

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة عمار تليجي بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

Département Des Sciences de la matière



Mémoire de MASTER

Domaine : Sciences de la matière
Filière : Chimie
Option : Chimie organique appliquée

Par :

DJAMATE FATIMA ZAHRA

THEME

Etude de l'activité antioxydante des extraits
phénolique et huiles essentielles d'*Ocimum Basilicum*
de la région locale de Laghouat

Soutenu publiquement devant le jury composé de:

<i>Mr. SAIDAIT BOUBAKER</i>	<i>M.C.A</i>	<i>Président</i>
<i>Mr. BAKCHICHE BOULANOUAR</i>	<i>M.A.A</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr GHERIB ABDELAZIZ</i>	<i>M.C.A</i>	<i>Promoteur</i>
<i>M^{elle} NOUREDDINE ASMA</i>	<i>M.A.B</i>	<i>Co- promotrice</i>

Année Universitaire 2013/2014

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents

À mon frère

À tous les membres de ma famille

*À mes amies et toute personne avec qui je
partage un beau Souvenir*

À mes camarades de promotion 2014

Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à « Dieu le Tout Puissant » de m'avoir donné le courage et la santé pour achever ce travail.

Au moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.

*En premier lieu, j'exprime toute ma reconnaissance envers les membres du jury. Qu'il me soit permis de remercier très sincèrement Monsieur **SAIDAIT BOUBAKER** pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury et pour son aide et ces conseil aux long des années d'étude licence et Master.*

*Je remercie également Monsieur **BAKCHICHE BOULANOUAR** de me fait l'honneur d'accepter d'examiner mon mémoire de master et pour ses conseils qui ont participé à la clarification du mémoire et les indications qu'il m'a fournies se sont révélées extrêmement fructueuses*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Monsieur **GUERIB ABDELAZIZ** pour avoir accepté la direction de ce mémoire, pour avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire. Ses compétences scientifiques et son efficacité ont fortement contribué à la réalisation de ce mémoire.*

*Je remercie également Melle **Noureddine Asma** comme Co-promoteur, je lui exprime mes sentiments de reconnaissances les plus sincères pour sa précieuse aide, ses encouragement et ses conseils.*

*Une pensée particulière pour monsieur **Taouti Mohamed** pour l'accueil et les conditions matérielles qui m'ont été offertes.*

*Je remercie également toute l'équipe de Laboratoire M^{elle} **GUNANE HADJIRA**, Melle **SAMIRA Chéba, Abdelkader, El hadj** pour leurs aides et leurs conseils.*

Je tiens également à remercier, et à présenter toute ma gratitude aux enseignants de 2^{eme} Année master chimie.

Sans oublier mes chers parents, Mon Grand-père que seulement avec leurs sacrifices incessants, m'ont donné un espoir énorme de vivre les moments les plus précieux,

*Enfin je tiens à exprimer ma reconnaissance à mes amis de la bibliothèque principale Bachir Ibrahimi, pour leurs aides et soutiens en particulier **Akif Mohamed, Md Hamar Hayat, Amina ben Zayan et Hamid.***

*Mes remerciements vont aussi à tous mes amis et notamment mes intimes **Bedrina Meriem Soumaya, Zizi et Brahim** qui m'ont continuellement soutenus dans ma vocation et m'ont aidé surtout dans les moments les plus difficiles.*

Bien que toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici mes sincères remerciements.

Sommaire

Liste de la notation

Liste des tableaux

Liste des figures

I. Introduction générale	1
II. Matériels et méthodes	4
II.1. Matériel	4
II.1.1. Matériel végétal	4
II.1.2. Réactifs	6
II.2. Méthodes	7
II.2.1.Extraction des composées phénolique	7
II.2.1.1.Dosage des phénols totaux	9
II.2.1.2.Estimation de la teneur des flavonoïdes totaux	9
II.2.2. Détermination de taux d'humidité	9
II.2.3.Extraction d'huile essentielle	10
II.2.3.1.propriétés organoleptiques	10
II.2.3.2.Mesure des indices chimique	11
II.2.3.3.Mesure de grandeurs physique	11
II.2.4.Estimation du pouvoir antioxydant	13
II.2.4.1.Test de DPPH	13
II.2.4.2.Test de phosphomolybdate	15
III. Résultats et discussions	16
III.1.Extraction des composés phénolique	16
III.1.1. Quantification des phénols totaux	17
III.1.2. Estimation à la teneur de phénols totaux	17
III.1.3. Estimation de la teneur des flavonoïdes totaux	18
III.2. Le taux d'humidité	20
III.3. Extraction de l'huile essentielle	21
III.3.1.Propriété organoleptiques	22
III.3.2. Les indices physico-chimiques	22
III.4. Estimation du pouvoir antioxydant	24
III.4.1. Test de DPPH	24

III.4.2. Test de phosphomolybdate	26
IV. Conclusion générale	29
V. Références bibliographiques	31
VI. Annexe	36

Liste de notations

DPPH	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl
%	Pourcentage
µg	Microgramme
µl	Microlitre
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CG/SM	Chromatographie gazeuse couplé à la spectroscopie de masse
E.P.L	Extrait phénolique de laghouat
E.P.T	Extrait phénolique de Tadjmoute
Ec ₅₀	Concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres
g	Gramme
H.E	Huile essentielle
I.A	Indice d'acide
M	Molaire
Mg	Milligramme
ml	Millilitre
Nm	Nanomètre
PI	pourcentage d'inhibition
Uv	Ultraviolet
PPM	Phosphomolybdate
CP	composes phénolique
Ms	Matière sèche
NI	Non identifiée
N.A	Non active
SD	Standard déviation (écart type)
MO	Molybdate
H.C	Huile commercial
V	Volume

Liste des tableaux

Tableau 1 : Description botanique d'Ocimum basilicum	4
Tableau 2 : Caractéristiques de l'huile essentielle de Basilic	6
Tableau 3 : Réactifs et solution utilisé dans ce travail	6
Tableau 4 : Les rendements des extraits phénolique	16
Tableau 5 : Les teneurs en phénols totaux des extraits phénoliques	17
Tableau 6 : Teneur et pourcentages en flavonoïdes totaux des extraits	19
Tableau 7 : Rendements obtenus en huile essentielle de la partie aérienne d'Ocimum Basilicum	22
Tableau 8 : Les indices physico-chimique d'huile essentielle d'Ocimum Basilicum	23
Tableau 9 : Les valeurs d'EC ₅₀ des extraits étudiées mesurées par le test du DPPH	25
Tableau 10 : Les valeurs d'EC ₅₀ des extraits phénolique et huile essentielle par le test PPM	26

Liste des figures

Figure 1 : Carte géographique montrant les stations de récoltes des espèces végétales	4
Figure 2 : Protocole exprime l'extraction des composées phénolique	8
Figure 3 : Réduction de radical libre DPPH' en présence d'antioxydant	14
Figure 4 : Comparaison entre des taux de rendement en extraits secs des deux variétés de basilic	16
Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	17
Figure 6 : La teneur en polyphénols des extraits phénolique	18
Figure 7 : Courbe d'étalonnage de quercetine	18
Figure 8 : La teneur en flavonoïdes des extraits phénolique	19
Figure 9 : Comparaison entre les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans chaque région	20
Figure 10 : Taux d'humidité d'Ocimum Basilicum	21
Figure 11 : l'huile essentielle d'Ocimum Basilicum obtenue par hydro-distillation	22
Figure 12 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition (PI) en fonction des concentrations des différents extraits et la concentration en antioxydants vitamine C et E mesurées par le test du DPPH	25
Figure 13 : Classement croissant des extraits phénolique et étalant selon leurs EC ₅₀	26
Figure 14 : Courbes représentant la variation des absorbances en fonction des concentrations des différents extraites et de vitamine E et vitamine C à 695 nm mesurées par le test du phosphomolybdate.	28

Introduction générale :

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (*Gurib. F 2006*).

Bien qu'une grande partie du XX^{ème} siècle ait été consacrée à la mise au point des molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commencent à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines (*Hameurlaine. S, 2009*) . Au cours des dernières années, les infections ont augmenté et la résistance aux antibiotiques devient de plus en plus un problème thérapeutique. Les études nombreuses ont prouvé que les plantes médicinales peuvent donner une nouvelle source d'agents antimicrobiens, anti-oxydante, anti-inflammatoire, anti-cancérogène avec éventuellement de nouveaux mécanismes d'action (*Ramzi A. et al, 2005*), (*Aneta. W et al, 2007*). En effet, les produits chimiques auxquels les plantes médicinales leurs doivent plus souvent, leurs propriétés, appartiennent à cette catégorie de substances qu'on range habituellement aujourd'hui parmi les métabolites secondaires : polyphénols, alcaloïdes et huiles essentielles ... etc. (*Zarrou. B, 2012*)

Les composés phénoliques (CP) sont des métabolites secondaires, d'un poids moléculaire élevé. Ils sont largement distribués dans le règne végétal (*Keskas. N, 2011*) *On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont métabolisées, ces substances sont extrêmement complexes du point de vue structure et composition chimique. Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique (Basli. A et al, 2012). En plus, les CP ont plusieurs applications industrielles, comme dans la production des peintures, des papiers, des cosmétiques et en tant qu'agents tannants, mais aussi dans l'industrie agro-alimentaire en tant qu'additifs (comme colorants et conservateurs naturels) (Youssef .E, 2011) ce sont des molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être également estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides. Leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires*

(*Makhloufi .A, n.d.*) Les structures phénoliques de divers degrés de substitution d'un groupe alkyle peuvent être des composés phénoliques (tocophérols, des flavonoïdes et des acides phénoliques), des composés azotés (alcaloïdes, des dérivés de chlorophylle, des acides aminés et des amines) (*Velioglu. y et al, 1998*)

L'huile essentielle définit comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation et séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes (fleurs, feuilles, écorces, bois, racines). (*Boutiti .A, 2006*)

Les plantes aromatiques ont la particularité de renfermer au sein de leurs Organes sécréteurs, des cellules génératrices de métabolites secondaires où des molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène) et où les réactions d'addition de ces unités conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes et leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers et esters terpéniques. L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur caractéristique (*Mohammedi .Z, 2013*).

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (*Leon Raul H, 2005*).

