

Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus palleescens* de Noé)

Présenté par : Mme DOUAR LATRECHE Sabrina
Directeur : M. HAZZIT M. Maître de Conférences (ENSA)
Président : Mme FERHAT Z. Maître de Conférences (ENSA)
Soutenu le : 26-01-2012

Jury : Examineurs : M. FERHAT Mohamed-Amine Maître de Conférences (ENS-Kouba) M.
BENCHABANE O. Maître assistant (ENSA)

Table des matières

Remerciements . . .	5
Dédicace . . .	6
Abstract . . .	7
Résumé . . .	8
ص خ لم . . .	9
Liste des abréviations . . .	10
Introduction . . .	12
Partie I : Etude bibliographique . . .	14
CHAPITRE I : HUILES ESSENTIELLES ET COMPOSES PHENOLIQUES . . .	14
I - LES HUILES ESSENTIELLES . . .	14
II - LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES . . .	24
CHAPITRE II : MONOGRAPHIE DES ESPECES ETUDIEES . . .	38
II - LE FENOUIL ANNUEL (Ammi visnaga Lamk.) . . .	38
II- LE THE MEXICAIN (Chenopodium ambrosioides L.) . . .	43
III- LE THYM (Thymus pallesences de Noé) . . .	47
CHAPITRE III : CORPS GRAS ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE . . .	53
1- Généralités sur les corps gras . . .	53
2- Oxydation des corps gras . . .	53
3- Les antioxygènes ou antioxydants . . .	60
4- Mesure du degré d'oxydation et du pouvoir antioxydant . . .	66
Partie II : Etude expérimentale . . .	70
Chapitre I : Matériels et méthodes . . .	70
1- Matériel végétal . . .	70
2- Description des espèces étudiées . . .	70
3- Localisation des sites producteurs des huiles essentielles . . .	74
4- Extraction des huiles essentielles . . .	75
5- Elaboration des extraits éthanoliques . . .	76
6- Chauffage des échantillons de thym . . .	76
7- Caractérisation des huiles essentielles . . .	77
8- Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits étudiés . . .	79
9- Concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres (IC ₅₀) . . .	81
10- Test des substances réactives à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBARS) . . .	81
11- Test du pouvoir chélatant . . .	83
12- Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus . . .	84
13- Analyse statistique . . .	86
Chapitre II : Résultats et discussion . . .	86
1- Localisation des sites producteurs d'huile essentielle . . .	86
2- Caractéristiques des huiles essentielles . . .	91

3- Analyse qualitative et semi quantitative des huiles essentielles par CPG et CG/SM . .	93
4- Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus . .	106
5- Evaluation de l'activité antioxydante . .	107
6- Test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) . .	119
7- Mesure du pouvoir chélatant . .	124
Conclusion . .	126
Références bibliographiques . .	130

Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur **HAZZIT Mohamed**, Maître de conférences à l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger), pour son encadrement, son sérieux, ses conseils et sa patience.

Je suis reconnaissante à Madame **FERHAT Zoulikha**, Maître de conférences à l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger), de nous faire l'honneur de présider ce jury.

J'exprime toute notre gratitude à Monsieur **FERHAT Mohamed-Amine**, Maître de conférences à l'ENS (Kouba) et à Monsieur **BENCHABANE Othmane**, Maître assistant à l'ENSA, pour avoir bien voulu examiner ce travail et être membre du jury.

Je tiens aussi à dire un grand merci à Monsieur **BENCHABANE Ahmed**, Maître de conférences à l'ENSA, pour sa bonne humeur et sa disponibilité tout au long de ce travail.

J'associe mes remerciements à l'ensemble des membres de la promotion 2009-2012 du département de Technologie Alimentaire pour l'ambiance chaleureuse et pour nos échanges enrichissants, ainsi qu'à tous mes amis (es).

Je ne saurais oublier de remercier toutes les personnes qui m'ont aidés, en particulier **Mohammed**, Technicien au laboratoire d'analyse instrumentale, pour la confiance et le soutien dont il m'a fait preuve, et **Fouad** pour sa compréhension et son soutien.

Enfin, j'exprime mes affectueuses pensées à mes proches qui m'ont soutenus et encouragés tout au long de ce travail.

Dédicace

*A mes parents qui ont tant sacrifié pour moi et qui, du plus loin que je me souviens m'ont encouragée à l'étude ; A mes grands parents et à ma petite cousine Habiba (que dieu ait leur âme) pour leurs tendresse et leur sollicitude ; A Khali Hmitouch pour son appui et son écoute ; A mon cher époux Ali pour son soutien et sa présence tout au long de ce travail ; A mon frère Merouane et à ma sœur Yasmine ; A mes beaux parents pour leur présence et leur compréhension ; A mon beau frère Rahim et à mes belles sœurs Dalel et Sihem ; A ma petite nièce Jade ; A mon futur petit enfant, A toute ma grande famille et A tous mes amis ; **Sabrina***

Abstract

The essential oils of *Thymus pallescens* de Noé, *Ammi visnaga* Lamk. and *Chenopodium ambrosioides* L. extracted by hydrodistillation as well as the ethanolic crude extracts of the volatiles, were assayed for their antioxidant activities by four complementary methods, namely the DPPH radical scavenging activity, the reductive potential, the chelating power and the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The essential oils were investigated for their chemical composition by GC and GC-MS, while the extracts were characterized by their total phenolic and flavonoid contents. Furthermore, the effect of heat treatment (100, 150 and 190°C) for three hours on the antioxidant activity and chemical constituents of *Thymus pallescens* oil was studied. The main compounds were carvacrol (44.1%), cembrene C (50.7%) and terpinolene (27.1%) for the oils of *T. pallescens*, *Ammi visnaga* and *Chenopodium ambrosioides*, respectively. In the most cases the extracts were more efficient than the corresponding oils. The oils heated have not been significantly affected for their chemical composition. The antioxidant activities were dose-dependent and varied with the temperature and the method used.

Keywords : The essential oils, *Thymus pallescens*, *Ammi visnaga*, *Chenopodium ambrosioides*, antioxidant activities.

Résumé

Les huiles essentielles extraites par hydrodistillation de *Thymus pallescens* de Noé, *Ammi visnaga* Lamk. et de *Chenopodium ambrosioides* L. ainsi que les extraits éthanoliques bruts non volatils ont été testés pour leur activité antioxydante par quatre méthodes complémentaires : l'activité de piégeage du radical DPPH, le pouvoir réducteur, le pouvoir chélatant et les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (SRTBA). Les huiles essentielles ont été examinées pour leurs compositions chimiques par GC et GC-MS tandis que les extraits ont été caractérisés par leurs phénols totaux et leurs flavonoides. Par ailleurs, l'effet du traitement par la chaleur (100, 150 et 190°C) pendant trois heures sur l'activité antioxydante et la composition chimique de l'huile de *T. pallescens* a été étudié. Les composés dominants sont le carvacrol (44.1%), le cembrene C (50.7%) et le terpinolène (27.1%) pour les huiles de *T. pallescens*, *Ammi visnaga* et *Chenopodium ambrosioides*, respectivement. Dans la majorité des cas, les extraits étaient plus efficaces que les huiles correspondantes. Les compositions chimiques des huiles chauffées n'ont pas été affectées de manière significative. Les activités antioxydantes sont doses dépendantes et varient selon la température et la méthode utilisée.

Mots clés : huiles essentielles, extraits, *Thymus pallescens*, *Chenopodium ambrosioides*, *Ammi visnaga*, activité antioxydante.

ص خلم

لقد تم اختبار الزيوت الأساسية المستخلصة بطريقة التقطير المائي لنباتات *Ammi* ، *Thymus pallescens* de Noé و *Chenopodium ambrosioides* L. و *visnaga* Lamk. وكذلك المستخلصات الإيثانولية الخامة للمكونات الغير طيارة من أجل نشاطها المضاد للأكسدة بترجيح طرق متكاملة و هي الفسلفيدية الايزاحية نجده جذر DPPH، قدرة الارجاع، قدرة التركيب و المواد المتفاعلة مع حمض الثيوبيريتوريك. تمت دراسة التكوين الكيميائي للزيوت الأساسية بواسطة GC و GC-MS في حين تم تمييز المستخلصات بمحتوياتها من الوظائف الكحولية و الفلافونويد. من جهة أخرى، تمت دراسة تأثير التسخين (100 ، 150 و 190 °م) خلال ثلاث ساعات على التكوين الكيميائي و النشاط المضاد للأكسدة لزيت *T. pallescens*. المركبات الأكبر نسبة هي (44.1%) *carvacrol* ، (50.7%) *cembrene C* و (27.1%) *terpinolene* بالنسبة لزيوت : الفسلفيدية المضادة للأكسدة ، *A* و *Chenopodium ambrosioides* على الترتيب. لقد كانت المستخلصات في أغلب الحالات أكثر فاعلية من الزيوت المقابلة لها ، المكونات الكيميائية للزيوت التي تم تسخينها لم تتغير بصفة كبيرة. الفسلفيدية المضادة للأكسدة مرتبطة بالكميات التي تم اختبارها بدرجة الحرارة و بطريقة إجراء الاختبار.

كلمات مفاتيح البحث : الزيوت الأساسية ، المستخلصات الإيثانولية الخامة ،

Thymus pallescens ، *Ammi visnaga* ، *Chenopodium ambrosioides*

Liste des abréviations

- °C :degré Celsius
- μL : microlitre
- μm : micromètre
- **ADN** : acide désoxyribonucléique
- **AFNOR** : association française de normalisation
- **AGPI** : acide gras poly insaturés
- **AMPc** : adénosine monophosphate cyclique
- **Amu** : atomic mass unit
- **ARN** : acide ribonucléique
- a_w : activité de l'eau
- **BHA** : butyl hydroxy anisol
- **BHT** : butyl hydroxy toluène
- **CEE** : comité économique européen
- **CG/SM** : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
- **cm** : centimètre
- **CPG** : chromatographie en phase gazeuse
- : Densité relative à 20 °C
- **DPPH** : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
- **eV** : electron volte
- **FID** : détecteur à ionisation de flamme
- **G** : grossissement
- **g** : gramme
- **H** : heure
- **i.p.**: intrapéritonéale
- **K Pascal** : kilo Pascal
- **Kg** : kilogramme
- **L** : litre
- **LDL** : low-density lipoprotein (Lipoprotéines de basse densité)
- **m** : mètre
- **m/v** : masse sur volume
- **mg eq. ag/g** : mg équivalent d'acide gallique/g
- **mg eq. qr/g** : mg équivalent de quercitrine /g
- **mg** : milligramme
- **min**: minute
- **mL** : millilitre
- **mm** : millimètre
- **mmol** : milimole

- **nm** : nanomètre
- **P.O** : par voie orale
- **p/v**: poids sur volume
- **PEP** : phospho-Enol-Pyruvate
- **p H** : potentiel d'hydrogène
- **PS** : poil sécréteur
- **psi** :pound per square inch
- **PT** : Poil tecteur
- **SED** : simultaneousdistillation-extraction
- **SM** : spectrométrie de masse
- **T** : température
- **TBARS** : Thiobarbituric acid reactive substances (Substances réactives à l'acide thiobarbiturique)
- **TBHQ** : tert-butylhydroquinone
- **Tp** : *Thymus pallescens*
- **tr/min** : tour par minute
- **UV** : ultra-violet
- **p** : para

Introduction

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres de l'oxygène conduit à des modifications de goût, d'odeur et de couleur et par conséquent à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments (**Mau et al ., 2004**). Les antioxydants de synthèse généralement utilisés en industrie pour freiner ou retarder l'oxydation des lipides se sont avérés responsables d'effets indésirables. En effet, l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) sont suspectés pour avoir des effets négatifs sur la santé du consommateur (**Namiki, 1990**). Le **BHA** par exemple convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomaux du foie et des organes extra-hépatiques (**Barlow, 1990**).

L'usage extensif des agents antibactériens chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage des animaux conduit d'autre part à la sélection de souches bactériennes résistantes. De nouvelles recherches sont donc menées afin de découvrir de nouveaux antioxydants d'origine naturelle. Ainsi, de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés antioxydantes des épices, du soja (**Gibbs et al., 2004**) et des fruits et légumes (**Garcia-Alonso et al., 2004 ; Karadeniz et al., 2005**).

Par ailleurs, les huiles essentielles et les extraits non volatils des végétaux commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Les nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles en font à la fois des ingrédients nutraceutiques et des agents de conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire. L'intégration des huiles essentielles comme agents de conservation des aliments s'avère être un choix pertinent car il contribue à contrôler la flore microbienne et à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation. Ainsi, les huiles essentielles d'origan, de thym, de cannelle ou de coriandre sont efficaces pour la conservation des viandes, des volailles, des légumes et des huiles alimentaires.

L'emploi des huiles essentielles lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt : aromatisant, antioxydant et antimicrobien. Cependant, la transformation des aliments peut nécessiter un chauffage qui pourrait altérer le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle.

A cet effet, nous avons choisi d'étudier l'incidence que pourrait avoir le chauffage sur la composition chimique et l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé.

Nous nous sommes par ailleurs intéressés à l'étude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des extraits du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.). Ces deux plantes n'ont pas encore fait l'objet de travaux antérieurs en Algérie, elles sont certes moins connues que le thym mais sont aussi utilisées pour leurs propriétés antiseptiques, antispasmodiques, stomachiques et vermifuges.

En résumé, l'objectif de notre travail porte principalement sur :

- La détermination de certaines caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé) extraites par hydrodistillation ;
- L'analyse qualitative et semi quantitative des huiles essentielles par CPG et CG/SM ;
- L'élaboration des extraits non volatils à partir des plantes étudiées ;
- L'évaluation de l'activité antioxydante des différentes huiles et extraits non volatils des trois plantes étudiées et de certains antioxydants de synthèse.

Partie I : Etude bibliographique

CHAPITRE I : HUILES ESSENTIELLES ET COMPOSES PHENOLIQUES

I - LES HUILES ESSENTIELLES

1- Historique

Les huiles essentielles sont des substances naturelles existant depuis l'antiquité, on en trouve la trace en Egypte, 4000 ans environ avant Jésus Christ (**Odoul, 2003**).

Au 16^{ème} siècle, le médecin Suisse Paracelse étudie l'extraction de l'« âme » des végétaux à laquelle on donnera le nom d'« esprit d'essence », ensuite d'« huile essentielle ».

Pendant le 17^{ème} siècle, 175 huiles essentielles différentes ont été produites.

En 1866, Kekule utilisa pour la première fois le terme « terpène » désignant la classe des composés les plus répandus des huiles essentielles.

En 1877, Otto Wallach découvrit « la règle isoprénique » et Léopold Ruzicka a mis en évidence les « polyterpènes », composants importants des essences.

En 1879, Louis Poure réalisa le premier appareil industriel permettant d'extraire le parfum avec récupération du solvant.

En 1885, débute l'ère chimique et c'est précisément depuis cette époque que les humains des nations occidentales commencèrent à absorber dans leur alimentation des additifs.

Les essences livrent progressivement leurs secrets depuis l'avènement de la chimie organique à la fin du 19^{ème} siècle (**Valnet, 1980**).

Et ce n'est qu'au début du 20^{ème} siècle que les propriétés thérapeutiques des huiles essentielles ont fait l'objet de recherches scientifiques.

2- Définition générale d'une "huile essentielle"

Il est difficile de donner une seule définition (**Naves, 1964**). En effet, la notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue auquel se placent des personnes de formations professionnelles aussi dissemblables que possible (**Belaiche, 1979**).

