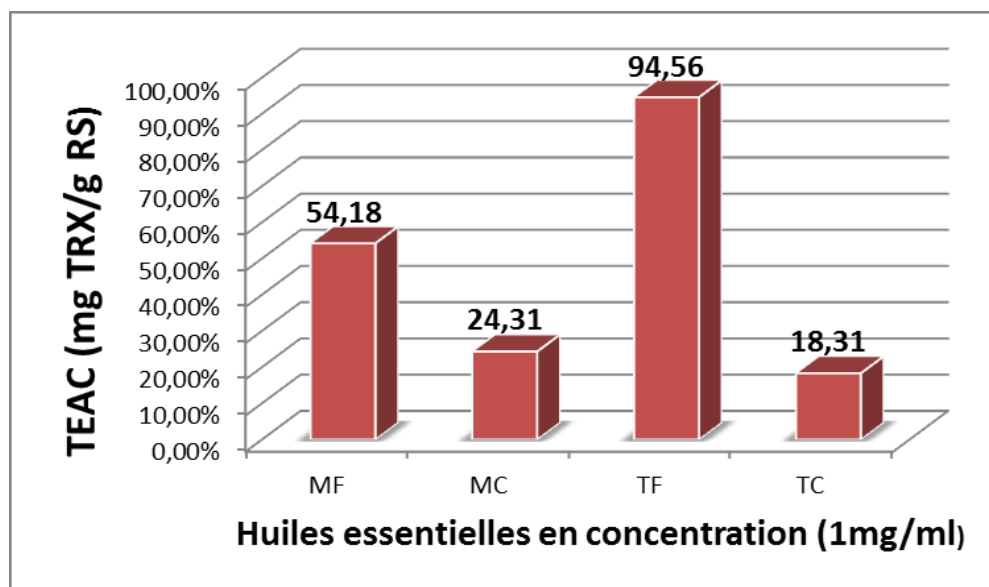


Figure 29 : Histogramme présente les valeurs de TEAC des huiles essentielles par le test FRAP.

La variation des valeurs de TEAC a montré qu'elle existe une différence significative entre les différentes huiles essentielles analysées (**Hinneburg et al., 2006**). Les concentrations analysées, a montré la plus haute capacité de réduction ferrique pour le thym (194,56 TEAC).

D'autre part, il a été démontré dans une étude réalisée sur différents types d'huiles essentielles que celles qui sont riches en thymol et carvacrol qui possèdent des groupements hydroxyles ont un pouvoir réducteur plus élevé que les huiles qui sont pauvres en phénols (**Hazzit et al., 2009**). En outre, d'autres composés tels que les alcools (linalool et 1,2-cineol), les cétones (menthone et isomenthone), les aldéhydes (neral et citronellol), les esters et les hydrocarbures (α -terpinène et α -terpinène) peuvent contribuer à l'activité antioxydante des huiles essentielles en agissant en synergie (**Edris et al., 2007**). De plus, l'activité antioxydante des deux huiles essentielles serait liée à la présence des composés phénoliques dans l'huile essentielle. Le rôle principal de ces composés comme réducteurs des radicaux libres a été souligné dans plusieurs rapports (**Villano et al., 2007**).

D'après les travaux qui ont été menés par (**Aboutaleb et Bouzouada, 2018**) sur l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles commercialisées contre différentes levures pathogènes, ils ont trouvé aussi l'activité antimicrobienne des huiles essentielles commerciales faible. Ce travail confirme l'efficacité et l'action des huiles essentielles commerciales reste toujours faible.

