

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire

---

**Thème : Contribution à l'étude d'activités antioxydante et anti-inflammatoire de certaines huiles essentielles**

---

**Présenté par :**

- Guerfa Souhila.
- Ounaissia Nabila.

**Devant le jury composé de :**

- **Président (e) : GRARA Noudjoud** M.C.A (Université de Guelma)
- **Examineur : DJEBIR Soumia** M.A.A (Université de Guelma)
- **Encadreur : BOUMAAZA Awatif.** M.A.A (Université de Guelma)

**Juin 2015**

# Sommaire

**Remerciement**

**Liste d'abréviations**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Introduction**

1. Généralité sur les huiles essentielles .....	1
1.1. Historique .....	1
1.2. Définition .....	1
1.3. Biosynthèse et la sécrétion des huiles essentielles .....	2
1.3.1. La biosynthèse .....	2
1.3.2. La sécrétion des huiles essentielles .....	3
1.3.2.1. Tissus de sécrétion externe .....	4
1.3.2.2. Tissus de sécrétion interne .....	4
1.4. Compositions chimiques .....	6
1.5. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	6
1.6. Analyse des huiles essentielles et les critères de qualité .....	7
1.6.1. Analyse des huiles essentielles .....	7
1.6.1.1 Analyse physiques .....	7
1.6.1.2. Analyse biochimique : chromatographique en phase gazeuse .....	8
1.6.1.3. L'analyse de l'action thérapeutique des HEs : l'aromatogramme .....	8
1.6.2. Les critères de qualités .....	8
1.7. Répartition et Localisation des huiles essentielles dans la plante .....	9

1.8. Extraction des huiles essentielles .....	9
1.9. Domaine d'utilisation .....	10
1.9.1. En pharmacie .....	10
1.9.2. Phytothérapies .....	11
1.9.3. En Parfumerie et cosmétologie .....	11
1.9.4. En industrie alimentaire .....	11
1.10. La toxicologie .....	12
1.11. Recommandations pour les huiles essentielles .....	12
2. Les activités biologiques des huiles essentielles .....	14
2.1. L'activité antioxydante .....	14
2.1.1. Définition d'un antioxydant .....	14
2.1.2. Les différents types d'antioxydants .....	14
2.1.2.1. Les antioxydants endogènes .....	14
2.1.2.2. Les antioxydants naturels .....	15
2.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant .....	15
3. Les huiles essentielles de l'armoise, l'origan, le thym, la menthe pouliot .....	16
3.1. Armoise ( <i>Arthémisia herbaelba</i> ) .....	16
3.1.1. Place dans la systématique .....	16
3.1.2. La composition chimique de l'armoise ( <i>Arthémisia herbaelba</i> ) .....	17
3.2. Menthe pouliot ( <i>Mentha pulégium</i> ) .....	17
3.2.1. Place dans la systématique .....	18
3.2.2. La composition chimique de Menthe pouliot ( <i>Mentha pulegium</i> ) .....	18
3.3. Origan ( <i>Origanum vulgre</i> ) .....	18

3.3.1. Place dans la systématique.....	19
3.3.3. La composition chimique d' Origan ( <i>Origanum vulgre</i> ) .....	19
3.4. Thym ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....	20
3.4.1. Place dans la systématique .....	20
3.4.3. La composition chimique de Thym ( <i>Thymus vulgaris</i> ).....	21

## **Travail Expérimental**

### **Matériel et Méthodes**

1. Matériel.....	22
2. Méthode .....	22
2.1. L'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	22
2.1.1. Evaluation de l'activité ant-radicalaire par le test de DPPH .....	22
2.1.2. Test de peroxydation lipidique (TBA-rs) .....	23
2.1.3. Test de réduction de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	23
2.2. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> .....	24
2.2.1. Test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine .....	24
2.2.2. Test d'hémolyse ou de la stabilité membranaire .....	25
3. Analyse statistique .....	25

### **Résultats et discussion**

1. Activité antioxydante .....	26
1.1. Le test de DPPH .....	26
1.2. Test de réduction de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	27

1.3. Test des (TBA-rs) sur le jaune d'œuf .....	28
2.2. Activité anti-inflammatoire .....	29
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	31
<b>Résumes</b> .....	32
<b>Liste des références</b> .....	33

## Remerciments

*Avant tout, Nous remercions notre Dieu le tout puissant, créateur Allah, Grand et Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser se travail dans de meilleures conditions.*

*Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et mes vifs remerciements au **Melle BOUMAZA A.** qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Nous avons été satisfait de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante, merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; nous ne pouvons, Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.*

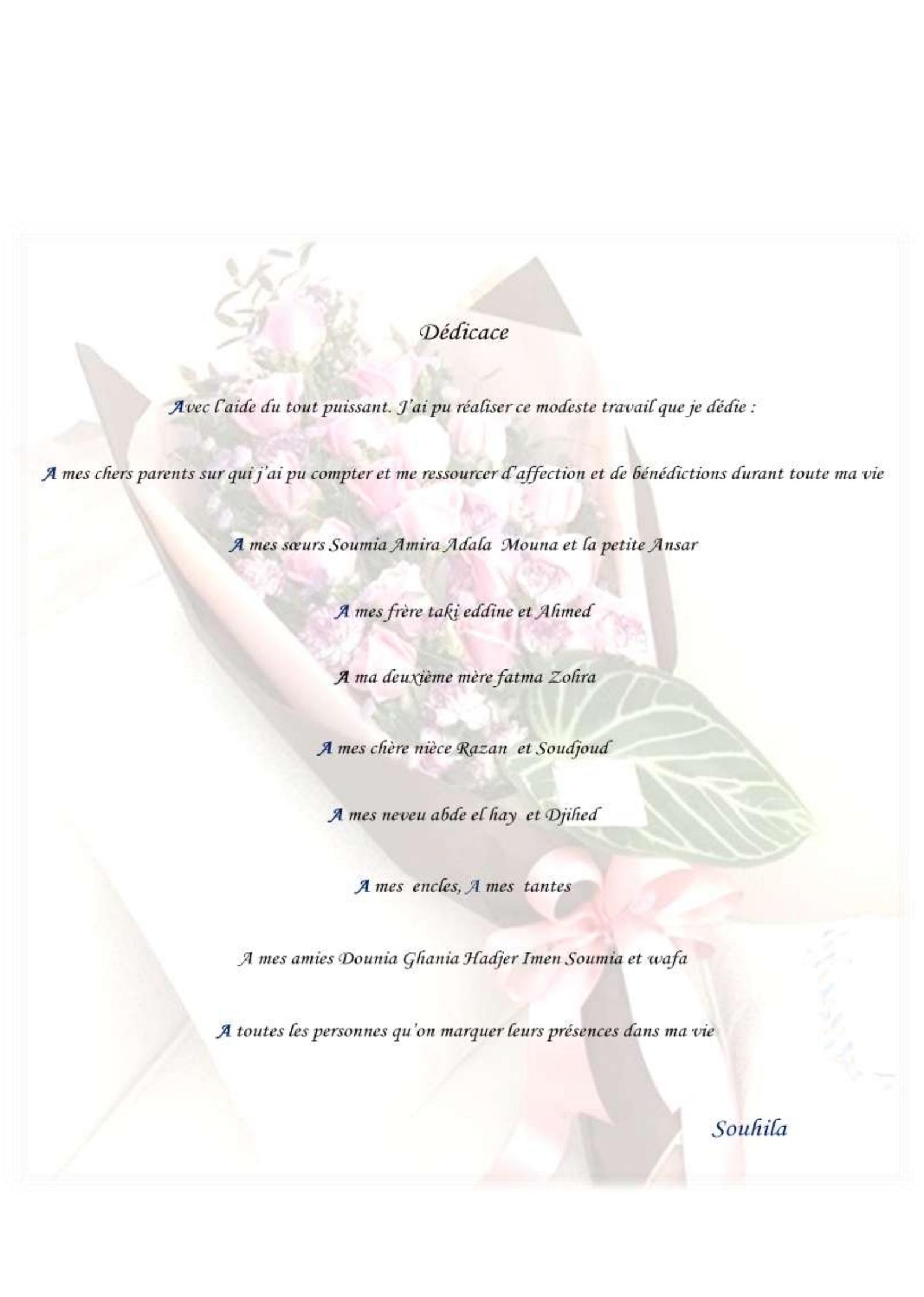
*Nous tenons à remercier **Mme GRARA N** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses de respect.*

*Nous tenons à remercier **Mme DJEBIR S** d'avoir accepté de faire partie du jury pour examiner notre modeste travail.*

*Nous tenons à remercier également l'ensemble de l'équipe des Laboratoires de pédagogie.*

*Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail, nous ne saurions remercier ici les personne dont la collaboration a été essentielle pour la réalisation de certaines étapes de ce travail. Sans citer les noms, en particulier.*

*Nous remercions nos collègues et nos amies pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*



*Dédicace*

*Avec l'aide du tout puissant. J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chers parents sur qui j'ai pu compter et me ressourcer d'affection et de bénédictions durant toute ma vie*

*A mes sœurs Soumia Amira Adala Mouna et la petite Ansar*

*A mes frère takj eddine et Ahmed*

*A ma deuxième mère fatma Zohra*

*A mes chère nièce Razan et Soudjoud*

*A mes neveu abde el hay et Djihed*

*A mes oncles, A mes tantes*

*A mes amies Dounia Ghania Hadjer Imen Soumia et wafa*

*A toutes les personnes qu'on marquer leurs présences dans ma vie*

*Souhila*



*Dédicace*

*Avec l'aide du tout puissant. J'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chers parents sur qui j'ai pu compter et me ressourcer d'affection et de bénédictions durant toute ma vie*