L'association française de normalisation (**AFNOR**) définit une huile essentielle comme 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, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (**AFNOR, 2000**).

Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs. Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal (**Anton, Lobstein, 2005**).

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent les composés d'une huile essentielle, à savoir leur capacité à se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum et à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**Dumortier, 2006**).

3- Propriétés physico-chimiques

Généralement, les propriétés physico-chimiques répondent aux observations suivantes :

- les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante ;
- elles sont rarement colorées ;
- leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau (sauf exception pour les huiles essentielles de clou de girofle, de sassafras, et de cannelle) ;
- l'indice de réfraction dépend essentiellement de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;
- elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques, de plus elles sont liposolubles mais peu soluble dans l'eau ;
- elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques (**Bruneton, 1995**).

Bernard et al. (1988) ajoute que les huiles essentielles :

- n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;
- ont un point d'ébullition qui varie de 160 °C à 240 °C ;
- sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquée par l'air, par la lumière et par les variations de température.

4- Composition chimique

4-1- Groupes chimiques des huiles essentielles

Le Louarn, (1994) classe quelques huiles essentielles en trois catégories d'après la fonction de leurs constituants principaux (**Tableau 1**).

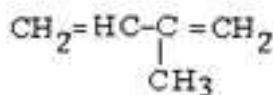
Tableau 1 : Classification de quelques huiles essentielles (Le Louarn, 1994)

Type d'huile essentielle	Exemples d'huiles essentielles	Teneur en composé majoritaire
Huiles essentielles hydrocarbonées riches en terpènes ou en carbures hydrogénés.	Citron Pin	90 % en limonène
Huiles essentielles oxygénées riches en alcools et en esters.	Rose Thym Coriandre	50 % en géraniol ≥ 30 % en thymol 70 à 80 % en linalol
Huiles essentielles sulfurées.	Conifères Liliacées	-

4-2- Familles chimiques des huiles essentielles

4-2-1- Les composés terpéniques

Les terpènes doivent leur nom à Kekulé (ter- = térébenthine ; -pène = pin). Ce sont des composés formés de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta-1,3-diène), unité composée de cinq carbones isopréniques selon l'arrangement suivant :



Selon **Bruneton (1995, 1999)**, seuls les terpènes les plus volatiles dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée (monoterpènes et sesquiterpènes) sont rencontrés dans la composition des huiles essentielles.

- Les monoterpènes C10

Ce sont des hydrocarbures volatiles présents dans la quasi-totalité des huiles essentielles ; ils peuvent être acycliques (Myrcène, Ocimène), monocyclique (ρ -Cymène, α -Terpinène) ou bicyclique (Camphène, Sabinene, Pinène, 3-Carène).

- Les sesquiterpènes C15

Ils sont constitués de trois éléments isopréniques, disposés de façon à donner des structures monocycliques ou polycycliques.

4-2-2- Les composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés odorants de type phénylpropanoïdes qui empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes.

Parmi les composés aromatiques les plus rencontrés dans les huiles essentielles on peut citer :

- les aldéhydes cinnamiques, cuminiques et anisiques ;
- les phénols et éthers (thymol, carvacrol, eugénol) ;
- les alcools (linalol).

4-2-3- Les composés d'origine diverse

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire et entraînés lors de l'hydrodistillation, tels que les acides (C3 – C10), les aldéhydes, les esters acycliques et les lactones (**Bruneton, 1995**).

5- Distribution et localisation des huiles essentielles dans la matière végétale

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (Labiés, Ombellifères, Crucifères). La synthèse et l'accumulation de ces huiles sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées (**Bruneton, 1995**). Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae, Asteraceae).

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile, ces membranes limitent l'évaporation et l'oxydation des huiles essentielles (**Bruneton, 1993 ; Anton, Lobstein, 2005 ; Dumortier, 2006**).

6- Fonctions biologiques des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1995)**, les fonctions biologiques des huiles essentielles demeurent le plus souvent obscures. Néanmoins, la localisation des huiles essentielles leur confère un rôle répulsif vis-à-vis des prédateurs et attractifs pour les insectes pollinisateurs. Un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales le protège des herbivores. La présence des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces, du bois, confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites terrestres.

Certains terpènes linéaires interviennent dans le métabolisme de la plante, ils peuvent être employés comme source énergétique (**Guignard, 1996**).

Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique aussi bien dans le domaine des interactions végétales que dans celui des interactions végétales - animales (**Bruneton, 1993**).

7- Facteurs de variation de la composition chimique

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres, d'origine intrinsèque (génétique ; cycle végétal ; localisation plante entière, fleurs, racines ou graines ; maturité), d'origine extrinsèque (caractéristiques écologiques facteurs géologiques, nature du sol, climat ensoleillement, température, pluviométrie, etc.), ou d'ordre technologique c'est-à-dire lié au mode d'exploitation du matériel végétal. En effet, de profondes modifications peuvent se produire lors de la récolte, séchage, stockage, extraction et conditionnement (**Mamouni, 1994 ; Ait Chebi et Baha, 2005**).

Selon **Viaud (1993)**, les principaux facteurs de variabilité de cette composition sont :

· **l'origine géographique de la plante** : la composition d'une huile essentielle varie avec le terroir et le climat. Il importe donc, à défaut de la composition, de connaître l'origine géographique de la plante. Une même plante suivant son biotope donne des

chémotypes différents. C'est ainsi que l'huile essentielle du thym de variété *Thymus vulgaris*, suivant l'aire de cueillette peut être à chémotype thymol ou carvacrol et avoir des propriétés bactéricides, à chémotype géranol avec des propriétés fongicides, ou encore à chémotype linalol avec des propriétés spasmolytiques (**Viaud, 1993 ; Pibiri, 2006**) ;

- **la partie de la plante** : que se soit la plante entière, la fleur, les racines ou les graines, l'huile essentielle n'a pas la même composition ;
- **la récolte** : influe également sur la qualité des huiles essentielles, la météorologie au moment de la récolte, l'heure de la récolte et la période de végétation. Il ne faut pas récolter par temps couvert ou humide, sous peine de nuire à la qualité ;
- **le type de culture** : il faut noter s'il s'agit de plantes sauvages donnant des produits généralement plus actifs récoltés loin des régions polluées, ou de plantes cultivées. Ces dernières devant être de culture naturelle ou biologique, car les produits organiques utilisés comme pesticides ou désherbants passent à la distillation ;
- **le procédé d'extraction** : le procédé d'extraction peut modifier la composition de l'huile essentielle. Ainsi, lors de l'hydrodistillation, plusieurs perturbations peuvent avoir lieu, en particulier sous l'effet de la température et de la durée d'extraction (**Lahlou, 2004**). A cela s'ajoute l'action de certains agents exogènes, par exemple lorsque la menthe poivrée est parasitée par *Eriophyes menthae* (acarien), sa teneur en menthonfuranne chute (**Bernard et al. , 1988**).

8- Utilisation des huiles essentielles

8-1- En aromathérapie

Aromathérapie vient du grec aroma « odeur » et thérapie « soins ». Il s'agit donc de soigner à l'aide de principes odoriférants. L'aromathérapie fait partie intégrante de la phytothérapie (phytos « plante ») (**Festy, 2005**).

8-2- En industrie agroalimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en industrie alimentaire comme agents naturels de conservation (**Turgeon, 2001**). Leur utilisation est due à la présence de composées ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (**Conner, 1993**).

Les huiles essentielles peuvent être utilisées également pour apporter de la saveur et un arôme raffiné aux cafés, thés, boissons, pâtisseries et différents mets.

8-3- Pour leur activité insecticide

Les analyses par CPG/SM ont montré l'existence de la pulégone(**73,33 %**) comme produit majoritaire de l'huile essentielle de *Mentha pulégium* et de la pipériténone(**33,03 %**) pour *Mentha suaveolens*.

L'étude de l'activité insecticide des huiles essentielles en question sur deux espèces d'insectes ravageurs des denrées alimentaires stockées (blé, riz, maïs, etc.) *Sitophilus oryzae* et *Rhizopertha dominica* a révélé que ces huiles essentielles se sont avérées toxiques vis-à-vis des insectes étudiés avec un taux de mortalité très élevé (**Benayad, 2007**).

8-4- En industries pharmaceutiques et cosmétiques

Les huiles essentielles entrent dans la fabrication de produits pharmaceutiques, en raison de leurs propriétés thérapeutiques et dans celle des parfums, des produits de toilette, des cosmétiques, des savons, en raison de leurs propriétés aromatiques (**Turgeon, 2001**).

9- Toxicité des huiles essentielles

9-1- Toxicité par ingestion

Certains auteurs se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent (**Franchome et al. , 1990 ; Mailhebiau, 1994**).

Les molécules aromatiques présentes dans les huiles étant très puissantes, une ingestion accidentelle peut, selon la catégorie et la quantité absorbée, générer une toxicité élevée voir un coma et même la mort.

Les huiles essentielles présentant une certaine neurotoxicité sont celles contenant de la cétone comme l'absinthe, l'anis, **le fenouil**, le romarin, la menthe, le thuya, la sauge officinale. Ces cétones induisent des crises épileptiques et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation.

Pour l'usage oral, il faut éviter l'absorption sur estomac vide, notamment chez les personnes atteintes d'infections des voies digestives hautes (**Bachelot et al. , 2006**).

9-2- Toxicité dermique

Le large usage que font la parfumerie et la cosmétique de ces huiles essentielles a suscité de nombreux travaux sur leur éventuelle toxicité (aiguë ou chronique) par application locale. Tous les ouvrages traitant des huiles essentielles donnent des concentrations maximales. Le thym, l'origan, la sarriette sont connus pour leur pouvoir irritant, l'angélique et la bergamote sont photosensibilisantes, la cannelle est dermocaustique et allergisante pour les peaux sensibles (**Pibiri, 2006**).

9-3- Toxicité sur les cellules animales ou humaines

Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxiques. Les huiles essentielles de thym et de lavande selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact, sont cytotoxiques pour les cellules du hamster chinois. Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers (**Sivropoulou et al. , 1996**).

10- Conservation des huiles essentielles

Il est possible de réduire l'instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basse température, ou conservés sous atmosphère d'azote. On peut également recourir à l'adjonction d'autres antioxydants (**Bruneton, 1993**).

Une huile de bonne qualité se conserve parfaitement durant plusieurs années si elle est entreposée de la bonne manière (Purchon, 2001).

11- Méthodes d'extraction

Le procédé d'obtention de l'huile essentielle intervient de façon déterminante sur sa composition chimique (**Garnero, 1977**). Donc le choix d'une méthode d'extraction d'une huile essentielle doit être minutieux.

12- Procédés d'extraction

12-1- Expression à froid

C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement (abrasion, compression, incision, perforation, et autres) les poches à essence (souvent au niveau de l'écorce ou de l'péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau (**Laboratoire Bivea, 2004**).

Dans le cas des agrumes, on parle d'essences et non d'huiles essentielles car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur n'a eu lieu (contrairement à l'hydrodistillation ou à l'extraction par solvants volatils).

Autrefois on frottait les fruits avec des gants de cuir recouverts de pierre ponce pour récupérer l'essence qui était ensuite filtrée. De nos jours, les fruits sont pressés pour ensuite récupérer l'essence par centrifugation. On extrait ainsi des huiles de bonne qualité à faible coût (**Bachelot et al. , 2006**).

12-2- Extraction à la vapeur d'eau

C'est un procédé utilisant la vapeur d'eau pour séparer les substances aromatiques. Ce procédé est considéré comme le seul moyen compatible avec un usage médical.

12-2-1- Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Hydrodistillation

La distillation a pour objet de faire dégager à l'état de vapeur la substance odorante incorporée dans la matière végétale, qui s'opère dans un alambic, puis de la faire repasser à l'état de liquide pour la récupérer, opération qui se produit dans un réfrigérant (**Bonthoux et al. , 2007**).

L'hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien. Il est aussi le plus utilisé, le plus rentable et celui convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique (**Willem, 2002**).

La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans une ampoule à décanter où il est possible de distinguer deux phases bien distinctes, l'huile essentielle et en dessous l'eau aromatique (ou hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée (**Bachelot et al. , 2006**).

Après avoir laissé reposer le contenu quelques secondes, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique (**Willem, 2002**).

Le protocole est le même pour une extraction à grande échelle mais le ballon et le chauffe - ballon sont remplacés par un alambic et l'ermenmeyer par un vase florentin (**Willem 2002**).

12-2-2- Entraînement à la vapeur

Cette méthode est proche de l'hydrodistillation à la différence fondamentale que lorsque les distillations sont réalisées par entraînement à la vapeur, une grille perforée est placée dans le fond de l'alambic. Ce mode de distillation est basé sur le principe de l'entraînement des composés odorants volatils par des aérosols de vapeur d'eau. Sous l'effet combiné de l'ébullition, il y a un éclatement progressif des cellules et des glandes contenant l'huile essentielle et un épuisement des plantes en différentes fractions d'essence. L'essence n'est ni retenue par le matériel végétal ni solubilisée dans l'eau (**Guenther, 1952**).

Les vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation, les phénomènes intervenants lors de l'entraînement à la vapeur seraient l'osmose et la diffusion libre (**Guenther, 1972**).

12-2-3- Hydrodistillation par micro ondes sous vide

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement de micro - ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle, l'huile essentielle est entraînée dans le mélange formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Très rapide et peu consommateur d'énergie, ce procédé fournit un produit de qualité et de quantité supérieure à celle obtenue par l'hydrodistillation (**Bruneton, 1999**).

12-2-4- Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée sous pression entre 125 et 175 °C. Il utilise l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que lors de l'entraînement à la vapeur (**Basil et al. , 1998**).

12-2-5- Extraction Distillation simultanée (SED : Simultaneous Distillation - Extraction)

La SED est une extraction liquide – liquide qui est menée dans l'appareil de Likens et Nikerson modifié.

Principe

Les composés volatils entraînés par la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant. Le solvant est recyclé en continue (**Vermin, 1982**).

12-3- Extraction par le CO₂ à l'état supercritique

Les techniques d'extraction au CO₂ supercritique sont connues et utilisées au niveau industriel depuis de nombreuses années. Elle trouve un intérêt tout particulier au niveau des produits naturels, car elle conduit à des extraits « cœur de la nature » souvent proches de l'odeur et de la matière première traitée et exempts de solvants organiques (**Pellerin, 2001**).

12-4- Extraction par solvants volatils

L'hydrodistillation n'étant pas efficace avec certains végétaux tels que de la rose, le narcisse ou encore le mimosa, en plus du fait que l'enfleurage (macération) est devenu

beaucoup trop coûteux, très tôt des chercheurs ont essayé de mettre au point de nouvelles méthodes permettant d'extraire des huiles essentielles. En effet les anciennes méthodes ne permettaient pas d'obtenir des huiles de bonnes qualités, le rendement était faible ou le produit obtenu était tellement altéré par rapport à l'odeur de base de la plante qu'il ne pouvait pas être exploitable.

Ainsi dès le 18^{ème} siècle, des tentatives ont été menées en utilisant un solvant l'éther. Cependant, cette technique fut très vite abandonnée à cause des coûts trop élevés de production et des risques d'explosion liée au solvant.

Au 19^{ème}, les progrès de la chimie et de meilleures connaissances en matière de sécurité liée à l'utilisation de solvants inflammables permirent d'améliorer cette méthode d'extraction en utilisant désormais l'hexane ou le benzène comme solvant. Ces derniers furent choisis en raison de leur grand pouvoir de solubilisation et de leur volatilité (**Bachelot et al. , 2006**).