L'objectif de ce travail est, l'étude comparative de l'activité antioxydant des huiles essentielles commerciales (de la marque CAPTAIN de la société Egyptienne) et les essentielles fraîchement extraites, de deux plantes aromatiques de la région de El-Bayadhe (*Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*). L'extraction des huiles essentielles de ces deux plantes ont été extraite à l'aide du procédé d'hydrodistillation par l'appareil de *Clevenger*. Un rendement d'extraction élevé est obtenu pour *Thymus vulgaris* (1,08%) tandis que *Mentha piperita* a le rendement faible (0,9%). Nous avons calculé l'indice de réfractions qui indiquent la pureté d'huile essentielles des différents échantillons et nous avons trouvé une grande variation entre huiles essentielles fraîche et l'huiles essentielles commerciales. L'évaluation de l'activité antioxydant ce fait par trois méthodes tel que DPPH•, ABTS•+, FRAP. Nous avons calculé le pourcentage d'inhibition pour faire la comparaison entre des huiles essentielles commercialisé de la marque CAPTAIN de la société Egyptienne et l'huile fraîchement extrait.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, et la méthode d'ABTS+ et FRAP .des huiles essentielles fraîchement extraits a montré que nos échantillons qui possèdent des valeurs de activité antioxydante importants par rapport des huiles essentielles commerciales : *Thymus vulgaris* :(DPPH = 47,70%) ;(ABTS=99,86%) ;(FRAP = 94,56) et la *Mentha piperita* :(DPPH = 16%) ;(ABTS = 95, 26%) ;(FRAP = 54,18) et les huiles commerciales possèdent une activité antioxydante : *Thymus vulgaris* : (DPPH = 14,88%) ;(ABTS = 32,57%) ;(FRAP = 18,31) et *Mentha piperita* : (DPPH = 09 ,40%) ;(ABTS = 18,57%);(FRAP = 24,31), qui signifié l'efficacité de l'activité antioxydante de huiles essentielles fraîche. D'après notre résultats nous avons constaté que nos huiles essentielles présent un pouvoir antioxydant remarquable par rapport l'huiles essentielles commerciales.

Perspective

Cette étude améliore nos connaissances sur l'activité antioxydante des huiles essentielles commerciales mais dans l'étude supérieure, on a besoin d'utilisé une autre activité comme (activité anti-inflammatoire) et d'autre analyse chimique comme (le profil chromatographique en phase gazeuse). C'est la meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle. Il permet de connaître très exactement la composition chimique d'une huile essentielle commerciale.

Attou A, (2017), Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques de l'ouest algérien (région d'Ain Témouchent) étude de leurs activités antioxydants et antimicrobienne, (thèse de doctorat), Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 101pp.

Aubert E, (2016), Prise en charge thérapeutique de l'acné : place de l'aromathérapie à l'officine, (thèse de doctorat), Université de Poitiers, 118 pp.

Abadlia M, chebbour AH, (2014), Etude des huiles essentielles de la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires, (diplôme de Master), Université de Costantine 1.

Amarti F, Satrani B , Ghanmi M , Aafi A , Farah A, Lotfi A, El Ajjouri M , Guedira A et Chaouch A , (2013), Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc, Acta Bot. Gallica, 158 (4), 513-523.

Abdelli W, (2017), Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*, (thèse de doctorat), Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, 178 pp.

Amarti F, Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Aarab L, et Chaouch A, (2010), Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 14(1), 141.

Aeschbach R, Loliger, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B et Aruoma OI. (1994), Antioxidant action of thymol carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol, Food Chem Toxicol. 32. 31-36.

Aboutaleb et Bouzouada,(2018), Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles commercialisées contre différentes levures pathogènes en microbiologie, (Diplôme de master), Université Amar Telidji Laghaout. 48 PP.

Baschieri A, Ajvazi M, Tonfack J L F, Valgimigli L, (2017), Explaining the antioxidant activity of some common non-phenolic components of essential oils, Food Chemistry 232 :656–663 .

Bendif H, (2017), Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. et Reut.) Greuter et Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord et Fourr, (thèse de doctorat), l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger, 154 pp.

Benyamina- Behadada A, (2017), Etude des effets de l'extrait d'*Artemisia absintium* L. Chez les rats intoxiqués au plomb. Etude neurocomportementale, biochimique et in silico de composés d'*Artemisa*

absinthium L. A potentiel thérapeutique ciblant les récepteurs du système Nerveux Central, (thèse de doctorat), Université d'Oran 1, 213 pp.

Blandine G, (2006), Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®, (thèse de doctorat), Université Joseph Fourier - Grenoble 1, 195 pp.

Baratli Y, (2016), Etude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe₃O₄) chez le rat : analyses mitochondriales et du stress oxydant, (thèse de doctorat), Université de Strasbourg et Université de Carthage, 137 pp.

Belyagoubi N, (2012), Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, (thèse de doctorat), Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 108 pp.

Benhamdi A, (2014), Etude des enzymes de stress oxydatif chez *Hedysarum pallidum Desf.* Et *Lygeum spartum L.* en réponse à la pollution du sol par l'intimoine, (thèse de doctorat), Université Constantine 1, 104 pp.

Benabdallah A, (2017), Etude écophysiologique, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie), (thèse de doctorat), Université des Frères Mentouri Constantine 1, 142 pp.