*A mes sœurs Souâd Zahia Dounia Habiba*

*A mes frère Abd Elghani Riad et Rabah*

*A mes chère nièce Imen Mouhemd Amine et Lamise*

*A mon fiancé Ousif Yazid*

*A mes amies Dounia Imen Soumia Zina Souhila Imen saïfa sihem hasna et sara*

*A toutes les personnes qu'on marquer leurs présences dans ma vie*

*Nabila*

## Liste d'abréviation

---

**AFNOR:** Association Française de Normalisation

**AR :** *Arthémisia herbaelba*.

**CE50:** Concentration Efficace.

**COV:** composés organiques volatiles.

**DPPH:** Diphenylpicrylhydrazine.

**EC50:** Efficient Concentration 50%.

**HE:** Huile Essentielles.

**ISO:** International Standard Organization

**MDA:** Malondialdéhyde.

**MP:** *Mentha pulégium*.

**OR:** *Origanum vulgre*.

**TBA:** Acide Thiobarbiturique.

**TBA-rs:** Acide Thiobarbiturique –substances réactif.

**TH:** *Thymus vulgaris*.

## Liste des figures

---

Figure N°	Les Titres des Figures	N° page
<b>Figure 01</b>	Localisation cellulaire des principales voies de synthèse des COV chez les végétaux	03
<b>Figure 02</b>	Les parties de plantes qui permettent la biosynthèse de l'huile essentielle et la sécrétion	05
<b>Figure 03</b>	Réaction du DPPH• avec un antioxydant	15
<b>Figure 04</b>	<i>Artemisia vulgaris</i>	16
<b>Figure 05</b>	<i>Mentha pulegium</i>	18
<b>Figure 06</b>	<i>Origanum vulgre</i>	19
<b>Figure 07</b>	<i>Thymus vulgaris</i>	21
<b>Figure 08</b>	Pourcentages de l'effet scavenger de l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> par les différents huiles essentielles et l'acide ascorbique utilisé comme standard	28
<b>Figure 09</b>	Activité anti- peroxydation lipidique exprimée en concentration efficace (CE50) des huiles essentielles et d'acide ascorbique	29

## Liste des tableaux

---

<b>Tableaux N°</b>	<b>Les Titres des Tableaux</b>	<b>N° page</b>
<b>Tableau 01</b>	L'activité anti-radicalaire exprimée en concentration efficace (CE50) des huiles essentielles et l'acide ascorbique	27
<b>Tableau 02</b>	L'activité d'inhibition de la dénaturation protéique est exprimée en pourcentage d'inhibition	30

# *Introduction*

---

## Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'Homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et par fois dans ses rites religieux. L'histoire des plantes aromatique et médicinale est associée à l'évaluation des civilisations. Dans des régions du monde (Chouitah, 2012), un grand nombre de plantes aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Cependant, l'Homme a longtemps employé des remèdes traditionnels à base de plantes sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques, il reste difficile de définir les molécules responsables bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal ont été attribués à des composés tels que les alcaloïdes et leurs dérivés, des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques (Bahorun, 1997; Mohammedi, 2006).

Beaucoup de métabolites secondaires sont également importants pour notre alimentation (gout, couleur), alors que d'autres comme les alcaloïdes, les anthocyanines, les flavonoïdes, les quinines, et les terpénoïdes ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux et font partie des drogues, colorants, arômes, parfums et des insecticides (Teixeira da Silva, 2004; Mohammedi, 2006).

Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antioxydantes les rendant intéressants comme nouveaux produits, ou comme des alternatives naturels peuvent remplacer les molécules synthétiques dotées des mêmes propriétés.

Dans le présent travail, l'activité antioxydante et anti-inflammatoire de quatre huiles essentielles issues de différentes plantes, *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris*, ont fait l'objet de notre étude.

Pour l'activité antioxydante *in vitro*, trois tests sont réalisés :

- ✓ Le test scavenger du radical DPPH
- ✓ Le test de réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- ✓ Le test des TBARS sur le jaune d'œuf comme source de lipides

Pour l'activité anti-inflammatoire *in vitro*, deux tests sont réalisés :

## Introduction

---

- ✓ Test de dénaturation protéique
- ✓ Test d'hémolyse (stabilisation membranaire) sur les globules rouges humains.

*Synthèse*  
*Bibliographique*

---

## **1. Généralité sur les huiles essentielles :**

### **1.1. Historique :**

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (Baser et Buchbauer, 2010). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (Besombes, 2008; Bouguerra, 2012).

### **1.2. Définition :**

L'huile essentielle (HE), ou essence végétale, se définit comme étant un liquide hydrophobe des composés odoriférants volatils sécrétés par une plante. Ce mélange complexe de diverses molécules (alcools, terpènes, cétones, etc.) est obtenu par distillation à la vapeur d'eau, expression ou distillation sèche (Fernandez et Chemat, 2012).

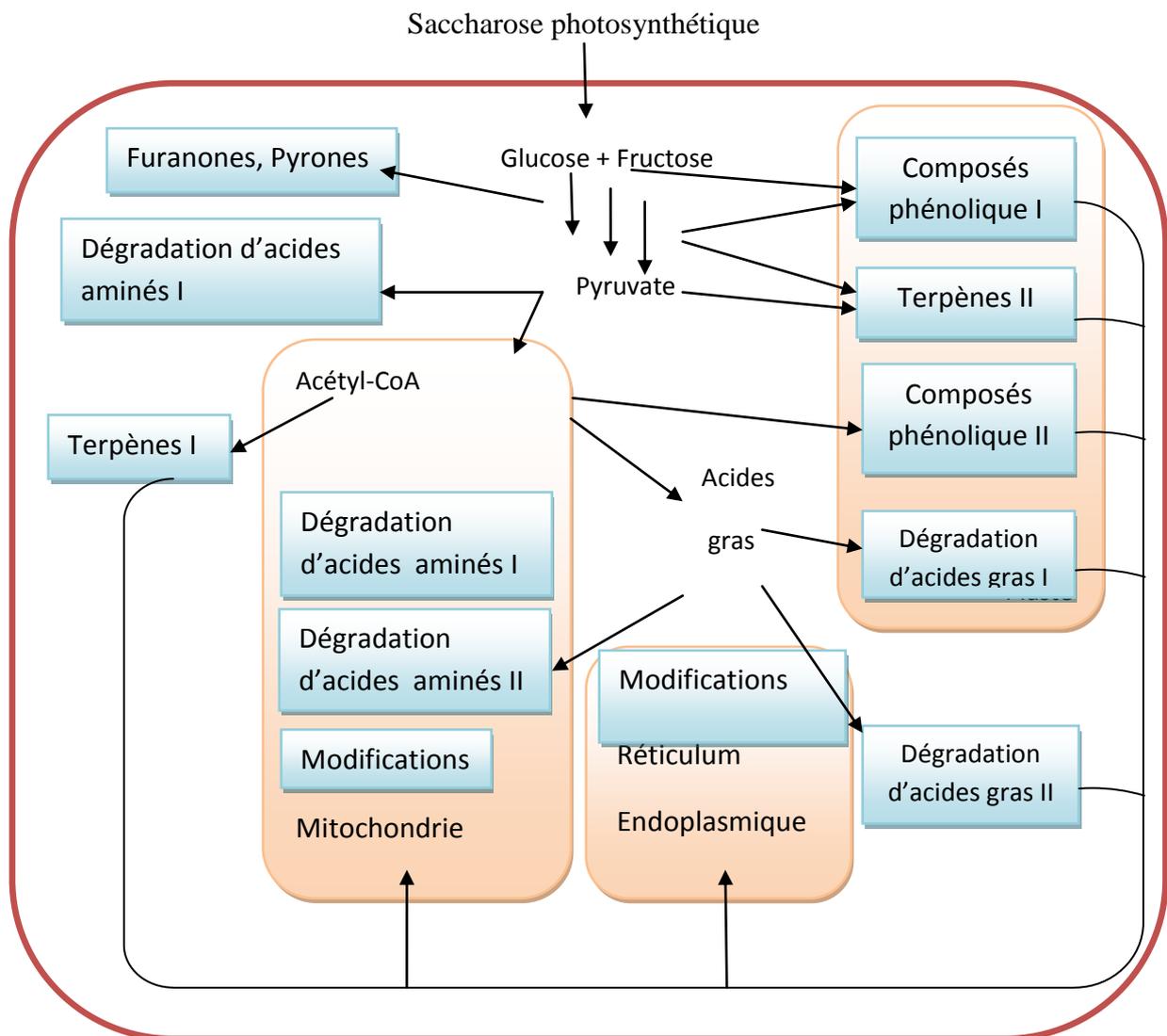
Les huiles essentielles sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrice) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré (Lardry et Haberkorn, 2007).

### **1.3. Biosynthèse et la sécrétion des huiles essentielles :**

#### **1.3.1. la biosynthèse :**

Les constituants des HEs sont issus de multiples voies de biosynthèse qui opèrent dans des compartiments cellulaires différents. Toutes ces voies prennent ancrage sur des intermédiaires métaboliques des principaux constituants cellulaires que sont les sucres, les lipides et les acides aminés. Les teneurs en HEs de certains végétaux étant importantes, leur production requiert la consommation d'une quantité importante de photosynthétats pour ne pas aveugler les cellules productrices. Ceux-ci proviennent de la sève élaborée (sous forme de saccharose), car les cellules productrices d'HEs sont souvent achlorophylliennes.

Une observation synthétique des voies de synthèse des composés organiques volatiles (COV) révèle qu'un grand nombre fonctionne dans le chloroplaste. Ce sont aussi celles qui sont responsables de la synthèse de la majeure partie des constituants de la plupart des HEs. Certaines de ces voies (voie de terpènes et voie de dégradation des acides gras) fonctionnent différemment dans plusieurs compartiments cellulaires, ou elles produisent des COVs différents. Une fois une structure carbonée de base fabriquée dans un compartiment cellulaire, il est fréquent que le COV ainsi produit soit oxydé/réduit, méthylé ou acétylé dans son compartiment d'origine et/ou dans un autre compartiment cellulaire (mitochondrie, réticulum endoplasmique, cytoplasme). La localisation cellulaire des principales voies de synthèse des COV chez les végétaux sont résumées dans la figure 01 (Fernandez et Chemat, 2012).



**Figure 01:** Localisation cellulaire des principales voies de synthèse des COV chez les végétaux (Fernandez et Chemat, 2012).

Les voies nommées « dégradation d'acides aminés » ne concernent pas les acides aminés aromatiques qui sont présents dans les voies des composés phénoliques.

### 1.3.2. la sécrétion des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont biosynthétisées, accumulées et stockées dans des structures des histologiques spécialisées, les glandules sécrétoires (Bouwmeester *et al.*, 1995; Bruneton, 1987). Svoba et Greenaway (2003) ont confirmé qu'il ya deux types de glandules sécrétoires: ceux situées sur les surfaces de la plante avec une sécrétion exogène et ceux situées à l'intérieur de l'usine dans les organes internes avec sécrétion endogène. Ils sont également localisés dans le cytoplasme de certaines cellules sécrétoires dans un ou plusieurs organes végétaux. Nous pouvons distinguer différents types.