12-5- Extraction par solvants fixes

- L'enfleurage à chaud (Macération)

Déjà connu dans l'Antiquité par les Égyptiens, l'enfleurage à chaud fut aussi pratiqué à Grasse, en France. On mettait ainsi à fondre de la graisse dans de grandes marmites chauffées au bain - marie et on y jetait les fleurs. On remuait le mélange pendant deux heures. Le lendemain, on enlevait les fleurs de la veille avec une passoire plate et on les remplaçait par des fleurs fraîches. On répétait au moins dix fois l'opération. Lorsque la graisse ne pouvait plus absorber le parfum des fleurs, on filtrait pour séparer la graisse des fleurs. On obtenait une pâte parfumée appelée *pommade* que l'on faisait fondre. La graisse parfumée était alors introduite dans une batteuse avec de l'alcool. Le parfum ainsi agité quittait la graisse et se dissolvait dans l'alcool. On filtrait le mélange pour obtenir ce que l'on appelle de l'absolue.

Cette technique a été abandonnée vers 1930 car il fallait une importante main - d'œuvre et un grand nombre de châssis. De plus, la graisse était difficile à manipuler car elle fondait dès qu'il faisait trop chaud (**Laszlo et Rivière ,1997**).

12-6- Extraction au forane 113

Formule moléculaire brute du Forane 113 : $C_2Cl_3F_3$ (Trichloro-1,1,2 trifluoro-1,2,2 éthane).

Utilisation

Agent réfrigérant, agent de nettoyage à sec (usage restreint).

Apparence

Liquide volatil, incolore à odeur éthérée.

Selon **Bernard et al. (1988)**, le protocole opératoire de ce procédé d'extraction est simple dans son principe il se décompose en trois étapes :

- l'extraction proprement dite, qui permet une double valorisation végétale en une seule étape ;
- le recyclage du solvant ;
- la récupération de l'huile essentielle.

13- Analyse des huiles essentielles

Les principales méthodes d'analyse des huiles essentielles sont :

13-1- la chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La chromatographie phase gaz est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles (**Cavalli, 2002**).

Principe

Les éléments gazeux ou volatils d'un échantillon sont placés dans un injecteur. Ils vont ensuite être emportés (phase mobile) par un gaz porteur qui va les amener dans la phase stationnaire pour qu'ils y soient séparés. Il s'agit bien souvent d'un liquide ou d'un solide. Plus un élément a d'affinité avec la phase stationnaire, plus il prendra de temps pour sortir de la colonne de chromatographie. Les éléments peuvent être identifiés mais aussi quantifiés.

13-2- La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Le couplage CPG/SM permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (**Cavalli, 2002**).

L'interface la plus simple pour cette technique consiste à réunir la colonne du chromatographe au spectromètre de masse, soit en introduisant directement l'extrémité de la colonne dans la chambre d'ionisation ou par le relais d'un capillaire de transfert chauffé et placé entre le chromatographe et le spectromètre de masse (**Rouessac et Rouessac, 1995**).

Principe

Il consiste à soumettre un composé moléculaire à cette analyse en déclenchant un processus à plusieurs étapes (**Pradeau et al. , 1992**) :

- **l'ionisation** : les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et de la haute température (200 °C), il résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de départ ;
- **l'accélération** : les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leur énergie cinétique ;
- **la séparation** : les ions seront distribués suivant leur rapport Masse/Charge.
- **la détection** : les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.
- **le traitement du signal** : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport Masse/Charge.

L'appareillage CG/SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui rend possible l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG et ceci en comparant les spectres de masse obtenus avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées.

II - LES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

Les polyphénols constituent l'un des groupes les plus nombreux et largement distribués des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8 000 structures phénoliques connues. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie acétate (**Lugasi et al. , 2003**).

Les composés polyphénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles ainsi que des groupements fonctionnels (ester, méthyle ester, glycosides).

1- Classification des composés phénoliques

Selon **Harborne (1989)**, les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Cette structure peut s'étendre de molécules simples, tels que les acides phénoliques, aux composés fortement polymérisés, tels que des tannins (**Lugasi et al. , 2003**).

Les composés phénoliques sont constitués de trois grandes catégories (**Beta, 2003 ; Dicko et al. , 2006 ; Dykes et al ., 2006**) :

- les acides phénoliques ;
- les flavonoïdes ;
- et les tannins.

Ils forment ainsi le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al. , 2005**).

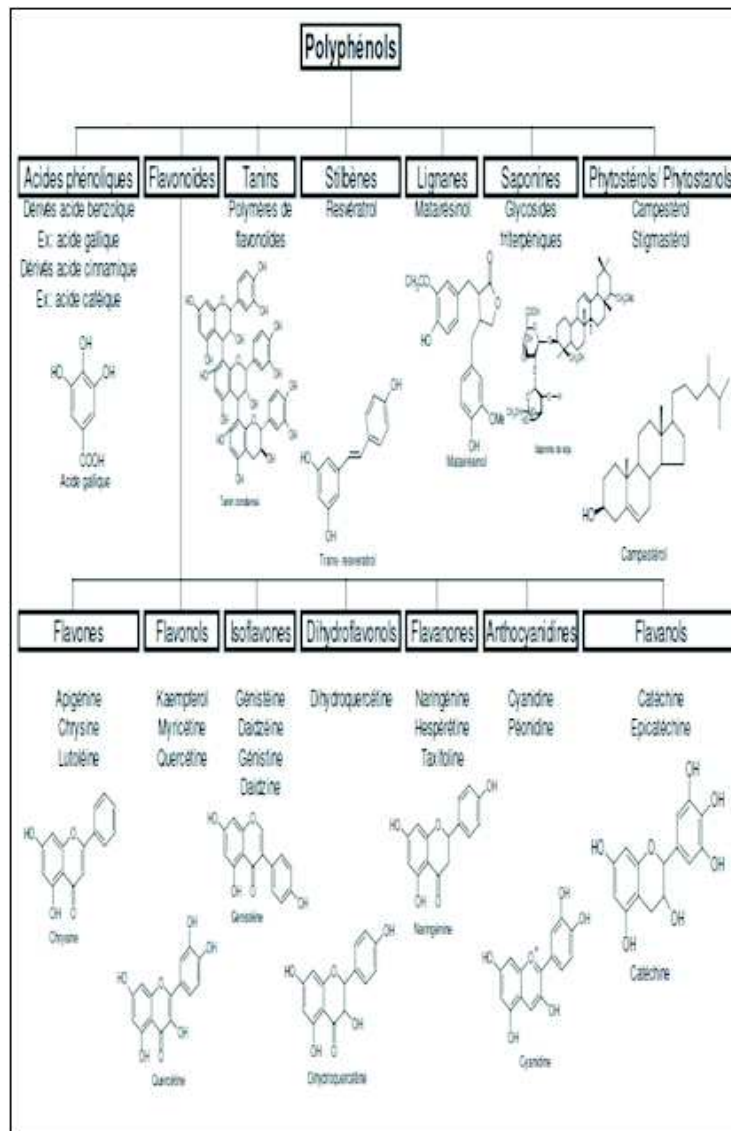


Figure 1 : Classification des polyphénols

(Gervaise, 2004)

1-1- Les acides phénoliques

Ces acides sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (**Psoťová et al ., 2003**). Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide protocatechique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique. Ils sont considérés comme des substances phytochimiques et de chélation ayant des effets prébiotiques, antioxydants et anti-inflammatoires. Leur toxicité est faible et sont donc considérés comme étant des composés non toxiques. L'acide phénolique le mieux caractérisé pharmacologiquement est l'acide caféique (**Psoťová et al ., 2003**). Cet acide ainsi que l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris (**Hale, 2003**).

1-2- Les tannins

Les tannins sont des polyphénols polaires principalement localisés dans les tissus végétaux (écorce, bois, feuilles, racines) et dans la partie tégumentaire des fruits mûrissants, auxquels ils communiquent leur astringence.

Le poids moléculaire des tannins s'étend de 500 à 3 000 (Cowan, 1999). La coexistence dans un extrait végétal de nombreux isomères dotés d'une base moléculaire semblable à celle des tannins rend leur séparation difficile (Berthod et al., 1999). En plus, des propriétés classiques des phénols, les tannins précipitent les alcaloïdes, la gélatine et les protéines.

Les tannins jouent un rôle important sur le plan organoleptique, nutritionnel, physiologique et pharmacologique de par leurs propriétés antioxydantes. Ils sont de plus dotés d'un rôle protecteur pour les végétaux vis-à-vis des animaux prédateurs. Leur capacité à former des complexes avec les protéines, ou effet tannant, est à l'origine de multiples propriétés ayant de nombreuses incidences technologiques. Les tannins sont également responsables du trouble de certaines boissons (vin, jus de fruit, bière) ainsi que de la sensation d'astringence perçue dans la cavité buccale.

1-2-1- Répartition des tannins dans le règne végétal

Les plantes riches en tannins se répartissent au sein de différentes familles botaniques telles que les plantes ligneuses (noisetier, chêne), les plantes fourragères ou les légumineuses (sulla, lotier pédonculé). On peut aussi trouver des tannins dans certains fruits (glands ou marrons d'Inde) (Paolini V. et al., 2006).

1-2-2- Classification des tannins

D'après Porter (1988 ; 1993), les tannins sont classés en deux catégories :

- **les tannins hydrolysables (Figure 2)** qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acides-phénol, le sucre est très souvent le glucose. L'acide phénol peut être de l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés d'oxydation (DHHDP : dehydrohexahydroxydiphénoyle, acide chébulique) dans le cas des tannins classiquement dénommés tannins ellagiques (Bruneton, 1999 ; Gorger et al., 1994 ; König et al., 1994 ; Yoshida et al., 1995).

Depuis 1985, plusieurs représentants d'une nouvelle catégorie de tannins ont été isolés (Bruneton, 1999) :

- **les ellagitanins modifiés** : qui sont des tannins complexes, résultats de l'addition d'un dérivé phényl chromanique sur une molécule d'ester HHDP du glucose : flavanol (flavono-ellagitanin) ;
- **et les tannins galliques, ellagiques et dehydro - ellagiques (simples ou complexes)** : qui sont caractéristiques des Angiospermes dicotylédones (particulièrement des Rosidae, Dilenidae et Hamamelidae). Ces tannins sont par ailleurs absents chez les Asteridae.

Les tannins hydrolysables sont principalement responsables des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certaines plantes.

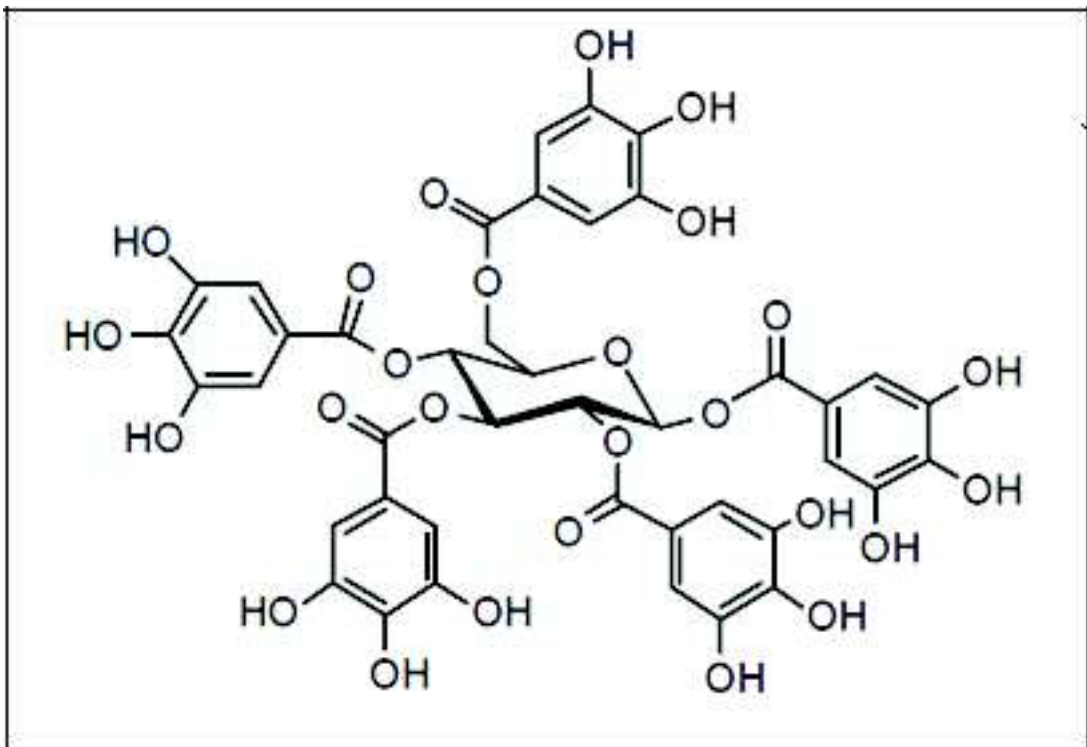


Figure 2 : Exemple de tannins hydrolysables : le penta-O-galloyl- β -D-glucose

et les tannins condensés (Figure 3) : qui sont des proanthocyanidines, composés phénoliques hétérogènes, oligomères et polymères de flavanes, de 3-flavanols, de 5-désoxyflavan-3-ols et de flavane-3,4-diols. Toutes ces molécules appartiennent à la famille des flavonoïdes, composés en C6-C3-C6, et possèdent en commun la propriété de libérer des anthocyanidines par chauffage en milieu acide.

Les tannins condensés sont non hydrolysables et dérivent des catéchols et des proanthocyanidols par condensation des molécules. Le catéchol le plus fréquent est la catéchine. D'une façon générale, ces tannins condensés sont des esters d'oses et d'acides ellagiques. Ils ne sont hydrolysables ni par les acides, ni par la tannase, mais sont transformés par les acides forts ou les agents d'oxydation. Les tannins condensés ne traversent pas la barrière intestinale et sont donc beaucoup moins toxiques que les tannins hydrolysables.

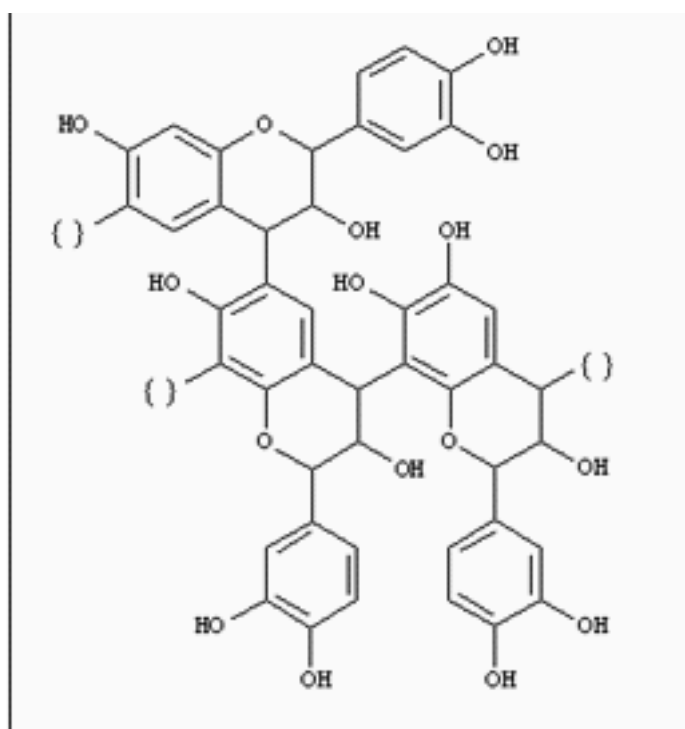


Figure 3 : Structure des tannins condensés

(Niokhor, 2003)

1-2-3- Propriétés physico-chimiques des tannins

Les tannins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales, mais leur solubilité varie selon le degré de polymérisation (elle diminue lorsque celui-ci augmente).

Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone et ont une stabilité variable dans les solutions aqueuses.

Comme tous les phénols, les tannins réagissent avec le chlorure ferrique. Ils sont précipités de leurs solutions aqueuses par les sels de métaux lourds et par la gélatine.

Les tannins hydrolysables et les tannins condensés peuvent être distingués sur la base de leur comportement en milieu acide à chaud. Les premiers par exemple, qui sont des polyesters du glucose, sont hydrolysés, libérant le sucre, l'acide gallique et/ou l'acide hexahydroxydiphénique, ce dernier se lactonise rapidement en acide ellagique (ce qui explique la terminologie traditionnelle des tannins ellagiques).

1-2-4- Actions pharmacologiques des tannins

L'activité pharmacologique des tannins a fait l'objet de nombreux travaux, dont voici les principaux :

- Activités antibactériennes

Les tannins sont doués d'activités antibactériennes et antifongiques, comme le montrent ces quelques travaux que nous présentons parmi tant d'autres :

Travaux de Mahamat, 1990 ; Bassene et al., 1995

Ces auteurs ont comparé l'activité antibactérienne de trois Combretaceae : *Combretum micranthum* (racines), *Guiera senegalensis* (racines) et *Terminalia avicennioides* (feuilles et racines).

Les constituants isolés à partir des feuilles de *C. micranthum* sont des tannins catéchiques et galiques, des flavonoïdes et des alcaloïdes. Les feuilles de *Guiera senegalensis* sont riches en tannin et renferment en outre des alcaloïdes.

Au vu des résultats obtenus, les auteurs indiquent que l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle est justifiée par leur action antiseptique. Les indications en médecine traditionnelle portent ainsi dans le traitement des diarrhées infantiles, des bronchites, de la toux, des maladies vénériennes et des plaies.

Travaux de Kolodzie et al., 1999

Ces chercheurs ont procédé à l'évaluation du potentiel antimicrobien des tannins en utilisant la méthode de micro-dilution. A cet effet, 27 composés tanniques ont été testés sur 8 couches microbiennes.

Ces auteurs ont pu montrer que les composés testés présentent généralement une activité antimicrobienne faible à modérée, mais une grande activité anticryptococcus.

· Activités antivirales

De très nombreux travaux ont été menés concernant ce sujet :

Travaux de Nonaka et al., 1990 et de Robert et al., 1992

Nonaka et al., 1990 ont montré que 9 tannins incluant des gallo-tannins et des ellagitannins ont une activité inhibitrice de la transcriptase reverse (TR) du virus HIV dans les lymphocytes H9. Parmi ces tannins, l'acide 1,3,4-tri-O-galloyl quinique et l'acide 3,5-di-O-galloyl shikinique sont les plus actifs. Tous les tannins ont inhibé l'interaction virus-cellule.

Robert et al., 1992, reprenant les travaux avec 48 tannins ont montré que l'activité anti-TR n'a pas de corrélation avec la réplication du virus ; par conséquent l'action anti-HIV des tannins ne serait pas liée à l'activité anti-R, mais plutôt liée à l'inhibition virus-cellule.

· Activités anti-inflammatoires

Travaux du Mota et al., 1985

Les auteurs ont tenté de déterminer les actions anti-inflammatoires des tannins isolés des écorces d'*Anacardium occidentale* L.

Les premières études d'une fraction aqueuse obtenue de l'extrait éthanolique de l'écorce du tronc d'*Anacardium occidentale* ont montré une action anti-inflammatoire contre le dextrane et le carraguenane, induisant des œdèmes sur les pattes de rats quand ils sont administrés à des doses de 10-80 mg i.p. et de 300-900 mg/kg P.O. respectivement.

Les chercheurs suggèrent d'après leurs résultats que les tannins d'*Anacardium occidentale* ont une activité anti-inflammatoire aussi bien sur l'inflammation aigue que sur l'inflammation chronique. Les auteurs préconisent cependant de ne pas utiliser cette plante, car les tannins ont prouvé leur toxicité.

· Activités anti-hypertensives

Travaux de Tachen Lin et al., 1993

Ces chercheurs ont conduit des travaux portant sur l'activité anti-hypertensive de la corilagine et de l'acide chébulinique des tannins de l'arbuste *Lumnitzera racemosa*.

11 tannins hydrolysables ont été identifiés. L'activité hypertensive de ces composés a été dépistée en utilisant des rats spontanément hypertendus. La corilagine, l'acide chébulinique et la castalagine abaissent les pressions sanguines des rats conscients aux différents temps d'attaque. L'action anti-hypertensive de ces composés est produite de façon dose-dépendante. Cependant, ces composés élèvent la pression sanguine chez les rats normotendus.

- Activités anti-tumorales

Des chercheurs de l'Université de l'Illinois de Chicago, dirigé par FONG HHS ont étudié l'activité antitumorale de certaines plantes, due aux tannins. Ainsi, le fractionnement de *Rubus odoratus*, *Cornis canadensis*, *Calycogonium squamulosum*, *Lespedeza capitata van velutina* a montré que l'activité antitumorale de ces plantes est liée aux tannins de la fraction soluble de l'eau.

- Activités anti-diarrhéiques

Beaucoup de travaux ont montré l'utilisation des tannins comme anti-diarrhéique et généralement sur les diarrhées ne dépassant pas les 3 à 4 jours.

Ainsi, **Bruneton (1999)** dans son ouvrage a présenté l'utilisation des plantes à tannins comme anti-diarrhéique.

- Activités antioxydantes

Travaux de **De Boucher et al., 1998**

Ils ont examiné les propriétés anti-oxydantes et antiradicalaires des tannins de *Guiera senegalensis*. A partir de l'activité du radical qui fixe, et les propriétés antioxydantes des extraits, ces chercheurs ont évalué ces propriétés sur neuf tannins isolés et caractérisés par différentes parties de la plante. Sept gallotanins avec un noyau d'acide quinique et deux tannins condensés sont isolés et caractérisés à partir des galles de la plante.

L'étude produit une preuve certaine que ces gallotannins et deux tannins condensés ont des propriétés antioxydantes intéressantes exprimées soit par leur effet inhibiteur de la peroxydation lipidique induite par le Fe^{2+} des microsomes du foie de rat, soit par la capacité de piéger des radicaux libres.

Le présent résultat montre que ces composés peuvent être retenus comme médicament dans la prévention de pathologies dans lesquelles des radicaux libres sont étroitement impliqués, tel que l'athérosclérose.

- Activités anticoagulantes

Hui Dong et al., 1998 ont travaillé sur les effets des tannins de *Green japonicum* (Rosaceae). Le fractionnement de l'extrait métabolique de la plante entière a conduit à l'isolement de sept tannins connus et l'identification s'est fait par des méthodes spectroscopiques.

Il en résulte que les composés isolés présentent une puissante activité anticoagulante par prolongement significatif de la coagulation du plasma de lapin.

- Activités astringentes et cicatrisantes

Des chercheurs ont montré l'apparition d'une sorte de tannage lors de l'application sur les muqueuses et la peau d'un extrait de tannins. A cela s'ajoute une activité vasoconstrictrice

sur les petits vaisseaux qui complète cette activité. Cette propriété explique l'emploi des tannins contre les hémorroïdes et les blessures superficielles (**Bruneton, 1999**).

· Activités vitaminiques P

Les tannins sont hémostatiques. Ils possèdent également des propriétés vitaminiques P dues à des formes moins condensées, à l'instar des flavonoïdes (**Kiss, 1967, Lavollay et al. , 1943 ; Masquelier, 1948**).

1-2-5- Utilisation des tannins

L'utilisation des tannins couvre de vastes domaines allant de la phytothérapie à l'application industrielle. Ils sont également utilisés dans les manifestations subjectives de l'insuffisance veineuse, dans l'hygiène buccale, dans les troubles de l'érythisme cardiaque et les troubles du sommeil (**Bruneton, 1999**).

En application industrielle : les tannins sont largement utilisés dans l'industrie du tannage, mais il faut noter une très grande importance dans la technologie des industries alimentaires (vin, bière, cidre et jus de fruits).

Cependant l'utilisation des tannins s'oriente de plus en plus dans d'autres applications industrielles telles que la préservation des filets de pêche, la fabrication d'adhésif et de plastique, la préparation d'huile de perçage et la protection des métaux.

1-3- Les flavonoïdes

1-3-1- Définition et historique

Le nom flavonoïde est dérivé du mot « Flavus » en latin, qui signifie jaune. L'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C par Szent Gyorgyi en 1938 (**Szent-Görgyi, 1938 ; Bruneton, 1993**). Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux.

L'action des flavonoïdes sur la perméabilité vasculaire a été appelée propriété vitaminique P (P étant la première lettre du mot perméabilité) (**Bruneton, 1993**). Cette notion de vitamine P n'existe plus à l'heure actuelle puisqu'elle ne correspond pas à la définition classique des vitamines ; par contre, les flavonoïdes sont considérés comme des micronutriments importants puisqu'ils peuvent jouer des rôles antioxydants (**Alan et Miller, 1996**) ou posséder des propriétés biologiques diverses.

De nombreuses études épidémiologiques ont montré l'influence bénéfique des flavonoïdes sur la santé humaine (**Gutteridg et Halliwell, 1994 ; Ferreira et Bekker, 1996**).

1-3-2- Biosynthèse des composés flavonoïques

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste. Certains flavonoïdes quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (**Middleton, 2000**).

Les composés de départ de la biosynthèse des flavonoïdes sont le malonyl CoA, le cinnamoyl CoA et les dérivés CoA de l'acide cinnamique (**Gerhard, 1993**). Ces composés sont formés suite à deux voies complémentaires, voie acétate malonate et voie shikimate (**Hollman et al , 1999 ; Middleton, 2000**). La voie shikimate conduit à la synthèse de l'acide cinnamique et donc au cycle B et à la chaîne en C3 qui formera le cycle oxygéné C de la structure de base des flavonoïdes. Les précurseurs de cette voie sont

l'érythrose 4-phosphate de la voie des pentoses et le PEP résultant de la glycolyse (Marfak, 2003). La voie acétate malonate constitue la voie de synthèse du noyau A. Ce système aromatique est formé par condensation répétée d'unités d'acétate (Gerhard, 1993). Ces deux voies sont alors condensées pour engendrer un précurseur commun la 4, 2',4',6' tétrahydroxychalcone avec la catalyse de la chalcone synthase (Middleton, 2000). Ce pigment jaune est métabolisé en différentes classes de flavonoïdes sous l'action d'enzymes spécifiques (Figure 4). Des réactions post - biosynthétiques sont enfin effectuées pour donner la structure finale aux flavonoïdes telles que la glycosylation et l'acylation (Marfak, 2003). Il existe cependant des flavonoïdes non glycosylés comme la quercétine (Bruneton, 1993 ; Remesy et al. , 1996 ; Middleton, 2000).

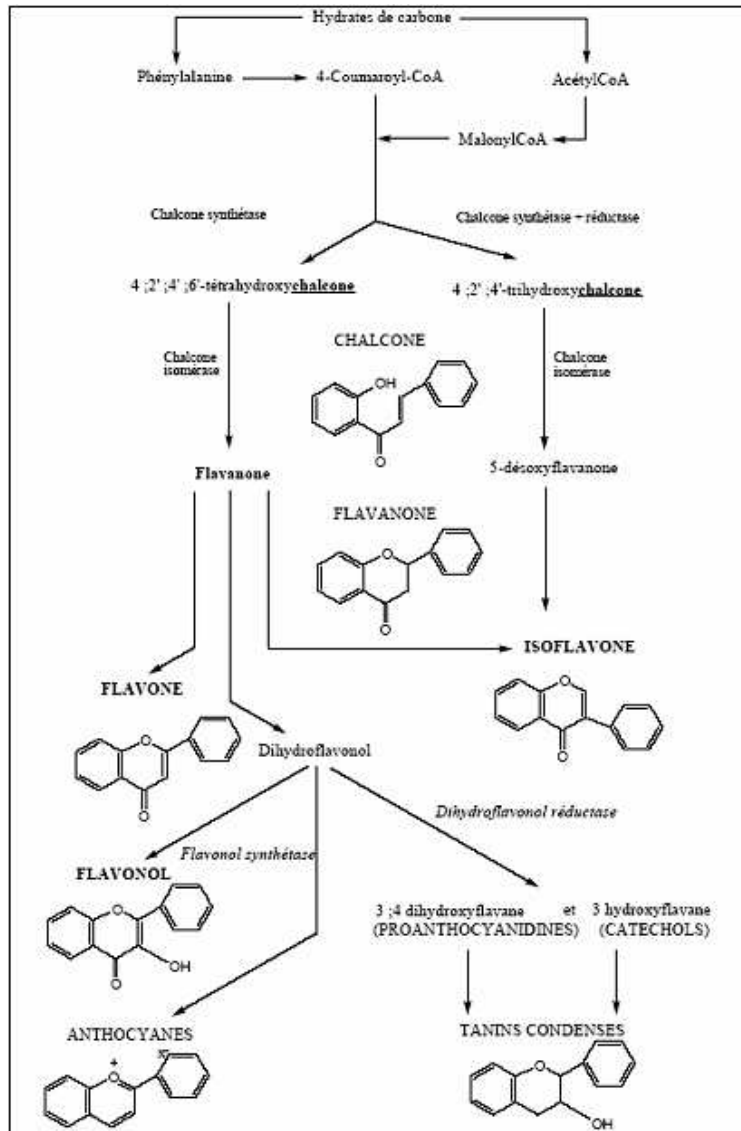


Figure 4 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes

(Gerhard, 1993)

1-3-3- Structure et classification des flavonoïdes

- Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques et de deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 (**Bruneton, 1999 ; Pietta, 2000**).

Les flavonoïdes sont ainsi des dérivés du noyau Flavone ou 2-phenyl Chromone (**Figure 5**) portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau Flavone est lui même un dérivé du noyau Flavane de base (**Bruneton, 1993**). Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées à ce jour (**Alan et Miller, 1996 ; Rajnerayanama et al., 2001**) (**Figure 6**).

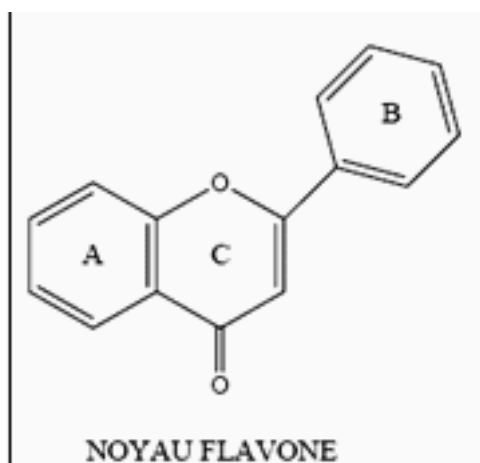


Figure 5 : Structure du flavone

(Bruneton, 1993 ; Middleton, 2000)

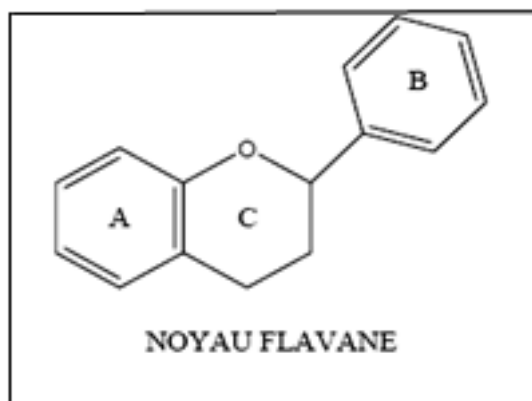


Figure 6 : Structure du flavane

(Bruneton, 1993 ; Middleton, 2000)

Classification des flavonoïdes

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (**Pietta, 2000**). Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants sur les deux cycles aromatiques A et B (**Heim et al., 2002**) et le cycle intermédiaire (**Julies et Christin, 2002**).