Bereksi Reguig Y, (2016), Interactions entre l'huile essentielle de *Thymus capitatus*, *Mentha piperita* et *Carthamus caeruleus*, et de leur composants majoritaires : Effet du synergisme ou d'antagonisme sur l'activité antioxydante, université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, 48 pp.

Brian M L, (2007), Mint the Genus *Mentha*, CRC Press is an imprint of the Taylor and Francis Group, an informa business, 527 pp.

Benbelaid F, (2015), Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire, (thèse de doctorat), université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 122pp.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A et Lgic R. (2008). Phenolic as antioxydants in garlic (*Allium sativum L, Alliaceae*), Food Chemistry, 925-929, 111pp.

Bouhdid S, Abrini J, Baudoux D, Manresa A, Zhiri A, (2012), Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action, J Pharm Clin, 31 (3) : 141-8.

- Bessah R, Benyoussef E-H, (2015),** La filière des huiles essentielles état de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques, Revue des Energies Renouvelables Vol, 18 N°3 513 – 528.
- Berker, K , I, Guclu, K, Tor, I Apak, R. (2007).** Comparative evaluation of Fe(III) reducing powerbased antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. Talanta, 72(3), 1157-1165.
- Brand-Williams, W, Cuvelier, M, E, et Berset, C, (1995),** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technology, 28, 25-30.
- Combalot M, (2013),** L'Immortelle d'Italie (*Helichrysum italicum*) et son huile essentielle, (thèse de doctorat), Université Joseph fourier ,110 pp.
- Chibani S, (2013),** Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est Algerien, (thèse de doctorat), Université Constantine 1, 199 pp.
- Carange J, (2010),** Rôle Antioxydant et Anti-apoptotique des Brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de Neuroprotection, Université du Québec, 125 pp.
- Cuvelier C, Dotreppe O, Istasse L, (2003),** Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E, Ann. Méd. Vét, 147, 315-324.
- Cerou S, (1994),** Radicaux libres et pathologie humain actualisation et perspectives d'avenir, Université de Limoges, 188 pp.
- Charlotte SY, (2011),** Nouveaux caroténoïdes issus de bactéries marines : étude de leur stabilité, de leur pouvoir antioxydant et de leur biodisponibilité à l'aide de modèles chimiques et biologiques. Comparaison avec les propriétés fonctionnelles de caroténoïdes de référence, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, 478 pp.
- Caillot C, (2004),** L'oxygene a usage medical: Dispensation, Indications, Toxicite, Rôle du Pharmacien,(thèse de doctorat), Université Henri Poincare - Nancy I, 119 PP.
- Daouda T, (2015),** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire, (thèse de doctorat), Université Félix Houphouët- Boigny, 116 pp.

Dahou A et Bouakkaz M, (2015), Etude des activités antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques, Université Amare Thelidji- Laghouat

Eleonore C, 2012, Caractérisation fonctionnelle de la glutathion peroxydase 5 murine, Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, (thèse de doctorat), Université Blaise Pascal N°D.U. 1913,124 pp.

Edris AE, (2007), Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. phytotherapy research, Vol.21,308-323 pp.

Florence M, (2012), Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, (doctorat en pharmacie), Université de Lorraine, 92 pp.

Fabrice R, Karine B, Jean-Michel G, Jean-François G, Roland F, Michel B, Catherine G, (2009), Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage, Journées Recherche Porcine, 41, 173-178.

Gardès-Albert M, D Bonnefont-Rousselot, Abedinzadeh Z et Jore D, 2003, Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, P (91-95).

Goudjil MB, Ladjel S, Bencheikh SD, Zighmi S, (2015), Influence du séchage sur le rendement de l'extraction des huiles essentielles de *Mentha Piperita*, 5^{ème} Séminaire Maghrébin sur les sciences et les Technologies du Séchage, Université Ourgla.

Hiltenbrand V, (2016), Place de la peroxydation lipidique dans les effets deleteres des uv-a : mise en evidence des haptenes amino-imino-propene interets potentiels des antioxydants lipophiles en cosmetologie, Université Joseph Fourier 1, 110 pp.

Hammoudi R, Dehak K, Hadj Mahammed M, Didi Ouldelhadj M, 2015, Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *deverra scoparia coss* et *dur*. (apiaceae), Le banese Science Journal, Vol. 16, No. 2.

Hinneburg I, Dorman D H J, Hiltunen R, (2006), Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry, 97, 122–129.