### 1.3.2.1. Tissus de sécrétion externe :

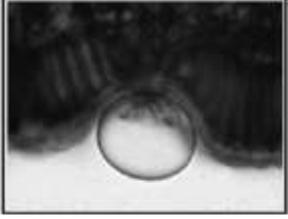
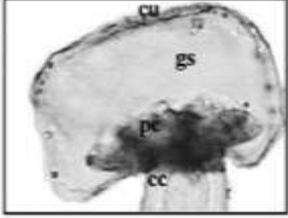
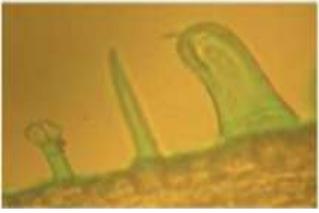
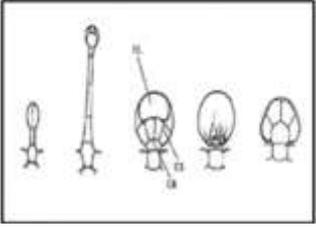
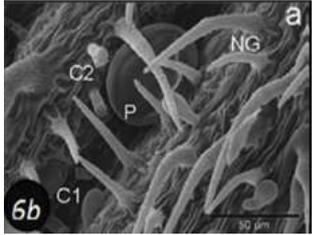
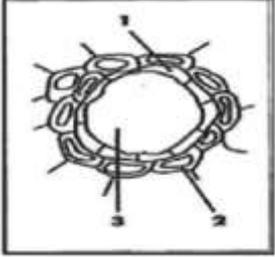
Ces tissus sont situées en dehors de la plante

- **Les papilles épidermique:** ce sont des cellules épidermiques coniques sécrétant des huiles qui sont généralement rencontrés dans des pétales de fleurs
- **Les trichomes glandulaires:** ils se développent à partir de cellules de l'épiderme. Ils sont le site de biosynthèse et de l'accumulation d'HE (Turner *et al.*, 2000). L'huile essentielle est synthétisée et accumulée dans une poche entre les cellules sécrétoires et une cuticule commune (figure. 1a-d). Il existe plusieurs types de trichomes glandulaires (Rezakhanlo et Talebi, 2010): sessiles (figure. 1a) et traquées trichomes. Ces derniers sont de trois types: peltées (figure 1b), capité et trichomes digitiformes (figure 1e) (Rezakhanlo et Talebi, 2010; Baran *et al.* 2010; Ascensão et Pais, 1998).
- **Les trichomes non glandulaires:** ils ont une structure similaire aux trichomes glandulaires (Figure 1f) (Kremer et al, 2014 ; Rezakhanlo et Talebi, 2010).

### 1.3.2.2. Tissus de sécrétion interne :

Ces tissus sont situés à l'intérieur de la plante. Nous distinguons

- **Les canaux sécrétoires:** ils sont petits canaux (figure. 1g) se trouvent sur toute la longueur de la plante et les parois et sont formées de cellules sécrétoire (Apiaceae).
- **Les poches sécrétrices:** ce sont des espaces intercellulaires, souvent sphériques, remplis par des des'HEs gouttelettes HEs synthétisés par les cellules qui les bordent.
- **Cellules avec sécrétion intracellulaire:** ils sont des cellules isolées spécialisées dans l'accumulation et la sécrétion des HEs à l'intérieur de leurs vacuoles. Lorsque la concentration d'HE atteint des niveaux élevés, ces cellules meurent (El Asbahani *et al.*, 2015).

 <p><b>Figure 1a :</b> Sessiles Sécrétoire (magn.X420)</p>	 <p><b>Fig.1b:</b> Peltate Trichomes ( Baran et al, 2010)</p>	 <p><b>Fig.1c :</b> Trichomes (Rzakhanlo et Talebi, 2010)</p>
 <p><b>Fig.1d:</b> Différent types de Trichomes sécrétion dans <i>Salvia officinalis</i>.</p>	 <p><b>Fig.1e :</b> Micrographie lumière de poils de protection et de sécrétion de <i>P.graveolens</i> feuille (Gx 400) - (Boukhatem et al., 2010)</p>	 <p><b>Fig.1f :</b> Micrographies MEB de <i>Micromeriakeneri</i> montrant trichomes non glandulaires (NG) (Kremer et al., 2014)</p>
 <p><b>Fig.1g :</b> Section d'un canal de feuilles glandulaire de pin maritime (Franchomme et Pénoël 2001)</p>		

**Figure 02.** Les parties de plantes qui permettent la biosynthèse de l'huile essentielle et la sécrétion (Franchomme et Pénoël, 2001).

#### 1.4. Compositions chimiques :

Les HEs ont une composition assez complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes en (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes en (C30). Ils ont la même origine métabolique. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. En général, une HE est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'ether-oxydes et de carbures.

A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (exemple : *Thymus* à thymol, à geraniol, à carvacrol, à linalol), et parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement ; On l'appelle composé majoritaire. La composition chimique des HE varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation (Rhayour, 2002).

#### 1.5. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Selon (Bardeau, 1976; Legrand, 1978 ; Lemberg, 1982 ; Bruneto, 1999), les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à la quelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- Leur point de d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevée.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactive sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels
- Ce sont des parfums et sont de conservation limitée.
- Sont très altérables et sensible à l'oxydation (mais ne rancissent pas).

- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire rétinoides, très odorantes et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâle Il existe, cependant, quelques exceptions, exemple: huile essentiel à azulène de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur du corps, quelque fois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).

## 1.6. Analyses des huiles essentielles et les critères de qualité :

### 1.6.1. Analyse des huiles essentielles :

**1.6.1.1. Analyse physique :** les mesurer physique permettent de **déceler** d'éventuelles anomalies dans les HEs testées.

- **Densité relative à 20 °C :**

Cette mesure est effectuée avec un densimètre électronique indiquant la densité d'un HE .Toute variation importante de densité pour une HE indique qu'elle a subi une modification : falsification, rectification, etc.

- **Indice de réfraction à 20 °C :**

Cette mesure indique le rapport entre l'angle d'incidence et réfraction d'un rayon lumineux de 589nm passant de l'air dans l'HE. Toute variation de cet indice signifier que la molécule n'est pas pure ou qu'elle a été mélangé avec d'autres substances. Il permet donc d'évaluer le degré de pureté d'une HE.

- **Pouvoir rotatoire à 20 °C :**

Cette mesure indique l'angle de déviation d'une radiation lumineuse de 598nm traversant une HE. Cette déviation lumineuse est définie et répertoriée. Toute variation importante signale une altération de cette molécule : pureté insuffisante, mélange avec d'autres substances.

### 1.6.1.2. Analyse biochimique : chromatographique en phase gazeuse

Les mesures biochimiques permettant de **préciser** la nature exacte de l'anomalie dans les HE testées. La chromatographie en phase gazeuse est un appareillage constitué d'un

couplage entre une chromatographie à gaz et un spectromètre de masse relié à base de données informatisées des composants aromatiques.

### **1.6.1.3. L'analyse de l'action thérapeutique des HEs : l'aromatogramme**

C'est ce qui rend crédible l'utilisation des HEs face aux bactéries pathogènes. Cette méthode, inspirée de la pratique des antibiogrammes, permet d'étudier la sensibilité des germes aux HEs. On peut ainsi mesurer le pouvoir antibactérien et antifongique des HE de manière fiable et reproductible. La technique se fonde sur la « méthode de disque » (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).

### **1.6.2. les critères de qualités :**

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (Pibiri, 2006 ; Beidjord, 2014).

Chaque flacon d'HE doit comporter les mentions suivantes :

- ✓ nom botanique de la plante : nom français et nom latin de la plante, spécifiant le genre, l'espèce et la famille.
- ✓ partie de la plante soumise à extraction.
- ✓ nom du chémotype.
- ✓ mode d'extraction employé (préférer la distillation faite à la vapeur d'eau).
- ✓ 100 % pure (c'est-à-dire non mélangée avec d'autres HEs).
- ✓ 100 % naturelle (c'est-à-dire sans adjonction d'essence minérale ou d'huile), non dénaturée avec des molécules de pure synthèse chimique.
- ✓ 100 % intégrale, c'est-à-dire contenant la totalité des principes aromatiques, le distillateur ayant recueilli de la première (riche en molécules aromatiques très volatiles), à la dernière goutte (riche en molécules plus lourdes et par conséquent moins volatiles) sortie de l'alambic.
- ✓ biologique (garantit l'absence de résidus de pesticides ou autres résidus indésirables)

- ✓ origine de la plante : pays, région, terroir (choisir les HE provenant de la distillation de plantes sauvages ou de cultures saines (Pénoël, 1991).
- ✓ principaux composants moléculaires identifiés dans le lot numéroté fourni au professionnel et au consommateur.
- ✓ le numéro de lot du flacon (en cas de produit défectueux ou de réclamation). 1 ml d'HE correspond à environ 30 gouttes (Balz, 1986 ; Werner M, 2002). Un flacon de 5 ml (conditionnement le plus fréquent) contient donc environ 150 gouttes d'HE (Lardry et Haberkorn, 2007).

### 1.7. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante :

Les HEs sont largement répartis dans le règne végétal. Certaines familles en sont particulièrement riches : Conifères, Myrtacées, Umbellifères, Labiées, Composées (Rhayour K., 2002). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus...) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), des bois (bois de rose ...), des racines (vétiver), des rhizomes (gingembre), des fruits (anis, badiane), des graines (muscade).

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon la localisation (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).

### 1.8. Extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais, selon la définition de l'AFNOR et l'ISO, les méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles sont (Bouguerra, 2012) :

- **L'hydro distillation** : le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation du mélange binaire non miscible. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à 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 toute seule 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 (Chouitah, 2012).
- **La distillation** : est la méthode la plus ancienne et, également, la plus utilisée. En revanche, une remarque s'impose dès à présent, la distillation ne permet pas d'extraire la totalité des

principes actifs lourds d'un végétal mais seulement les composés volatils entraînés. De plus, ces procédés présentent des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition, certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydro distillation (Bouguerra, 2012).

