

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle} MIMOUNI MANSOURIA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: VALORISATION DES SUBSTANCES NATURELLES VÉGÉTALES

THÈME

**Evaluation de l'activité antioxydante des huiles
essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions
Mostaganem et Relizane**

Soutenue publiquement le 06/06/2016

DEVANT LE JURY :

Président : Mr .AIT SAADA.D MA *Université de Mostaganem*

Examinatrice : Mme. SAYEH .F MCB *Université de Mostaganem*

Encadreur : Mr. BEKADA .A MC *Université de Mostaganem*

Thème réalisé au Laboratoire de Biochimie N°01 -Université (ITA)

Dédicaces

Nous avons le grand plaisir de dédier ce mémoire à tous ceux qui nous sont chers :

A nos pères, pour leurs soutiens durant toutes ces années d'études.

A nos mères en qui, nous avons toujours vu la source de tendresse et d'affection et qui nous soutiennent dans les bons et mauvais moments de notre vie.

*A nos sœurs et nos frères : **FATIMA, NOURA, ZOHRA, NOUREDDINE,***

HAMZA, RABI3, KHIERA

*Notre plus profonde affection à nos amies, **ALIA, RACHIDA, FATIMA** et plus spécialement mon fiancé **MOHAMED**, pour sa compréhension, ses encouragements pendant toutes mes années universitaires.*

Je le dédie à toute la promotion de 2eme année master valorisation des substances naturelles végétales.

M elle M. MANSOURIA

Remerciements

Avant tout je dois rendre grâce au bon dieu.

Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier mon encadreur

Mr .BEKADA A, pour avoir encadré et dirigé ce travail.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury Mme SAYEH. F et Mr. AIT SAADA .DJ. De m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.

Je remercie beaucoup Mr. BOUZOUINA.M pour nous aider dans le laboratoire de culture in vitro.

En fin je remercie les techniciennes de laboratoire biochimie SADIA, RACHIDA, MOKHTARIA, FATIMA.

*Mes sentiments de profonde gratitude vont à nos professeurs qui nous ont enseigné
Durant tout nos études.*

Mes remerciements s'adressant aussi à tous ceux qui m'ont accompagné tout au long de mes études.

*A tout le personnel du département de **Biologie**.*

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante largement utilisée dans la fabrication cosmétique, des produits de beauté et quelques produits alimentaires. Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles du Romarin récoltées dans deux zones différentes, celle de Mostaganem et Relizane. Les huiles essentielles du Romarin extraites à partir de Clevenger ont montré que le taux des rendements des huiles essentielles du Romarin de Mostaganem est de 0.72% et celui de Relizane est de 0.57%. Dans le but de valoriser l'activité antioxydante, la méthode réduction DPPH a été utilisée, Elle a démontrée que les huiles essentielles étaient moins actives que l'acide ascorbique. Les valeurs IC_{50} étant de l'ordre 71.15mg/ml pour les huiles essentielles de Mostaganem, 124.20mg /ml pour les huiles de Relizane et 0.089mg/ml pour l'acide ascorbique. D'après les résultats obtenus, les extraits obtenus ont un grand pouvoir réducteur comparés aux antioxydants comme l'acide ascorbique

Les mots clés : *Rosmarinus officinalis*, huiles essentielles, l'activité antioxydante, le test DPPH.

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) is a widely used in cosmetics manufacturing plant, cosmetics and some food products. This study aims to evaluate the antioxidant activity of essential oils of rosemary harvested from 2 different areas, one of Mostaganem and Relizane. Essential oils extracted from Romarain method Clevenger. The rate of returns of essential oils of Romarain Mostaganem is 0.72% and the Relizane is 0.57%. And in order to enhance the antioxidant activity, DPPH reduction method has been used, it has shown that essential oils were less active than ascorbic acid. IC_{50} values that result were 71.15mg / ml for essential oils Mostaganem and 124.20mg / ml for oils Relizane and 0.089mg / ml ascorbic acid. From the results obtained, the extracts obtained have a reducing power compared with antioxidants.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, essential oils, antioxidant activity, DPPH test

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviation	
Introduction.....	1

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre I : plante étudiée *Rosmarinus officinalis*

I.1.Les plantes médicinales	3
I.2. Le pouvoir des plantes.....	3
I.3.Efficacité des plantes entières	3
I.4.La plante médicinale sélectionnée (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	3
I.4.1.Famille des Lamiacées.....	3
I.2.Classification.....	4
I.2.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	4
I.2.1.1.Historique.....	5
I.2.1.2. Description botanique du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	5
I.1.1.3. Répartition géographique.....	6
I.1.1.4.Principes actifs.....	6
I.1.1.5. Composition chimique.....	6
I.1.1.6.Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin.....	7
I.1.1.7.Utilisation.....	7

Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1.Définition.....	9
II.2. Production mondiale des huiles essentielles.....	9
II.3. Localisation de huile essentielle dans la plante.....	10
II.4. Le rôle des huiles essentielles.....	10

II.4.1.Rôle physiologique.....	11
II.4.1.1Propriétés antiseptique.....	11
II.4.2.Propriétés de défloculation.....	11
II.4.3.Propriétés de diurèse.....	11
II.4.2.Rôle thérapeutique.....	11
II.5.Effet thérapeutique des huiles essentielles.....	12
II.6. Propriétés physiques.....	14
II.7.Composition chimique.....	14
II.8.Classification des huiles essentielles.....	15
II.9.Utilisation des huiles essentielles.....	15
II.10.Domaine d'application.....	15
II.10.1.Parfums et cosmétiques.....	16
II.11.Activité biologique des huiles essentielles.....	16
II.11.1. Activité antioxydante.....	16
II.11.2. Activité antibactérienne.....	17
II.11.3. Activité antifongique.....	17
II.12. Toxicité des huiles essentielles.....	18
II.13. Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	18
II.13.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	19
II.13.2. Extraction par hydro diffusion.....	19
II.13.3. La distillation à vapeur saturée.....	20
II.13.4.L'expression à froid.....	20
II.13.5.Extraction par solvants.....	20
II.13.6.Hydro distillation.....	21
II.13.7.Extraction par micro- ondes.....	21

Chapitre III : Activité antioxydante

III.1.Définition.....	22
III.2.Mécanisme d'action.....	22
III.3.Différent types d'antioxydants.....	22
III.3.1.Antioxydants synthétiques.....	23

III.3.2. Antioxydants naturels.....	23
III.3.3. Antioxydants synergistes.....	23
III.3.4. Antioxydant primaires.....	23
III.3.5. Antioxydants secondaires.....	23
III.4. Sources naturelles d'antioxydants.....	24
III.4.1. Huile d'olive.....	24
III.4.2. Olives de Table.....	25
III.4.3. Huiles végétales.....	25
III.4.3. Herbes et épices.....	25
III.4.4. Sous-produits agricoles.....	26
III.5. Toxicité des antioxydants.....	26
III.6. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant.....	27
III.7. Les principales sources des antioxydants.....	29
III.7.1. Médicaments.....	29
III.7.1.1. Source alimentaire.....	29

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthode

1. L'objectif.....	30
2. Matériel végétale.....	30
2.2. Récolte et conservation.....	30
IV .3. Matériel utilisé.....	31
IV.4. Produits chimiques.....	31
IV.5. Méthode d'extraction.....	32
IV.6. Conservation d'huile essentielle obtenue.....	33
IV.7. Calcul de rendement.....	33
IV.8. Evaluation de l'activité antioxydant.....	33

8.1. Test DPPH.....	33
8.1.1. Principe.....	34
8.1.2. Mode opératoire.....	34

Chapitre V : Résultat et discussion

V.1. Propriétés organoleptiques et le rendement des huiles essentielles.....	37
V.2.L'activité antioxydante.....	38

Conclusion

Référence bibliographique

Liste des Abréviations

% : Pourcentage

µg: Microgramme

µl: Microlitre

A:Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

CE : Concentration Efficace à 50%

DPPH : 1,1-diphenyle-2-picrylhydrazyle

g : Gramme

l : Litre

M : Mètre

M : Masse molaire

Mg : Milligramme

Min : Minutes

ml : Millilitre

PR :pouvoir de Réduction

La liste des figures

Figure 1: <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	04
Figure 2: Aspect morphologique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	06
Figure 3 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendant.....	20
Figure 4. Réaction du DPPH• avec un antioxydant.....	28
Figure 5 : Cartes géographiques de la wilaya de Mostaganem et Relizane (ammi moussa)	31
Figure 6 : Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	32
Figure 7: Les principales étapes d'hydro-distillation.....	33
Figure 8: Réduction de radical DPPH (de couleur violette au diphényl picrylhydrazine (de couleur jaune).....	34
Figure 9 : les huiles essentielles de <i>R. officinalis</i> de deux régions Mostaganem et Relizane obtenue par hydro-distillation (photo originale).....	37
Figure 10: Représentation graphique des différents rendements (%) d'huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	38
Figure 11: pourcentage de piégeage des radicaux libre par l'acide ascorbique.....	39
Figure 12: L'activité antioxydante des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> par le test DPPH de la région Mostaganem.....	42
Figure 13: L'activité antioxydante des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> par le test DPPH de la région Relizane.....	42

Liste des tableaux

Tableau 01 : Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008.....	10
Tableau 02 : Certaines huiles essentielles et leurs utilisations thérapeutiques.....	12
Tableau 3 : les caractères organoleptiques et le rendement des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> de deux régions.....	37
Tableau 4 : IC50 et inhibition maximales des huiles essentielles et de l'acide ascorbique par la méthode de DPPH.....	41

Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et Paris, 2006**).

Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des terpènes, stéroïdes et des composés poly phénoliques.

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus principes actifs des plantes. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles Essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries (**Collectif, 2001**).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (**Collectif, 2001**). Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes et antimicrobiennes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols.

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants (**Athamena.S, 2009**).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les *Lamiacées (Labiées)*, nous nous sommes intéressés à l'huile essentielle de « *Rosmarinus Officinalis L.* » provenant de la région de la wilaya Mostaganem et Relizane

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis L.*), herbe aromatique de la famille des *Labiées*, apprécie pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes,

antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales, largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. Il nous semble donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche.

Notre choix est porté sur le romarin cultivé car c'est une plante cosmopolite aussi pour ses propriétés thérapeutiques et antioxydantes.

Ce travail vise à mettre en évidence l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.

Cette étude est structurée en de deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres. Le premier chapitre étudie de plante *Rosmarinus officinalis*, le deuxième chapitre porte sur des généralités sur les huiles essentielles et le dernier sur l'activité antioxydante.

Dans la partie matériel et méthodes, l'objectif recherché consiste à :

- L'extraction des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par la clevenger
- L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par la méthode DPPH.

La dernière partie est consacrée à l'exposition des résultats obtenus et leurs discussions.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

I.1. Les plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth *et al.*, 1986). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj *et al.*, 2007).