Dans les flavonoïdes au sens strict, le deuxième cycle benzène (B) se lie à l'hétérocycle (C) en position 2. Lorsque la liaison s'effectue en position 3, les composés résultants sont

appelés Isoflavonoïdes. L'hétérocycle (C) peut aussi être une pyrone (flavone) ou son dihydrodérivé (flavanone).

La fixation d'un groupement hydroxyle (OH) sur le carbone 3 dans les deux cas précédents constitue respectivement les flavonols et les flavanones (**Birt et al. , 2001**). À l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés.

La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone ou génine, l'unité glycosidique la plus commune est le glucose, mais celle-ci peut par fois être représentée par une molécule de glucorhamnose, de galactose, d'arabinose ou de rhamnose (**Heim et al ., 2002**).

14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; tels que les flavones, isoflavones, flavanones, flavonols et les anthocyanidines (**Heim et al. , 2002 ; Hendrich, 2006**).

La partie osidique des flavonoïdes peut être mono-, di- ou trisaccharidique. La partie glycarique est formée soit d'hexoses (D-glucose, D-galactose, Dallose, etc.) ou de pentoses (D-apiose, L-arabinose, L-ramnose) ou avec des acides (Dglucuronique, D-galacturonique, etc.). La partie osidique peut être linéaire ou ramifiée (**Gerhard, 1993**).

La liaison génine – ose existe entre un hydroxyle phénolique ou un hydroxyle de l'hétérocycle oxygéné et un –OH ou un –CH de la fonction hémiacétalique du ou des ose (s). On obtient alors des O-HETEROSIDES ou des C-HETEROSIDES (**Figure 7**) (**Milane, 2004**).

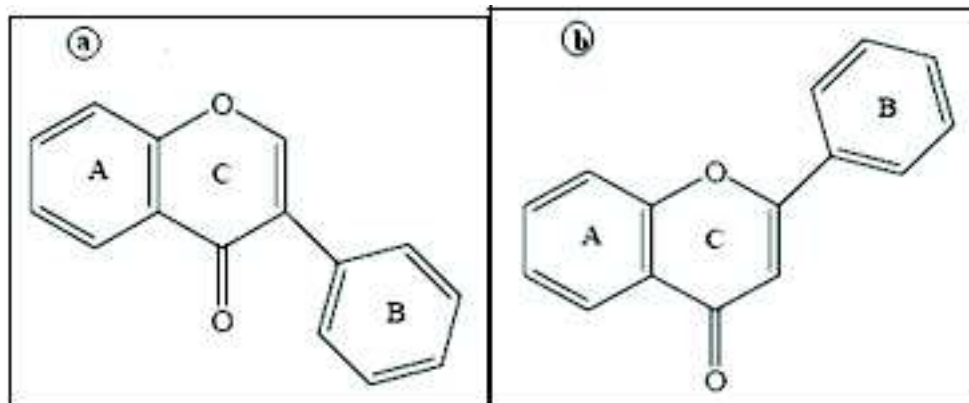


Figure 7 : Exemple de deux structures de flavonoïdes (a : flavone ; b : isoflavone)

1-3-4- Propriétés pharmacologique des flavonoïdes

Propriétés anti-inflammatoires et immunologiques

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire (**Da Silva et al. , 1994 ; Galati et al ., 1994 ; Middleton, 1996**). Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la prolifération des lymphocytes B et T (**Mookerjee et al ., 1986 ; Namgoong et al ., 1994**).

Leur effet sur les lymphocytes B ou T peut être variable. En effet, les flavones et les flavonols inhibent la prolifération des lymphocytes T, alors que la myricétine est active sur les lymphocytes B (**Mookerjee et al ., 1986**).

L'effet antiprolifératif des flavonoïdes pourraient s'expliquer par leur capacité à inhiber l'activité de certaines protéines kinases (**Mookerjee et al ., 1986 ; Namgoong et al ., 1994**).

Par ailleurs, les flavonoïdes sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercétine a un effet anti-inflammatoire en inhibant les enzymes de synthèse des principaux médiateurs de l'inflammation (**Middleton et Drzewiecki, 1984**).

Propriétés antivirales et antibiotiques

Des chercheurs ont démontré que les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales permettant ainsi une bonne protection des souris vis-à-vis d'une infection virale à la suite d'une administration journalière de 3-O-méthylquercétine à raison de 20 mg/kg pendant 9 jours (**Vrijssen et al ., 1987**). D'autres ont également montré une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpès et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans des cellules infectées (**Mucsi et Pragai, 1985**).

Les travaux de **Spedding et al. (1989)** ont mis en évidence l'impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Ils ont démontré que les flavonoïdes sont de bons inhibiteurs de la reverse transcriptase. Cependant, leur impact semble plus fort sur l'ADN et l'ARN polymérase de la cellule hôte que sur la reverse transcriptase virale (**Ono et al ., 1990**). Certains travaux de recherche (**Mahmood et al ., 1993**) ont montré que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV (la gp120), en empêchant ainsi la liaison du virus à la cellule hôte.

Enfin, les flavonoïdes seraient susceptibles d'inhiber l'intégrase rétrovirale du virus HIV-1 qui assure l'intégration du génome viral à celui de la cellule hôte (**Mahmood et al ., 1993 ; Fesen et al ., 1994**). Des études (**Ohemeng et al ., 1993 ; Sato et al ., 1995**) ont apporté l'évidence de l'effet bactéricide de différentes flavanones sur l'ADN gyrase de *Staphylococcus aureus*.

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, il faut citer l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes ; la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux, tels que le fer ainsi que l'inhibition du métabolisme microbien (**Mila et Scalbert, 1994**).

Propriétés antinéoplasiques

Des études réalisées chez la souris ont mis en évidence les effets protecteurs des flavonoïdes vis-à-vis des promoteurs de tumeurs (**Kato et al ., 1983**). La quercétine, par exemple, est l'un de ces composés phénoliques capables de diminuer, chez le rat, l'incidence des tumeurs mammaires induites par le DMBA (7,12 diméthylbenz(a)anthracène) ou la NMU (Nnitrosométhylurée) (**Verma et al ., 1988**).

Les flavonoïdes peuvent également interférer avec le métabolisme des xénobiotiques notamment en stimulant les systèmes de détoxification (**Wattenberg, 1983 ; Bu-Abbas et al ., 1995**).

En donnant à des rats ou à des souris une alimentation contenant de la flavone ou de la quercétine, des chercheurs (**Nijhoff et al ., 1995**) ont observé des effets chimio-préventifs à divers niveaux, en particulier au niveau du foie par une stimulation de la

glutathion-Stransférase. Enfin, les flavonoïdes peuvent inhiber les enzymes intervenant dans l'activation des procarcinogènes en intermédiaires mutagènes et carcinogènes (**Obermeier et al. , 1995 ; Lasker et al ., 1984**).

- Propriétés antioxydantes

Les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation de radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (**Van Acker et al ., 1995**).

En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants et les plus impliqués dans la peroxydation lipidique. Les flavonoïdes formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives (**Laughton et al ., 1989 ; Puppo, 1992**). Et ont aussi une activité chélatrice des métaux, tels que le cuivre et le fer qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss (**Puppo, 1992 ; Van Acker et al. , 1995**). Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) (**Laughton et al. , 1989 ; DeWhalley et al. , 1990**).

- Propriétés pro-oxydantes

Les flavonoïdes sont susceptibles d'avoir un effet prooxydant (**Kessler et al. , 2002**). En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs tel que le peroxyde d'hydrogène (**Laughton et al. , 1989 ; Yen et al. , 1997**).

L'activité prooxydante de ces substances est le résultat de leur capacité à réduire les métaux comme le Fe^{+3} pour donner le Fe^{+2} , lequel réagira avec l' O_2 ou le H_2O_2 avec génération d'initiateurs de l'oxydation (**Kessler et al. , 2002**).

En définitive, certains flavonoïdes pourraient accélérer la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides in vitro (**Yen et al. , 1997 ; Kessler et al ., 2002**).

1-3-5- Distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes se répartissent dans les organes aériens jeunes (feuilles, boutons floraux) où ils sont localisés dans les tissus superficiels, et parfois dans les racines (**Milane, 2004**). Au niveau cellulaire, les flavonoïdes de type hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux (**Bruneton, 1993**). Chez les angiospermes, la diversité structurale des flavonoïdes est maximale avec une trentaine de flavonoïdes identifiés chez les Astéracées (**Bruneton, 1993 ; Milane, 2004**).

Le tableau 2 illustre la répartition des 4-oxo-flavonoïdes dans quelques fruits et légumes.

Tableau 2 : Teneur en flavonoïdes dans quelques fruits et légumes des 4-oxo-flavonoïdes (Remesy et al., 1996)

Fruits et légumes	Poids (mg/kg)	Aglycones
Pamplemousse	2700/6000	Hespérétine
Orange	1700/2800	Naringénine
Persil	500	Apigénine
Laitue	320	Quercétine
Oignon	300	Quercétine + Kaempférol
Endives	290	Kaempférol
Myrtilles cultivées	165	Quercétine
Chou frisé	150	Quercétine + Kaempférol
Ciboulette	110	Quercétine + Kaempférol
Chou frisé (serré)	105	Quercétine + Kaempférol
Poireau	100	Quercétine + Kaempférol
Céleri	100	Apigénine + Lutéoline
Cerises aigres	100	Quercétine + Kaempférol
Cassis	80	Quercétine + Kaempférol
Haricots verts	70	Quercétine + Kaempférol
Choux de Bruxelles	65	Quercétine + Kaempférol
Raisins	50/100	Quercétine + Kaempférol
Abricots	55	Quercétine
Mûres	50	Quercétine + Kaempférol
Brocolis	35	Quercétine + Kaempférol
Pommes	30	Quercétine
Groseilles	30	Quercétine + Kaempférol
Framboises	30	Quercétine + Kaempférol
Prunes	30	Quercétine + Kaempférol
Cerises douces	12	Quercétine + Kaempférol

2- Rôle physiologique des composés phénoliques

Les flavonoïdes sont partiellement responsables des qualités sensorielles des aliments. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur des polyphénols (**Lugasi et al ., 2003**). Des travaux (**Alibert et al ., 1977**) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogénèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les flavonoïdes sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (**Hadi, 2004**). Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la couleur vive des fleurs, des fruits (**Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005**) et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets (**Bruneton, 1993 ; Rajnerayanama et al. , 2001**).

D'autres polyphénols incolores, tels que des flavonols et flavanones interagissent avec des anthocyanes pour altérer par co-pigmentation, la couleur des fleurs et fruits (**Brouillard et al ., 1997**). Les cellules végétales répondent par ailleurs au stimuli environnemental en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression par la formation d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (**Misirli et al ., 2001**).

On pense que la première étape du mécanisme de la défense comporte une accumulation rapide des phénols à l'emplacement d'infection, qui fonctionnent pour ralentir la croissance du microbe pathogène (**Misirli et al ., 2001**).

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Rees et Harborne, 1985**).

Des chercheurs deviennent graduellement intéressés dans l'identification des principes actifs dans les extraits avec l'étude complémentaire intensive de leurs mécanismes d'action (**Sun et al ., 2002**).

Les principales activités biologiques des composés phénoliques sont résumées dans le tableau ci-suivant.

Tableau 3 : Activités biologiques des composés phénoliques

Polyphénols	Principales activités
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	Antibactériens, antifongiques et antioxydants.
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses.
Flavonoïdes	Antitumorales, anticarcinogènes, antiinflammatoires, hypotenseurs, diurétiques et antioxydants.
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires.
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumorales, antifongiques et anti-inflammatoires.
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydants

CHAPITRE II : MONOGRAPHIE DES ESPECES ETUDIEES

II - LE FENOUIL ANNUEL (*Ammi visnaga* Lamk.)

1- Historique

Les préparations faites à base de fenouil annuel ont été depuis les temps anciens employées en médecine populaire par les peuples de l'Est et des pays méditerranéens. Des décoctions préparées à partir des fruits secs du fenouil annuel ont été employées par le peuple du Moyen-Orient dans le traitement de diverses affections de l'appareil urinaire. Ces préparations servies comme diurétique dans le but de soulager les douleurs intenses résultant de la présence de pierres urétrales. Préparés à base de fenouil annuel et sous la forme de décoction et de teinture, des médicaments ont par ailleurs été introduits dans la pharmacopée égyptienne en **1934 (Maynard, Quimby, 2008)**.

2- Origine

Originaire d'Egypte, le fenouil annuel était populaire chez les Grecs et les Romains, qui l'employaient pour ses vertus médicinales, notamment comme antidote contre les piqûres des scorpions ainsi que les morsures des serpents et des chiens. La riche symbolique qui entoure cette plante permet de mesurer l'importance qu'elle a revêtue au fil des siècles. Ainsi, dans l'antique Phrygie, les adeptes du culte du dieu Sabazios s'en paraient durant les

cérémonies rituelles. Selon la mythologie grecque, les humains ont reçu la connaissance de l'Olympe sous la forme d'un charbon ardent placé dans une tige de fenouil. Pour les anciens Anglo-Saxons, le fenouil annuel était l'une des neuf herbes sacrées qui pouvaient combattre les neuf causes possibles d'une maladie (**Vanier Paulette, Cyr Josiane, 2010**).

3- Répartition écologique

Le fenouil annuel pousse spontanément autour du bassin méditerranéen, jusqu'au Proche Orient, sur des terres en friche et des terres argileuses. Il est particulièrement cultivé dans la vallée du Nil en Égypte, au Maroc, dans l'ouest algérien et en Tunisie, en Argentine, au Chili, au Mexique, dans le sud des États-Unis ainsi que dans les pays de l'ancienne URSS. Bien installé dans tout le pourtour méditerranéen, le fenouil annuel s'est ensuite naturalisé en Europe (**Franchomme, Pénéol, 2001 ; Zhiri, 2004**). Poussant dans le Midi, jusque dans la Drôme, et de l'ouest (Charente maritime, Gironde, Landes) jusqu'au Languedoc-Roussillon, on le trouve aussi en Eurasie et en Afrique septentrionale. Spontané et abondant, le fenouil annuel s'est naturalisé dans certains états des États-Unis (Californie, Texas, Floride etc.) et d'Amérique du Sud ou du Mexique (**Molino, 2005 ; Boullard, 1999**).

Le fenouil annuel affectionne les champs et les lieux sablonneux rocailleux et secs et s'adapte parfaitement aux sols argileux (**Garnier et al. , 1961**). Vivace, il pousse couramment aux abords des oueds et des chemins (**Lazouni et al. , 2005**).