- **Autre techniques :** Les inconvénients des techniques précédentes ont attiré l'attention de plusieurs laboratoires de recherche et ont permis la mise au point des nouvelles techniques d'extraction des huiles essentielles qui sont beaucoup plus écologiques, en utilisant des solvants moins toxiques et en petites quantités (Ferhat *et al.*, 2010). Parmi ces techniques, figurent : l'extraction assistée par micro-ondes ou ultrasons (Kaufmann et Christen, 2002 ; Hemwimon *et al.*, 2007 ; Piochon, 2008 ; Ferhat *et al.*, 2010 ; Dupuy, 2010), l'extraction par les fluides supercritiques ou encore l'eau à l'état subcritique (Kaufmann et Christen, 2002 ; Piochon, 2008 ; Ferhat *et al.*, 2010 ; Dupuy, 2010), l'extraction par la détente instantanée contrôlée, l'extraction par solvants sous pression et l'extraction par la flash détente (Ferhat *et al.*, 2010 ; Kehal, 2013).

## 1.9. Domaines d'utilisation:

### 1.9.1. En pharmacie :

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci les confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique.

Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types :

- Les produits du métabolisme primaire (essentiellement des saccharides), substances indispensables à la vie de la plante se forment dans toutes les plantes vertes grâce à la photosynthèse.
- Le second type de substances se compose des produits du métabolisme secondaire résultant essentiellement de l'azote (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).

### 1.9.2. Phytothérapies:

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HEs pour traiter un certain nombre de maladies.

Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice attefosse, qui a utilisé l'HE de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des

infections. Selon lui, la lavande était plus appropriée pour traiter les infections que plusieurs antiseptiques utilisés à cette époque. Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie.

Les HEs sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire. Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires (Rhayour, 2002).

### **1.9.3. En Parfumerie et cosmétologie:**

L'utilisation des HEs dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (Rhayour, 2002).

### **1.9.4. En industrie alimentaire:**

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des HE. Les plantes aromatiques et leur HEs sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HEs, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires. Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (Rhayour, 2002).

Les huiles essentielles sont très utilisées dans les arômes alimentaires, que ce soit dans le secteur des arômes sucré ou salés.

Dans le domaine des arômes salés, une place de choix revient évidemment aux huiles essentielles d'épices et d'aromates. Celles-ci sont également utilisées dans une moindre mesure dans le domaine des arômes sucrés, dans lequel les huiles essentielles d'agrumes sont largement représentées (Fernandez et Chemat, 2012).

### 1.10. La toxicologie :

Les huiles essentielles sont présentées, généralement comme « sans danger ». Mais ces substances naturelles sont aussi des composés puissants (Degryse *et al.*, 2008). Par leur composition chimique complexe, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome (Benzeggouta, 2005 ; Bouguerra, 2012).

Certaines essences (huspoe, anis) peuvent présenter un risque de toxicité si elles sont utilisées en quantité élevée. Par quantité élevée, l'on entend 10 à 20ml d'essence. Certaines essences, à un dosage élevé sont considérées comme légèrement toxiques pour des sujets sensibles: camphre, genièvre, encens, thym, eucalyptus, romarin.

D'autres, bien que ne présentant pas de risque de toxicité, peuvent être irritantes, même si elles sont appliquées sur la peau : essence de basilic, de citron, de mélisse, de menthe, de thym et de fenouil. (Padrini et Lucheroni, 1996)

La toxicité immédiate par les huiles essentielles est mieux connue. Parmi ces intoxications selon Bruneton(1999).on a :

- ✓ L'essence de sabinine induit des hémorragies utérines chez la femme.
- ✓ L'essence de genévrier donne des hématuries chez l'homme.
- ✓ Une dose de 2g de menthol peut induire un spasme de la glotte qui mène à une asphyxie.
- ✓ Le cis-anéthol provoque des convulsions.
- ✓ On connaît aussi la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyonènes ou à pinocamphène: ces huiles induisent des crises épileptiformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation.
- ✓ Le carvacrol comme le thymol est très irritant, astringent et caustique, ingéré à la dose de 2g, il provoque un peu de gastralgie avec nausées, à plus fortes doses, il détermine la diarrhée. Ainsi, le thym qui est très riche en phénolique, pris pur (à des doses de 30 à 40 gouttes), peut être mortel ou au minimum entraîner des convulsions (Telphon, 2003 ; Bekhechi et Abdelmahid, 2010).

### 1.11. Recommandations pour les huiles essentielles :

Le rôle du pharmacien prend tout son sens en matière d'aromathérapie, que ce soit dans le cadre d'une demande spontanée ou d'un conseil orienté vers une huile essentielle ou un mélange d'HE. Le pharmacien doit rappeler un certain nombre de règles :

- ✓ les HEs ne s'utilisent pas pures, que ce soit par ingestion ou par voie cutanée ;

- ✓ par principe de précaution, toutes les HE sont contre-indiquées (sauf exceptions) aux femmes enceintes et allaitantes, aux enfants de moins de 30 mois, aux personnes asthmatiques ou allergiques ; il convient de strictement s'abstenir lorsque leur usage dans ce type de situation n'est pas maîtrisé ;
- ✓ en règle générale, les HEs ne doivent pas être utilisées chez les enfants de moins de 7 ans sans recueillir l'avis d'un spécialiste en aromathérapie ;
- ✓ les flacons d'HE ne doivent pas être laissés à la portée des enfants ; certaines marques commercialisent d'ailleurs des flacons avec des bouchons de sécurité.
- ✓ pour une action efficace et sans danger, il est primordial de toujours respecter la posologie (à la goutte près).
- ✓ si la moindre irritation ou causticité apparaît lors de l'utilisation d'une HE, qu'elle soit cutanée, muqueuse (nasale, anale, génitale...) ou, surtout, digestive, il ne faut en aucun cas utiliser de l'eau ou tout autre produit aqueux. Il convient alors d'utiliser une huile végétale pour diluer l'excès d'HE et éviter le passage cutané ou muqueux. Dans ce cas, l'utilisation d'huiles comme l'huile végétale de Ricin ou de paraffine est idéal (Françoise, 2003).

## 2. Les activités biologiques des huiles essentielles :

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles des plantes aromatiques.

### 2.1. L'activité antioxydante :

#### 2.1.1. Définition d'un antioxydant :

Du point de vue biologique, les antioxydants sont toutes substances qui présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat (Abuja et Albertini, 2001), et dont les produits de la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant ne doivent pas être toxiques et ne branchent pas la réaction radicalaire. (Durackova, 2008 ; Arnout, 2014).

Les antioxydants sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, de retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit alimentaire (Fernandez et Chemat, 2012). Ils jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps (Chargui *et al.*, 2012).

### 2.2. Les différents types d'antioxydants:

#### 2.2.1. Les antioxydants endogènes :

Les défenses antioxydants de l'organisme peuvent se diviser en :

**Un système de défense primaire :** composé d'enzymes et de substances antioxydantes

- ✓ Le superoxydedismutase (SOD) : diminue la durée de vie de l'anion superoxyde  $O_2^-$ .
- ✓ La catalase : transforme le peroxyde d'oxygène ( $H_2O_2$ ) en simple molécule d'eau.
- ✓ La glutathion peroxydase (GPx) : déduit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydases lipidiques.
- ✓ Les molécules piègeurs : le glutathion (GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiols...etc.
- ✓ **Un système de défense secondaire :** composé d'enzymes protéolytiques, des phospholipides, des ADN endonuclease et ligase.

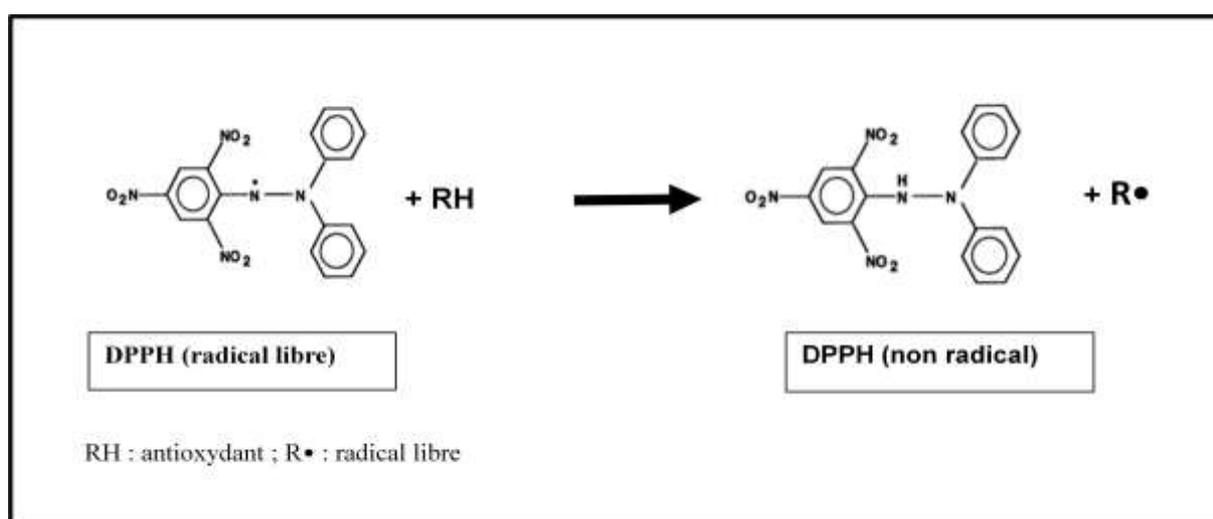
### 2.2.2. Les antioxydants naturels :

Plusieurs substance peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposées. Elles incluent le bêta carotène, l'acide ascorbique, 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 (Mohammedi, 2006).

### 2.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante :

Il existe plusieurs tests pour la mesure de l'activité antioxydante d'un composé (Portes, 2008). Selon la littérature, les deux méthodes les plus utilisées dans l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles sont celle de la réduction du 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH<sup>o</sup>) et celle de blanchissement du  $\beta$ -carotène dans l'acide linoléique (Gachkar *et al.*, 2007 ; Ferreira *et al.*, 2006 ; Eyob *et al.*, 2008 ; Alavi *et al.*, 2008 ; Athamena *et al.*, 2010 ; Jaz Dongmo *et al.*, 2010 ; Kehal, 2013).