Ce travail rentre dans le programme de recherche de notre laboratoire, c'est un axe qui s'intéresse à la valorisation des plantes sahariennes à caractère médicinal. Nous nous sommes proposé de caractériser qualitativement et quantitativement les polyphénols et les huiles essentielles qui peuvent être contenus dans la plante *Ocimum Basilicum* et l'évaluation de leurs activités antioxydants. Ce travail a été entrepris pour les raisons suivantes :

- Importance commerciale de ce plant, principalement utilisé comme plante alimentaire.
- Faire un screening chimique des extraits (l'extraction des composés phénolique et falvonoidiques).
- Faire un screening biologique (activité antioxydante), des extraits par deux méthodes DPPH et phosphomolybdate.
- Leur utilisation efficace souvent dans le traitement traditionnel de diverses maladies.

A travers ce travail, nous s'intéressons à étudier la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes existant dans deux région de Laghouat et les propriétés physico-chimique des huiles essentielles et commerciales

De même, nous s'intéressons à l'évaluation de l'activité antioxydant par deux tests. Le choix des tests est finalement fixé sur une analyse mesurant le pouvoir des extraits phénoliques et huiles essentiels de basilique (*Ocimum Basilicum*) balayer le radical stable DPPH, et de réduire le molybdate (VI) au Molybdate (V).

II. Matériels et méthodes :

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel végétal :

Le matériel utilisé au cours de notre étude consiste de la partie aérienne de la plante de basilic (*Ocimum Basilicum* L) a été récolté de deux station de la wilaya de Laghouat (**figure 1**) au mois d'avril 2014, les espèces ont été séchées à l'ombre dans un endroit bien aérée, ensuite les parties végétales ont été bien conservées jusqu'à leur utilisation.

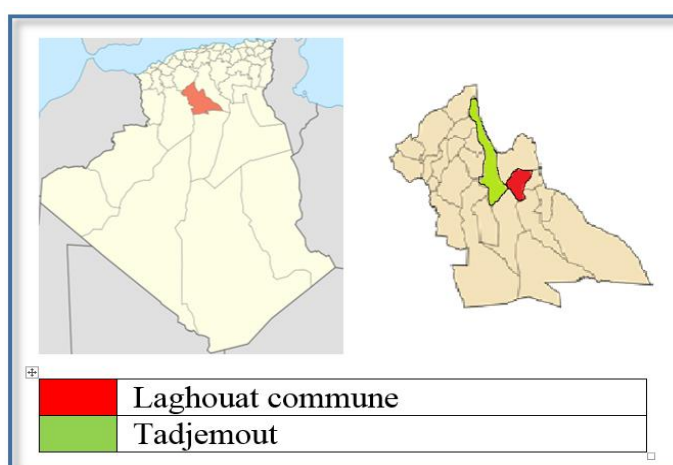



Figure 1 : carte géographique montrant les stations de récoltes des espèces végétales

Tableau 1 : description botanique d'*Ocimum Basilicum*

Description	Photos
<p>Dénomination internationales (يحيي محمودي) : Français : Basilic Anglais : basil Arabe : جومر (اليمن) ريجان. Alegria : حبق (HABEQ)</p> <p>Classification botanique : (Christopher. S, 2009)</p> <p>Règne : <i>Plantae</i> Division : <i>Magnoliophyta</i> Classe : <i>Magnoliopsida</i> Ordre : <i>Lamiales</i> Famille : <i>Lamiaceae</i> Genre : <i>Ocimum</i></p>	 <p>La plant</p>

- **Description :**

Le basilic (*Ocimum Basilicum*) est une plante de la famille des Lamiacées largement utilisé comme plante condimentaire pour ses propriétés culinaires. (*Harnafti. H et al, 2010*)

Une plante mesure de 20 à 60 cm de haut, possède des feuilles ovales-lancéolées, atteignant 2 à 3 cm. Les feuilles sont vert pâle à vert foncé, parfois pourpre violet chez certaines variétés.

Les tiges dressées, ramifiées, ont une section carrée comme beaucoup de labiées. Elles ont tendance à devenir ligneuses et touffues. Les fleurs, bilabiées, petites et blanches, ont la lèvre supérieure découpée en quatre lobes. Elles sont de petite taille et groupées en longs épis tubulaires, en forme de grappes allongées. Les graines fines, oblongues, sont noires
Cultivé sans pesticides et sans engrais chimiques (*Christopher .S, 2009*)

- **Historique** (*Ángel. C et al 2012*) :

Le basilic (*Ocimum basilicum* L.) est une plante culinaire populaire originaire de l'Inde, l'Afrique et l'Asie du Sud et aujourd'hui cultivée dans le monde entier

- **Utilisation :**

De nos jours, la plante est utilisée non seulement pour la cuisine, mais aussi dans les parfums commerciaux, les arômes, et pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires (*Phuong. M et al 2010*).

Il est traditionnellement utilisé pour le traitement des voies respiratoires et urinaires inflammation, de la toux, l'asthme, extrait de basilic a des antimicrobiens et des activités antioxydants en raison de sa composés phénoliques et aromatiques (*Snezana. F et al 2014*). Il a aussi une action calmante et antispasmodique indéniable qui s'ajoute à ses propriétés digestives (*Jean. P, 1983*).



Les feuilles et les branches




Les fleurs



Les Fruits

Tableau 2 : Caractéristiques de l'huile essentielle de Basilic

<i>Caractéristiques</i>	<i>Photo</i>
<p>Organoleptiques :</p> <p>Aspect : liquide huileux limpide</p> <p>Couleur : jaune clair</p> <p>Odeur : fraîche et herbacée. (Aïboud. K, 2012)</p> <p>Saveur : chaude</p> <ul style="list-style-type: none"> L'huile essentielle de basilic est un puissant antispasmodique calmant les douleurs gastro-intestinales et hépatiques. Elle régule également le système neurovégétatif.(Antoine. G, n.d) 	 <p>Huile essentielle des feuilles de basilic</p>

II.1.2. Réactifs :

Tableau 3 : Réactifs et solution utilisé dans ce travail

Acide sulfurique	Sigma- aldrich
Trichlorure d'aluminium hydraté	
Acétate d'éthyle	
Ethanol absolute	
Acide ascorbique(vitamine C)	
Folin-Ciocalteau	
Alpha-tocophérol (vitamine E)	
Hexane	biochem
Carbonate de sodium	
Phosphate de sodium	Riedel-de haen
Molybdate d'amonium	
Sulfate d'ammonium	fluka
Acide Gallique	
Acide orthophosphorique (H ₃ PO ₄)	
d'hydroxyde de potassium	RIEDEL-DE HAËN
1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)	Aldrich

II.2. Méthodes :

II.2.1.extraction des composés phénolique :

Une quantité de 2 g de poudre végétale est soumise à une macération dans un mélange hydroalcoolique (éthanol/eau 160/40: v/v) durant 48 heures à température ambiante et à l'obscurité, avec renouvellement du solvant toutes les 24 heures (*Hammoudi. R et al 2012*). Après élimination de l'éthanol sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 45°C, la phase aqueuse est lavée trois fois avec demi volume d'hexane jusqu'à l'épuisement des pigments, Ensuite La phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle en présence d'une solution aqueuses de 20 % de sulfate d'ammonium ((NH₄)₂SO₄) et 2% d'acide ortho-phosphorique (H₃PO₄) qui facilitent le passage des composés phénoliques dans la phase organique. L'extrait est alors évaporé sous pression réduite à 40°C .(*Djeridane. A et al., 2006*) .Les résidus secs pesés, sont repris par 20 ml d'éthanol et maintenu à 6°C (*Benhammou. N, 2011*) (**figure 2**).

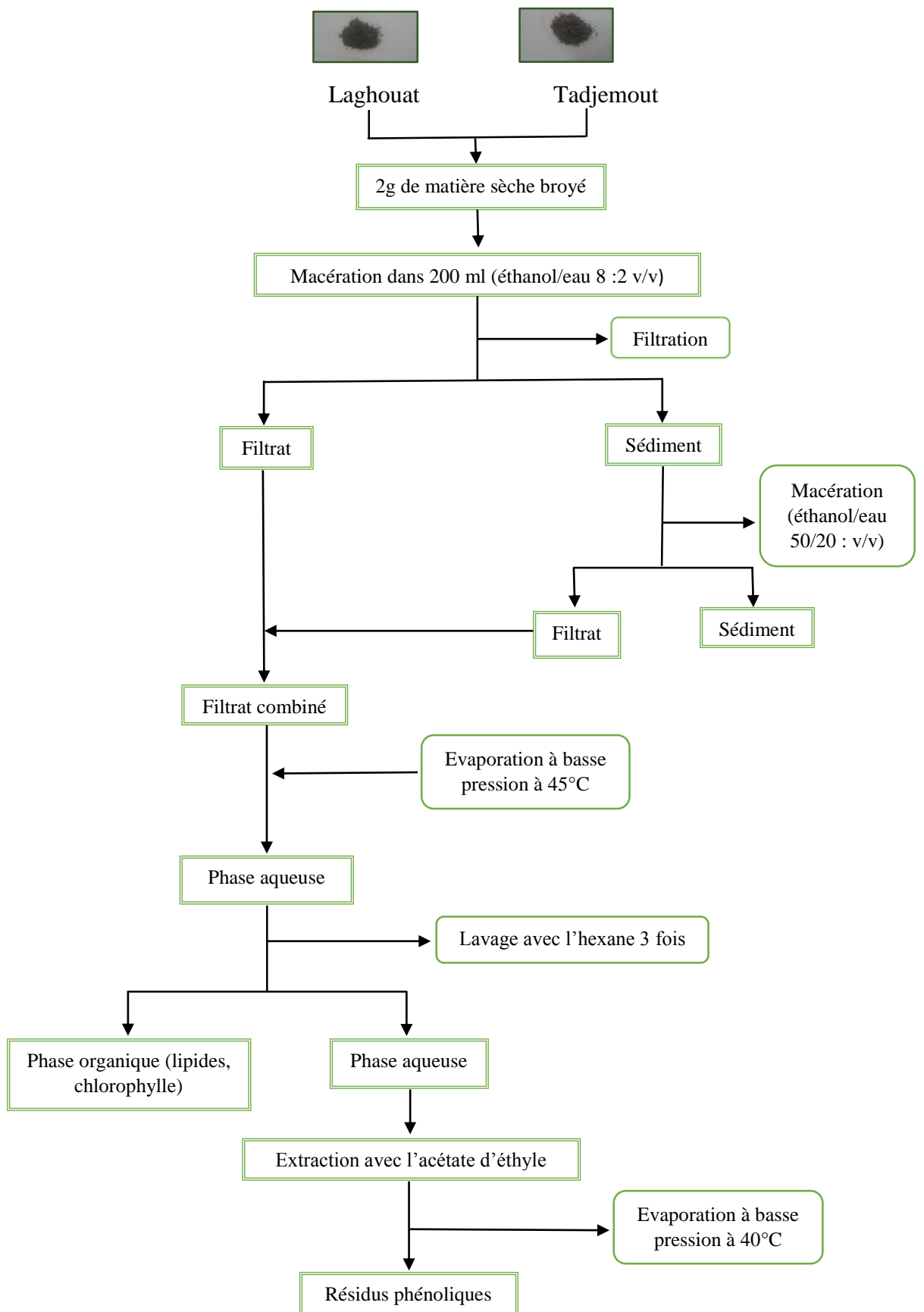


Figure 2 : Protocole exprime l'extraction des composées phénolique.