4- Description morphologique

C'est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle à tige élevée (80 à 200 cm), robuste, verte, ramifiée, glabre, toute couverte de feuilles, à racine pivotante et à forte odeur d'anis (**Julve, 1998**). Le fenouil annuel est reconnu par son inflorescence en ombelle.

Il fait partie de la famille des ombellifères, tout comme l'anis, le cumin et la coriandre. Le fenouil annuel comprend plusieurs variétés sauvages, il peut être plus ou moins doux, poivrés ou amers (**Lazouni et al. , 2005**).

Les feuilles du fenouil annuel sont petites, bi ou tri-pennatiséquées, à segments linéaires, canaliculées, non cartilagineuses aux bords, jaunes groupées et découpées en molles et en minces lanières (**Lazouni et al. , 2005**).

Les ombelles très denses sont composées de très nombreux rayons épaissis et connivents après la floraison s'insérant sur un réceptacle dilaté en disque à maturité.

Les fleurs sont petites, nombreuses et blanches. Leur involucre comporte des folioles divisées en lanières linéaires et filiformes. Les fleurs sont rassemblées en ombelles composées de très nombreux rayons inégaux (plus de 60). Les bractées sont laciniées et longues. Lors de la maturation des fruits, les rayons se resserrent les uns contres les autres (**Satrani et al ., 2004**). La floraison est très longue puisqu'elle s'étale de l'été à l'automne. Elle dégage un parfum puissant et produit un nectar abondant attirant de nombreux insectes (**Julve, 1998**).

Les fruits sont de petits diakènes oblongues à ovoïdes. Ils atteignent une largeur de 1,7 mm et une longueur de 2,5 mm au moment de la maturation. Dans la littérature, ces structures sont souvent appelées « graines » (**Indian medicinal plants an illustrated dictionary, 2007**).

La plante est cueillie au mois de décembre et séchée à l'ombre. Les graines, tiges et racines sont ensuite séparées avant de subir les différentes analyses (**Lazouni et al. , 2005**).

Type d'inflorescence : ombelle d'ombellules

Répartition des sexes : hermaphrodite

Type de pollinisation : entomogame

Mode de dissémination : barochore (la dispersion des graines se fait par gravité, à proximité immédiate de la plante mère)

Type biologique : thérophytes estivaux

Formation végétale : thérophytaie

5- Etymologie

Le terme « Fenouil » est apparu dans la langue française au XIII^e siècle, il vient du latin *Foeniculum* qui signifie « Petit foin ». Il désignait à l'origine une sorte de graminée aromatique qui avait la propriété d'éloigner les insectes.

On appelle souvent à tort le fenouil « Anis » ou « Aneth », confusion qui se retrouve dans de nombreuses langues et qui résulte de la ressemblance, tant par leur forme que par leurs usages, entre ces trois plantes de la famille des apiacées. Toutefois, seul le fenouil est employé comme légume (**Vanier, Cyr, 2010**).

Le fenouil est communément appelé « Bésbés » par les populations locales (**Lazouni et al. , 2005**). Il est de plus appelé plante « Cure dents », « Khella » ou « Noukha » dans le Maghreb (**Satrani et al ., 2004**).

Certains chercheurs ont par ailleurs utilisé le terme « Khelline » lorsqu'il s'agit d'un mélange de dérivés obtenus à partir des fruits du fenouil. D'autres jugent cependant que le terme Khelline ou aussi Kellin devrait être réservé pour la désignation du dérivé pur connu sous le nom chimique suivant : 2-méthyl-5,8-diméthoxy-furanochromone. L'appellation « Visammin » a également été proposée comme nom générique pour Khelline, mais ce dernier nom reste le plus couramment utilisé dans la littérature (**Maynard, 2008**).

· **Synonymes** (Bock, 2011) :

Taxonomiques : *Ammi visnaga* (L.) Lam., *Ammi dilatatum* St.-Lag.

Nomenclaturaux : *Sium visnaga* (L.) Stokes, *Daucus visnaga* (L.), *Visnaga daucoides* Gaertn, *Daucus laevis* Salisb., *Apium visnaga* (L.) Crantz.

6- Classification

Selon **Bock Benoît (2011)**, le fenouil annuel appartient au :

Règne : Plantae.

Embranchement : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : Apiales.

Famille : Apiaceae.

Genre : *Visnaga*.

7- Utilisation de la plante

Le fenouil annuel était utilisé dans l'Égypte antique pour traiter l'asthme et les calculs rénaux. La drogue constituée par les fruits est spasmolytique (**Stein, Mehmet, 2004**), elle agit particulièrement sur les muscles lisses des bronches, du tractus gastro-intestinal, du système urogénital et des coronaires (elle est corano-dilatatrice).

Le fenouil annuel est aussi diurétique. Son principe actif essentiel, la khelline, est extrait des fruits et est disponible sous forme de comprimé, mais sa toxicité à long terme l'a fait abandonner dans les pays développés. La drogue a été aussi utilisée pour traiter le psoriasis (**Molino, 2005**). Les anciens égyptiens frottaient les plaques de peau rouge qui se desquamaient avec la plante et s'exposaient ensuite au soleil.

Au Maroc, les décoctions d'ombelles de Khella sont traditionnellement prescrites pour les soins de bouche, les maux de dents, le diabète et les palpitations. Les préparations à partir des graines sont traditionnellement prescrites pour décongestionner la prostate (**Boullard, 1999**).

Les ombelles du fenouil annuel durcissent à maturité, convergent et se ramassent en fuseau, ils servent ainsi de cure-dents dans certaines régions du monde, notamment au Maroc et en Algérie. Par ailleurs, très utilisé pour ses vertus médicinales, le fenouil annuel est de nos jours particulièrement cultivé pour ses usages industriels (**Garnier et al. , 1961 ; Quezel, Santa, 1963**). Ainsi, ses feuilles amères et aromatiques sont utilisées pour parfumer les aliments.

Le fenouil détient une agréable saveur anisée, il s'utilise sans danger en aromathérapie. **Dans la médecine traditionnelle marocaine, similaire à celle d'Algérie, le Khella est très utilisé comme suit :**

- la décoction des ombelles et/ou des fruits s'emploie en gargarismes pour les soins des gingivites et des abcès buccaux et contre les maux dentaires. Cette décoction est prise aussi, par voie orale, contre le diabète, les palpitations de l'aorte, les douleurs des reins et de la vessie ;
- en fumigation, les fruits et les ombelles servent à dissiper les vertiges et les céphalées ;
- les fruits seraient également recommandés, en décoction buvable, pour décongestionner la prostate.

8- L'huile essentielle du fenouil annuel

L'huile essentielle du fenouil annuel préparée par distillation à vapeur d'eau est un liquide limpide, fluide et ayant une odeur particulièrement anisée et âcre, un goût amer et une couleur jaune clair à jaune foncé plus ou moins soutenu.

Il n'existe pas de norme officielle pour cette huile essentielle. A titre indicatif : la densité est de 0,879 ; l'indice de réfraction est de 1,440 ; et le pouvoir rotatoire est de - 6,3°.

* Ces trois indices physiques sont importants pour déceler les fraudes éventuelles et pour l'expression du niveau de qualité de l'huile essentielle (**Lambert, 2010**).

8-1- Utilisation

L'huile essentielle du fenouil annuel possède des propriétés toniques et apéritives. Son indication principale se retrouve au niveau de la sphère digestive. De part ses propriétés antispasmodiques, elle est indiquée pour soulager les dyspepsies, l'aérophagie, les colites spasmodiques et les flatulences. On lui confère parallèlement un effet emménagogue

(provoque ou régularise le flux menstruel) qui lui permettent d'être utilisée en cas d'amenorrhée ou d'oligoaménorrhée, et de galactagogues (stimule la sécrétion lactée).

L'huile essentielle est de plus utilisée pour palier à certains effets de la ménopause comme les bouffées de chaleur. Elle a aussi une action positive sur la bile, en favorisant son élimination et en stimulant ses sécrétions. Elle est par ailleurs antiseptique, bactéricide et antiparasitaire (vermifuge). Elle est donc également recommandée pour les troubles digestifs et les parasitoses. C'est aussi un bon tonique respiratoire, intéressant dans l'asthme ou en cas de congestion pulmonaire.

En association avec les huiles essentielles classiques antispasmodiques comme la lavande, la marjolaine, et le petit grain bigarade, le fenouil annuel est un très bon calmant des spasmes nerveux (**Franchomme, Pénéol, 2001 ; Zhiri, 2004**).

L'huile essentielle du fenouil annuel est largement utilisée par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (**Formacek, Kubeczka, 1982**). Le fenouil annuel est une des principales sources d'anéthol, principe des boissons anisées (**Desmarest, 1978 ; Hunault et al., 1988**), avec l'Anis vert (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae) et la Badiane de Chine (*Illicium verum* Hook., Illiciaceae) (**Lamarti, Badoc, Carde, 1993**).

8-2- Toxicité

L'huile essentielle du fenouil est une huile légèrement toxique. Elle ne doit pas s'utiliser chez les jeunes enfants, car elle contient de la mélanthine qui est toxique chez les enfants de moins de 6 ans. La mélanthine est sans danger à dose normale pour les plus grands et les adultes. Il est par ailleurs interdit d'utiliser l'huile essentielle du fenouil chez les personnes épileptiques, les femmes enceintes et les femmes allaitantes.

8-3- Composition chimique

La Khelline (2-méthyl-5,8-diméthoxyfuranochromone) est la composante principale de l'huile essentielle du fenouil annuel. Présente à l'état pur est incolore, elle est inodore, cristalline et insolubles dans l'eau froide mais soluble dans l'eau bouillante et l'alcool (l'acétone et le chloroforme) et est modérément soluble dans l'éther. L'action de la Khelline administrée à des humains et animaux expérimentaux est assez longue. Sa capacité à produire une relaxation musculaire explique son effet antispasmodique dans un certain nombre de maux.

La présence de constituants tels que la khelline, la visnadine ou la visnagine dans les fruits, et en très petite quantité dans l'huile essentielle, confère à l'huile essentielle du fenouil annuel de réelles propriétés coronaro-dilatatrices. Ces propriétés sont mises à profit dans les séquelles d'infarctus (**Franchomme, Pénéol, 2001 ; Zhiri, 2004**).

8-4- Variabilité

La teneur en essence des différentes parties de la plante du fenouil annuel et son profil présentent une importante variabilité génotypique. À celle-ci s'ajoute une variabilité due à :

- l'environnement ;
- aux conditions de culture ;
- au moment et modalités de récolte ;
- ainsi qu'aux conditions d'extraction et d'analyse.

Le fenouil amer par exemple est caractérisé par la présence du trans-anéthol (**Badoc, 1988**). Caractérisée par ailleurs par la présence de l'alpha-pinène, du d-3-carène, de la β -pinène, du myrcène, du camphène, et de l'acétate de bornyle, l'huile essentielle du fenouil a fait l'objet de nombreuses études (**Lamarti, 1987**).

II- LE THE MEXICAIN (*Chenopodium ambrosioides* L.)

1- Historique

Dans le Yucatan (Mexique), les groupes indiens indigènes ont longtemps utilisé le thé mexicain contre les parasites intestinaux, l'asthme, l'excès de mucus, la chorée (un type de fièvre rhumatismale qui affecte le cerveau) et d'autres affections nerveuses. Les indiens de l'Amazonie utilisaient le thé mexicain comme un laxatif doux pour l'expulsion des vers intestinaux. Certaines tribus indiennes d'Amérique du Sud l'ont également utilisé contre les vers intestinaux (généralement en prenant une tasse de décoction de feuilles). D'autres confectionnaient des bracelets avec la plante et le porté pour son parfum. Cependant, la plupart des américains considèrent l'odeur de la plante assez forte et désagréable. Les créoles utilisaient le thé mexicain comme un remède contre le rhume pour les adultes tandis que les Wayãpi l'utilisaient comme décoction végétale pour les maux d'estomac et les hémorragies internes. À Piura (Pérou), une décoction de feuilles est utilisée pour expulser les gaz intestinaux, comme un laxatif doux, comme un insecticide, et comme un remède naturel pour les crampes, la goutte, les hémorroïdes, les vers intestinaux, les parasites et les troubles nerveux. Certaines tribus indigènes se baignaient dans une décoction de thé mexicain pour réduire la fièvre, ils jetaient également du thé mexicain fraîchement déracinées sur leurs feux pour chasser les moustiques et les mouches.

L'huile essentielle du thé mexicain extraite des graines a d'abord été isolée à des fins commerciales en **1895**, elle a ensuite été officiellement inscrite dans la pharmacopée des États-Unis comme traitement de l'ascaris et des ankylostomes chez les humains, les chats, les chiens, les chevaux et les porcs. Une étude de l'OMS de **1970** fait état de l'efficacité antiparasitaire d'une dose de 20 g de décoction de feuilles. En **1996**, un essai clinique a démontré une efficacité antiparasitaire (anti *Ascaris*) de l'extrait de feuille du thé mexicain. Une efficacité antiparasitaire à également été démontrée contre le ténia de l'homme et les parasites intestinaux les plus fréquents (*Ancilostoma* et *Trichuris*) (**Adebayo et al , 2010**).

2- Origine

Le thé mexicain est une herbe indigène originaire du Mexique et des régions tropicales d'Amérique, elle est par ailleurs cultivée dans les régions tempérées chaudes et les zones subtropicales de l'Europe. La plante a été largement naturalisée dans le monde entier et peut être trouvée de plus en plus dans les régions du sud des États-Unis (**Taylor, 2005**).

3- Répartition écologique

Le thé mexicain est une plante peu courante que l'on retrouve dans les lieux incultes, le long des routes, dans les cultures ou dans les terrains vagues. Elle préfère la lumière et se développe très bien à des altitudes allant de 270 à 900 m, sur des sols légers, sableux et avec une bonne pluviométrie. Elle supporte les sols salins et préfère par ailleurs un sol modérément fertile et tolère un pH allant de 5,2 à 8,3 (**Huxley , 1992**).

La plante se propage facilement, cela explique pourquoi certains la considère comme étant une mauvaise herbe envahissante.

4- Description morphologique

La plante est dressée, ramifiée, herbacée annuelle ou pérenne, elle peut atteindre 1,20 mètre de hauteur. Irrégulièrement ramifiée, elle est parsemée de poils fins et courts ou presque glabres et présente un polymorphisme foliaire important, elle a plusieurs branches et possède des tiges rougeâtres multi-branchées, couvertes de petites feuilles fortement dentées, oblongues et lancéolées jusqu'à 12 centimètres de long.

Sa racine est un pivot ramifié. La tige est dressée, ramifiée depuis sa base, surtout lorsque la plante se trouve isolée.

Les rameaux se distribuent de façon régulière et diminuent de taille vers l'extrémité de la plante, ce qui donne un port pyramidal. La tige est cylindrique, pleine, finement pubescente, à poils vésiculeux blancs. Elle est parcourue de stries de couleur verte et peut présenter une pigmentation pourpre.

A l'aisselle de ses feuilles larges, simples, alternes, courtement pétiolées, odorantes, dotées d'une face supérieure glabre et d'une face inférieure parsemée de petites glandes (ovales jusqu'à 4 cm de long et 1 cm de large ou elliptiques et fortement dentées) se dressent des panicules de fleurs (**Anonyme, 2010**).