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH $\cdot$ ) 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 $\cdot$ , ce qui conduit au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R $\cdot$ . Le DPPH $\cdot$  a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux (Figure 1) (Hubert, 2006; Prakash, 2001 ; Bouguerra, 2012).



**Figure. 03.** Réaction du DPPH $\cdot$  avec un antioxydant (Bouguerra, 2012).

### 3. Les huiles essentielles de *l'Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*

#### 3.1. *Arthémisia herbaelba* :

L'*Artemisia Herba-Alba* est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillée avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1,5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Messai, 2011).



**Figure 04.** *Artemisia herbaelba* (Messai, 2011).

#### 3.1.1. Place dans la systématique :

**Règne :** Angiospermeae.

**Sous-règne:** Dicotylédones

**Ordre :** Gampanulatae.

**Famille :** Asteraceae.

**Sous Famille :** Asterioideae.

**Genre :** *Artemisia*.

**Espèce :** *Artemisia Herbaelba* (Messai, 2011).

### 3.1.2. La composition chimique *Artemisia Herbaelba*:

Au Maghreb, l'*Artemisia herba-alba* constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé malgré que son aspect extérieur indique l'inverse (17 à 33%). La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute dont 72% est constituée d'acides aminés. Le taux de  $\beta$ -carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons [10]. La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS). En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS) [11]. Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient l'*Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles. Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (Messai, 2011).

### 3.2. *Mentha pulégium* :

*M. pulegium*, très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de «Menthe pouliot ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Le nom de « *pouliot* » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex*: la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. Malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, son intérêt économique demeure limité.

Les feuilles, opposées, petites, sont ovales presque entières (légèrement dentelées) et munies d'un court pétiole. Les fleurs, qui apparaissent l'été, de juillet à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches échelonnées le long de la tige. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte). En France, cette plante est très commune jusqu'à 1800m d'altitude (Gamisans et Jeanmonod, 1993 ; Sylvain Sutour, 2010).



**Figure 05:** *Mentha pulegium* (Sylvain, 2010).

### 3.2.1. Place dans la systématique :

<b>Règne :</b>	Plantae.
<b>Division :</b>	Magnoliophyta.
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida.
<b>Ordre :</b>	Lamiales.
<b>Famille :</b>	Lamiaceae.
<b>Genre :</b>	<i>Mentha</i> .
<b>Espèce:</b>	<i>Mentha pulegium</i> [2].

### 3.2.2. La composition chimique de *Mentha pulegium*:

La feuille de *menthe pouloït* contient de nombreux métabolites secondaires aromatiques : des acides-phénols, des flavonoïdes (glycosides de la lutéoline et de l'apigénine), des triterpènes. On extrait des feuilles une huile essentielle principalement constituée de menthol (30 à 40 %), de menthone et d'autres monoterpènes. Cette huile essentielle<sup>1</sup> est responsable de l'odeur puissante de la *menthe pouloït* [2].

### 3.3. *Origanum vulgre* :

Est une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées. *Origanum* sert à désigner en latin et en grec signifierait « parure des montagnes ». Les autres noms communs : marjolaine vivace, thym des bergers ...etc.

Les plants atteignent le plus souvent une taille variant entre 30 et 60 cm. Les tiges sont velues et pourvues de feuilles arrondies .vertes et un peu denté (Aiboud, 2012).



**Figure. 06:** *Origanum vulgre* (Machu, 2008).

### 3.3.1. Place dans la systématique :

<b>Règne :</b>	Plantae.
<b>Sous-règne:</b>	Tracheobionta.
<b>Division :</b>	Magnoliophyta.
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida.
<b>Sous-classe :</b>	Asteridae.
<b>Ordre :</b>	Labiées.
<b>Famille :</b>	Labiatae.
<b>Genre :</b>	<i>Origanum</i> .
<b>Espèce :</b>	<i>Origanum Vulgare</i> . (Machu, 2008).

### 3.3.2. La composition chimique d'*Origanum vulgare* :

L'essence d'Origan (0,2% de la plante fraîche) est un liquide jaune/rouge très aromatique soluble dans l'alcool. Elle est riche en phénols —> *carvacrol* (jusqu'à 74%) ou *thymol* (jusqu'à 25%). Elle peut contenir aussi des alcools libres et estérifiés, des carbures (ex :  $\alpha$ -terpinène, origanène (essence de chypre)). La plante renferme en plus, un glucoside hydrosoluble (0,50g/kg de drogue sèche) et un saponoside acide (1,20g). Dans les parties souterraines de l'Origan, on retrouve du stachyose (Machu, 2008).

### 3.4. *Thymus vulgaris* :

Le genre *Thymus* est un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales, 2002). Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Thymus vulgaris* L. localement connu " zaatar ". En français eanglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre (thym et thyme respectivement) pour désigner l'espèce *Thymus vulgaris* (Amiot, 2005).

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « thymos » qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariante, 2001). L'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques, elle a aussi de très nombreuses propriétés médicinales (Iserin, 2001 ; Yakhlef, 2010).



**Figure. 07:** *Thymus vulgaris* (Wikipédia, 2008).

#### 3.4.1. Place dans la systématique

<b>Règne :</b>	Plantae.
<b>Sous-règne:</b>	Tracheobionta.
<b>Division :</b>	Magnoliophyta.
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida.
<b>Sous-classe :</b>	Asterdae.
<b>Ordre :</b>	Lamiales.
<b>Famille :</b>	Lamiaceae.

**Genre :** *Thymus*.

**Espèce :** *Thymus vulgaris*. ( Zeghad, 2009).

#### 1.4.2. La composition chimique *Thymus vulgaris* :

L'analyse de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, cultivé au Maroc a permis l'identification de 99% des constituants. Le thymol présente la teneur la plus élevée de l'ordre 41,4 %,  $\gamma$ -terpinène 22,25% et p-cymène 15,59%. La fraction monoterpénique prédomine avec de 97,35%, constituée de 46,5% sous forme d'hydrocarbures et 50,85% sous forme de composés oxygénés. Cette dernière a été trouvée chez la même espèce cultivée au Cameroun, en quantité plus importante avec un pourcentage de 93,9%, dont la proportion en monoterpènes hydrocarbonés sensiblement identique (45,0%), et même pour les monoterpènes oxygénés (48,9%), le principal constituant de la fraction oxygénée est le thymol (40,1%) (François, 2009), ce qui est en accord avec le résultat obtenu. D'après Roman P. (Roman, 2009), les analyses ont montré que les substances majoritaires pour *Thymus vulgaris* étaient le thymol 60,3% et le p-cymène à 10,1%. Les hydrocarbures sesquiterpéniques ne représentent qu'un faible pourcentage (1,7%). Pino et al ; Pino 1997, ont rapporté avoir extrait un échantillon caractérisé par un fort taux de thymol (34,6 %), de  $\gamma$ -terpinène (17,6 %) et de p-cymène (17,6 %). En revanche, ils diffèrent de ceux publiés par Naguib (Naguib, 2002), dont l'essence se caractérise plutôt par une forte teneur en thymol (36,6 %),  $\alpha$ - thujone (23,2 %) et 1,8-cinéole (13,4 %). Alexandre et al. (Alexandre. 2008) ont rapporté également que le thymol (44,77%), p-cymène (18,6%) et  $\gamma$ -terpinène (16,5%) sont des substances majoritaires de *Thymus vulgaris* cultivé au Rio de Janeiro State (Brazil ; El-Akhal *et al.*, 2015).

*Travail*  
*Expérimental*

---

*Materiel et  
Méthodes*

---

## 1. Matériel :

Pour le matériel végétal, des huiles essentielles de quatre plantes préparées par hydro-distillation, sont aimablement fournies par le laboratoire de phytochimie, faculté de pharmacie, université de Constantine: *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*.

Pour les échantillons de sang, 10 ml/ donneur ont été fournis par trois volontaire seins (dont l'âge est compris entre 20-25) après avoir rempli un consentement. Le prélèvement est réalisé sur des tubes avec EDTA comme anticoagulant.

## 2. Méthodes :

### 2.1. Activités antioxydante :

#### 2.1.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH :

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH•) est un radical organique stable de couleur violet sombre. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Gachkar *et al.*, 2006)[01].

L'activité antioxydante a été mesurée par la méthode de DPPH selon le protocole décrit par Wang *et al.*, 1998. Pour chaque huile essentielle, une solution mère de 10 mg/ml est préparée dans du méthanol et à partir de laquelle des dilutions sont préparées pour le test. L'acide ascorbique est utilisé comme standard pour lequel une solution mère de 1mg/ml est préparée dans du méthanol et à partir de laquelle des dilutions sont préparées pour le test. 100µl de l'échantillon à tester ont été ajoutés à 1200µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,4%). Après agitation, le mélange a été laissé à l'obscurité pendant 30 min puis la densité optique a été mesurée à 517nm. Le contrôle négatif contient uniquement la solution de DPPH et le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique utilisé comme standard. Le pourcentage de réduction du radical DPPH est calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = \frac{(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test})}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les résultats de l'activité anti-radicalaire sont exprimés en fonction de la concentration efficace 50 (CE50) qui permet la réduction de 50% du radical DPPH (Amezouar, 2013).

### 2.1.2. Test de peroxydation lipidique (TBA-rs) :

Le test des substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBA-rs essai) a été également utilisé pour mesurer la capacité antioxydante potentielle des huiles essentielles (Wong, Hashimoto, et Shibamoto, 1995). L'homogénat du jaune d'œuf préparé dans du KCl 1,15% (p / v) à raison de 10% (p / v) était utilisé comme source riches en lipide. Le jaune d'œuf est homogénéisé pendant 1min, suivie par un traitement aux ultrasons pendant 5 min. Cinq cents microlitres de l'homogénat sont mis dans un tube à essai avec 100 µl de l'échantillon solubilisé dans du méthanol à raison de 100, 250, 500, 750 et 1000 mg /L pour chaque huile, puis le volume réactionnel est complété à 1 ml avec de l'eau distillée, on ajoute 1,5 ml d'acide acétique à 20% (pH 3,5) et 1,5 ml de 0,8% (p / v) de 2-thiobabituricacide (TBA) préparé dans 1,1% (p / v) de dodécylsulfate de sodium (SDS). Après agitation au vortex, le mélange est chauffé à 95°C pendant 1 h. Après refroidissement, à température ambiante, 2 ml de butan-1-ol ont été ajoutés à chaque tube, puis agiter et centrifuger à 3000 tpm pendant 10 min. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 532 nm. La concentration EC 50 qui permet d'inhiber 50% de la peroxydation lipidique est déduite à partir d'une courbe de régression portant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations testées.