II.2.1.1. Dosage des phénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross en 1965 avec le réactif de Folin–Ciocalteu. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_4$), qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm (*Ez-zohra N., 2009*) (*Maamri. S. 2008*).

À 250 μ l d'extrait dilué est ajouté 1 ml de la solution de Folin–Ciocalteu (10%). Après agitation on ajoute 1 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%), après 30 min d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 760 nm contre un blanc. en utilisant l'acide gallique comme standard. L'absorbance est mesuré à 760 nm et les résultats sont exprimés en mg EAG/g du poids sec de matériel végétal.

II.2.1.2. Estimation de la teneur des flavonoïdes totaux :

La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure de l'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (*Basli. A, et al 2012*).

1.5 ml de l'échantillon diluées ajouté à 1.5 de solution $AlCl_3$ (2%), le mélange est vigoureusement agité. Après incubation à température ambiante pendant 15 min, l'absorbance du mélange de réaction a été mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

II.2.2. Détermination de taux d'humidité :

La teneur en eau et en matière volatiles (ou humidité) relative, correspond à la perte de masse subie par l'échantillon après chauffage dans une étuve à une température définie jusqu'à poids constant ou bien à l'air libre. La teneur en eau et en matières volatiles est exprimée en pourcentage massique. (*AFNOR*).

$$H\% = \frac{\alpha - \beta}{\alpha} \times 100$$

Avec $H\%$: taux d'humidité.

α : Poids de l'échantillon « plante fraîche »

β : Poids de l'échantillon « plante sèche »

II.2.3. Extraction d'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation pendant une durée de 04 heures. En utilisant un hydrodistillateur. Dans un ballon de 2000 ml, nous avons introduit 150g de la partie aérienne de la matière végétale imprégné de l'eau. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. En principe, les essences commencent à être distillées dans les deux premières heures. Le distillat ainsi obtenu a été introduit dans une ampoule à décanter dans lequel 100 ml d'eau salée a été ajouté (la solubilité de l'essence dans l'eau salée étant très faible, on ajoute l'eau salée pour bien séparer l'essence et l'eau). L'huile essentielle obtenue introduite dans un flacon en verre sombres hermétiquement fermés et conservé au réfrigérateur à une température de 4°C. (*Patrick .A et al, 2012*), (*Steve De Cliff, 2013*).

- **Le Rendement en huiles essentielles :**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante: (*kolai .N et al., 2012*).

$$R = \frac{P_x}{P_y} \times 100$$

R : Rendement de l'huile en pourcentage.

P_x : Poids de l'huile en gramme.

P_y : Poids de la matière végétale en gramme.

II.2.3.1. Propriétés organoleptiques :

La connaissance d'indices physiques et chimiques est importante puisqu'elle permet de caractériser voire d'identifier une huile essentielle (*lazouni H.et al , 2007*).

II.2.3.2. Mesure de l'indice chimique :

Indice chimique :

Il s'agit de l'indice d'acide. Cette propriété est indispensable, mais pas assez, pour la détermination de la qualité d'une huile essentielle.

- **L'indice d'acide :**

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. (*AFNOR*).

Dans un ballon introduire une prise d'essai 0.1 g d'H.E solubilisé dans 20 ml d'éthanol le mélange dosée par une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium KOH/EtOH (0.005 M) en présence de l'indicateur coloré phénolphtaléine. L'indice d'acide est calculé par la formule suivante : (*AFNOR*).

$$I.A = \frac{56.11(V \times C_{KOH})}{m}$$

Avec

I.A : indice d'acide

56.11 : Masse molaire de KOH en g/mol.

V : Volume de la solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium en ml.

C_{KOH} : Concentration de la solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium.

m : Masse d'H.E prise en g.

II.2.3.3. Mesure de grandeurs physique :

- **La densité relative à 20 °C (d_{20}^{20}) :**

La densité relative à 20 °C est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à la masse d'un volume égale d'eau distillée à 20 °C. (*AFNOR*)

A l'aide d'une micropipette, pesées successives de volumes égaux d'huile essentielle et d'eau.

La densité relative est calculée par la formule suivante : (*AFNOR*)

$$d_{20}^{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

d_{20}^{20} : la densité relative à 20 °C

m_0 : Masse de densimètre vide en g

m_1 : Masse de densimètre rempli d'eau en g

m_2 : Masse de densimètre rempli d'huile essentielle en g

- **L'indice de réfraction à 20 °C (n_D^{20}) :**

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. (*AFNOR*)

L'indice de réfraction a été déterminé avec le réfractomètre du laboratoire ; ce nombre caractérise la capacité d'un composé à dévier la lumière. L'HE a été déposée la surface en verre puis enfermée dans un dispositif optique pour la lecture de l'indice. L'indice de réfraction est calculé par la relation suivante : (*AFNOR*)

$$n_D^{20} = n_D^T + 0.0004 \times (T - 20)$$

Où

n_D^{20} : L'indice de réfraction

n_D^T : Indice de réfraction obtenue à la température de laboratoire

T : Température de laboratoire

0.0004 : Coefficient de correction

- **Le pouvoir rotatoire a_{20}^{20} à 20 °C :**

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est un angle exprimé en milli radians et/ou degrés d'angle dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde 589.3 nm \pm 0.3 nm, correspondant aux raies D du sodium (*AFNOR*).

A l'aide d'un polarimètre. On remplit le tube polarimétrie par une solution éthanoïque d'huile essentielle avec une concentration bien déterminé, en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée. On place le tube dans le polarimètre et lire l'angle de rotation dextrogyre (+) ou lévogyre (-), le pouvoir rotatoire est calculé par la relation suivante : (*AFNOR*).

$$a_{20}^{20} = \frac{A}{(l \times C)}$$

Ou

a_{20}^{20} : Le pouvoir rotatoire à 20 °C

A : Angule de rotation observé en milli radians et/ou degré

l : Longueur du tube utilisé en millimètres

C : Concentration de la solution d'H.E en g/ml

- **Miscibilité à l'éthanol :**

Un des tests les plus simples pour contrôler la conformité d'une huile essentielle est l'évaluation de la miscibilité avec des mélanges éthanol/eau dans des proportions données. La mesure se fait par addition graduelle d'une solution d'éthanol de titre alcoométrique donné à une petite quantité d'huile essentielle jusqu'à apparition d'un trouble ou d'une opalescence persistante. (*Xavier .F et al , 2012*)

II.2.4. Estimation du pouvoir antioxydant :

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de nos extrais des composés phénoliques a été réalisée par deux techniques chimiques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), le test de phosphomolybdate.

II.2.4.1. Test de DPPH :

Cette méthode, est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH^{*} en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (H), qui aboutit à la formation d'une forme non-radicalaire, le DPPHH: (figure 3) (*Stratil.P et al, 2008*)

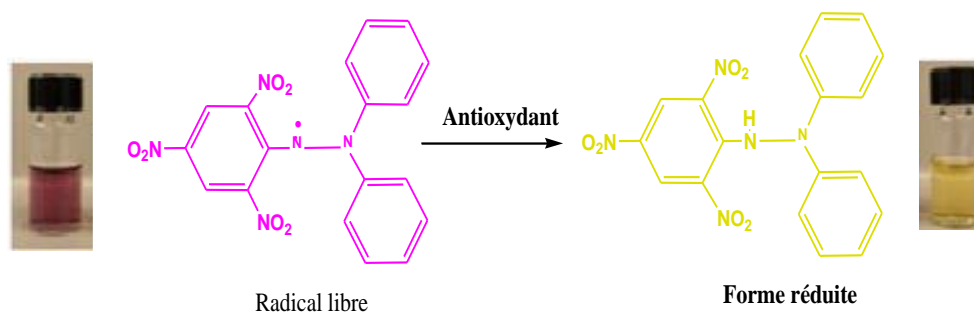


Figure 3 : Réduction de radical libre DPPH[•] en présence d'antioxydant

Le substrat d'oxydation est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule d'antioxydant, se transforme en DPPH[•], cette réduction peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm (*Hadbaoui .Z, 2007*).

100 µL de diverses concentrations de l'extrait ont été ajoutés à 3.9 ml d'une solution éthanolique de DPPH (60 µM). Le mélange a été vigoureusement secoué, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante. L'absorbance du mélange a été mesurée à 517 nm. Un mélange du 100 µL d'éthanol et de 3.9 ml de solution de DPPH a été utilisé comme blanc.

L'activité de balayage sur le radical de DPPH a été exprimée en pourcentage d'inhibition en utilisant l'équation suivante (*Hanane .E et al., 2010*)

$$\% \text{ Inhibition} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100$$

Avec

% Inhibition : pourcentage d'inhibition

A_0 : Absorbance de la solution de DPPH sans l'extrait

A_1 : Absorbance de la solution de DPPH en présence des extraits

II.2.4.2. Test de phosphomolybdate (PPM) :

La capacité réductrice des extraits phénolique et des H.E a été évaluée par la méthode de Prieto et al. (1999). Le test est basé sur la réduction de Molybdate (MO) (VI) au Molybdate (V) en présence de l'antioxydant, et la formation d'un complexe de Molybdate Phosphate de couleur verte ,qui est détectée par spectrophotométrie en mesurant le changement de l'absorption à 695 nm (*Aliyu, A.B et al, 2012*)

À 200 µl de chaque dilution des extraits phénolique et H.E ont été préparés dans l'éthanol respectifs et combinés dans un tube avec 2 ml de solution de réactif phosphomolybdique contenant (0.6 M de l'acide sulfurique (H₂ SO₄), phosphate de sodium (28 mM) et molybdate d'ammonium (4 mM)). Les tubes ont été incubés pendant 90 minutes à 95 ° C. Le mélange a été refroidi à température ambiante et l'absorbance a été lue à 695 nm contre un blanc. La vitamine C et vitamine E choisie comme standard qui ont été traitée dans les mêmes conditions. Les valeurs sont déterminé déduire EC₅₀ (Concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale).