I.2. Le pouvoir des plantes

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels.

Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes (Iserin *et al.*, 2001).

I.3. Efficacité des plantes entières

La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi "totum" plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (Iserin *et al.*, 2001).

I.4. La plante médicinale sélectionnée (*Rosmarinus officinalis*)

I.4.1. Famille des Lamiacées

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin (Botineau, 2010). Elle est divisée en deux principales sous-familles: les Stachyoideae et les Ocimoideae.

Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses (Botineau, 2010). Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal.

Entre autres, un grand nombre de genres de la famille des Lamiacées sont des sources de terpénoïdes, flavonoïdes et iridiodes glycosylés.

I.2. Classification

Règne :	<i>Plantae</i>
Sous règne :	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement :	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement :	<i>Angiospermes</i>
Classe :	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe :	<i>Asteridae</i>
Ordre :	<i>Lamiales</i> (Labiales) (Haddadi, 2009).



Figure 01: *Rosmarinus officinalis* L. (Photo: Ouibrahim, 2012)

I .2.1. *Rosmarinus officinalis* L.

Le nom latin Rosmarinus est interprété, comme dérivé de "*ros*" rosée et "*marinus*" appartenant à la mer autrement rosée marin, ce qui fait référence à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la Méditerranée et à diverses légendes liées à cette plante **(Guinochet, 1973).**

I.2.1.1. Historique

Le romarin, chargé de symboles chez les Anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes et de la podagre (**Botineau, 2010**). Les médecins arabes utilisaient; beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (**Fuinel, 2003**).

I.2.1.2. Description botanique du *Rosmarinus officinalis* L.

Le romarin se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacé, mesurant Environ de 0.8 à 2m de hauteur.

La tige est ligneuse et carrée. Les feuilles sessiles et opposées, sont persistantes et vivaces. Elles sont enroulées sur les bords, vertes à la face supérieure, velues et blanchâtres à la face inférieure dont elle est parcourue par une nervure médiane (**Garnier et al, 1961**). Elles possèdent des poils sécréteurs qui lui confèrent une odeur aromatique spécifique.

Les fleurs bleu lavande à blanche (variétés albiflorus) sont disposées en courtes grappes À l'aisselle des feuilles, sur la partie supérieure des rameaux (**Garnier et al, 1961**), La floraison a lieu presque toute l'année. Le calice bilabié, pulvérulent, nu à la gorge, présente Un tube campanulé à 3 divisions dont la plus large est la lèvre supérieure.

La corolle, plus longue que le calice dont elle s'élargit sur 2 lèvres inégales, la lèvre Supérieure à 2 lobes et la lèvre inférieure à 3 lobes qui possède un médian le plus développé Et concave (**Quezel et Santa, 1963**).

L'androcée comporte 4 étamines dont 2 sont stériles et réduites à des crochets. Les 2 autres, saillantes, sont insérées sur la gorge par leur filet muni d'une petite dent. Ces 2 étamines sont des anthères allongées uniloculaires et déhiscentes par une seule fente. Le gynécée se compose d'un style se terminant par un stigmate qui se développe souvent Après les étamines. L'ovaire a 2 carpelles divisés en 2 parties. Le fruit est tétrakéne brun dont chaque partie renferme un seul embryon sans albumen.



Figure 02: Aspect morphologique de *Rosmarinus officinalis* L. (Köhler, 1897)

I.1.1.3. Répartition géographique

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (Quezel et Santa, 1963), le *Rosmarinus officinalis* est originaire du bassin méditerranéen (Iserin *et al.*, 2001). Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (Schauenberg et Paris, 1977).

I.1.1.4. Principes actifs

Les principaux constituants du romarin responsables des différentes propriétés sont :

- **Les acides phénoliques** : acide vanillique, acide caféique, acide p-coumarique.
- **Les flavonoïdes** : genkwanine, cirsimaritrine, ériocitrine, hespéridine, diosmine, lutéoline (Okamura, 1994). apigénine. (Yang, 2008).

I.1.1.5. Composition chimique

La littérature est particulièrement riche sur les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, elle en posséderait un rendement de 1 à 2.5%.

En plus de l'huile essentielle, on distingue 2 à 4% de dérivés tritérpéniques tels que : l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques :

picrosalvine, dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial, des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage et de la résine (**Bellakhdar, 1997**).

Entre autre, **Gonzalez trujano** et ses collaborateurs en 2007 ont démontré d'après un criblage phytochimique la présence de flavonoïdes, des tanins, des saponines et l'absence des alcaloïdes.

Concernant les éléments minéraux, la spectrométrie d'émission atomique à pue identifié 18 éléments Al : 146.48 mg/kg ; Ca : 7791.80 mg/kg ; Fe : 330.16 mg/kg ; K : 14916.23 mg/kg ; Mg : 1634.55 mg/kg ; Na : 2711.87 mg/kg ; P : 1474.60 mg/kg ; Cr : 97.36 mg/kg ; Sr : 74 .65 mg/kg (**Arslan et al., 2007**).

I.1.1.6. Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres Respiratoires (**Lemonica et Damasceno, 1996**).
- Antibactériennes, antimutagéniques, antioxydantes, chémopréventives (**Ibañez et Cifuentes, 2000**).
- Anti-inflammatoires, antimétastasiques (**Cheung et Tai , 2007**).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires et la prolifération des tumeurs Cutanées (**Huang et Wang , 1994**).

D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offordet Pfeifer ,1995**). Le romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (VIH) (**Aruomaet Halliwell ,1996**). alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de VIH-1

I.1.1 .5.Utilisation

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique et considérée utile pour contrôler l'érosion du sol. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (**Gonzalez-Trujano et al., 2007**).

Dans le Mexique et le Guatemala, il est employé principalement comme remède de Post-partum et traite également les problèmes respiratoires et les infections de la peau.

En Espagne, l'huile du romarin est très populaire pour beaucoup de genres de douleur, y compris les douleurs musculaires rhumatismales et traumatiques (**Heinrich et al., 2006**).

Au Maroc, l'infusion des feuilles est utilisée comme apéritif, cholagogue, stomachique et emménagogue. En usage externe, les cataplasmes faits avec les compresses de la décoction concentrée sont appliqués comme vulnéraires. La poudre des feuilles est saupoudrée comme cicatrisant et antiseptique. La fumigation du romarin est indiquée pour calmer les maux de dents. Depuis quelques décennies, l'huile essentielle du romarin est utilisée en massage sédatif dans les rhumatismes et la sciatique. Les feuilles séchées servent à conserver la laine de l'attaque des mites (**Bellakhdar, 1997**).

En Turquie, la décoction de feuilles du romarin a été traditionnellement employée pour traiter les diabétiques (**Bakirel et al., 2008**).

L'infusion des feuilles est tonique, antitussive, carminative, antiasthmatique, fébrifuge, et anti-paralytique (**Arnold et al., 1997**). On le recommande dans les asthénies, les troubles Du foie, contre les dyspepsies atoniques ainsi que contre les céphalées et les migraines D'origine nerveuse, les vertiges et les troubles de mémoire (**Poletti, 1988**).

Il a été également employé en tant qu'analgésique, antiépileptique, diurétique, (**Soyal et al., 2007**), ainsi que pour traiter l'ictère et sa fumée a été employée contre la peste (**Heinrich et al., 2006**).

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Arnold et al., 1997**).

II.1.Définition

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par expression à froid ; Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. **(Bruneton, 1993).**

Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme (Association Française De Normalisation) **(Afnor, 2000).**

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs (ylangylang, Bergamotier, rosier), soit dans les sommités fleuries (tagète, lavande), soit dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), ou dans l'écorce (cannelier), ou dans les racines (vétiver), ou dans les fruits (vanillier), ou dans les graines (muscade) ou encore autre part dans la plante. **(Antonet et Lobstein, 2005).**

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante. **(Bruneton, 1993).**

II.2. Production mondiale des huiles essentielles.

Plusieurs pays tirent une grande partie de leurs ressources de l'exploitation des plantes à huiles essentielles. On estime aujourd'hui à environ 40 000 le nombre d'espèces aromatiques croissant dans le monde dont 3 000 ont été étudiées et 300 sont exploitées industriellement **(Souza et al ., 2006)**. Plus de 90 % des espèces à étudier et à valoriser poussent dans les pays tropicaux **(Ouamba, 1991)**. Les principales huiles essentielles produites et les principaux pays producteurs sont résumés dans le **tableau 01**.

Tableau 01 : Récapitulation des principales huiles essentielles produites et des principaux pays producteurs dans le monde en 2008 (**Perfumer et Flavorist, 2009**).

Huiles essentielles	Production (Tonnes)	Principaux pays producteurs
Huiles d'oranges	51000	USA, Brésil, Argentine
Huiles du citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Huiles de l'eucalyptus	4000	Chine, Inde, Australie, Afrique du Sud
Huile de la menthe poivrée	3300	Inde, USA, Chine
Huile du clou de girofle	1800	Indonésie, Madagascar
Essence de la citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Huiles de la menthe verte	1800	USA, Chine
Huiles du bois de cèdre	1650	USA, Chine
Huile de la lavande	1100	France

II.3. localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule.

Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (**Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005**).

II.4. Le rôle des huiles essentielles.

En plus des propriétés thérapeutiques des huiles essentielles à l'extérieur des plantes, il ne faut pas négliger non plus la fonction de ses huiles dans la plante. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs. (**Deroin, 1988**).

De plus, en règle générale, les huiles essentielles constituent un moyen de défense

naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes. Les substances émises sont dans ce dernier cas appelées «phytoalexines». Ce type de toxine n'est produit qu'en cas d'infection et n'entre donc pas dans la composition d'une huile essentielle provenant d'une plante saine. **(Mann, 1987).**

L'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques ont pour propriété de saturer l'air autour de la plante, empêchant la température du jour de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de façon excessive, aussi les huiles essentielles constituent une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques. **(Belaiche, 1979).**

II.4.1.Rôle physiologique

Le rôle physiologique des huiles essentielles est aujourd'hui mis en lumière par les progrès scientifiques :

II.4.1.Propriétés antiseptique

C'est-à-dire microbicide (tue microbes et virus pathogènes). Elles s'affairement par endroit supérieur aux « antibiotiques » classiques parce qu'elles ont une action bactériolytique **(Bezager et Coll, 1992).**

II.4.2.Propriétés de défloculation

Les huiles essentielles sont défloculantes (solvants). C'est-à-dire qu'elles « lysent » collent aux mucosités visqueuses en cristallisant (noyaux durs issus des métabolismes et engendrés par les excès de viande et d'amidons, causes profondes de la plupart des maladies) **(Bernadet, 1983).**

II.4.3.Propriétés de diurèse

L'huile essentielle fait fonctionner les 4 grandes émonctoires (peau avec ses 3 glandes, reins, poumons et intestins), facilitant le drainage des déchets et résidus humoraux solubles vers leurs émonctoires spécialisés.