Hazzit M, Baaliouamer A, Veríssimo AR, Faleiro ML, et Miguel MG, (2009), Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus oils. Food Chemistry, 116, 714–721.

Haddouchi F, Lazouni HA, Meziane A, Benmansour A (2009), Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss et Reut Afrique Science 05(2), 246 – 259.

Iserin P, (2001), Larousse encyclopédie des plantes médicinales (Identification, préparation, Soins), 2ème Edition, copyright(c)1996, 335 pp.

Labiod R, 2016, Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide, (thèse de doctorat), Université Badji Mokhtar-Annaba, 211 pp.

Laib I, 2011, Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Université Mentouri Constantine, 94 pp.

Laghouiter O.K, Gherib A, Laghouiter H, 2015, Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa, Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes, Vol.8 n°1 (2015) : 84 – 93.

Marianne P, (2008), Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse, (thèse de doctorat), Université du Québec à Chicoutimi, 200 pp.

Magali M,(2013), Origine et conséquences du stress oxydant, (doctorat en pharmacie), école nationale vétérinaire d'alfort, 113 pp.

Massion P, Preiser J-C, Balligand J-L, (2002), Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ? Reactive nitrogen species: deleterious or not ?, Nutrition clinique et métabolisme 16, 248–252.

Migdal C, Serres M, (2011), Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant, médecine/sciences ; 27: 405-12.

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

Mini-Dukic N, Bozin B, Skovic M , et Simin N, (2004), Antimicrobial and antioxidant activities of melissa officinalis. Food Chem, 52, 2485-2489.

Montoro E, Lemus SD, Echemendia M, Martin A, Portaels F et Palomino JC, (2005), Comparative evaluation of the nitrate reduction assay, the MTT test and the resazurin microtitre assay for drug susceptibility testing of clinical isolates of Mycobacterium, Tuberculosis. Journal of Atimicrobial Chemotherapy, 55, 500-505.

Masso, Réflaxo,(2007), L'aromathérapie et les huiles essentielles, sans édition, 82 p.

Michel F, Bonnefont-Rousselot D, Mas E, Draï J, Thérond P, 2008, Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques, Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects, Ann Biol Clin, 66 (6) : 605-20.

Mastelic J, Jerkovic I, Blazevic I, Poljak-Blazi M, Borovic S, Ivancic-Bace I, Smrecki V, Zarkovic N, Brcic-Kostic K, Vikic-Topic D et Muller N, (2008), Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 3989–3996.

Ndzeli Likibi B, Gouollaly Tsiba, Madiélé A.B, Nsikabaka S, Moutsamboté J.M. , Ouamba J.M, 2015, Constituants chimiques de l'huile essentielle de *Mentha piperata* L. (Lamiaceae) du Congo, Journal of Applied Biosciences 92:8578 – 8585

Oueslati K, 2017, Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de fenton dans un milieu mimétique de la viande, (thèse de doctorat), Université Clermont auvergne ,210 pp.

Ouis N, (2015), Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de Persil, Université d'Oran 1, 223 pp.

Pierron C,(2014), Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France: exemples d'applications en gériatrie gérontologie et soins palliatifs, Université de Lorraine, 256 pp.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A , Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med, 26(9-10), 1231-1237.

Singh R, Shushni M.A.M, Belkheir A,2015, Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L, Arabian Journal of Chemistry, 8, 322–328.

Sylvain S, (2010), Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats, (thèse de doctorat), Université de Corse Pascal Paoli, 213 pp.

Serteyn D, Mouithys –Mickalad A, Franck T, Grulike S, Lamy M, Deby C, Deby-Dupontag, (2002), La nature chimique et la réactivité de l'oxygène, Ann,Méd,vét, 146,137-153.

Taleb-Toudert K, 2015, Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruché du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), 160 pp.

Tony P, 2016, Bon usage des Huiles Essentielles, Effets Indésirables Et Toxicologie, Faculté de Pharmacie, Université de lorraine 87 pp.

Zerargui F, (2015), Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives, (thèse de doctorat), Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Zeghib A, (2013), Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*, (thèse de doctorat), Université Constantine 1, 250 pp.

INTRODUCTION

CHAPITRE I :

Les huiles essentielles

CHAPITRE II :

Le stress oxydatif

CHAPITRE III :

Matériel et Méthodes

CHAPITRE IV :

Résultats et discussion

CONCLUSION

Références Bibliographiques