III. Résultats et discussion :

III.1. Extraction des composés phénolique :

La parties aérienne de plante *Ocimum Basilicum* a été soumises à un type d'extraction des composés phénolique ces méthodes sont basées sur la macération de la poudre végétale, pour les deux régions (Laghouat et Tadjmout). La détermination des rendements d'extractions effectuées, nous a permis de rapporter nos résultats de dosage au poids initial de la poudre végétale .Ces rendements sont exprimés en pourcentage. (**Tableau-4**) (**Figure-4**).

Tableau 4 : Les rendements des extraits phénoliques.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement
Laghouat	Visqueux	Marron miel	4.29 %
Tadjmout	Visqueux	Marron miel	3.85 %
<i>Kundan S et al, 2011</i>	liquide	Marron	9.65%

Les rendements des extraits phénoliques d'*Ocimum Basilicum* ont donnés des résultats qui sont en accord avec la résultat d'une étude faite sur l'extraction des composées phénolique de taux d'extraction allant de 9.65% (*Kundan S et al, 2011*).

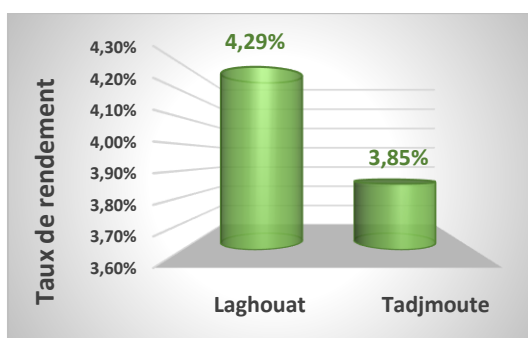


Figure 4 : Comparaison entre des taux de rendement en extraits secs des deux variétés de basilic.

D'après les résultats obtenus on constate une variation, en polyphénoles, entre 3.85 et 4.29% pour les deux régions de Tadjmout et Laghouat. On peut dire que le taux d'extraction ne varie pas seulement par la nature et la polarité du solvant utilisé dans l'extraction (*Sekou. D et al 2009*),

mais aussi selon la région de provenance, qui peut être liée au différent facteur : climat, la nature du sol sur lequel la plantation est effectuée ... etc.

III.1.1. Quantification des phénols totaux :

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique présenté dans la figure.5, et exprimée en milligrammes par gramme de la matière sèche équivalent en acide gallique.

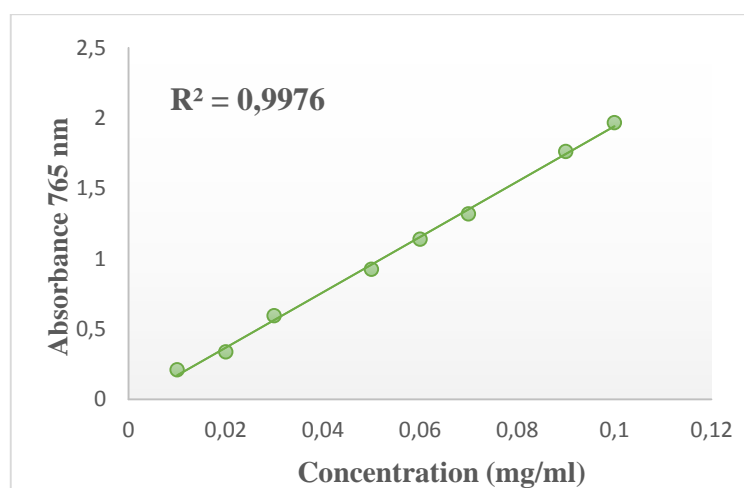


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

III.1.2. Estimation à la teneur de phénols totaux :

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. C'est l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales et des nourritures (*Athamena. S .2009*). Les résultats obtenus sont présentés dans le (**tableau 5**).

Tableau 5 : Les teneurs en phénols totaux des extraits phénoliques.

	Teneur en phénols totaux (mg EAG/g)
Laghouat	23.63±0.42
Tadjmout	20.15±1.08

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne de trois expériences ± SD

D'après ces résultats l'extrait phénolique (EP) de Laghouat a présenté la plus grande teneur en composés phénoliques 23,63 mg EAG/g par rapport à celle de Tadjmoute 20,15mg EAG/g. (figure 6)

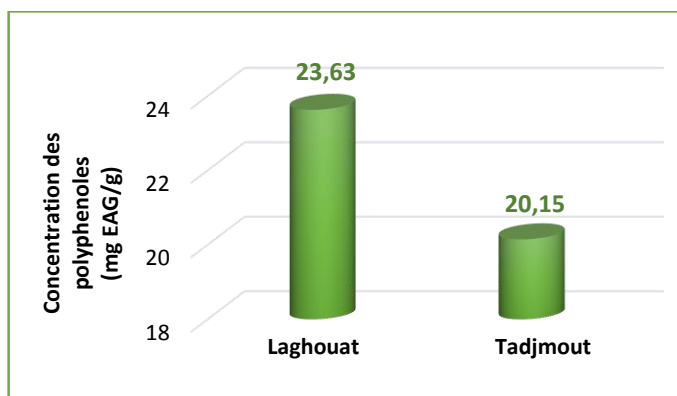


Figure 6 : La teneur en polyphénols des extraits phénolique

Nous remarquons que la quantité en phénols totaux varie d'un extrait à une autre, et les deux extraits phénoliques sont moyennement riches en polyphénols. En comparaison aux résultats approuvés lors d'une étude réalisée sur *Ocimum Basilicum* de l'Inde qui montre une teneur en polyphénols égale à 135 mg EAG/g (*Kundan. S et al, 2011*).

III.1.3. Estimation de la teneur des flavonoïdes totaux :

La quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine présenté dans la figure 7.

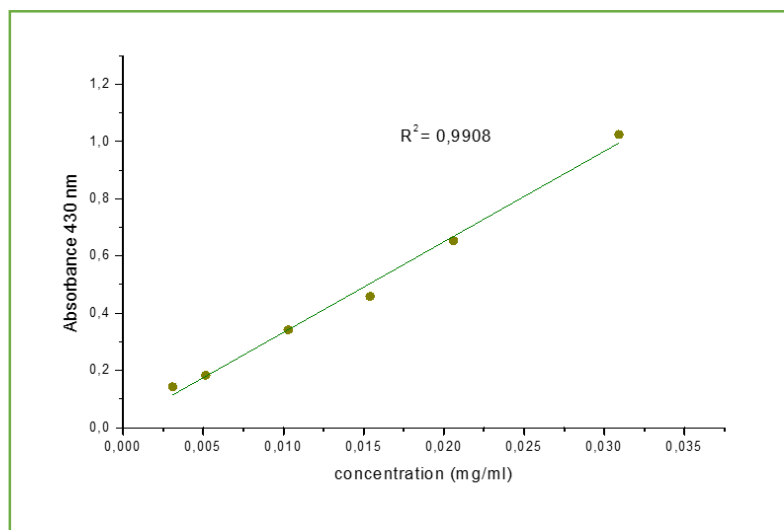


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de quercétine

Les résultats obtenus exprimés en milligrammes par un gramme de la matière sèche équivalent en quercétine. Ainsi que le taux en flavonoïdes par rapport aux teneurs en phénols totaux, sont regroupés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Teneur et pourcentages en flavonoïdes totaux des extraits.

	Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/g)	Pourcentage (%)
Laghout	20.34±0.14	86.08±2.12
tadjmout	16.97±1.49	87.52±3.77

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne de trois expériences ± SD

D'après les résultats obtenus la valeur la plus élevée des flavonoïdes a été observé pour l'extrait phénolique (E.P) de Laghouat en comparaison avec l'E.P de Tadjmout. La figure suivante présente la teneur en flavonoïdes des deux extraits phénolique étudié.

Dans la figure-8 nous remarquons que les deux régions ont été classées par ordre décroissant en teneur des composés phénolique et des flavonoïdes

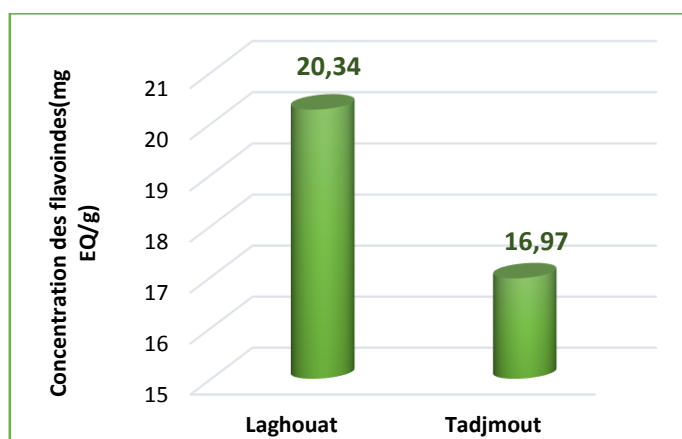


Figure 8 : La teneur en flavonoïdes des extraits phénolique

Les histogrammes ci-dessous présents les différentes valeurs du contenu en phénols totaux et en flavonoïdes totaux pour les deux régions.

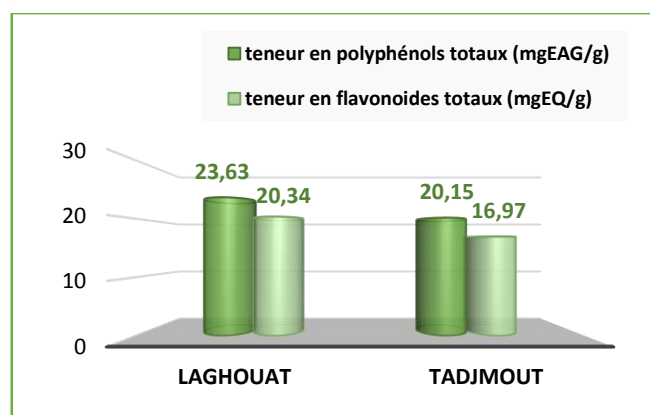


Figure 9 : comparaison entre les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans chaque région

La comparaison entre la teneur des flavonoïdes et polyphénols totaux dans chaque région, nous a permis de dire que les teneurs en flavonoïdes varient dans les mêmes proportions que celle des polyphénols, cela peut être expliqué par la composition de chaque extrait de même types de polyphénols mais des différentes quantités.