Son limbe est étroitement ovale ou elliptique, aigu au sommet, atténué en coin aigu à la base. Il est long de 2,5 à 14 cm et large de 1,5 à 3,5 cm. La marge est normalement sinueuse dentée, mais peut aussi être irrégulièrement dentée. Les nervures sont proéminentes à la face inférieure. La face supérieure est glabre, d'un vert brillant alors que la face inférieure plus claire est parsemée de petites glandes sessiles jaunes, transparentes, remplies d'un liquide dont l'odeur est désagréable.

L'inflorescence du thé mexicain est ample et très ramifiée. Les fleurs, petites, parfumées, jaunâtres et vertes de 0,5 à 1,5 mm de diamètre, sont groupées par 4 ou 5 pour former de petits glomérules sessiles. Ces derniers se rassemblent en épis le long des rameaux terminaux. Chaque petit épi est sous-tendu par une petite bractée foliaire lancéolée. Les fleurs femelles présentent 3 à 5 tépales, tandis que les fleurs bisexuées en possèdent 4 à 5. Ils sont pubescents à glabre, glanduleux, lisses ou très rarement carénés. Les sépales peuvent être plus ou moins soudés. Les étamines sont par 4 ou 5 mais les avortements peuvent réduire ce nombre. L'ovaire est globuleux.

Le fruit est un utricule indéhiscent et lenticulaire. Il présente un péricarpe glabre enveloppé par les tépales. Il ne contient qu'une graine. De forme lenticulaire, la graine de 0,5 à 1,25 mm de diamètre est produite par millier, elle est verte lorsqu'elle est fraîche et noire lorsqu'elle est sèche. Elle est luisante, avec un tégument presque lisse, marqué de lignes sinueuses.

5- Etymologie

Dans de nombreuses langues, cette plante est appelée « Thé », se référant à son utilisation comme substitut du thé dans la préparation des infusions aromatiques.

Noms communs

Épazote ; Erva-de-Santa Maria ; Fausse giroflée ; Mastroço Apasote ; Chénopode ; Meksika Cayi ; Paico ; Pazote ; Semin contra ; Contegras simon ; Fausse ambroisie ; Thé

du Mexique ; Giroflée américaine ; Le Thé des Jésuites ; Payco ; Paiku ; Paico ; Amush ; Camatai ; Cashua ; Amasamas ; Anserina ; Mastruco ; Américain ambrosie ; Mastruz, Sie-sie, Thé de Jérusalem, Thé espagnol, Ambrosie du Mexique, Wurmsamen, Hierba Hormiguera.

Synonymes

Ambrina ambrosioides ; A. parvula ; Antillaise chénopode ; A. spathulata ; Atriplex ambrosioides ; Ambrosioides blitum ; Chenopodium anthelminticum ; C. integrifolium ; C. spathulatum ; C. suffruticosum; Ambrosioides Dysphania anciennement appelée Chenopodium ambrosioides (**Jardim et al., 2008**).

6- Classification

Selon Taylor (2005), le thé mexicain appartient au :

Règne : Plantae.

Sous-règne : Tracheobionta.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : Caryophyllales.

Famille : Chenopodiaceae (Amarantacées).

Sous-famille : Chenopodioideae.

Genre : Ambrosioides.

Bien que la famille admise aujourd'hui pour cette plante soit Chenopodiaceae, cette plante est aussi parfois classée parmi les Amaranthaceae ou les Dysphaniaceae (**Mosyakin & Clemants, 2002**).

La famille Chenopodiaceae est composée de 120 espèces, dont 45 sont connues pour être distribuées partout dans le monde, et sont signalés pour leurs nombreuses propriétés médicinales (**Koba et al. , 2009**).

7- Utilisation de la plante

Le thé mexicain est utilisé comme herbe culinaire pour sa saveur piquante âcre et légèrement citronnée ainsi que pour son odeur rappelant le camphre, l'eucalyptus, voire la thérébentine (**Jardim et al. , 2008**). D'une façon générale, toutes les parties vertes de la plante sont utilisées, des feuilles aux fruits immatures.

Connu pour son goût fort, le thé mexicain est caractéristique de la cuisine Maya dans le sud du Mexique et du Guatemala. L'herbe est utilisée fraîche dans les soupes, les salades, les plats de viande, les frijoles, les tortillas, et les quesadillas. L'utilisation la plus commune est cependant dans les plats de fèves en raison de son pouvoir anti-flatulent.

La plante entière est :

- analgésique ;
- antiasthmatiques ;
- carminatif ;
- antiplasmodiales (**Pollack et al ., 1990**) ;
- stomachique et vermifuge (**Chittendon, 1951 ; Grieve, 1984 ; Lust, 1983 ; Schery, 1972 ; Singh et al ., 1976 ; Hill, 1952**) .

En Afrique occidentale, le thé mexicain est cultivé principalement pour un usage médicinal pour le traitement des plaies et des œdèmes (**Burkill, 1985**).

Très efficace contre la plupart des parasites, y compris l'amibe responsable de la dysenterie, mais est moins efficace contre le ténia (**Bown, 1995 ; Weiner, 1980**), la plante a été utilisée pendant des siècles pour chasser les vers parasites du corps (**Chevallier, 1996**). En phytothérapie brésilienne par exemple, le thé mexicain est considéré comme étant un recours important pour les ankylostomes, les vers ronds et les vers solitaires, la plante est par ailleurs utilisée pour la toux, l'asthme, la bronchite et les maladies des voies respiratoires supérieures, pour soulager les gaz intestinaux, promouvoir la transpiration et aider la digestion. La population locale dans la région amazonienne au Pérou fait aussi tremper la plante dans de l'eau pendant plusieurs jours et l'utilise comme un remède contre l'arthrite. En Amérique du Sud, la plante est utilisée contre l'asthme, la bronchite, la diarrhée, la dysenterie et les troubles menstruels. En externe, elle a été utilisée comme un lavage pour les hémorroïdes, les contusions, les plaies et les fractures, comme un cataplasme pour ses propriétés de cicatrisation et pour désintoxiquer les morsures de serpent et d'autres poisons (**Chevallier, 1996**).

Le thé mexicain peut enfin être utilisé comme un insecticide botanique (**Gadano et al., 2002 ; Tavares, 2002**).

8- Toxicité

La plante peut causer une dermatite ou d'autres réactions allergiques (**Foster, Duke, 1990**), elle doit être utilisée avec prudence et de préférence sous la supervision d'un praticien qualifié (**Lust, 1983 ; Bown, 1995**) ; c'est une plante abortive qui ne doit pas être prescrite aux femmes enceintes (**Bown, 1995**).

9- L'huile essentielle du thé mexicain

L'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* préparée par distillation à la vapeur d'eau est incluse dans le Formulaire national des Etats-Unis et dans la Pharmacopée britannique. Il s'agit d'un liquide ayant une odeur particulière, désagréable, et un goût amer, de couleur jaune pâle à jaune orangé devenant brunâtre par le vieillissement (**Taylor, 2005**).

9-1- Utilisation

L'huile essentielle du thé mexicain est un anthelminthique populaire (**Kliks, 1985 ; Wynn, 1996**), elle a été étudiée pour ses constituants chimiques (**Pino et al., 2003 ; Cavalli et al., 2004**). Elle est rarement utilisée pour aromatiser des vins en raison de sa toxicité rapportée à faibles doses (**Foster, Duke, 1990 ; Bown, 1995**), mais est néanmoins utilisée dans de très petites quantités dans la parfumerie (**Opdyke, 1976**).

Cette huile polyvalente est également connue pour ses propriétés anticancéreuses et anti-tumorales in vitro (**Foster, Duke, 1990**). Des échantillons d'huile essentielle extraite à partir d'espèces recueillies en Afrique, à Madagascar (**Cavalli et al., 2004**), au Rwanda (**Muhayimana et al., 1998**), et en Inde (**Jirovetz et al., 2000**) ont fait l'objet de nombreuses études. Elle est par ailleurs utilisée en externe pour traiter les piqûres d'insectes et est largement utilisée dans la médecine populaire comme vermifuge et emménagogue (**Comway & Slocumb, 1979**). L'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* est connue pour inhiber la croissance des dermatophytes (**Kishore et al., 1999**) et d'autres champignons filamenteux tels qu'*Aspergillus*, *Fusarium* et *Colletotrichum* (**Jardim et al., 2008**). Elle possède également des propriétés antiaflatoxigeniques, antipaludiques et

antioxydantes (**Kumar et al ., 2007**). Beaucoup d'autres activités biologiques de l'huile essentielle de *C. ambrosioides* ont été rapportées.

9-2- Composition chimique

L'épazote est riche en substances chimiques appelées mono terpènes. Les graines et les fruits contiennent une grande quantité d'huile essentielle qui est principalement composée par un produit chimique actif appelé **Ascaridole**. Ce produit chimique a été isolé en **1895** par un pharmacien allemand qui vivait au Brésil. Connu pour son caractère vermifuge, l'Ascaridole a également été connu pour ses propriétés sédatives et analgésiques ainsi que pour ces effets antifongiques (**Taylor, 2005**).

La plante entière exhale par ailleurs une odeur forte et distinctive. Cette odeur est particulièrement due à la présence de nombreux composés actifs tel que : alpha-pinène, aritasone, ascaridole, acide butyrique, d-camphre, acide férulique, géraniol, l-pinocarvone, limonène, acide malique, menthadiène, hydroperoxydes menthadiène, salicylate de méthyle, myrcène, p-cymène, p-cymol, safrole, saponines, spinasterol, acide tartrique, terpinène, terpinyle-acétate, terpinyle-salicylate, triacontyl-alcool, triméthylamine, acide vanillique.

9-3- Toxicité

En excès, l'huile essentielle du thé mexicain peut causer des étourdissements, des vomissements, des convulsions et même la mort (**Foster, Duke, 1990 ; Bown, 1995**).

La forte toxicité de l'huile essentielle du thé peut être essentiellement attribuée à l'ascaridole (**Malloy, 1923 ; Smilie, Pessoa, 1924**). Or, l'ascaridole provient généralement de l' α -terpinène par biotransformation enzymatique au sein de cette plante (**Johnson, 1984**). D'autres chercheurs démontrent ainsi que la forte toxicité de cette huile essentielle peut ne pas être due uniquement à l'ascaridole mais aussi à d'autres constituants majoritaires comme le cymol ou même l' α -terpinène (**Azefack et al ., 2003**).

III- LE THYM (*Thymus palleseces* de Noé)

1- Historique

Déjà dans l'Antiquité, Galien citait « le thym est notoirement incisif et chaud. Il est propre à faire uriner et à provoquer le flux menstruel, à faire avorter et sortir l'enfant du ventre de la mère, et, à nettoyer les parties nobles et intérieures, le prenant en breuvage. Il est propre à faire cracher et jeter hors toutes les superfluités de la poitrine et du poumon ».

Aetius, célèbre médecin grec du Ve siècle, écrivait dans son *Tetrabiblos*, que les patients utilisant du thym « évacueront la colère et les autres humeurs, et même la matière pourrie, piquante et mordante qui cause la douleur ». Il recommande le thym pour « les sciatiques, les douleurs des reins et de la vessie, la colite et les ballonnements, pour les mélancoliques et ceux qui ont l'esprit troublé ».

Pline conseille le thym en cas de « toux invétérée », pour l'expectoration et les maux d'estomac ou de l'intestin.

Les égyptiens utilisaient le thym pour embaumer leurs morts. Les grecs en brûlaient dans leurs temples, sur les places publiques ou devant les riches demeures. Chez les romains, le thym entraînait dans la composition de nombreux cosmétiques.

L'usage du thym se répand dans la pharmacopée au XI^e siècle. Hildegarde et Albert le Grand le mentionnent contre « *la lèpre, la paralysie et les maladies nerveuses* ».

Au Moyen-âge, chevaliers et militaires mettaient du thym dans leur bain pour gagner en courage. Il était enfin brûlé pour masquer les odeurs de nourriture avariée ou pour ralentir la putréfaction des chairs.

En **1887**, Chamberland, démontra l'action bactéricide de l'essence de thym notamment vis-à-vis du bacille du charbon. Cadéac et Meunier l'étudièrent, en **1889**, sur les bacilles typhiques et de la morve, la prolifération microbienne dans les bouillons de viande. Morel et Rochaix, en **1921-1922**, sur le méningocoque, le bacille d'Eberth, le bacille diphtérique, et le staphylocoque. Courmont, Morel et Bay, sur le bacille tuberculeux. En **1894**, Miquel avait montré le pouvoir bactéricide des vapeurs de thym (**Valnet, 1979**).

Novi(Italie) a démontré l'action activatrice sur les globules blanc des essences de thym, de lavande, de bergamote, de citron et de camomille ; d'où l'action antitoxique et activatrice des défenses de l'organisme dans les maladies infectieuses, par stimulation d'une leucocytose curative (**Valnet, 1979**).

2- Etymologie

Il existe plus d'une centaine de variétés de thym. La plus courante est le *Thymus vulgaris*, autrement appelée « **serpolet** » lorsqu'il s'agit de thym sauvage ou de « **Farigoule** » en Provence. L'origine du nom est sujette à diverses interprétations, le thym proviendrait aussi bien du latin **thymus** signifiant « **Parfumer** » que du grec **thumus** « **Courage** », ou **thumos** « **Grosseur** », ou encore, du **thyein** « **Fumée** ».

Le nom thym proviendrait aussi du mot grec **Thymos** qui veut dire odeur, et à ce titre le thym est très largement utilisé en qualité de plante aromatique, en particulier dans la cuisine méditerranéenne entrant dans la composition du célèbre « Bouquet garni » et en tant que condiment (**Richard et al ., 1985**).

3- Classification

Le thym appartient à la famille des Lamiaceae (Labiatae), c'est l'une des familles botaniques les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antioxydant et antibactérien (**Bouhdid et al ., 2006**). Elle regroupe entre 200 et 250 genres et entre 3 200 et 6 500 espèces **Anon (2003), Dorman et al . (2004)**.

Thymus est l'un des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces chez la famille Labiatae, bien que le nombre d'espèce de ce genre change selon le point de vue taxonomique ; si nous adoptons un caractère synthétique, il comportera alors plus de 200 espèces (**Morales, 1997**).

Selon la classification d'**Engler (1829-1926)**, le thym appartient au :

Règne : Plantea.

Embranchement : Spermaphyte.

Sous embranchement : Angiosperme.

Classe : Magnoliopsida.

Sous classe : Métaclamydées.

Ordre : Tubiflorale.

Famille : Lamiacées.

Sous famille : Stachyoidea.

Genre : Thymus.

4- Variabilité et origine

En raison de l'extrême variabilité des espèces et des hybridations interspécifiques, la détermination des espèces reste toujours très délicate (**Quezel et Santa, 1963**).

Environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans les pays du bassin méditerranéen (**Jalas, 1971**). A cet effet, la région méditerranéenne occidentale semble être le centre d'origine de ce genre.

5- Description morphologique

Le thym est un petit sous arbrisseau érigé ou prostré et odorant, il forme des touffes compactes très ramifiées de 10 à 30 cm. Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocailleux et dans les garrigues. Ses tiges sont ramifiées tortueuses et ligneuses peu touffues et où les rameaux dressés sont grisâtres et compactes.

Les feuilles du thym sont sessiles, petites et étroites de forme lancéolée, de couleur verte blanchâtre et cotonneuse blanchâtre par-dessous. Les fleurs rosées, blanches ou petites, en épis à l'aisselle des feuilles supérieures, ont un calice bossu à poils durs et une corolle à deux lèvres et quatre étamines saillantes. Les fruits sont des tétrakènes bruns et glabres.