II.4.2.Rôle thérapeutique :

Les huiles essentielles, reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, agissant sur la personne dans sa globalité les huiles **(Oranges et al ., 1973 ; Abrassart et al.,1992).**

essentielles possèdent des propriétés thérapeutiques variées :

- Remédient aux problèmes respiratoires.
- Diminuent la tension nerveuse **(Lemire, 2000).**
- Améliorent la circulation sanguine.




- Aident le corps à traiter les impuretés.
- Soulagent la nervosité et les douleurs rhumatismales.

Il semble que les huiles essentielles extraites de certaines aromatiques ont un rôle important dans notre vie soit physiologique ou bien thérapeutique, sans oublier le rôle biologique de ces huiles (inhibiteurs des germinations et protecteurs les plantes des prédateurs insectes, champignons).

II.5.Effet thérapeutique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement utilisées en thérapie, les effets thérapeutiques les plus répandues dans les huiles essentielles sont résumées dans le tableau

Tableau 02 : Certaines huiles essentielles et leurs utilisations thérapeutiques (Hurabielle, 1981).

Huile essentielle de la plante	Utilisation thérapeutique
 <p>Basilic</p>	Diminue l'anxiété, améliore la concentration De la digestion, soulager les maux de tête.
<p>Camomille</p>	Contre la dépression et les insomnies, soulager Les problèmes de peau.
 <p>Citron</p>	Améliore la circulation, soulage, les problèmes respiratoires.
<p>Coriandre</p>	Soulage la nervosité et les douleurs rhumatismales, améliorer la digestion.
 <p>Eucalyptus</p>	Soulage les rhumes, problèmes respiratoires, Les douleurs.
<p>Fenouil</p>	Améliore la digestion, soulage, la constipation et les nausées, les graines sont galactogènes.
<p>Jasmin</p>	Soulage les dépressions, les problèmes Respiratoires, normalise la circulation et améliore la digestion.

<p>Lavande</p> 	<p>Soulage les insomnies, les indigestions, les maux de tête, les douleurs musculaires.</p>
<p>Marjolaine</p>	<p>douce Diminue la tension nerveuse, la pression artérielle, les insomnies, soulage les rhumes.</p>
<p>Menthe poivrée</p> 	<p>Soulage la fatigue, les irritations cutanées.</p>
<p>Pin</p>	<p>Aide aux problèmes avec les reins, soulage les problèmes respiratoires.</p>
<p>Rose</p> 	<p>Soulage les stress, soulage les maux de tête</p>
<p>Romarin</p> 	<p>Soulage la fatigue, les douleurs Les problèmes respiratoires.</p>
<p>Sauge</p> 	<p>Soulage la fatigue, les problèmes respiratoires, améliorer la pression artérielle.</p>
<p>Thym</p> 	<p>Soulage la fatigue, les dépressions, les maux de tête, les douleurs musculaires, améliorer la circulation.</p>

❖ **Précautions d'emploi :**

La présence des huiles essentielles végétales est très grande, du fait de leur concentration extrême (**Baudoux, 2000**) .L'utilisation doit donc prendre des précautions élémentaires, avant tout emploi, particulièrement en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe.

-A forte doses, les huiles essentielles de sauge, d'hysope de romarin et de thym peuvent être épileptisantes.

-Les Huiles essentielles de marjolaine et de lavande ont des propriétés hypotensives, à ne pas utilisées si on a déjà une tension artérielle faible.

-Chez la femme enceinte, certaines huiles essentielles, les emménagogues,

Peuvent induire des troubles sérieux ou des concentrations.

-Les huiles essentielles de romarin et d'hysope ont des propriétés hypertensives, à ne pas utilisées en cas de tendance à l'hypertension artérielle.

-Les huiles essentielles utilisées en bain (**Lemire, 2000**).sont en générale les suivants :

Eucalyptus, Marjolaine, Sauge, Romarin, lavande, Géranium. Lors de l'utilisation il faut toujours ajouter une tasse de sel de mer avec 30gouttes de l'huile par bain, le sel de mer sert à neutraliser les terpènes des huiles essentielles.

II.6. Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont en générale liquide à la température ambiante, volatile, d'odeur très fortes, incolores, jaunes pales ou quelque fois bleues. Leur densité est inférieure à 1sauf pour les huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), cannelle (*Cinnamomum*) et sassafras (*Sassafras albidum*).Elles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants, les huiles sont très altérables, elles s'oxydent au contact de l'aire et de la lumière (**charpentier et al., 2008**).

II.7.Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- le groupe de terpénoïdes.
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

D'après (**Guenther, 1975**). La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Selon (**Bruneton, 1999**). Cette structure varie en fonction

Du nombre d'atomes de carbone qui les constitue :

- Les monoterpènes.
- Les sesquiterpènes.
- Rarement les diterpènes.
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...).
- De la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- Terpènes : R1-HC=CH-R2.
- Alcools terpéniques : R-OH.
- Cétones: R1-CO-R2.
- Phénols : C₆H₆-OH .
- Aldéhydes : R-CHO.
- Esters : R1-COO-R2.
- Ethers : R1-O-R2

II.8. Classification des huiles essentielles

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des chromatogramme, **Chakou et Bassou (2007)** classent les huiles essentielles comme suit:

- ❖ Les huiles majeures
- ❖ Les huiles médiums
- ❖ Les huiles terrains.

II.9. Utilisation des huiles essentielles

Ces huiles essentielles agissent selon leur tropisme ; ce terme signifie que chaque huile exerce ses pouvoirs curatifs sur un organe ou une zone en particulier, ces substances volatiles pénètrent les tissus et l'organisme. Par exemple, l'huile essentielle de basilic est particulièrement active au niveau de la digestion. Celle de cyprès améliore la circulation. Il est donc très important de se renseigner sur les effets thérapeutiques des HEE car leur usage peut comporter des inconvénients. Par exemple, une huile essentielle de menthe des champs est indiquée pour stimuler les personnes fatiguées, elle soulage les douleurs névralgiques mais ne doit jamais être utilisée dans un bain, sous peine d'irritation sérieuse de la peau. Outre ces propriétés principales, elles ont toutes une vertu (**Blayn, 1980; Maach et Jemali, 1986**).

II.10. Domaine d'application

Il existe une grande variété d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles essentielles qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes, mais aussi les différentes utilisations possibles et leur coût de production (**Grysole, 2005 ; Fillatre, 2011**). Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de

nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture (Fillatre,2011) .

II.10.1.Parfums et cosmétiques

Dans le domaine des parfums et cosmétique, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit .Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers domestique ou industriels(Aburjai et Natsheh,2003) .

II.11.Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, Antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses. (Valnet, 2005).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa Composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaire (Lahlou, 2004).

II.11.1. Activité antioxydante

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. (Richard, 1992).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydant, on distingue deux sortes 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 (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que le complexe formé par des ions métalliques ou la réduction d'oxygène.(Madhavi et al., 1996).Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à le préserver des phénomènes d'oxydation. (Caillet et Lacroix, 2007).

II.11.2. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. (Carson *et al.*, 2002).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules. (Davidson, 1997).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques.

Des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. (Cox *et al.*, 2000; Carson *et al.*, 2002). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995).

Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. (Cox *et al.* 1991).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le Thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et Auxilipol polysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable. (Dorman et Deans, 2000).

II.11.3. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire. (Lis-Balchin, 2002).

Selon (Voukouet *al.*, 1988), les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. Étant donnée la grande complexité de la composition chimotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4 allyl-2-6-

diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydrocinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par Simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de Fonction chimique : **Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers>Hydrocarbures**

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol> thymol> isoeugénol> eugénol). (**Ultreet *al.*, 2002**).

II.12.Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (**Degryse et *al.*, 2008**).

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et *al.*, 2008**).

Selon **Englebin (2011)**, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quelque soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit: "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose "Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et fou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

II.13.Les méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction. Les principales méthodes d'extraction sont :

- ✓ La distillation à vapeur saturée
- ✓ Entraînement à la vapeur d'eau
- ✓ L'hydrodiffusion
- ✓ L'expression à froid

- ✓ Extraction par solvants
- ✓ Hydrodistillation
- ✓ Extraction par micro- ondes

II.13.1. Entraînement à la vapeur d'eau :

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe.

Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation (**Bruneton ,1993**).

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent.
- au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

II.13.2. L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant.

L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie.

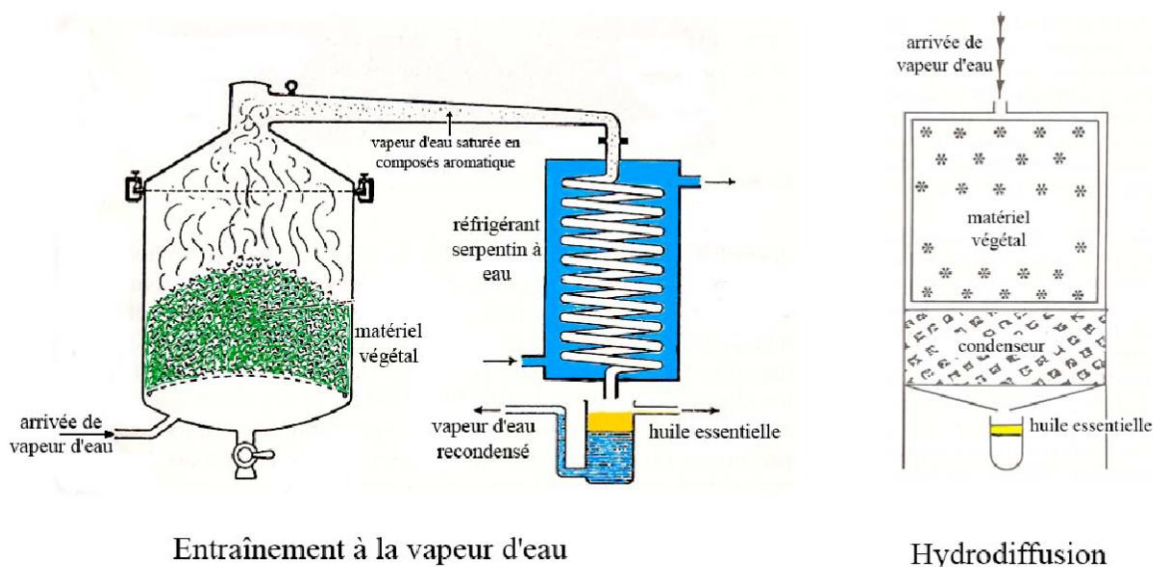


Figure 3 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendant

II.13.3. La distillation à vapeur saturée

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées.

II.13.4.L'expression à froid

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation.

D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

II.13.5.Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques.

L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (Brianet, 1995).

II.13.6.Hydrodistillation

Le principe de hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, 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.

Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que 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 ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation.

II.13.7.Extraction par micro- ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (Vacuum Microwave Hydrodistillation) (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-Ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences.

Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en oeuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Mompon, 1994).

III.1.Définition

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement le rancissement, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, il est stable dans le produit fini (pokorny J et al., 2001).

III.2.Mécanisme d'action

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire.

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (Berset C et Cervelier ME ;1996).

III.3.Différent types d'antioxydants

Les antioxydants sont classés selon leur origine en antioxydants naturels ou synthétiques et selon leur mode d'action en antioxydants primaires ou secondaires.

III.3.1. Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (**Lisu et al., 2003**).

III.3.2. Antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant *in vivo*. Elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les oestrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Svoboda et Ampson, 1999 In Mohammedi, 2006**).

III.3.3. Antioxydants synergistes

Ce sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence d'autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés (lysine et arginine), de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer et le cuivre qui ont un effet pro-oxydant à faibles doses. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées (**Morelle, 1988**).

III.3.4. Antioxydant primaires

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques (L% LOO, LO) en produits plus stables (LH, LOOH, LOH) grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical (A») dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable (**Kim et Lee, 2004**).

III.3.5. Antioxydants secondaires

Selon (**Gordon ,1990**), les antioxydants secondaires sont des composés qui retardent l'oxydation lipidique selon différents modes d'action:

- ❖ Absorption des radiations ultraviolettes.

- ❖ Inactivation de l'oxygène singulet.
- ❖ Chélation des métaux.
- ❖ Décomposition des hydroperoxydes.

III.4.Sources naturelles d'antioxydants

Il est bien évident qu'une alimentation saine et équilibrée assure un apport considérable d'antioxydants naturels pour le bon fonctionnement de l'organisme humain, surtout lors de la consommation de fruits, de végétaux, de céréales, de la viande et du poisson. Ils existent d'autres sources de composés antioxydants bien intéressantes, dont l'application peut s'étendre à des domaines comme la pharmacologie, la microbiologie médicale et clinique, la phytopathologie et la conservation des aliments (**Daferera et al. 2000**).

III.4.1.Huile d'olive

Les composés phénoliques présents dans l'huile d'olive sont une classe très importante d'antioxydants qui affectent non seulement la stabilité de l'huile, mais aussi ses propriétés biologiques et sa qualité nutritionnelle (**Visioli et al, 2004**).

Parmi ses composés phénoliques, on trouve le 4-acétoxy-éthyl-1,2-dihydroxy benzène, le 1-acétoxy-pinorésinol, l'apigénine, l'acide caféique, les acides coumariques, de l'acide férulique, l'acide gallique, l'acide homovanillique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'hydroxytyrosol et ses dérivés, le lutéoline, l'oleuropéine, le pinorésinol, l'acide protocatéchique, l'acide sinapique, l'acide syringique, le tyrosol et ses dérivés (**Boskou et al.,2005**).

Les formes dialdéhydiqes de l'acide elenolique, liées à l'hydroxytyrosol et tyrosol, le 1-acétoxy-éthyl-1, le 2-dihydroxybenzène, le 1-acétoxy-pinorésinol, le pinorésinol, l'aglycone d'oleuropéine, l'aglycone de Hgstroside et le lutéoline, sont les phénols ayant la concentration la plus élevée dans l'huile d'olive.

Nombre de ces composés phénoliques, principalement l'hydroxytyrosol et ses dérivés, sont examinés en détail dans le but d'établir une relation entre les apports alimentaires et le risque de maladies cardio-vasculaires ou le cancer. Ils ont pu révéler une activité contre le peroxyde d'hydrogène et une capacité à prévenir la production d'espèces réactives de l'oxygène.

Tandis que leur capacité de récupération des espèces réactives de l'azote tel que le peroxyde d'hydrogène suggère un effet protecteur contre la nitration de la tyrosine et les

dommages de l'ADN, les mécanismes par les quels les phénols d'huile d'olive aident à protéger contre divers troubles cardiovasculaires, sont à leur tour expliqués, in vitro, par leur effet inhibiteur sur la production d'éicosanoïdes et sur l'agrégation plaquettaire (**Boskou et ai, 2005**).

III.4.2.Olives de Table

Les olives de tables restent des sources considérables d'antioxydants et plusieurs types d'olive de table, comme les olives noires grecques ou vertes espagnoles semblent contenir un taux plus élevé en hydroxytyrosol qui peut aller jusqu'à 170 mg / kg, et un niveau de lutéoléine, qui peut être déterminé, dans le cas des olives

III.4.3.Huiles végétales

En plus de l'huile d'olive, une source riche en antioxydants naturels, certaines huiles végétales pressées à froid sont de bonnes sources de tocopherols et de caroténoïdes. Ces huiles possèdent une capacité remarquable à piéger les radicaux libres et à absorber le radical oxygène, lorsqu'elles sont testées soit avec le DPPH (1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl) soit avec l'ABTS (sel diammonium de l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylben.zthiazoline-6-sulphonique) dans *le test d'ORAC*. (**Besbes et ai, 2004 ;Yu et ai, 2005**).

III.4.3.Herbes et épices

Dans l'alimentation, le thé et les infusions sont considérés comme une source importante de composés phénoliques antioxydants, et en particulier, le thé noir et vert et les infusions de roibos. La plupart des extraits d'herbes traditionnelles sont préparés à partir de plantes de la famille Lamiacées. La même chose pour les épices, utilisées en préparations culinaires, elles sont connues, depuis longtemps, non seulement par leur effet antioxydant, mais aussi par leurs innombrables propriétés médicales et traitantes. L'attention a été accordée à une grande variété d'herbes pour étudier les antioxydants phénoliques qu'ils contiennent et leur capacité.

Pour l'exemple d'infusions de plantes riches en phénols on trouve la menthe, le dictamnus, le thé de la montagne, la camomille, l'eucalyptus, le tilleul et la mauve (**Kroyer, 2005**). L'origan est riche en acide rosmarinique, en flavonols, et en flavones. L'achillée présente aussi un taux considérable de flavonoïdes et de tannins (**Exarchou et al., 2002; Kosar et al., 2003**).

On trouve aussi d'autres épices contenant toute une variété d'antioxydants comme le sauge qui contient, en plus des flavonoïdes et des acides phénoliques qu'on trouve déjà dans l'artichaut, du nosol, de l'acide carnosique, du latéoline et du rosmannol, (*Trouilas et al., 2003*).

Le romarin et la sarriette contiennent des composés intéressants de l'acide carnosique, du camosol, de l'acide rosmarinic et du rosmannol ont été déterminés dans le romarin, et de l'acide rosmarinique, du carnosol, du carvacrol et des flavonoïdes ont été, aussi, définis dans la sarriette. (*Yanishlieva-Maslarova et al., 2001; Manach et al., 2004*).

III.4.4. Sous-produits agricoles

Dans le but d'évaluer et d'exploiter des sous-produits agricoles, de nombreux travaux publiés ont mis l'accent sur la valeur résiduelle des grignons d'olive, de la margine, des pelures d'agrumes, des pelures de pomme de terre et des feuilles d'olivier (*Civantos, 1998*).

III.5. Toxicité des antioxydants

Les premières indications des effets possibles des antioxydants sur la santé datent des années 1970, alors que des chercheurs ont constaté que l'incidence réduite de certains cancers et de maladies coronariennes allait de pair avec une diète riche en fruits, légumes et herbes. Or, il s'avère que ces végétaux regorgent d'antioxydants (*Berger, 2006*).

L'intégration de molécules d'antioxydants à des denrées alimentaires constitue tout de même un défi. On reconnaît la fragilité de la vitamine C, qui est par ailleurs l'un des plus puissants antioxydants (*Lehucher-Michel et al., 2001*). L'ajout de vitamine E peut également poser des problèmes si on n'a pas prévu un emballage qui prévient l'oxydation par la lumière. De plus la surconsommation d'antioxydants peut entraîner une déficience des systèmes naturels de protection de l'organisme (système immunitaire) et cela peut nuire à la santé en altérant de nombreuses fonctions vitales.

Certains antioxydants sont responsables aussi de réactions allergiques, des hypersensibilités, des troubles digestifs, etc. (*Roberfroid, 2002*).

Selon (Alais *et al.*, 2003), les produits de synthèse ont été beaucoup étudiés sur le plan de la toxicologie chez l'animal. Des résultats variant avec les espèces ont été donnés: effet sur les poumons, le foie, la thyroïde, la coagulation sanguine ou l'action cancérogène. On ne peut pas extrapoler à l'homme, mais on est porté à réduire leur emploi dans l'alimentation humaine.

III.6.Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agent antioxydant (huile essentielle). Selon la bibliographie, les méthodes les plus utilisées sont celles de la réduction du 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•), de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, de la chélation des métaux et de blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique.

La mesure de l'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique est une méthode efficace pour l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. Cette activité est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique (Hussain *et al.* 2008). Cette méthode est utilisée par beaucoup des auteurs pour évaluer le potentiel antioxydant des huiles essentielles (Iqbal *et al.*, 2005; Yassa *et al.*, 2009; Hussain *et al.* 2008, 2010; Dongmo *et al.*, 2010).

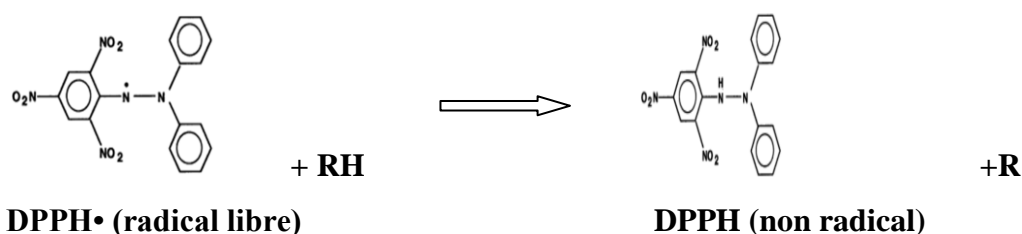
La méthode de chélation des métaux est employée pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles où les réductants (huiles essentielles) ramènent le complexe de Fe³⁺/ferricyanide [FeCl₃/K₃Fe (NC)₆] à la forme (Fe²⁺) ferreuse (Oyaizu, 1986; Wang *et al.*, 2010). Par conséquent, selon la puissance de réduction des huiles essentielles, la couleur jaune de la solution d'essai change en vert ou en bleu (Nikhat *et al.*, 2009). Cette méthode a été utilisée par beaucoup d'auteurs pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles (Oyaizu, 1986; Faria *et al.*, 2006; Wangcharoen & Morasuk, 2007; Chairgulprasert *et al.*, 2008).

Le blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique et de la réduction de DPPH• sont des méthodes efficaces, simples, reproductibles et rapides pour évaluer les propriétés antioxydantes des huiles essentielles (Mayachiew & Devahastin, 2008; Hussain, 2009). L'analyse de balayage de DPPH• est la fréquemment utilisée pour la

détermination de l'activité antioxydante des huiles essentielles (**Cuendet *et al.*, 1997**).