Si on parle des pourcentages des flavonoïdes par rapport au teneur en phénols totaux, ces pourcentages ne varient pas dans le même sens avec la teneur en flavonoïdes ; alors l'extrait de Laghouat possède une teneur en flavonoïdes égale à 20.34 mgEQ/g avec pourcentages de 86.08 % par contre la teneur en flavonoïdes de l'extrait de Tadjmout est de 16.97 mgEQ/g mais le pourcentage en flavonoïdes est 87.52%.

Par conséquent, on peut conclure que la composition des extrais phénolique en flavonoïde de nos échantillons presque la quasi-totalité de phénols totaux avec un taux compris entre 87,52 % et 86.08%, c'est dû à la méthode d'extraction et le solvant d'épuisement.

III.2. Le taux d'humidité :

Les végétaux sont riches en eau, l'analyse de notre échantillon de la région de Tadjmout a révélé un taux d'humidité important égale à 84%. Cela signifie approximativement plus de la moitié de la plante fraîche est constituée par l'eau. Nous constatons que l'Ocimum Basilicum est très riche en eau, plus de 2/3 de la plante est formé par de l'eau (**figure 10**)

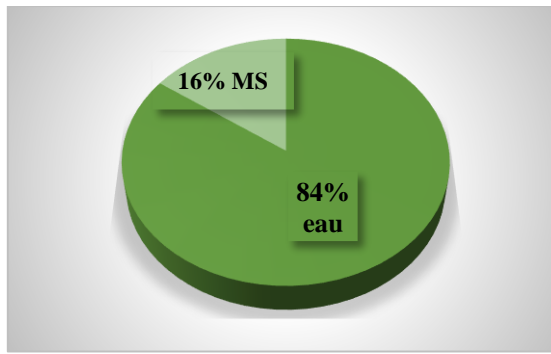


Figure 10 : Taux d'humidité d'*Ocimum basilicum*

III.3.Extraction de l'huile essentielle :

Le rendement moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale de la partie aérienne de la plante qui a été récolté de la région de Tadjmout.

Le rendement d'huiles essentielles est 0.71% cette valeur est moyenne par rapport à la bibliographie, comparant cette valeur à ceux données dans le tableau-7, par la littérature, nous avons noté qu'elle est supérieure à ceux données par (*José. S et al., 2010*), (*Filip. S et al 2013*), (*Patrick. A et al., 2012*) et inférieure à celles (*Musa. Ö et al, 2002*), (*Saliou. N et al, 2012*), (*Ismail. M 2006*).

En effet, cette différence de rendement d'huile essentielle est toute à fait normale, puisqu'il dépend de plusieurs facteurs à savoir : la nature du sol sur lequel la plantation est effectuée, le matériau des appareils utilisés, la propreté du matériel, la régularité de la chauffe, le refroidissement du distillat et la régularité de sa coulée, la méthode et la durée de distillation, la période de récolte...etc (*Steve De Cliff et al, 2013*)

Tableau 7 : Rendements obtenus en huile essentielle de la partie aérienne d'ocimum basilicum comparés aux autres études

Pays	Rendement	Références
Algérie (Tadjmout)	0.71%	Notre résultat
Kenya	0.4%	(<i>José. S et al., 2010</i>)
Egypt. (Giza)	1.7%	(<i>Ismail. M 2006</i>)
Cameroun	0,11%	(<i>Patrick. A et al., 2012</i>)
Dakar	1.26%	(<i>Saliou. N et al, 2012</i>)
Turkey	1.25%	(<i>Musa. Ö et al, 2002</i>)
Serbia	0.565%	(<i>Filip. S et al 2013</i>)

III.3.1. Propriété organoleptiques

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne d'ocimum basilicum présente un aspect liquide de couleur jaune pâle à jaune ambré avec une odeur caractéristique épicée.



Figure 11 : l'huile essentielle d'ocimum basilicum obtenue par hydro-distillation

III.3.2. Les indices physico-chimique :

Nous avons comparé la qualité de notre huile par l'huile commerciale de basilique, en étudiant les propriétés physico-chimiques qui sont regroupées dans le tableau 8

Tableau 8 : Les indices physico-chimique d'huile essentielle d'ocimum basilicum

Propriétés physico-chimique	H.E	H.C	AFNOR	(Saliou,N et al,2012)
Indice d'acide	3.64	4.48	NI	NI
Densité relative à 20 °C	0.880	0.851	Min= 0.895 Max= 0.920	0.894
Indice de réfraction à 20 °C	1.4826	1.4678	Min= 1.475 Max= 1.495	1.394
Pouvoir rotatoire à 20 °C	-4	-	De -2 à -14	NI
Miscibilité à l'éthanol (à 80%)	1V :7V	<i>Non miscible</i>	1V :7V	NI

Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle d'Ocimum basilicum de la région de Tadjmout est du même ordre de grandeur par rapport aux normes AFNOR.

L'indice d'acide (IA) doit être le plus petit possible. Notre HE a donné un IA de 3.64, lui aussi peu faible mais l'H.C a une valeur de 4.48 peut grand. Ce résultat s'explique par le fait que nous avons pris soin de conserver notre H.E dans un contenant en verre teinté car il a été établi que la lumière favorise l'altération de la structure de l'huile et la prolifération des acides. En réalité, une huile essentielle fraîche contient très peu d'acides libres. (*Steve De Cliff et al, 2013*)

La norme AFNOR préconise une densité comprise entre 0.895 pour les huiles de faible qualité et 0.920 pour les huiles de très haute qualité. La densité trouvée de l'huile essentielle de notre échantillon comparé à celle de l'huile commerciale suppose que ceux soient des huiles répond aux normes d'une huile essentielle de faible qualité.

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (*Makhloufi.A n.d*). Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'huile essentielle indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques. L'indice de réfraction obtenu est de 1.4826 pour notre huile essentielle et 1.4678 pour l'huile commerciale. Il est à la norme mentionnée par les normes françaises des huiles essentielles.

Le pouvoir rotatoire est un critère important de pureté de l'huile essentielle qui permet de savoir si elle est optiquement active (*Makhloufi.A n.d*). L'analyse du pouvoir rotatoire indique si l'huile est dextrogyre ou lévogyre, plus la qualité de l'huile est élevée plus sa valeur rotatoire doit être petite. Les résultats du pouvoir rotatoire mentionnent une valeur de -4 pour notre huile essentielle et aucun résultat pour l'huile commerciale. Donc notre huile est lévogyre.

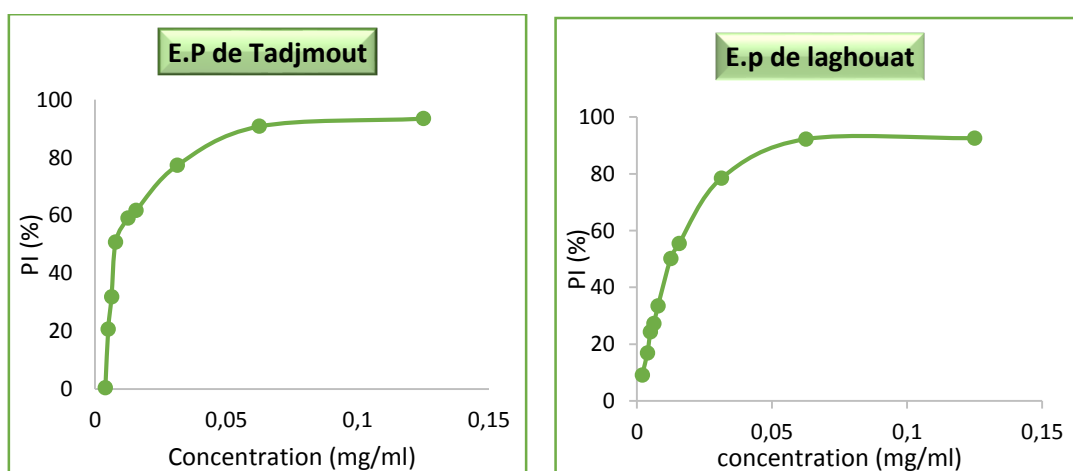
La miscibilité de notre huile essentielle à l'éthanol 80% est d'un volume d'huile essentielle pour 7 volumes d'éthanol ces valeurs sont aux normes françaises AFNOR et pour l'huile commerciale on a observé qu'il n'est pas miscible à l'éthanol.

Selon les résultats qualitatifs, on constate que notre huile d'*Ocimum Basilisum* c'est une huile essentielle pure et de haute qualité par rapport à celle de l'huile commerciale.

III.4. Estimation du pouvoir antioxydant :

III.4.1. test de DPPH :

Cette méthode a été déterminée spectrophotométriquement. Il est réduit quand DPPH réagit avec un composé antioxydant, qui peut donner un atome d'hydrogène. Les changements de couleur de violet-foncé à jaune-clair ont été mesurés à 517nm, L'activité antioxydante de l'extrait a été exprimée comme une valeur de EC₅₀ définie en µg /ml de l'extrait qui a inhibé 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. (*Ghiaba Z, 2012*). Les courbes de la figure 12 représentent la variation du pourcentage d'inhibition (PI) en fonction de la concentration de chaque échantillon



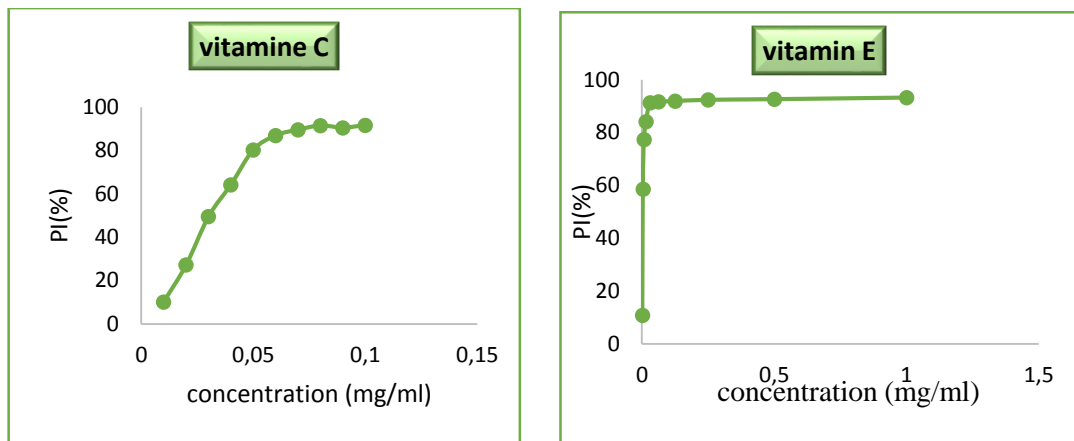


Figure 12 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition (PI) en fonction des concentrations des différents extraits et la concentration et les étalons mesurées par le test du DPPH

Le tableau suivant représente les valeurs de l'EC₅₀% de chaque extrait comparé au standards acide ascorbique (vitamine C) et alpha-tocophérol (vitamine E)

Tableau 9 : les valeurs d'EC₅₀ des extraits étudiées mesurées par le test du DPPH.