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

où  $A_0$  étant la valeur d'absorbance du contrôle totalement oxydé et  $A_1$ , l'absorbance de l'échantillon testé (Bounatirou, 2007).

### 2.1.3. Test de neutralisation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

L'essai de réduction du peroxyde d'hydrogène a été effectué suivant la méthode de (Ruchet *al*, 1989). Pour ce test, une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (43 mM) est préparée dans du tampon phosphate (0,1 M ; pH = 7, 4). Pour chaque échantillon à tester, 3,4 ml d'une dilution de

100µg/ml préparé dans du tampon phosphate ont été ajoutés à 0,6ml d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,6 ml, 43mM). La valeur de l'absorbance du mélange réactionnel a été enregistrée à 230nm. Le blanc contient uniquement le tampon phosphate sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Le pourcentage de réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (scavenging %) des huiles essentielles et de l'acide ascorbique a été calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Scavenging \%} = [(1-Ae)/Ac] \times 100$$

Ac est l'absorbance du contrôle et Ae est l'absorbance en présence de l'échantillon

## **2.2. Activités anti-inflammatoires *in vitro* :**

### **2.2.1. Test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine:**

Le test d'inhibition de la dénaturation d'albumine *in vitro* est réalisé selon la méthode de Mizushima et Kobayashi (1968) et Sakat *et al.* (2010). Le mélange réactionnel est constitué de l'échantillon d'essai et une solution de l'albumine bovine à 5%, le pH du mélange réactionnel est ajusté à 6.3 avec de l'HCl. Les échantillons sont incubés à 37 ° C pendant 20 min et ensuite chauffés à 57 ° C pendant 5 min. Après refroidissement, la turbidité a été mesurée par spectrophotométrie à 416 nm. L'expérience est réalisée en triplet. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé selon la formule suivante.

$$\% \text{ d'inhibition} = [(ABS \text{ c} - ABS \text{ e}) / ABS \text{ c}] \times 100$$

**ABS c** est l'absorbance sans l'échantillon, **ABS e** est l'absorbance avec échantillon (Govindappa, 2011).

### **2.2.2. Test d'hémolyse ou de stabilité membranaire:**

Pour ce test, une suspension de globules rouges est préparée. 10 ml du sang humain sont collectés et centrifugés à 3000 tpm pendant 10 minutes puis lavées trois fois avec un volume égal de solution saline normale. En fin, le volume du sang est mesurée puis dilué avec une solution saline normale à raison de 10% V/V (Sadique *et al.*, 1989;. Saket *et al.*, 2010).

Le mélange réactionnel est constitué de 1ml de l'échantillon de l'huile essentielle à tester et 1 ml de la suspension des globules rouges à 10%. Pour le contrôle, l'échantillon est remplacé par la solution saline normale. Le médicament Diclifenac est utilisé comme contrôle positif. Les tubes du mélange réactionnel sont incubés à 56°C pendant 30 à minutes. A la fin de l'incubation, les tubes sont refroidis directement sou l'eau de robinet pour arrêter la réaction puis sont centrifugés à 2500 tpm pendant 5min. L'absorbance du surnageant est lue à 560 nm. L'expérience est réalisée trois fois pour tous les échantillons et le pourcentage de la stabilité membranaire est calculé selon la formule cité au desus (Shide *et al.*, 1999; Saket *et al.*, 2010) ( Govindappa, 2011).

### **3. Analyse statistique:**

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type avec n= 3.

*Résultats et  
Discussion*

---

## 1. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante des huiles étudiées a été évaluée par la méthode de DPPH, le test de réduction de l' $H_2O_2$  et le test de TBARS sur le jaune d'œuf.

### 1.1. le test de DPPH :

Une solution méthanolique de DPPH• (2-2-diphényl-1-picrylhydrazyl) présente une coloration violette sombre. En présence d'un antioxydant, la forme réduite de DPPH-H confère à la solution une coloration jaune, et par conséquent une diminution de l'absorbance (Perez *et al.*, 2007)

L'activité antiradicalaire des huiles essentielles de *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*, *Mentha pulégium*, *Arthémisia herbaelba*, évaluée par la méthode de DPPH• en la comparant à l'acide ascorbique pris comme contrôle positif a permis de déterminer les valeurs des CE50 correspondantes aux concentrations qui réduisent 50% du radical libre.

Les résultats des activités antiradicalaires des huiles étudiées sont présentés dans le tableau 01.

Dans la présente étude, les huiles essentielles des *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris* et la vitamine C ont pu réduire le radical DPPH• de manière significative, avec des valeurs de CE50 de  $21.33 \pm 3.78 \mu\text{g/ml}$ ,  $254.34 \pm 12.23 \mu\text{g/ml}$  et  $117.79 \pm 1.12 \mu\text{g/ml}$  respectivement. L'huile essentielle *Origanum vulgre* a montré une activité scavenger du DPPH• plus élevée par comparaison à la vitamine C et l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a montré une activité moins élevée par comparaison à la vitamine C, par contre les huiles essentielles des *Mentha pulégium* et *Arthémisia herbaelba* ont une activité antiradicalaire très faible avec des valeurs de CE50 de  $16.03 \pm 1.74 \text{mg/ml}$  et  $77.22 \pm 4.69 \text{mg/ml}$  respectivement.

**Tableau 01:** L'activité anti-radicalaire exprimée en concentration efficace (CE50) des huiles essentielles et l'acide ascorbique.

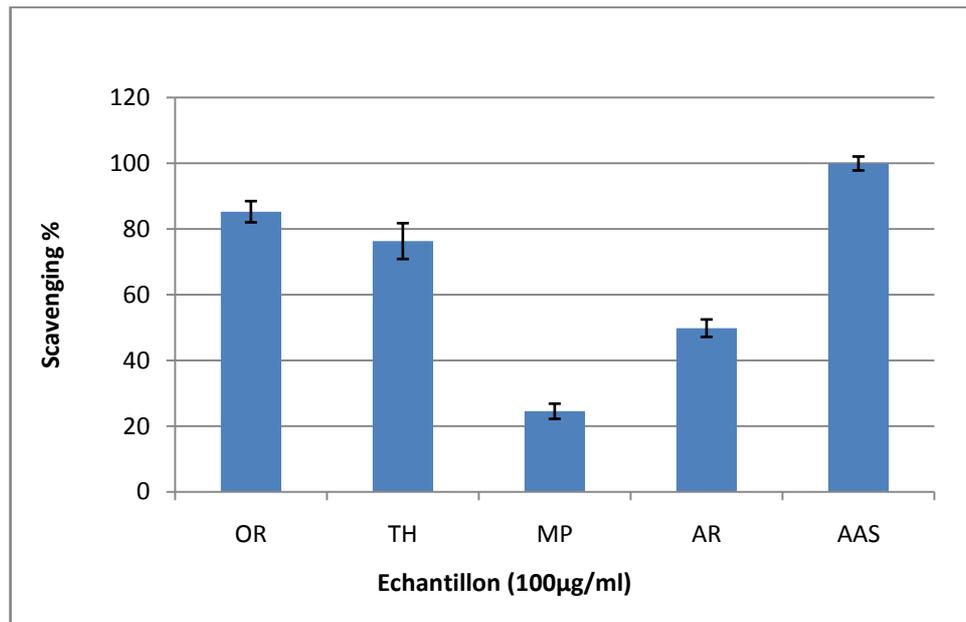
Echantillons	Origanum vulgre	Thymus vulgaris	Mentha pulégium	Arthémisia herbaelba	Acide ascorbique
CE50	$21.33 \pm 3.78$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$254.34 \pm 12.23$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$16.03 \pm 1.74$ ( $\text{mg/ml}$ )	$77.22 \pm 4.69$ ( $\text{mg/ml}$ )	$117.79 \pm 1.12$ ( $\mu\text{g/ml}$ )

Les valeurs représentent la moyenne  $\pm$  Ecart type avec  $n = 3$ . OR: *Origanum vulgre*, TH: *Thymus vulgaris*, MP: *Mentha pulégium*, AR: *Arthémisia aherbaelba*, AAS: Acide ascorbique.

L'activité des huiles essentielles de *Origanum vulgre* et *Thymus vulgaris* pourrait être attribuée à leur teneur en composés phénoliques : le carvacrol 66.25% et monoterpènes 20.79% pour *Origanum vulgre*, et le carvacrol et le thymol pour *Thymus vulgaris* (Aiboud, 2012).

### 1.2. Le test de réduction de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

L'activité antioxydante des HE a également été évaluée *in vitro* en utilisant l'espèce réactive de l'oxygène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Les résultats de ce test sont présentés dans la figure 08



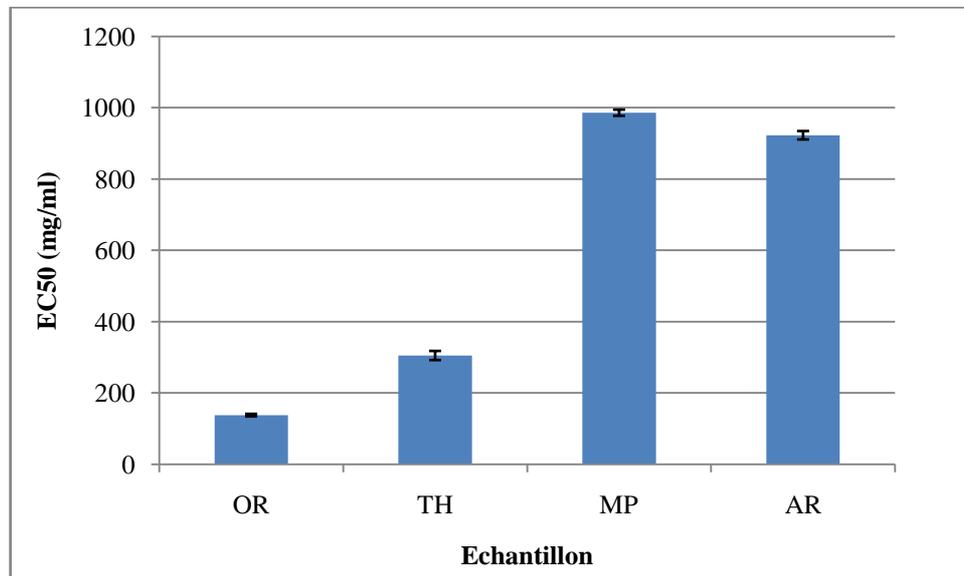
**Figure 08:** Pourcentages de l'effet scavenger de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les différentes huiles essentielles et l'acide ascorbique utilisé comme standard

Les résultats sont présentés en moyenne ± écart type avec n=3. OR: *Origanum vulgre*, TH: *Thymus vulgaris*, MP: *Mentha pulégium*, AR: *Arthémisia aherbaelba*, AAS: Acide ascorbique.