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•) est un radical organique stable, coloré et centré sur l'azote (**Blois, 1958**). Le maximum de son absorption se situe vers 515 nm dans le méthanol et l'éthanol (**Portes, 2008**). Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire DPPH•, ce qui conduit au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R•.

Le DPPH• a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux (**figure 04**) (**Hubert, 2006; Prakash, 2001**).



RH : antioxydant ; R• : radical libre

Figure 04. Réaction du DPPH• avec un antioxydant (**Prakash, 2001; Molyneux, 2004**).

Le rapport DPPH•/antioxydant doit être adapté à la stoechiométrie du composé (nombre de radicaux réduits par molécule d'antioxydant) et le DPPH• doit être en excès. Ce test, largement utilisé, est rapide et facile à réaliser ; il permet de comparer un grand nombre de composés ou un seul composé à plusieurs dilutions. De plus, contrairement aux autres tests, les conditions utilisées (solvants organiques et faible température) évitent l'autooxydation des molécules testées (**Portes, 2008**). Le test du DPPH• permet aussi de déterminer un paramètre cinétique : la constante de vitesse du premier transfert d'atome H, et un paramètre statique : la stoechiométrie. Ces paramètres définissent l'activité antioxydante intrinsèque des molécules testées (**Goupy *et al.*, 2003; Roche *et al.*, 2005**).

Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH•, pour une concentration en extrait donné et un temps donné. Le test de réduction du DPPH• permet aussi de calculer la CE50 (**Dongmo *et al.*, 2010**). La valeur CE50 est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la réduction de 50% du DPPH• (**Simionatto *et al.*, 2007**).

III.7. Les principales sources des antioxydants

L'organisme se défend contre les radicaux libres, grâce aux enzymes antioxydantes ou protéines anti-oxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) contenues dans nos cellules. Ces enzymes sont aidées dans leur action anti-radicalaire par la vitamine E, C, provitamine A, le zinc et le sélénium. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge. En plus des substances propres à l'organisme, les médicaments, l'alimentation et les plantes peuvent être également des sources d'antioxydants (**Diallo, 2005**).

III.7.1. Médicaments

Certaines classes thérapeutiques telles que les AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien), les B-bloquants et antihypertenseurs sont connus pour leurs propriétés antioxydantes (**Ahamet, 2003**).

III.7.1.1. Source alimentaire

Certaines substances ingérées sont utilisées par l'organisme comme antioxydants. Ce sont principalement : la vitamine C, la vitamine E, le sélénium et le B-carotène.

- **La vitamine C ou acide ascorbique**

La Vit C contient une forme énediol qui produit la forme dicétonique par transferts successifs de ses deux atomes d'H. La forme énediol est régénérée par l'intervention d'intervention d'enzyme superoxyde dismutase en présence d'une catalase (**Bossokpi, 2002**). C'est un puissant réducteur, il joue un rôle important dans la régénération de la vitamine E. Il est présent dans les légumes, le chou, le poivron, les agrumes (**Golette, 2003**).

- **La vitamine E ou Tocophérol**

Il prévient la peroxydation des lipides membranaires in vivo en captant les radicaux peroxydes, Il est présent dans les huiles végétales (huile d'arachide, de soja, de palme), ainsi que dans les noix, les graines, le lait, les œufs et les légumes à feuilles vertes (**Cavin, 1999**).

IV. Matériel et méthodes

IV.1. Objectif

Notre travail a été réalisé au laboratoire de biochimie (N°01), de l'université

Abed Elhamid Ibn Badis de Mostaganem. Ce travail a été élaboré comme suit :

1-L'extraction des huiles essentielles des feuilles et des tiges et des fleurs sèches de *Rosmarinus officinalis*.

2-Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par la méthode : DPPH

IV.2. Matériel végétal

IV.2.1. Zone de récolte

La plante utilisée *Rosmarinus officinalis* a été récoltée de deux régions différentes.

Situation 01

Ammi moussa, Cette première région Située à 71 km du chef-lieu de la wilaya de Relizane, s'étend sur une superficie de 173,55 km² et compte 11 258 habitants en 1987 et 28 962 habitants en 2000. Elle est le chef-lieu d'une daïra depuis 1987, qui regroupe les communes d'El Ouedja, Ouled Aiche et El Hassi.

Situation 02

Cette deuxième zone, qui est Mostaganem, située au Nord Ouest du territoire national, à environ 360 Km l'Ouest d'Alger et à 80 Km à l'Est d'Oran. Elle couvre une superficie de 2.269 Km² et est limitée : A l'Est par les Wilayas de Chlef et Relizane ; Au Sud par les Wilayas de Mascara et de Relizane ; A l'Ouest par les Wilayas d'Oran et de Mascara ; Au Nord par la Mer Méditerranée.

IV.2.2.Récolte et conservation

La plante a été récoltée durant le mois de mars 2016 dans les régions de ammi moussa (wilaya de Relizane) et Mostaganem. Les différents organes du matériel végétal (feuilles, tiges et fleurs) ont été séchés à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant quelques jours. La plante est ensuite ramenée au laboratoire où elle a subi divers traitements (cassage des tiges).



Figure 5: Cartes géographiques de la wilaya de Mostaganem et Relizane (ammi moussa)

IV .3.Matériel utilisé

- Balance analytique de précision
- Ballon de 2L
- Chauffe ballon
- Flacon
- Becher
- Les tubes essais
- Eau distillée
- Etuve
- Spectrophotomètre

IV.4. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés sont :

Méthanol, DPPH (2,2-Diphényl-1-picryldrazyl), Acide ascorbique

IV.5. Méthode d'extraction

L'extraction des huiles essentielles de plusieurs échantillons de la matière végétale sèche d'ensemble les parties aériennes (feuilles, fleurs, tiges) de *Rosmarinus officinalis*

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type clevenger

L'hydrodistillation de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* Consiste à mettre 100g des feuilles et tiges sèches dans 1 litre d'eau distillé et à faire bouillir le mélange dans un chauffe ballon.

Un courant d'eau de robinet traverse le tube réfrigérant de l'appareil. La vapeur d'eau entraîne avec elle l'huile, passe dans le tube réfrigérant où l'ensemble se condense.

A la sortie du réfrigérant le liquide de condensation est récupéré dans un tube à essai. L'opération de distillation dure environ 2 heures. Donc le liquide (distillat) obtenu renferme deux phases :

-Une phase organique : contient les huiles essentielles.

-Une phase aqueuse : contient l'eau aromatique

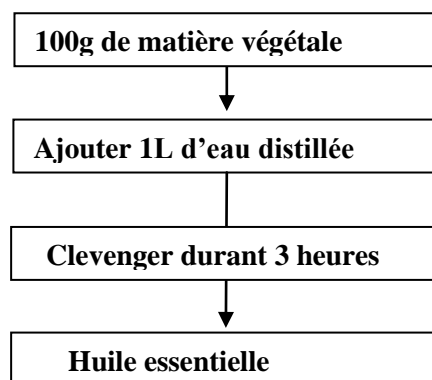


Figure 6: Méthode d'extraction des huiles essentielles (Hemeda et Klein ; 1990)

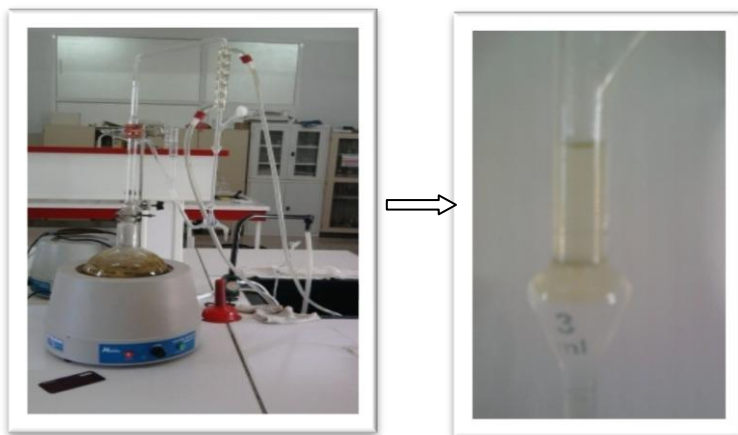
**Dispositif de Clivenger.****Décantation (2phases)**

Figure 7: Les principales étapes d'hydro-distillation (photo original)

IV.6. Conservation de l'huile essentielle obtenue

Une fois les huiles essentielles obtenues, elle est conservée dans un flacon en verre enveloppée de papier d'aluminium à une température spécifique à la dégradation des huiles essentielles.

IV.7. Calcul de rendement

Le rendement de l'huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite avec le poids de la plante traitée (Carré, 1953). Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

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

Avec

R:rendement de l'huile exprimé en pourcentage.

P_x : poids de l'huile en g.

P_y : poids de la plante en g.

IV.8. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydant a été évaluée par la méthode : **DPPH**

- **Test de DPPH**

Le 2,2-diphényl-1-picrylhyrazyl (DPPH) est un radical organique stable de couleur violette .En présence de composés anti radicalaires, celui-ci est réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine et vire au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (**Maataoui et al., 2006**).

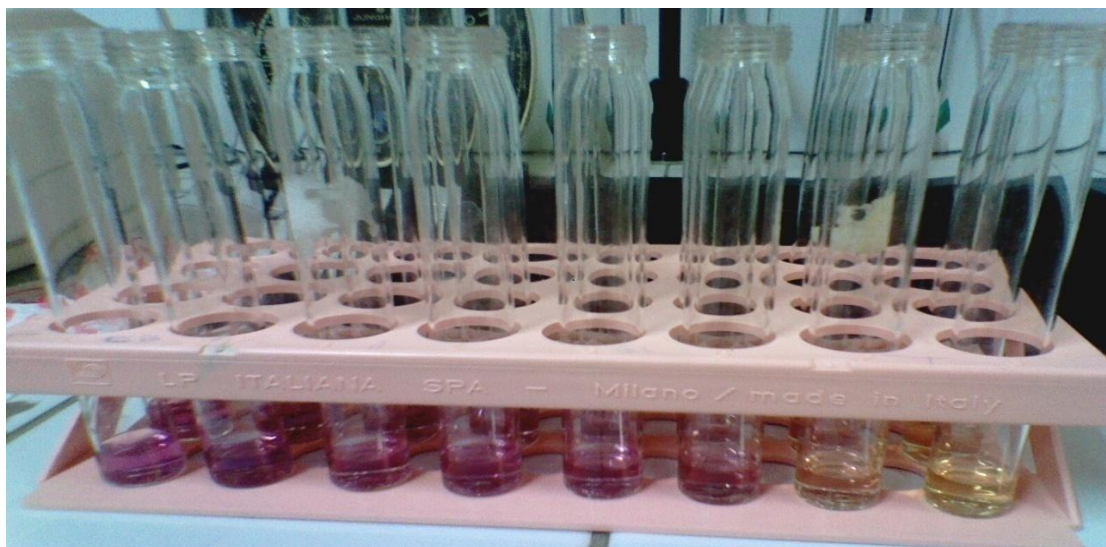


Figure 8: Réduction de radical DPPH (de couleur violette au diphényl picryl-hydrazine (de couleur jaune).