EC ₅₀ (µg/ml)				
	E.P.L	E.P.T	H.E	H.C
Ocimum Basilicum	12.23±1.37	5.47±0.63	N.A	N.A
Vitamine C	6.52			
Vitamine E	4.66			

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne de trois expériences ± SD

Nous remarquons que l'extrait phénolique de tadjmout possède un pouvoir antiradicalaire (5.47 µg/g) plus fort que du Laghouat (12.23 µg/g).

Nous appelons que plus la valeur de EC₅₀ est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis aux radicaux libres. Toutefois les deux extraits phénolique présentent un pouvoir anti radicalaire moyennement faible que la Vitamine E, par contre l'extrait phénolique de Tadjmoute possède un pouvoir antioxydante supérieur au vitamine C

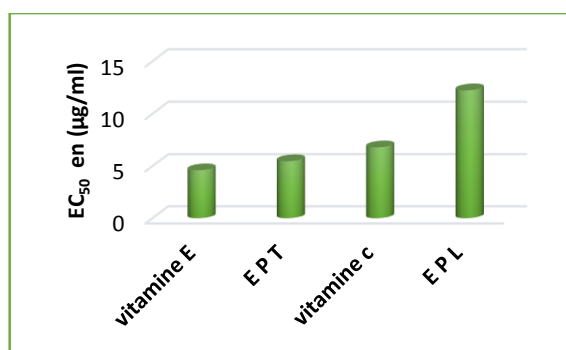


Figure 13 : Classement croissant des extraits phénolique et étalant selon leurs EC₅₀.

III.4.2.test de phosphomolybdate :

L'activité antioxydante pour les différents extraits a été évaluée en employant la méthode de phosphomolybdate. Cette analyse est basée sur la réduction de Mo(VI) à Mo(V) à la présence des composés antioxydants et de la formation suivante phosphate/Mo(V) d'un complexe vert au pH acide, qui est mesuré à 695 nm (*Hanane. E et al, 2010*).

Les résultats ont été exprimés par la détermination de paramètre « EC₅₀ » (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % de concentration initiale en PPM Plus la valeur d'EC₅₀ est petite plus la capacité antioxydante de nos extraits est importante.

L'EC₅₀ a été calculé pour chaque extrait et pour antioxydantes standard. Les résultats sont groupés dans le tableau 10 (**figure-14**)

Tableau 10 : Les valeurs d'EC₅₀ des extraits phénolique et huile essentielle par le test PPM

	EC ₅₀ (µg/ml)			
	E.P.L	E.P.T	H.E	H.C
Ocimum Basilicum	189.09	188.14	0.0124	NI
Vitamine C	31.3			
Vitamine E	0.042			

Nous remarquons , que les valeurs de EC₅₀ des extraits phénolique varient de 189.09 et 188.14 µg/ml comparable avec celui d'antioxydants standard, il est claire que la variation des EC₅₀ de ces deux échantillons est supérieures de 1889.09 µg/ml pour l'extrait de Laghouat et 188.14µg/ml pour l'extrait de Tadjmout par apport à 31.3 µg/ml celle de vitamine C et 0.042 µg/ml de vitamine E. par contre l'huile essentielle possède une concentration inférieur de 0.0124 µg/ml que les standard.

Donc d'après cette comparaison on peut conclure que les extraits phénolique a une activité antiradicalaire très faible, cela peuvent être du a l'absence des agents antioxydant, par contre l'extrait d'huile essentielle possède un pouvoir antiradicalaire très important. Cette déference peut être attribuée à la présence de certaines molécules individuelles dont leurs structures ne correspondent pas aux structures phénolique responsables de cette activit

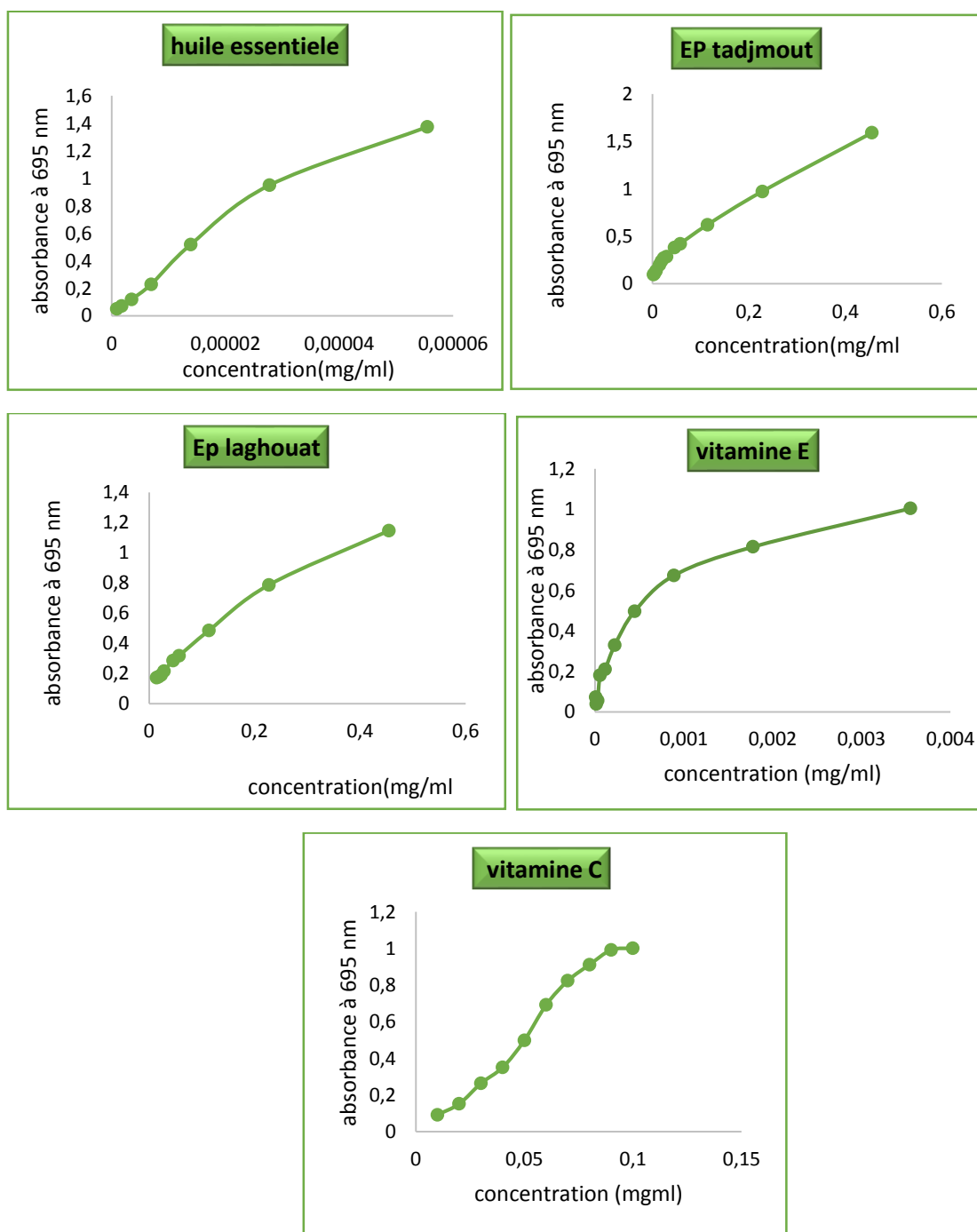


Figure 14 : Courbes représentant la variation des absorbances en fonction des concentrations des différents extraits et de vitamine E et vitamine C à 695 nm mesurées par le test du phosphomolybdate.

Conclusion générale :

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimique contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

La présente étude a pour objectif l'étude d'Ocimum Basilicum provenant de deux régions de sud Algérien (Laghouat et Tdjmout) à travers leurs teneurs en composés phénoliques, et en huile essentielle puis à l'étude de l'activité antioxydant de ces composés.

Dans la première partie, la quantification par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les teneurs en phénols totaux par le réactif du Folin-Ciocalteu, en flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium. Les résultats obtenus de plantes constitue une moyenne source en polyphénols (23.63 et 20.15 mg EAG/ g MS), avec un taux très élevé des flavonoïdes (86.08% et 87.52 %) pour les régions Laghouat et Tadjmout respectivement.

Pour les huiles essentielles nous avons réalisé une extraction par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur. Le rendement d'extraction des H.E obtenu est 0.71% cette valeur est considérable par rapport au résultat obtenu par plusieurs littérature. Les H.E possède des propriétés organoleptiques du même ordre de grandeur à des valeurs trouvé dans la littérature à l'exception de l'indice d'acide.

Dans la deuxième partie, nous sommes intéressés par l'étude des propriétés antioxydants de nos extraits phénolique et H.E par deux techniques complémentaires : l'analyse par le radical stable DPPH' et l'estimation du pouvoir réducteur par le réactif de phosphomolybdate.

Dans le test DPPH les extraits phénoliques sont actifs, nous avons remarqué une activité antioxydant très importante de l'extrait phénolique de Tadjmout qui est supérieur à la capacité du piégeage du radical DPPH de l'acide ascorbique, en revanche l'huile essentielle ne possède aucune activité antioxydant vers le DPPH.