L'activité antioxydante la plus élevée a été observée avec l'huiles essentielle d'*Origanum vulgre* et *Thymus vulgaris* avec un pourcentage de 85% et 75% respectivement, par contre l'activité antioxydante la plus faible a été observée avec l'HE d'*Arthémisia aherbaelba* suivi par la *Mentha pulégium* avec une activité inférieur à 25%, le maximum de l'activité antioxydante qui présente 100% a été observée avec l'acide ascorbique.

### 1.3. Test des TBARS sur le jaune d'œuf :

Le test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est réalisé afin de quantifier le malonaldéhyde (MDA), qui est l'un des produits secondaires de la peroxydation lipidique. La figure 9 représente les résultats obtenus



**Figure 09 :** Activité anti- peroxydation lipidique exprimée en concentration efficace (CE50) des huiles essentielles et d'acide ascorbique.

Les résultats sont présentés en moyenne  $\pm$  écart type avec  $n=3$ . OR: *Origanum vulgre*, TH: *Thymus vulgaris*, MP: *Mentha pulégium*, AR: *Arthemisia herbaelba*,

Pour l'acide ascorbique **CE50 = 14,43  $\mu$ g/ml**

La meilleure activité anti-peroxydation lipidique a été observée avec l'huile essentielle d'origan avec une CE50% de 138.18 mg/ml suivi par l'huile essentielle du thym avec une CE50% de 305.32 mg/ml. L'huile essentielle de l'origan est riche en carvacrol 66.25% et monoterpènes 20.79% auxquels l'activité antiperoxydation lipidique peut être attribué (Bounatirou S. 2007) l'HE de thym se compose de thymol 51.69% et monoterpènes 19.29% connus aussi par leur forte activité antioxydante (Aiboud, 2012).

Une très faible activité a été observée avec les huiles essentielles de l'*Arthemisia herbaelba*, et la *Mentha pulégium* avec une CE50% de 985.94 mg/ml et 922.79mg/ml respectivement.

## 2. Activité anti-inflammatoire :

Pour l'activité anti-inflammatoire, deux tests sont réalisés ; test d'hémolyse ou stabilité membranaire et le test de dénaturation protéique. Les résultats sont présentés dans le tableau 02 : L'activité d'inhibition de la dénaturation protéique est exprimée en pourcentage d'inhibition alors que l'activité d'inhibition de l'hémolyse est exprimée en fonction de la concentration efficace (CE50) des huiles essentielles, l'acide ascorbique et le Diclofenac.

	Inhibition de la dénaturation protéique (%)	Stabilité membranaire Inhibition de l'hémolyse (CE50%)
OR	87,33 ± 0,8	53,66 ± 1,32 mg /ml
AR	ND	ND
MP	ND	ND
TH	82,46 ± 2,34	133,67 ± 4,76 mg/ml
Diclofenac	94,22 ± 1,32	/
Acide ascorbique	/	9,45 ± 1,02 µg/ml

Les résultats sont présentés en moyenne ± écart type avec n=3. OR: *Origanum vulgre*, TH: *Thymus vulgaris*, MP: *Mentha pulégium*, AR: *Artemisia herbaelba*.

La dénaturation des protéines conduit à la production d'auto-antigènes ce qui est l'une des causes de l'inflammation (Biswakanth, 2012). Cette dénaturation peut être due à un déséquilibre dans le système antioxydant. Les résultats de ce test ont montré un effet significatif de l'HE de l'origan et le thym contre la dénaturation protéique alors qu'aucun effet n'a été observé avec l'armoise et la menth. Partant de ces résultats, il semble que les deux HEs de l'origan et le thym peuvent contrôler la formation des auto-antigènes en inhibant la dénaturation protéique (Biswakanth, 2012)

Les deux HEs de l'origan et le thym ont montré un effet stabilisant de la membrane des globules rouges en inhibant à 50 % l'hémolyse avec des CE50 53,66 ± 1,32 mg /ml et 133,67 ± 4,76 mg /ml de respectivement. La membrane des globules rouges est similaire à celle des lysosomes (Chou, 1997) et sa stabilisation dans ces conditions expérimentales en présence des HEs implique que ces derniers peuvent stabiliser la membrane des lysosomes. Ce point est important pour limiter l'activité anti-inflammatoire parce que si la membrane des lysosomes est stable, ça empêcherait la libération des constituants lysosomiaux des neutrophiles activés comme les protéases et les enzymes bactéricides, qui provoquent en outre l'inflammation des

tissus lors de la libération extracellulaire (Murugasan. 1981). On se basant sur les résultats obtenus, on peut dire que ces deux huiles essentielles peuvent être douées d'activité anti-inflammatoire.

*Conclusion et  
Perspectives*

---

### Conclusion et perspectives

En conclusion, les huiles essentielles d'*Origanum vulgre et Thymus vulgaris*, ont exercés une activité antioxydante importante par rapport aux huiles essentielles d'*Arthémisia herbaelba* et *Mentha pulégium* que ce soit pour le test du DPPH, TBA-rs ou Réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Cependant, les huiles essentielles d'*Arthémisia herbaelba* et *Mentha pulégium* ont montré une activité antioxydante très modérée.

Pour l'activité anti-inflammatoire étudiée par le test d'hémolyse ou stabilité membranaire et le test de dénaturation protéique, les deux huiles d'*Origanum vulgre et Thymus vulgaris* ont montré un effet positif qui semble être complètement absent avec l'huile d'*Arthémisia herbaelba* et *Mentha pulégium*.

Selon cette étude, on peut dire que les huiles essentielles d'*Origanum vulgre et Thymus vulgaris* peuvent être utilisées comme source naturelle prometteuse de substances anti-oxydantes et anti-inflammatoire.

En perspective, d'autres tests sont requis pour donner plus de détail concernant les différentes activités biologiques possibles et les mécanismes d'action de ces huiles. De plus, il est nécessaire d'extraire et d'isoler les substances actives contenues dans ces huiles pour les étudier séparément ou en synergie, ce qui peut donner plus de précisions concernant leur effet bénéfique et/ou délétère.

## Résumé:

Le but du présent travail était l'étude des activités antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* des huiles essentielles (HEs) de quatre plantes médicinales : *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*. Pour l'activité antioxydante, trois tests sont réalisés : le test de DPPH, le test de réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et le test des TBA-rs. Les tests de dénaturation protéique et de stabilité membranaires ont réalisés pour l'activité anti-inflammatoire. Les résultat sont montré que les HEs de *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris* possèdent une activité antioxydante significative et peuvent avoir un bon effet anti-inflammatoire en comparaison avec *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*. Selon les résultats obtenus, les HEs de *Arthémisia herbaelba* et *Mentha pulegium* ont une activité antioxydante très modérée alors qu'aucun effet anti-inflammatoire n'a été observé.

Mots clés: activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, huile essentielle, *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*.

## Abstract:

The aim of the present study was to assess *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of some medicinal plants essential oils (EO): *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*. The antioxidant activity was evaluated for DPPH free radical scavenging effect, anti-lipid peroxidation effect and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging activity. Inhibition of protein denaturation and human red blood cells membrane stabilization were evaluated for the anti-inflammatory activity. The results showed that *Origanum vulgre* and *Thymus vulgaris* Eo exhibited a significant antioxidant activity and seem to have a good anti-inflammatory effect when compared to *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium* EOs. According to our results, *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium* Eos showed moderate antioxidant activity whereas no anti-inflammatory effect was observed.

**Key words:** antioxidant activity, anti-inflammatory activity, essential oil, *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة نشاط مضاد الأكسدة ومضاد الالتهابات *in vitro* لزيوت الاساسية لاربعة نباتات طبية هي *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*. من أجل نشاط لمضادة الأكسدة. اختبار DPPH, ارجاع H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> واختبار TBARS. اختبار تخريب البروتين واستقرار الغشاء انجزت من أجل نشاط مضادات. بينت النتائج ان الزيوت الأساسية *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris* لها نشاط مضاد الأكسدة هام ويمكن ان يكون لها تأثير مضاد الالتهابات جيد مقارنة مع *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*.

وفقا لهذه النتائج التي تم الحصول عليها لزيوت الاساسية *Arthémisia herbaelba* et *Mentha pulegium* لها نشاط مضاد الأكسدة معتدلة للغاية في حين لم يلاحظ اي تأثير لمضاد الالتهاب.

الكلمات المفتاحية : النشاط المضاد للأكسدة، والنشاط المضاد للالتهابات، الزيوت الأساسية، *Arthémisia herbaelba*, *Mentha pulégium*, *Origanum vulgre*, *Thymus vulgaris*.

## Liste des références

---

**Abuja P.M et Albertini R.** 2001. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 306. p : 6. Cité in (Arnout, 2014).

**Aiboud K.** 2012. Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callasolruchus maculates* (Coleoptera: Bruchidae) et imacts des traitement sur la germination des grains de *Vigna unguiculata* (L). Mémoire du Magister. Université Moulou Mammeri de Tizi Ouzou. p: 83.

**Alavi L., Jabbari A., Barzegar M., Hassanali N.** 2008. Chemical composition and Antioxidant Properties of Essential Oils (*lippia citriodora, thymus daenensis*), 18th Congress on food technology, Iran. p: 6. cité in (Kehal F., 2013).