Mode opératoire

- **Préparation des dilutions des huiles essentielles**

Pour chacune des deux huiles essentielles, une série de dilution de concentrations allant de 300mg /ml (solution A) a été préparée comme suit :

- ✓ On prend 300 μ l d'huile essentielle par un micro pipette.
- ✓ On introduit cette quantité dans un tube à essai contenant 700 μ l de méthanol.
- ✓ On prend 83 μ l de la solution (A) dans un tube contenant 417 μ l de méthanol

Des volume de 166,259, et 332 μ l sont prélevés de la solution(A) et sont introduits respectivement dans des tubes contenant 334, 241, et 168 μ l méthanol. Les concentrations finales sont de 50, 100, 150 et 200 mg /ml (**Bouguerra, 2012**).

- **Préparation des dilutions de la vitamine C**

Les dilutions de l'acide ascorbique (M. 176.13 ; 99,7%) ont été préparées selon **Nikhat et al.(2009)** comme suit :

- ✓ On a pesé 0,013g de la vitamine C par une balance analytique
- ✓ On a introduit cette quantité dans un tube à essai contenant 13 ml méthanol (solution A) (1mg /ml)
- ✓ On a introduit 50 μ l de la solution(A) dans un tube contenant 450 μ l méthanol
- ✓ On a introduit ensuite 100 μ l de la solution (A) dans un tube contenant 400 μ l méthanol
- ✓ On a introduit 150 μ l de la solution (A) dans un tube contenant 350 μ l méthanol
- ✓ On a introduit 200 μ l de la solution (A) dans un tube contenant 300 μ l méthanol

La concentration finale 0,0.1 ,0.2 ,0.3 ,0.4mg /ml

- **Mesure de l'activité anti radicalaire des huiles essentielles**

L'activité antiradicalaire des deux échantillons d'huile essentielle a été mesurée par la méthode décrite **par Archana et al.(2005) et Dung et al .(2008)** .Pour ce faire,100 μ l de chaque dilution d'huile essentielle préparée est introduit dans un tube à essai contenant 2,9ml d'une solution méthanol de DPPH de 0.004%(p /v) .Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517nm .Nous procédons de la même manière pour l'acide ascorbique .

Un contrôle négatif composé de 100 μ l méthanol et de 2.9ml de la solution de DPPH est préparé.

- **Expression des résultats**

L'activité anti radicalaire est exprimée par le pouvoir de réduction de la solution méthanol de DPPH. (Rashid *et al.*, 2010). D' après **Dung et al. (2008)** et **Eyob et al. (2008)**, le pouvoir de réduction est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PR = (A_C - A_E) / A_C \cdot 100$$

PR : pouvoir de la réduction en % ;

AE : absorbance de la solution de DPPH· en présence de l' huile essentielle ou de la vitamine C ;

Ac : absorbance de la solution de DPPH· en absence de l' huile essentielle et de la vitamine C.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l' huile essentielle et de l' acide ascorbique, permet de calculer le paramètre CE_{50} . Qui présente la «concentration Efficace »cette dernière est définie comme étant la concentration de l' huile essentielle (ou de la vitamine C) nécessaire pour réduire 50% de l' activité de DPPH (**Molyneux, 2004**).

Les valeurs CE_{50} moyennes ont été calculées graphiquement à partir de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des échantillons et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (**Portes, 2008**).

V. Résultats et discussions

V.1. Propriétés organoleptiques et le rendement des huiles essentielles

L'examen organoleptique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et le rendement, ont donné les résultats suivants. (**Tableau 3**)

Tableau 3: les caractères organoleptiques et le rendement des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions.

Caractères organoleptiques des huiles essentielles	couleur	Aspect	odeur	Rendement %
Mostaganem	Jaune clair	liquide	Camphrée	0.72%
Relizane	Jaune foncé	liquide	Camphrée	0.57%

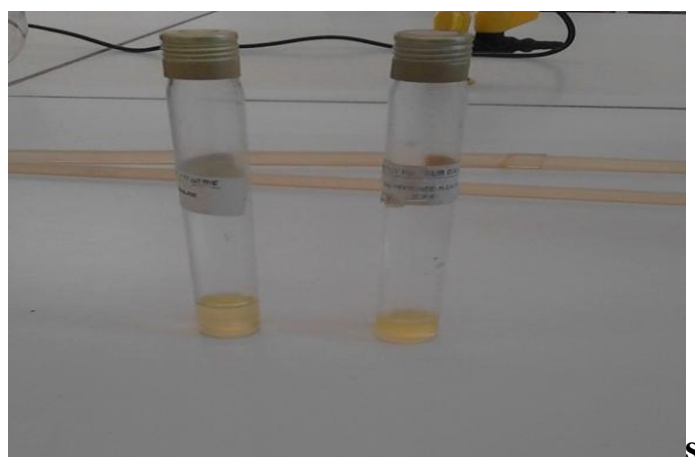


Figure 9 : les huiles essentielles de *R. officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane obtenue par hydro-distillation (photo originale).

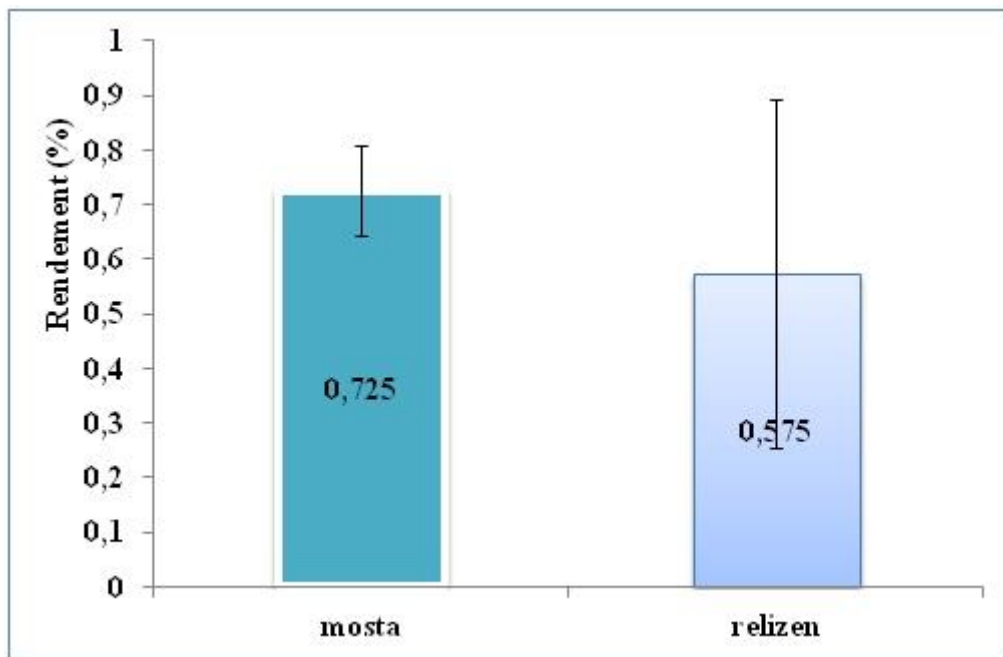


Figure 10: Représentation graphique des différents rendements (%) d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

Le rendement d'huiles essentielles a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de plante de deux régions.

D'après les résultats indiqués dans le tableau (3), Le rendement d'huiles essentielles de la région Mostaganem est supérieur avec une valeur de l'ordre de 0.72% à celui de la région Relizane donnant 0.57%.

Ces différences des rendements en huiles essentielles sont peut-être liées à plusieurs facteurs tel que la composition chimique et la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement, la saison (Marzouk et al., 2008 ;Medini et al.,2009) .

V.2.L'activité antioxydante

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres par nos huiles essentielles, nous avons employé la méthode au DPPH. Ce radical libre présente une coloration violette, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydante, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle (Igwe, 2004).

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C) (Alyafi,2007).

Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir des différentes concentrations d'acide ascorbique préparées et leur densités optiques (à 517nm) correspondantes avec une gamme allant de 0-0,3mg/ml.

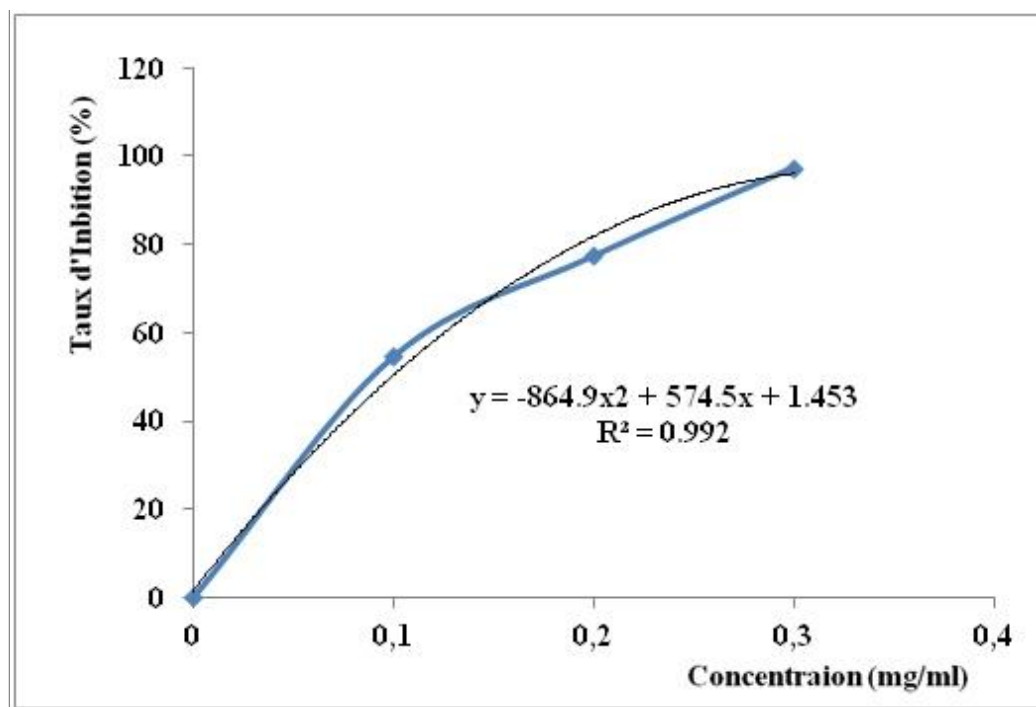


Figure 11: pourcentage de piégeage des radicaux libre par l'acide ascorbique

La lecture de cette figure montre que le pourcentage d'inhibition ou le piégeage des radicaux libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique.