Par contre dans le test de phosphomolybdate nous avons remarqué que notre huile présente une capacité intéressante pour réduire le molybdate (VI) par rapport aux autres extraits.

En perspective de ce travail, il serait intéressant de caractériser l'H.E d'Ocimum Basilicum en appliquant des techniques chromatographiques (CPG ou CPG/SM), Aussi, il serait souhaitable utilisé d'autre activité antioxydant, et activité antibactérienne, antifongique et antimicrobienne pour les extraits phénolique et les huiles essentielle. D'autres études plus approfondies sont nécessaires de permettre une meilleure connaissance de ces principes actifs d'Ocimum Basilicum et elles permettront aussi de connaître leur pharmacocinétique et leur pharmacodynamie.

Références bibliographiques

A

Aneta wojdylo, Jan oszmianski , Renata Czemerzys. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs aneta. Food chemistry 105 :940–949

Ángel Calín-Sánchez, Krzysztof Lech, Antoni Szumny, Adam Figiel, Ángel A. Carbonell-Barrachina, (2012). Volatile composition of sweet basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by drying method. Food Research International 48 : 217–225

AÏBOUD Kamal. (2012). Mémoire de Magister Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

Antoine Gabriel Bechaalany (n.d). Les huiles essentielles. édition depuis 1926. 17

Association Française de Normalisation (AFNOR).(1999). échantillonnage et méthode d'analyse des huiles essentielles, Tome 1, 1^{er} édition. 34-75

Aliyu, A.B., Ibrahim, M.A., Ibrahim, H., Musa, A.M., Lawal, A.Y. Oshanimi, J.A., Usman, M., Abdulkadir, I.E., Oyewale, A.O., Amupitan, J.O. (2012). Free radical scavenging and total antioxidant capacity of methanol extract of *Ethulia conyzoides* growing in Nigeria. Romanian Biotechnological Letters 4: 7458-7465.

Athamena Souad (2009) . Theme etude quantitative des flavonoides des graines de cuminum et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l ' evaluation de l ' activite biologique,. UNIVERSITE EL-HADJ LAKHDAR-BATNA

Association Française de Normalisation (AFNOR), (1992). monographie relatives aux huiles essentielles, Tome 2, Volume 1,

Antoine Gabriel Bechaalany (n.d). Les huiles essentielles. édition depuis 1926. 17

B

Basli. A., M. Chibane, K. Madani, N. Oukil Laboratoire. (2012). Activite antibacterienne des polyphenols extraits d'une plante medicinale de la fl ore d'algerie : origanum glandulosum desf. Phytotherapie 10:2–9

Boutiti Ameer. (2006). Memoire de magister etude phytochimique de l'espece *globularia alypum* L. Universite mentouri constantine.

Benhammou Nabila. (2011). THÈSE de Doctorat Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.

C

Christopher Sullivan (2009). *Food For Thought: The Science, Culture, & Politics of Food*, Spring 9 :235.

D

Djeridane, a., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D, Stocker, P, & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654–660.

E

Ez-zohra NKHILI. (2009) Ez-zohra NKHILI DESA. (2009). Diplôme de Doctorat Polyphénols de l'Alimentation : Extraction , Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre , Oxydation et Pouvoir antioxydant

F

Filip, S., Vidović, S., Adamović, D., & Zeković, Z. (2014). Fractionation of non-polar compounds of basil (*Ocimum basilicum* L.) by supercritical fluid extraction (SFE). *The Journal of Supercritical Fluids*, 86, 85–90.

G

Gurib-Fakim, a. (2006). *Medicinal plants : traditions of yesterday and drugs of tomorrow*. Molecular aspects of medicine 27 : 1–93.

Ghiaba zineb, boukouada mustapha, saidi mokhtar, yousfi mohamed, ghiaba najet, kendour zaouia. (2012). Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three varieties of algerian dates composés phénoliques de trois variétés de dattes, *Algerian journal of arid environment* 2, 42–48.

H

Hameurlaine Samir. (2009). *Memoire de magister, mise en evidence des huiles essentielles contenues dans les plantes pituranthos scoparius et rhantherium adpressum de la region de ghardaïa, universite de kasdi merbah –ouargla-*

Harnafi, H., Hennebelle, T., Martin-Nizard, F., & Amrani, S. (2010). Effet hypolipémiant des fractions méthanolique et aqueuse du basilic chez la souris hyperlipidémique. *Phytothérapie*, 8(1), 9–15.

Hammoudi roukia, Hadj Mahammed Mahfoud, Ramdane Farah et Khodir Abed Allah. (2012). Activite antibacterienne des extraits phenoliques de la plante *Teucrium polium geyrii*. *Algerian journal of arid environment* 2, 49–55.

Hanane El Hajaji, Nadya Lachkar, Katim Alaoui, Yahya Cherrah, Abdellah Farah, Abdesslam Ennabili , Brahim El Bali. and Mohammed Lachkar. (2010). Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of Three Varieties of Carob Tree Leaves from Morocco, 4, 193–204.

Hadbaoui Zineb, (2007). *Etude de l'activité antioxydantedes fractions lipidique, protéique et phénolique des gaines desorgho local. Universite kasdi merbah ouargla*

I

Ismail, M. (2006). Central Properties and Chemical Composition of *Ocimum basilicum* . Essential Oil. *Pharmaceutical Biology*, 44(8), 619–626.

J

Jean Palaiseul, (1983), *Nos grand-mères savaient... la vérité sur les plantes et la vie naturelle* : 73-74.

José S. Dambolena , Maria P. Zunino, Abel G. López, Héctor R. Rubinstein , Julio A. Zygodlo, Julius W. Mwangi, Grace N. Thoithi, Isaac O. Kibwage, Josphat M. Mwalukumbi, Samuel T. Kariuki. (2010). Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L . and *Ocimum gratissimum* L . from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* . *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(2), 410–414.

K

Keskas Narimen (2011), *memoire de master, effet scavenger des radicaux oxygènes et inhibiteur de la xanthine oxydoréductase des extraits de cachrys libanotis.L*, universite ferhat abbas-setif.

Kolai Naouel, SAIAH Farida, BOUDIA Abdelkader. (2012). Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle d'*artimesia herba alba* sur deux souches de *fusarium oxysporum* f. Sp. *Radicis-lycopersici*. *Algerian journal of arid environment* 2: 71-76.

Kasdi & Ouargla, 2007 , Hadbaoui Zineb. (2007). Mémoire de MAGISTER , étude de l'activité antioxydante des fraction lipidique, protique et phénolique des graines de sorgho local.

Kundan Singh Bora, Shruti Arora, Richa Shri (2011). Role of *Ocimum basilicum* L. in prevention of ischemia and reperfusion-induced cerebral damage, and motor dysfunctions in mice brain. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(3), 1360–5.

L

Leon Raul hernandez ochoa. (2005). These de doctorat, substitution de solvants et matieres actives de synthese par un combine « solvant / actif » d ' origine vegetale. Ecole nationale superieure des ingenieurs en arts chimiques et technologiques, Toulouse, France.

Lazouni H., a. Benmansour, s.a. taleb-bendiab, d. Chabane sari. (2007). composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill. *Sciences & Technologie* 25:7–12.

M

Makhloufi Ahmed (n.d). Memoire de doctorat etude des activites antimicrobienne et antioxydante de deux plantes medicinales poussant a l'etat spontane dans la region de bechar(*matricaria pubescens* (desf.) Et *rosmarin officinalis* l) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Universite aboubaker belkaid.

Mohammedi Zohra. (2013). These de doctorat, etude phytochimique et activites biologiques de quelques plantes medicinales de la region nord et sud ouest de l'algerie president.université Abau Bekr Belkaid, Tlemcen.

MAAMRI Sarah. (2008). Mémoire de magister Etude de Pistacia atlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens.

Musa Özcan and Jean-Clause Chalchat. (2002). Essential Oil Composition of Ocimum basilicum L . and Ocimum minimum L . in Turkey, Food Sci 20(6), 223–228.

P

Phuong M. Nguyen, Eileen M. Kwee, Emily D. Niemeyer, (2010). Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (Ocimum basilicum L.) leaves. Food Chemistry 123 : 1235–1241.

Patrick Akono Ntonga, Philippe Belong, François Tchoumboungang, Eric- Moïse Bakwo Fils, Henri Fankem. (2012). Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d ' Ocimum canum Sims et d ' Ocimum basilicum L . sur les adultes d ' Anopheles funestus ss , vecteur du paludisme au Cameroun. Journal of Applied Biosciences 59 :4340–4348.

Patrick Akono Ntonga , Philippe Belong , François Tchoumboungang , Eric- Moïse Bakwo Fils, Henri Fankem.(2012) Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d ' Ocimum canum Sims et d ' Ocimum basilicum L . sur les adultes d ' Anopheles funestus ss , vecteur du paludisme au Cameroun, 4340–4348.

R

Ramzi a. Mothanaa, Ulrike lindequist (2005) antimicrobial activity of some medicinal plants of the island soqotra, journal of ethnopharmacology 96: 177–181.

S

Snezana Filipa, Senka Vidovicb, Dusan Adamovicc, Zoran Zekovic, (2014). Fractionation of non-polar compound of basil (Ocimum basilicum L.) by supercritical fluid extraction (SFE). J. of Supercritical Fluids 86 : 85– 90.

Steve De Cliff et Pierre Claver Harerimana. (2013). Extraction de l ' Huile Essentielle Complète des Fleurs de Cananga Odorata de la Plaine de l ' Imbo : Vers la Vulgarisation d ' une Nouvelle Filière de Plante Industrielle au Burundi Résumé. Revue de l'Université du Burund 28:1–17.

Stratil P., Kubáň V., Fojtová J. (2008): Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. Czech J. Food Sci., 26: 242–253.

Saliou Ngom, Fatou Dieng FAYE, Moussoukhoye DIOP,. (2012). Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles d ' Ocimum basilicum et d ' Hyptis suaveolens (L .) Poit . récoltés dans la région de Dakar au Sénégal, 81, 166–175.

Sekou diabate , kouakou e. Konan , désiré allou , ouolo a. Coulibaly & hubert de franqueville. (2009) . Performance de deux techniques d'extraction des phénols racinaires pour l'évaluation du marquage de

la tolérance à la fusariose des clones de palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Sciences & Nature* 2 : 117 – 123.

V

Velioglu y. S, G. Mazza, L. Gao, and B. D. Oomah. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Food chem.* 46, 4113–4117.