**Alexandre F., Jabbari A., Barzegar M., Hassanli N.** 2008. Chemical composition of *thymus vulgaris* L. (Thyme) essential oil from the Rio de Janeiro Stats ( Brazil). *J. Serb. Chem. Soc.* 73(3). pp: 307-310

**Amezouar F., Badri W., Bourhim N., Fougrach H.** 2013. Evaluation des activité antioxydante et anti-inflammatoire de Erica arborea L du Maroc. *Pathologie biologie* (3067). p : 5.

**Arnout B., Chirouf., Salah H.** 2014. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de deux plantes médicinales (*Béta vulgaris* « var . cicla » et *Ruta chalepensis*). Mémoire de master. Université 8 Mai 1945 de Guelma.

**Ascensão, L., Pais, M.S.,** 1998. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: histochemistry, ultrastructure and secretion. *Ann. Bot.* 81, pp: 263–271. cité in (El Asbahani et al., 2015)

**Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A. , LarouiS., Khebri S.** 2010. Activite antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11, (1) pp: 69- 81 cité in (Kehal F., 2013).

**Baran, P., Aktaş, K., Özdemir, C.,** 2010. Structural investigation of the glandular trichomes of endemic *Salvia smyrnea* L. *South Afr. J. Bot.* 76, pp: 572–578.cité in (El Asbahani et al., 2015).

**Bardeau F.,** 1976. La médecine par les fleurs. Ed. Robert Laffont. Cité in (Bekhechi et Abdelomahid, 2010)

**Baser K.H.C. et Buchbauer G.** 2010. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. p: 994.cité in (Bouguerra A., 2011-2012).

## Liste des références

---

- Beidjord A.** 2014. Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles *d'Ammoides Verticillata* de la région de Tlemcen. Mémoire de Master Amélioration Végétale. Université d'Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. p: 77p.
- Bekhechi C. et Abdelomahid D.,** 2010 : Les huiles essentielles .Ed : № 5145. Office des publications universitaires. p:55
- Benzeggouta N.,** 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, Algérie, p : 110.cité in (Bouguerra A., 2011-2012).
- Besombes C.** 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, p : 289.cité in (Bouguerra A., 2011-2012).
- Biswakanth Kar., Suresh Kumar RB., Indrajit K., Narayan D., Asis B., Upal k M., Pallab K.** 2012. Antioxydant and *in vitro* anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves.pp : 976-980.
- Blois M.S.** 1958. Antioxydant determination by the use of a stable radical. Nature, 4617. pp : 1199-1200.
- Bouguerra A.** 2012. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des grains de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. , Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université Mentouri Constantine. p: 128.
- Bouwmeester, H.J., Davies, J.A.R., Toxopeus, H.,** 1995. Enantiomeric composition of carvone, limonene, and carveols in seeds of dill and annual and biennial caraway varieties. J. Agric. Food Chem. 43, pp: 3057–3064.
- Bruneton J.** 1999. Huiles essentielles. In Pharmacognosie-Phytochimie plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> éd. Doc. Et Tec. Lavoisier. Cité in (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).
- Bounatirou S., SmitiS., Miguel M.G., Faleiro I., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedroe L.G.,** 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Food Chemistry 105: pp: 146-155.
- Change Y., Mclandsborough L., McClements D.** 2015: Fabrication, stability and efficacy of dual- component antimicrobial nanoemulsions: Essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate). Journal homepage: Food Chemistry 172. pp: 298-304.

## Liste des références

---

**Chargui I., Lasmar k., Touahmia K.,** 2012: Evaluation de l'activité antifongique et antioxydant des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* L et *Juniperus phoeniceal*. Mémoire de Master. Université 8mai1945-Guelma. p: 55.

**Chouitah O.,** 2012. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat. Université d'Oran p: 143.

**Degryse A.C., Delpla I. et Voinier M.A.** 2008. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP. p: 87.cité in (Bouguerra A., 2011-2012).

**Dupuy A.** 2010. Stabilisation de l'interface liquide-liquide dans un contacteur membranaire : Application à l'extraction sélective de terpènes oxygénés d'huiles essentielles d'agrumes. Thèse de doctorat. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech).France. p: 305 .cité in (Kehal F., 2013).

**Durack Z., Djrolo F., Hougbe H., Avode G., Attoulou V., Addra B., Kodjoh N., Avimadj M.** 2008. Oxidants, Antioxydants and Oxidative stress. Mitochondrial medicine Gvozdjakova A (ed). pp: 19-43.cité in (Arnout, 2014).

**El-Akhal F., Greche H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali Lalami1 A.** 2015 Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. J. Mater. Environ. Sci. 6 (1). pp: 214-219.

**El Asbahani A. et Miladi K., Badri W., Sala M., Aït Addi E.H., Casabianca H., El Mousadik A., Hartmann D., Jilale A., Renaud F.N.R., Elaissari A.** 2015 . Essential oils: From extraction to encapsulation: International Journal of Pharmaceutics 483. Pp: 220-243.

**Eyob S., Martinsen B.K., Tsegaye A., Appelgren M. and Skrede G.** 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen). *African Journal of Biotechnology*, 7 (15). pp: 2585-2592 cité in (Kehal F., 2013).

**Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F.** 2010. Citrus d'Algérie: les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions .Ed. Office des publications universitaires, Alger. 157 p. cité in (Kehal F., 2013).

**Fernandez X. et Chemat F.,** 2012 : La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert . p : 274.

**Ferreira A., Proenc C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M.** 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology* ,108, pp: 31–37 cité in (Kehal F., 2013).

## Liste des références

---

- Franchomme, P., Pénoël, D.,** 2001. L'aromathérapie exactement. Roger Jollois, Limoges (France). Cité in (El Asbahani et al., 2015).
- Françoise C-M. et Françoise A.L.,** 2003. Mode d'utilisation des huiles essentielles. Ed. Elsevier Masson SAS. p: 30.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. Rasooli I.** 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *FoodChem*, 102, pp: 898-904 cité in (Kehal F., 2013).
- Gamisans J. et Jeanmonod D.** 1993. Catalogue des plantes vasculaire de la corse, seconde édition, Edition des conservation et jardin botanique de la ville de Genève, Chambésy. Cité in (Sylvain S., 2010).
- Govindappa M., Sadnamda T., Channabasava R and Vinay B., Raghavendra.** 2011. In vitro anti-inflammatory, lipoxygenase, xanthine oxidase and acetylcholinesterase inhibitory activity of *tecoma stans* (L) juss. Ex kunth. Vol 2 : pp: 277, 279.
- 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, p : 64. cité in (Bouguerra A., 2012).
- Hemwimon S., Pavasant P., Shotiprux A.** 2007. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, pp: 44-50 cité in (Kehal F., 2013).
- Jazet Dongmo P. M., Tchoumboungang F., Ndongson 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. *Agriculture And Biology Journal Of North America*, 1(4), pp: 606-611 cité in (Kehal F., 2013).
- Kaufmann B. et Christen P.** 2002. Recent extraction techniques for natural products: Microwave assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochem. Anal.*, 13, pp: 105-113 cité in (Kehal F., 2013).
- Kehal F.,** 2013. Utilisation de l'huile essentielle de *Citrus limon* comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche. Université de Constantine. Mémoire de Magister en sciences alimentaire. p : 124.
- Kremer, D., Dunki, V., Rušci, M., Matevski, V., Ballian, D., Boguni, F., Eleftheriadou, E., Steševi, D., Kosalec, I., Bezi, N., Stabentheiner, E.** 2014. Micromorphological traits

## Liste des références

---

and essential oil contents of *Micromeria kernerii* Murb. and *M. juliana* (L.) Benth. (Lamiaceae). *Phytochemistry* 98. pp: 128–136. cité in (El Asbahani et al., 2015).

**Lardry J. et aberkorn V.**, L'aromathérapie et les huiles essentielles, *Kinesither Rev* 2007 ;(61) . pp : 7-14.

**Lemberg S.**, 1982. «Armoise» *Artemisia herba alba*. *Perfumer flavorist*, 7. pp :58-63. Cité in (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).

**Machu A.** 2009. *Origan vulgaire*. Ed. Faculté libre des sciences et technologies. p: 6.

**Messai L.** 2011. Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (*ARTEMISIA HERBA ALBA*). Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat des sciences en Chimie Organique. Université Mentouri Constantine. p: 96.

**Mohammedi Z.** 2006. Etude du pouvoirs Antimicrobien et Antioxydant des huiles essentielles et Flavanoïdes de quelques plantes de la region de Hemcen. Thèse pour l'obtention du diplôme de magistère en biologie. Université Abon Bakr Belkaid Tlemcen. p : 155.

**Padrini F. et Lucheroni M.T.** 1996 : *Le grand livre des huiles essentielles*. Ed. de Vecchi.

**Piochon M.** 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore aurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Thèse de doctorat*. Université du Québec, pp: 5-9 cité in (Kehal F., 2013).

**Pibiri M.C.** 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, Ecole polytechnique fédérale de lausanne. 161. cité in (Beidjord A. 2014)

**Rezakhanlo, A., Talebi, S.M.** 2010. Trichomes morphology of *Stachys lavandulifolia* Vahl. (Labiatae) of Iran. *Procedia – Soc. Behav. Sci. Innov. Creat. Educ.* 2. pp: 3755–3763.cité in (El Asbahani et al., 2015).

**Rhayour K.** 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. p: 170.

**Sylvain S.**, 2010. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de *menthe* de Corse et de Kumquats. Thèse de doctorat. Université de Corse(French). p:222.

## Liste des références

---

**Telphon T.** 2003. Auteur de l'ABC des huiles essentielles. Ed. Grancher. Cité in (Bekhechi et Abdelomahid, 2010).

**Turner, G.W., Gershenzon, J., Croteau, R.B.** 2000. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. *Plant Physiol.* 124 .pp : 655–664.cité in (El Asbahani et *al.*, 2015).

**Zeghad N.** 2009. Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne . Mémoire de magister (Ecole doctorale). Université Mentouri Constantine.p: 83.

## Liste des références

---

### **Les sites web :**

[1]: [http://fr.enc.tfode.com/Menthe\\_poivr%C3%A9](http://fr.enc.tfode.com/Menthe_poivr%C3%A9) consulté le : 23-03-2015.