Les courbes (**Fig ; 11,12 ; 13**) montrent que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles des régions ; Mostaganem et Relizane de la plante étudiée jusqu'à un niveau maximal (**Motalleb et al., 2005**) .

Selon **laib(2011)**, la IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Ceci nous permet de constater que pour les huiles essentielles de la plus faible valeur d'IC50 est celle de la région de Mostaganem avec une valeur de l'ordre 71.15 ± 6.15 mg /ml, ce qui signifie que leur pouvoir antioxydant est plus grand que celui de la région Relizane , leur valeur enregistrée est 124.20 ± 16.63 mg/ml. Toutefois, cette valeur reste élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique qui est de (0.089 ± 0.013) mg/ml). Il semble donc que ce dernier soit l'antioxydant le plus efficace (**tableau4**).

Pour le test DPPH, la concentration utilisée qui était de 200mg /ml a donné un pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de Mostaganem de $70.68 \% \pm 4.636$, par contre le pourcentage des huiles essentielles de Relizane est seulement $53.37\% \pm 4.83$.Ceci est causé par plusieurs facteurs (climat, la composition chimique....etc.)

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* est principalement liée à la présence de poly phénols (**Ennajar et al., 2009 ;Nasri et al.,2011**).

Tableau 4: IC50 et inhibition maximales des huiles essentielles et de l'acide ascorbique par la méthode de DPPH

Echantillons	IC50(mg /ml)	I.max (mg /ml)
Les huiles essentielles de Mostaganem	71.15±6.15	70.68± 4.636 (à 200mg /ml)
Huile essentielle de Relizane	124.20±16.63	53.37±4.83 (à 150mg /ml)
Acide ascorbique	0.089±0.013	97.42 ± 0.11 (à 0.3mg /ml)

Chaque résultat constitue la moyenne des trois valeurs obtenues (n=3).

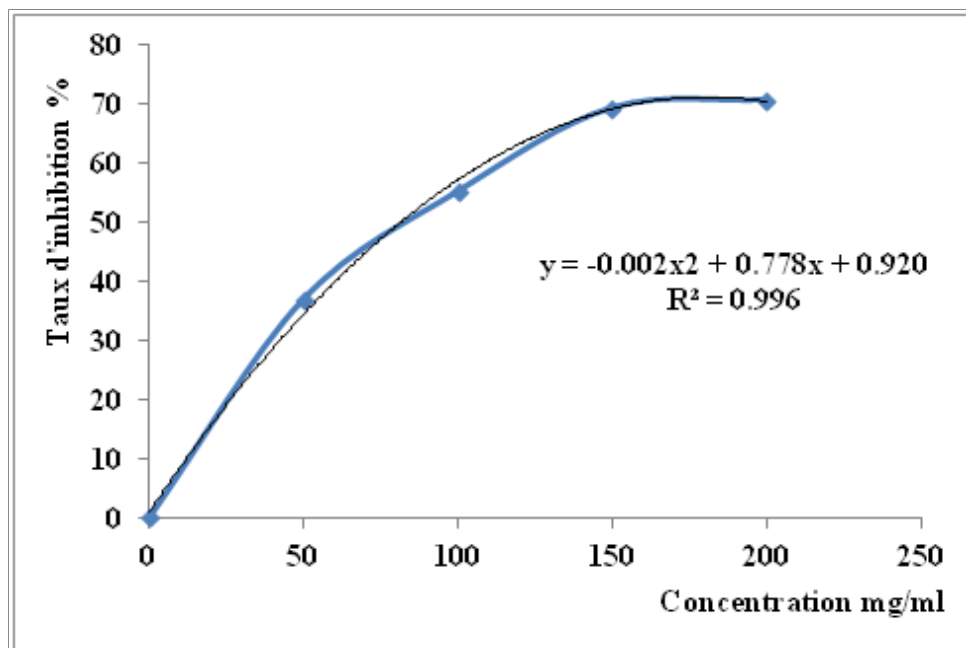


Figure 12: L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par le test DPPH de la région Mostaganem

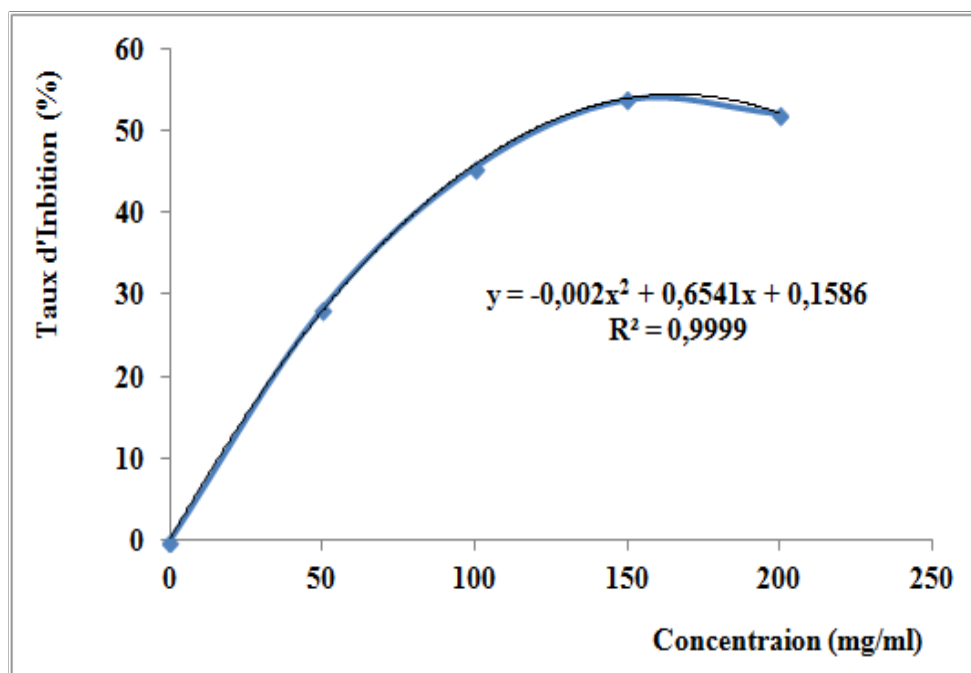


Figure 13: L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par le test DPPH de la région Relizane

conclusion

Conclusion

Cette étude a pour but une contribution à la connaissance de quelques activités antioxydantes des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus officinalis* qui appartient à la famille des Apiécées de deux régions Mostaganem et Relizane.

L'obtention de l'huile essentielle par hydrodistillation de type clevenger reste une méthode simple et efficace, et donne un rendement intéressant. Le calcul du rendement moyen en huiles essentielles de notre plante a donné des valeurs respectivement 0.72% et 0,57% pour les huiles essentielles de Mostaganem et de Relizane.

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* a été également étudiée par la méthode de réduction du DPPH a permis de montrer que celles-ci étaient moins efficace que l'acide ascorbique.les IC50 obtenus sont de 71.15 mg /ml pour les huile essentielles de *Rosmarinus officinalis* de Mostaganem; 24.20mg /ml pour celle des huiles essentielles de Relizane et de 0.089mg /ml pour l'acide ascorbique

En finalité, il a été déduit que les huiles essentielles obtenues de *Rosmarinus officinalis* de Mostaganem est considérable comparé a celles de Relizane.

Le test de DPPH a confirmé l'activité antioxydante.

Rosmarinus officinalis est une plante largement consommée en art culinaire, a aussi des vertus thérapeutiques.

Référence bibliographique

1. **Abrassart, J.L. (1992).** Guide pratique d'aromathérapie : usages et biens faits des huiles essentielles des plantes .95-98.Ed .Masson.
2. **Aburjai T.,Nasheh F.M,(2003)** .plants used in cosmetics.Pytother.Res,17,987-1000P
3. **Afnor, (2000).** Huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles, Tome2, 6ème édition, AFNOR, Paris
4. **Ahamet S. (2003)** .Etude phytochimique et des activités biologique de balanites aegyptiaca L. (Balanitaceae).These de doctorat .Univ .de bamako : 117.
5. **Anton R. & Lobstein A., (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris,522p
6. **Arnold, N., Valentini, G., Bellomaria, B., Laouer, H. (1997)** .Comparative study of the essential oils from Rosmarinus eriocalyx Jordan & Fourr. From Algeria and R. Officinallis L. From other countries. J.essent.Oil Res. 9: 167-175.
7. **Arslan D. and Musa Ozcan M. (2007).** Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosmariny leaves. Energy Conversion and Management.
8. **Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N.,Munoz A., Murcia A., Butler J. et Halliwell B. (1996).** An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosmariny and provençal herb. Food and Chemical tox icolog 34 (5):456.
9. **Athamena.S ;** « Etude quantitative des flavonoïdes des graines de cuminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique »; thèse de magistère ; université d'El hadj Lakhdar de Batna ; (2009).
10. **Bakirel, T., Bakirel, U., Ustuner Keles, O., Gunes Ulgen, S., Yardibi, H. (2008).** In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis) in alloxan-diabetic rabbits. J Ethnopharmacol. 116: 64-73.
11. **Barbosa A.D. M., (2006).** Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology* Vol.49, N° 6: pp. 867-871.

Wangcharoen W. and Morasuk W., (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of holybasil. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 29 (5): pp.1407-1415

12. Baser K.H.C. and Buchbauer G., (2010).Handbook of essential oils: science, technology, and applications, Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America, p. 994.

13. Baudoux, D. (2000).L'aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles .58-59,Ed.Maloire.

14.Belaiche P., (1979).L'aromatogramme, Traite de phytotherapie et d'aromatherapie, M.S.A.Editeur, Paris,Tome 1, p :204

15.Belakhdar J., (1997). Pharmacopée marocaine traditionnelle, Paris, Édition Ibis Pres, 764 p.

16. Bernadet,M.(1983).Phyto-aromathérapie pratique. Ed. Masson, 8978.

17.Berset C et Cervelier ME. (1996).Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliment*, 16,219-245

18. Bezager, L et coll. (1992).Les plantent dans la thérapeutique modern, 6ème édition, Ed.Mloire.4200.

19. Blayn J.F. (1980). Parfums Cosmétique Arômes, N°117.

20.Boskou D., Blekas G. and Tsimidou M. Phenolic compounds in olive and olives, *Current Topics in Nutraceutical Research* 3 (2005), pp. 125- 136.

21. Bossokpi I P L., (2002). Etude des activités biologiques de Fagara zanthoyloides Lam (*Rutaceae*).Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 9p.

22.Botineau M., (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC,Lavoisier, Paris. 1021-1043p.

23. Bruneton J.(1993). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p: 915.

24. Bruneton J., (1993). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec &

25. Carré, (1953). Preccis de technologie et de chimie industrielle.

26.Charpentier B. ,Hamon-Lorleach F. ,Harlay A.,Huard A.,Ridoux L.,Chanselle S.(2008).Guide du préparateur en pharmacie.3eme édition,Elsevier Masson,1358.