X

Xavier fernandez et farid chemat. (2012). *La chimie des huiles essentielles tradition et innovation*, 2^{ème} édition. France.

Y

Youssef el Hajj.(2011). *Memoire de doctorat etude des proprietes fonctionnelles des composes phenoliques du raisin cultive au liban. Universite saint joseph.*

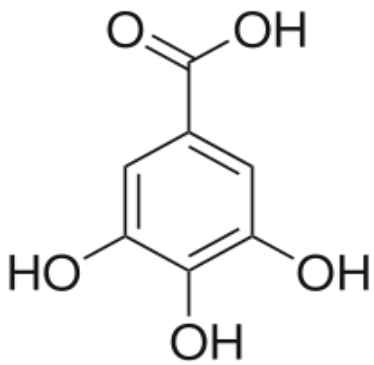
Z

Zarrour Brahim. (2012). *Memoire de master, etude phytochimique de quelques extraits obtenus de la plante matricaria pubescens (asteraceas) et evaluation de leur activite antioxydante. Universite kasdi merbah ouargla.*

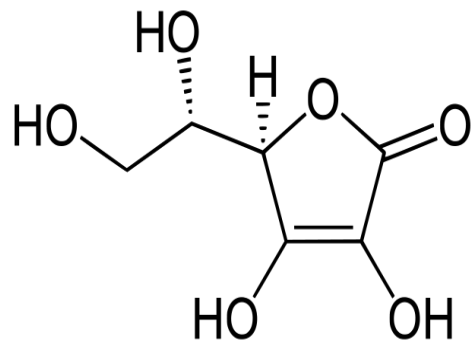
ي

يحيى محمودي , (1990), الأعشاب الطبية من الحديقة النبوية : 167

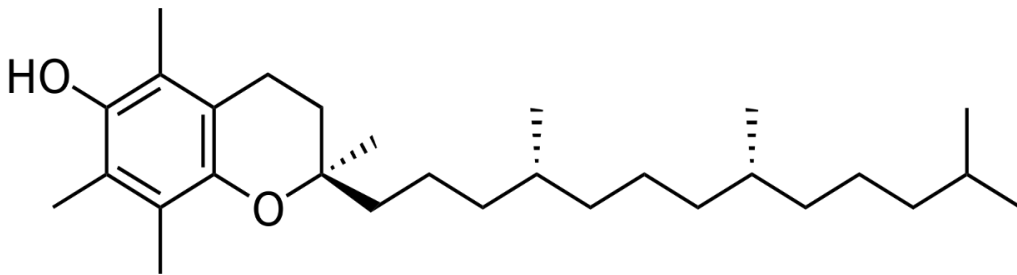
Annexe



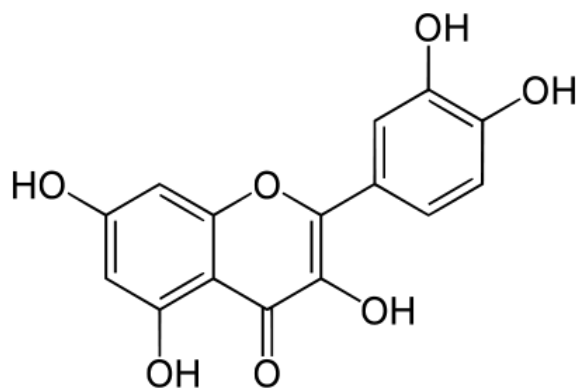
Structure de l'acide gallique



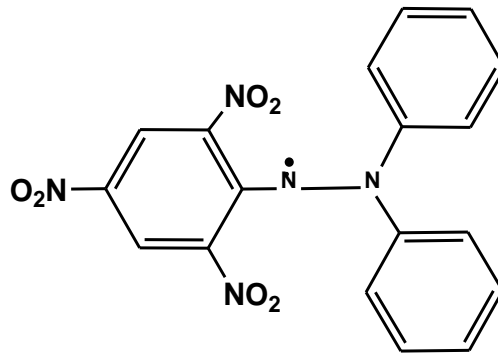
structure de l'acide ascorbique (vitamine E)



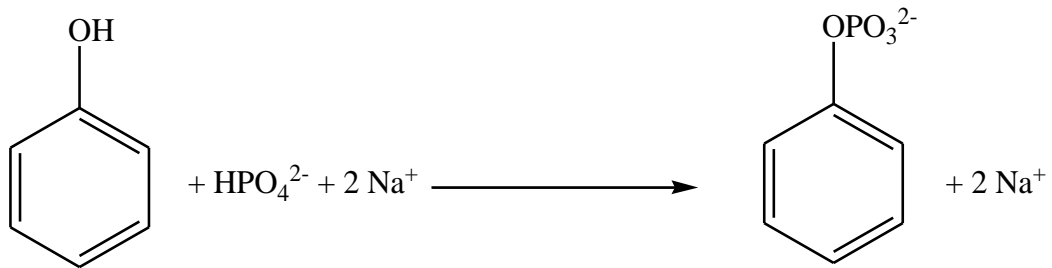
Structure d'Alpha-tocophérol (vitamine E)



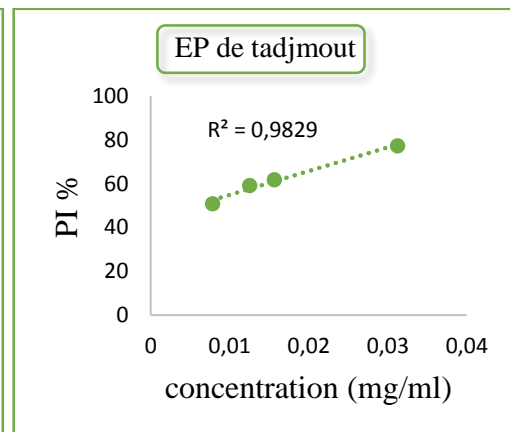
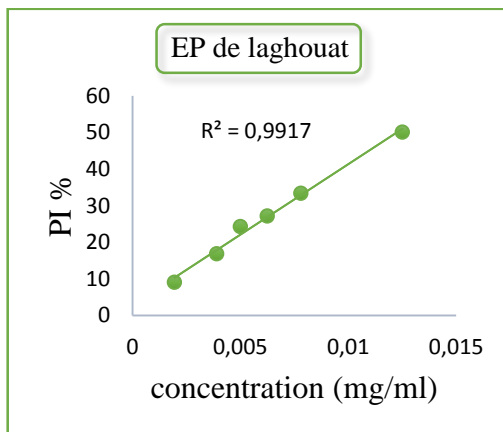
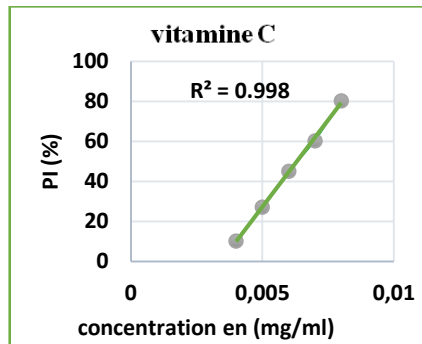
Structure de quercétine



Structure de radical DPPH



Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu



Courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition I % en fonction de la concentration des extraits phénoliques et acide ascorbique à 517 nm mesurées par le test du DPPH

Résumé

Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leur utilisation comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies.

Dans le cadre de la découverte de nouveaux antioxydants à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des composés phénoliques et huile essentielle et l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits d'une plante médicinale du Sud Algérien : ocimum basilicum connu sous le nom de basilique.

L'extraction et la quantification des phénols totaux, des flavonoïdes par le réactif du Folin-Ciocalteu, par le trichlorure d'aluminium respectivement, montré la richesse de la plante de basilique aux phénols totaux et flavonoïdes totaux de deux régions Laghouat et Tadjmout. L'extraction d'huile essentielle possède un rendement important (0.71%).

Les résultats de l'activité antioxydante par le test DPPH, et le test de phosphomolybdate ont montré qu'elle a une bonne activité antioxydante par rapport au antioxydant de référence.

Mots clés : l'activité antioxydante, phénols, huiles essentielles, Ocimum Basilicum, DPPH, phosphomolybdat

Abstract

Antioxidants compounds are the subject of many works because of their use as food conservatives by replacing the synthesis antioxidants and they intervene in the treatment of many diseases.

Within the framework of discovered new antioxidants from natural sources, we have investigated the study of phenolic compound and essential oil, therefore the evaluation of the antioxidant properties of extracts from a medicinal plant of south Alger: ocimum basilicum, under the name Basil, from two regions Laghouat and Tadjmout.

The result of quantification of both total phenolic and flavonoids compounds by Folin-Ciocalteu reagent and aluminum trichloride tests, showed their richness in total phenols and total flavonoids moreover; the extraction of essential oil has a high yield (0.71%).

The results of the antioxidant activity by the DPPH test, and the phosphomolybdate test showed that Ocimum basilicum has good antioxidant activity in comparison of references antioxidants.

Key words: antioxidant activity, phenols, essential oils, Ocimum basilicum, DPPH, phosphomolybdat.

ملخص

المركبات المضادة للأكسدة هي موضوع العديد من الدراسات لأنه بالإضافة إلى استخدامها كمادة حافظة في الأغذية عن طريق استبدال المواد المضادة للأكسدة الاصطناعية، أنها تتدخل في علاج الكثير من الأمراض.

في إطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للأكسدة من المصادر الطبيعية، اهتمنا في هذا العمل بدراسة المركبات الفينولية والزيوت العطرية وتقييم الخصائص المضادة للأكسدة لمستخلص نبتة طبية من جنوب الجزائر : ocimum basilicum المعروف باسم الحبق

الاستخلاص والتحديد الكمي من الفينول والفلافونويد الكلي، من قبل كاشف Folin-Ciocalteu و بواسطة ثلاثي كلوريد الألومنيوم على التوالي. أظهر ثراء نبات الريحان بالفينولات والفلافونويدات من منطقتي الأغواط وتاجموت. أما استخراج الزيت العطري فقد أعطى مردود عالي (0.71%).

وأظهرت نتائج نشاط مضادات الأكسدة لمختلف المستخلصات بواسطة اختبار DPPH واختبار phosphomolybdat أن لها قدرة نشاط مضاد للأكسدة جيدة مقارنة بمضادة الأكسدة المرجعية.

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للأكسدة، الفينولات، الزيوت العطرية، الحبق، DPPH، phosphomolybdat.