- 27. Cheung S. et Tai J. (2007).** Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary and *Rosmarinus officinalis*. *Oncology reports*. 17 (6): 1525-1531.
- 28. Civantos. L. (1998).** L'olivier l'huile l'olive. COI, Madrid, pp 19-22.
- 29. Colette E., (2003).** Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de Bamako : 147 P.
- 30. Collectif ;** « Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins »; Edition Larousse ;(**2001**).
- 31. Cuendet M., Hostettmann K. and Potterat O., (1997).** Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helv. Chim. Acta*. 80: pp.1144-1152.
- 32. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. J. Agric. Food Chem.(2000);** 48: 2576-2581.
- 33. Deroin T.,(1988).** Biologie florale d'une Annonaceae introduite en Côte D'Ivoire: Cananga diagnosis and epidemiology of fungal infections, p: 249-257.
- 34. Diallo A., (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (MYRTACEAE). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako : 13-14 Doc, Lavoisier, Paris, p: 915.
- 35. Dongmo P.M.J., Tchoumboungang F. N, Dongson B., Agwanande W., Sandjon B., Zollo P.H.A. & Menut C., (2010).** Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea klaineana* (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (4): pp. 606-611.
- 36. Ennajar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies., Romdhane M., (2009).** Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *J. Food. Sci.*, 74(7), 364-371 P.
- 37. Exarchou et al, (2002).** V. Exarchou, N. Nenadis, M. Tsimidou, LP. Gerothanassis, A. Troganis and D. Boskou, Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory, *Journal of Agricultural*.

- 38. Faria T.D.J., Ferreira R.S., Yassumoto L., De Souza J.R.P., Ishikawa N.K. and Chairgulprasert V., Prasertsongskun S., Junpra-ob S. and Sangjun M., (2008).** Chemical constituents of the essential oil, antioxidant and antibacterial activities from *Elettariopsis curtisii* Baker. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30 (5): pp. 591-596.
- 39. Fillatre Y., (2011).** Produits phytosanitaires : développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat. Université d'Angers. France, 288P
- 40. Garnier G., Bezanger-Beauquesne L., Debraux G., (1961).** Resources Medicinales de la Flore Francaise, Tome II. Ed Vigot Freres, Paris.
- 41. Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Deciga-Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 111: 476-482.
- 42. Goupy P., Dufour C., Loonis M. and Dangles O., (2003).** Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, pp. 615-622.
- 43. Grysole J., (2005).** la commercialisation des huiles essentielles. In : Huile essentielle : de la plante à la commercialisation : Manuel pratique (coordonné par F-X Garneau ; G.J Collin. ; Université du Québec à Chicoutimi. , Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales), pp 1-24. Corporation Laseve. Québec, Canada
- 44. Guinochet T., (1973).** Phytosociologie, Ed. Masson, France, 227p.
- 45. Hang D., Ou B., et prior R.L. (2005).** the chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (53):1841.
- 46. Hdaddi M. (2009).** Détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *lavandula stoechas*: 7-16-17P
- 47. Heinrich M., Kufer J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M. (2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol.* 107:157-160.
- 48. Huang M. T., Ho C. T., Wang Z. Y., Ferraro T., Lou Y. R., Stanber K., Ma**

- 49. Hubert J., (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja – Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. *Thèse de doctorat.* № 2435. Institut National Polytechnique de Toulouse, 64p.
- 50. Hussain A.I., Anwar F., T.H.S. Sherazi and Przybylski R., (2008).** Chemical composition. Antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry.* 108: pp.986-995.
- 51. Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G., (2000).** Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry,* 48 (9): 4060-4065.
- 52. Igwe, D.,(2004).** Phytochemical Analysis of Tetrapleura tetraptera (Aidan tree), a Master's Degree project Submitted to the Departement of biochemistry/Biotechnology, Ebonyi State University, Abakaliki, Unpublished.
- 53. Iqbal S., Bhangar M.I. and Anwar F.,(2005).** Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry.* 93: pp. 265-272.
- 54. Iserin P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales, Tome 2. Ed. Larousse. Londres, 143-225-226p.
- 55. Kroyer, G., (2005).** Evaluation of polyphenols and radical scavenging properties of aqueous herb extracts, 2005 Annual Meeting, IFT, New Orleans, Abstract 54E.
- 56. 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. Mémoire de magister, Université de Constantine, 122P
- 57. Lemire, N. (2000).** Gazette thérapeutiques, 26-30, Ed. Atlas.
- 58. Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. (1996).** Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). *Brazilian journal of medical and biological research.* 29 (2): 223-227.
- 59. Li peiwu., Hopia A., Jari S., Teijoy. et Heikki V.,(1999).** TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology. *Chemistry and Nutrition,*(10):123-187.

- 60. Maataoui B.S.Hmyene A., Hilali S, (2006).** Activités anti-radicalaire d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*).Lebanese Science Journal, 7(1), 38P.
- 61.Magin.D.V.,Lewin G.,popov I.N.,Izmailov Yu D.et Vladimirov Yu A.,(2000).**Photochemi-luminescence as a tool to determine the antioxidant activity in biological systems.Mathematic modeling.Lavoisier,419P.
- 62. Mann J., (1987).** Secondary metabolism, Clarendon Press, Oxford, p. 374.
- 63.Marzouk B.,Ben Hadj Fredj M.,Mastouri M.,Boukef k.,Mazouk Z,(2008).**Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium L.* *Journal of Food, Agriculture &Environment*,6,78-82P.
- 64.Mayachiew P. et Devahastin S. (2008).** Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology* 41; pp. 1153-1159.
- 65. Medini H.,Elaiissi A.,Khoujad F.F.M.L.,Chemli R.,Harzallah-SKhiri F,(2009).**Seasonal and geographical influences on the chemical composition of *Juniperus phoenicea L.*Essential oil leaves from the Northern Tunisia. *Chemistry &Biodiversity*,6, 1378-1387P.
- 66. Molyneux. P.(2004).** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*Vol. 26 № 2. 212p.
- 67.Motalleb G.,Hanachi P.,Kua S.H.,Fauziah O.,et Asmah R.(2005)** .Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extract.*JBiol Sci*(5):648-663.
- 68.Nasri N.,Tlili N.,Elfalleh W.,Cherif E.,Ferchichi A.,Khaldi A.,Triki S,(2011).**Chemical compounds from Phoenician berries(*Juniperus phoenicea*).*Nat.Prod.Res*,25(18),1733-1742P.
- 69. Nikhat F.,Satynarayana D. and Subhramanyam E.V.S.,(2009).**Isolation, characterization and screening of antioxidant activity of the roots of *Syzygiumcumini(L)* Skeel. *Asian J. Research Chem.* 2(2): pp. 218-221.
- 70. Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. ET Pfeifer A. M. (1995).**Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells.*Carcinogenesis.* 16 (9): 2057-2062.

- 71. Okamura N., Haraguchi H., Hashimoto K., et Yaghi A. (1994).** Flavonoids in *Rosmarinus officinalis* leaves. *Phytochemistry*, **37** (5): 1463-1466.
- olive oil in mildly dyslipidémie patients. *Eur. J. Clin. Nutr.* **6**: 1-7.
- 72. Oranges, R., Passet, G. Teulade. (1973).** Les plantes médicinales à essences et chimiotaxonomie, 17ème journée de l'aromate lourd, 12 mai 1973
- 73. Ouamba J.M., (1991).** Valorisation chimique des plantes aromatiques du Congo, Extraction et analyse des huiles essentielles Oximation des aldéhydes naturels, Mémoire de magister. Université Montpellier II, p. 342.
- 74. Oyaizu M., (1986).** Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. **35**: pp.771-775.
- 75. Perfumer et Flavorist, (2009).** A preliminary report on the world production of some selected essential oils and countries, Vol. 34,
- 76. Poletti, A. (1988).** Fleurs et plantes médicinales. 2ème Edition. Delachaux & Niestlé (Ed). Paris, 222p.
- 77. Portes E., (2008).** Synthèse et Etudes de tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. *Thèse de doctorat*. N° 3695. Universities Bordeaux I, 244p.
- 78. Prakash A., (2001).** Antioxidant activity. *Medallion Laboratories analytical progress*. Vol. 19, N° 2. 2p.
- 79. Quezel P. et Santa, S., (1963).** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. CNRS. Paris. 360-361 p
- 80. Roche, M., Dufour C., Mora, N. and Dangles O., (2005).** Antioxidant activity of olive phenols: mechanistic investigation and characterization of oxidation products by mass spectrometry. *Organic Biomolecular Chemistry*, **3**, pp. 423-430.
- 81. Schauenberg O. and Paris F., (1977).** Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.
- 82. Simionatto E., Bonani V.F.L., Morel A.F., Poppi N.R., Jú nior J.L.R., Stuker C.Z., Peruzzo G.M., Peres M.T. and Hess S.C., (2007).** Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) Stem Bark. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 18, N°5, pp. 879-885.

- 83. Souza E.L., Guerr N.B., Stamford T.L.M. and Lima E.O.,(2006).** Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. Rev. Bras. Farm., p. 22-25. (pharmacognosie), Tonnel. Ed. Masson (Paris, New York). 259. Lavoisier(France).
- 84. Soyak, D., Jindal, A., Singh, I., Goyal, P.K. (2007)** .Modulation of radiation - induced biochemical alterations in mice by rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. Phytomedicine.14: 701-705.
- 85. Trouillas et al, (2003).** P. Trouillas, C Claude-Alain, A. Daovy-Paulette, A. Simon, A. Marfak and C Delage et al, Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative Properties of sixteen water plant extracts used in the Limousin countryside as herbal teas, Food Chemistry 80 (2003) (3), pp. 399-407 Itural and Food Chemistry 50 (2002), pp. 5294-5299.
- 86. Visioli F, Caruso D, Grande S, Bosisio R, Villa M, Galli G, Sirtori C & Galli C.(2004) .Virgin Olive Oil Study (Volos):** vasoprotective potential of extra virgin W., Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Rizenhaler C., Meyer D., Lepierre C., Pollet B. et Legrand M. (1994). Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. Plant cell. **16** (4): 1446-1465.
- 87. Yang R. Y., Lin S. et Kuo G. (2008).** Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. Asia of Pacific journal of clinical nutrition. **17** (S1): 275-279.
- 88. Yanishlieva-Maslarova, N.N., Heinonen, M.(2001).** Sources of natural antioxidants. In J. Pokomy, N. Yanishlieva, & M. Gordon (Eds.), Antioxidants in food (pp. 210-249). Boca Raton: CRC Press.
- 89. Yassa N., Masoomi F., Rohani Rankouhi S.E. and Hadjiakhoondi A., (2009).** Chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of *Rosa damascene* from Iran, population of Guilan. *DARU* Vol. 17, N° 3 pp. 175-181.