6- Culture

Le thym est très résistant. Il a besoin de soleil et pousse à l'état sauvage sur les collines arides et rocailleuses des régions méditerranéennes. La germination prend deux ans, il est préférable de plus de reproduire la plante par division de racines, par marcottage ou par bouturage. Les plantations s'effectuent tous les 30 cm. À chaque printemps, il est préférable d'engraisser la terre avec de l'engrais et de couper la plante de moitié pour favoriser l'apparition de nouvelles pousses.

7- Propriétés du thym

- Usage interne :
 - stimulant général, physique et psychique, de la circulation capillaire ;
 - tonique nervin ;
 - apéritif ;
 - hyper tenseur ;
 - antispasmodique, stomachique ;
 - balsamique, expectorant (modificateur des sécrétions) ;
 - antiseptique intestinal, pulmonaire, génito-urinaire ;
 - stimulant de la leucocytose dans les maladies infectieuses, diurétique, sudorifique, emménagogue, carminatif, vermifuge et hypnotique léger (**Valnet, 1979**).
- Usage externe :
 - antiseptique et bactéricide (surtout essence peroxydée) ;

antivenimeux ;

antiputride, cicatrisant, révulsif, antirhumatismal, parasiticide (**Valnet, 1979**).

8- Utilisation de la plante

- Indications pour l'utilisation du thym

Asthénie physique et psychique, neurasthénie, anémie (enfants), chlorose, asthme. Toux convulsives (coqueluche...). Affection pulmonaire (modification des sécrétions, antiseptique et antispasmodique). Digestions lentes. Infections intestinales (fermentations) et urinaires.

Le thym est l'un des meilleurs remèdes contre les affections dues au refroidissement (grippe, rhum de cerveau, courbatures, frisson, angines...), les maladies infectieuses et les parasites intestinaux (ascaris, oxyures, ankylostomes, taenia).

Il favorise en outre la circulation et est indiqué dans la suppression accidentelle des menstrues. Il favorise également le sommeil (**Valnet, 1979**).

- En usage externe :

- dermatose, furoncles ;
- plaies, irrigations vaginales, goutte ;
- chute de cheveux, aérosol (en association généralement avec d'autres essences) ;
- soins dentaires et buccaux, rhumatisme, pédiculose, gale (**Valnet, 1979**).

- **Usage interne :**

- infusion ;
- usage courant dans la cuisine ;
- huile essentielle ;
- association de l'essence de thym avec celle de l'eucalyptus et celle du cyprès dans la coqueluche ;
- à mâcher en cas d'angines (**Valnet, 1979**).

- Usage externe :

- en pommade ;
- contre les algies rhumatismales, hacher du thym, le faire chauffer dans un récipient, le mettre dans une gaze et appliquer chaud ;
- bain aromatique (**Valnet, 1979**).

9- Les essences produites par le thym

Les essences produites par les différentes espèces de thym ont des différences sensibles dans leur composition chimique. Certaines contiennent une plus grande production de *thymol*, d'autre de *carvacrol*, d'autre de citral (analogue aux essences de verveine). Leurs propriétés sont néanmoins voisines (**Valnet, 1979**).

L'essence de thym est beaucoup plus antiseptique que le phénol, l'eau oxygénée, le permanganate de potasse et le gaïacol. L'action bactéricide et cicatrisante est beaucoup plus prononcée pour les essences peroxydées et détéropénées que pour l'essence brute (**Valnet, 1979**).

L'essence de thym peroxydée à 0,10 % en solution savonneuse diluée détruit la flore microbienne de la cavité buccale en 3 minutes. Le thym sec, pulvérisé est un bon dentifrice (fortifiant des gencives). On peut l'utiliser mélangé à de l'argile à partie égales (Valnet, 1979).

10- L'huile essentielle de thym

L'huile essentielle de thym est employée depuis très longtemps. Elle était utilisée en médecine et en cuisine. Les Egyptiens s'en servaient pour embaumer les morts. En aromathérapie, l'huile essentielle de thym est considérée comme un produit indispensable.

L'huile essentielle de thym est produite dans le monde entier, principalement en Espagne et au Maroc mais également en France, au Portugal, en Grèce, et aux Etats-Unis.

La teneur en huile essentielle est de 2 à 5 % de la masse végétale sèche. Elle a un goût fort, piquant, épicé, herbeux, plutôt plaisant avec une odeur caractéristique ; l'ensemble est maintenu par de bonnes conditions de conservation (Valnet, 1979).

11- Composition chimique

La tige du thym contient en plus de l'huile essentielle des flavonoïdes (thymonine, cirsilinéol et 8-méthoxy-cirsilinéol) et des acides-phénols (notamment caféiques et rosmariniques), des tanins et une résine (Haraguchi et al., 1996).

En pharmacie le thymol et le carvacrol sont employés en collutoires, dans les dentifrices, les savons, les onguents, les lotions, les pastilles pour la gorge, et les remèdes antigrippes.

La composition chimique de l'huile essentielle de thym est variable. Elle dépend d'un nombre de facteurs principalement d'origine génétique et édaphoclimatique, elle dépend aussi de la saison de cueillette (stade végétatif) (Hazzit et al., 2009).

Les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles de thym ont permis de définir sept races chimiques ou chémotypes indiqués dans le **tableau 4 (Viaud, 1993)**.

Selon la littérature, environ 84 huiles essentielles du genre *Thymus* ont été analysées de 1960 à 1989 (Stahl- Biskup, 1991).

Tableau 4 : Les différents chémotypes rencontrés dans l'huile essentielle du thym (Viaud, 1993)

Type du chémotype	Teneur en composés majoritaires
Chémotype à 1.8-cineole	80 à 90 % de cineole
Chémotype à géraniol	80 à 90 % de géraniol libre estérifié
Chémotype à linalol	80 à 90 % de linalol libre estérifié
Chémotype à terpinéol	80 à 90 % de terpinéol libre estérifié
Chémotype à thymol	70 % de thymol en été
Chémotype à carvacol	80 % de carvacol en été
Chémotype à thyanol	50 à 60 % de trans-thuyanol-4 10 à 20 % de terpinéol-4 10 à 20 % de cis-myrcénol-8

12- Quelques résultats d'application de l'huile essentielle de thym

12-1- Activité antibactérienne

Une étude a examiné les effets antibactériens d'un certain nombre d'huiles essentielles sur les principaux microbes pathogènes du système respiratoire. L'activité de 14 huiles essentielles et de leurs principaux composants a été évaluée. Parmi les souches des quatre principales bactéries responsables d'infections respiratoires, l'*Haemophilus influenzae* était la plus sensible aux huiles essentielles, suivie par *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*. Le *Staphylococcus aureus* y était moins sensible.

Les huiles essentielles contenant des aldéhydes ou des phénols montraient l'activité antibactérienne la plus forte, suivies par celle contenant des alcools terpéniques.

D'après ces résultats, les huiles essentielles de thym, d'écorce de cannelle, de lemongrass, de périlla et de menthe poivrée ont été sélectionnées pour faire d'autres évaluations sur leurs effets infectieux du système respiratoire (**Zhiri, 2006**).

12-2- Activité antifongique

Selon **Ruberto et al. , (1993)**, l'huile essentielle de thym manifeste une activité antifongique vis-à-vis d'*Aspergillus* et de *Fusarium sp.* contrairement à celle observée avec l'huile essentielle de la sauge et du laurier.

12-3- Activité antioxydante

D'après **Draglant et al. , (2003)**, des herbes culinaires séchées comme le thym, l'origan, la sauge et le clou de girofle, ont des contenus de concentration élevée en antioxydants dépassant les 75 mmol/100 g. Cette propriété antioxydante est due essentiellement à la présence de composés phénoliques naturels (**Ramarathnam et al. , 1995**).

12-4- Agrégation plaquettaire

Un groupe de chercheur japonais a rapporté avoir observés une action antiplaquettaire dans deux composés isolés de l'huile essentielle de thym (**Okazaki et al ., 2002**).

13- Localisation et répartition géographique du thym dans le monde et en Algérie

13-1- Répartition dans le monde

Le thym est distribué en Europe, sur les cotes du Groenland et dans la région macaronisienne (les canaries, Madère et les Açores).

C'est une plante très répandue dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) ainsi que dans les montagnes d'Ethiopie, les montagnes d'Arabie du sud ouest et la péninsule de Sinai. Passant par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, il peut même atteindre les limites de région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie et en Europe nordique (**Jalas, 1971**).

D'après **Djerrari et Crouzet (1985)**, plus de 27 espèces du genre *Thymus* pousse entre l'Algérie et le Maroc.

13-2- Localisation des principales espèces de thym en Algérie

Le genre *Thymus* inclut environ 300 espèces à travers le monde dont 11 localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (**Kabouche et al., 2005**). Ces espèces sont réparties du Nord Algérois à l'Atlas saharien, et du constantinois à l'oranais.

La figure 8 montre la répartition du thym dans le monde (Stahl-Biskup, 2002).

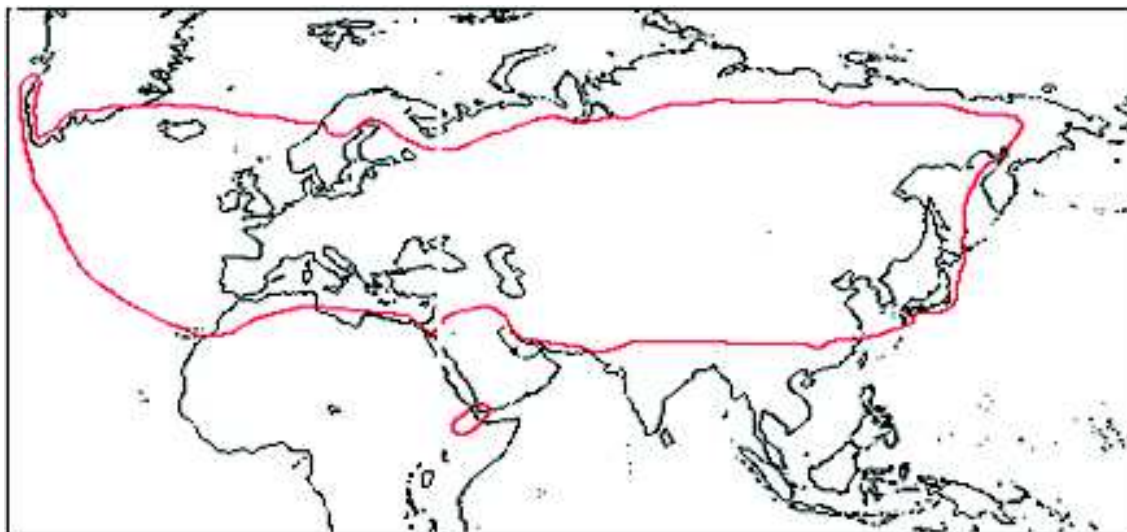


Figure 8 : Répartition géographique du thym dans le monde

(Stahl-Biskup, 2002)

CHAPITRE III : CORPS GRAS ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE

1- Généralités sur les corps gras

Définition

Les lipides, appelés corps gras sont des matières fluides ou concrètes, plus au moins colorées, onctueuses, inflammables, susceptibles de se liquéfier sous l'action de la chaleur, peu ou pas solubles dans l'eau et dans l'alcool avec possibilité de formation de savons en présence de substances alcalines (soude, potasse) (Fritsch, 1931).

Les aliments les plus riches en lipides sont les huiles, la margarin, et le beurre ; d'autres en contiennent des quantités variables, comme les produits laitiers (lait, crème fraîche, fromages), les viandes et les poissons.

Les lipides donnent aux mets une texture moelleuse et onctueuse, ce qui les rend plus attrayants.

2- Oxydation des corps gras

2-1- Introduction

Les réactions d'oxydation déterminent la durée de vie des lipides. Ce phénomène est à l'origine de goûts et d'odeurs, de " saveur oxydée ", fort désagréables. Cependant, il est difficile de les définir. On parle de goût huileux, de goût de carton, de goût métallique, et

de suiffage. Le goût de poisson est parfois prédominant, à cela s'ajoute la formation des **peroxydes** qui sont des molécules cancérigènes (**Pr. Rozier, 2004**).

2-2- Définition

D'après Rossignol - Castera (2006), l'oxydation des matières grasses est un phénomène naturel, chimique, complexe, spontané, évolutif, irréversible, altératif et incontournable.

L'oxydation des matières grasses est une dégradation en chaîne des acides gras insaturés par action de l'oxygène atmosphérique et sous l'effet de différents facteurs exogènes et/ou endogènes initiateurs, accélérateurs ou retardateurs, conduisant à des produits oxydés volatils ou non.

C'est une réaction du type radicalaire, auto-catalytique, simultané, consécutif et concourant.

2-3- Les substrats des réactions d'oxydation

Les composés exposés à subir l'oxydation sont principalement les acides gras insaturés. Ils s'oxydent en général plus vite lorsqu'ils sont libres et plus insaturés. Les acides gras saturés ne s'oxydent qu'à une température supérieure à **60 °C**, tandis que les acides polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé.

2-4- Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

D'après **Eymard (2003)**, l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- l'auto oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ;
- la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photo-sensibilisateurs ;
- l'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

2-4-1- Auto-oxydation

L'auto-oxydation d'un corps gras est un phénomène purement chimique et très complexe mettant en jeu des réactions radicalaires capables de s'auto-entretenir et qui ne nécessitent que la présence d'oxygène radicalaire ou moléculaire. Dans ce cas les acides gras poly insaturés peuvent se transformer spontanément pour former :

Des radicaux libres qui :

- sont des atomes ou des molécules, dont une orbitale contient un électron non apparié ;
- sont hautement toxiques et destructeurs pour la cellule ;
- sont les sous-produits des réactions d'oxydation et de réduction ;
- sont cliniquement hyperactifs et sont capables d'extraire un électron des molécules voisines pour combler la vacance de leur orbitale ;
- induisent des dommages et des lésions sur l'ADN, les protéines cellulaires essentielles et les lipides membranaires ;
- initient des réactions en cascade, telle la peroxydation lipidique (d'où l'altération des membranes et la mort cellulaire).

L'hyperproduction de radicaux libres est à la base des explications physiopathologiques des grandes maladies dites neuro-dégénératives, sclérose latérale amyotrophique (SLA), maladie de Parkinson (MP), maladie d'Alzheimer (MA), et vieillissement cérébral.

La pharmacologie vise à développer des médicaments anti-radicaux libres qui sont des antioxydants. Normalement, il existe un équilibre entre la production de radicaux libres et l'activité antioxydante (**Pr. Allain H., 1999**).

- **et des dérivés peroxydes** : qui sont à l'origine du phénomène de rancissement des aliments. Ils rendent les aliments impropres à la consommation. Il s'en suit une implication directe sur la valeur marchande des huiles et des corps gras et donc sur leurs DLUO (Date Limite Optimale d'Utilisation) (**I.T.E.R.G., 2004**).

L' **oxydation des lipides** est une réaction auto – catalytique suivant une courbe exponentielle. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois phases distinctes **Eymard (2003)** :

- Phase d'initiation (Figure 9) :

En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un proton (H^\bullet) pour former un radical libre de lipide (R^\bullet). L'arrachement du proton est facilité tant par l'élévation de la température (agitation moléculaire) que par les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni).

A ce stade, dit de peroxydation, la flaveur de rance peut ne pas être perceptible, la qualité marchande du produit non encore altérée ;



Figure 9 : Phase d'initiation

- Phase de propagation (Figure 10) :

Les radicaux libres formés (R^\bullet) fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (ROO^\bullet) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras (RH) pour former des hydroperoxydes (ROOH).

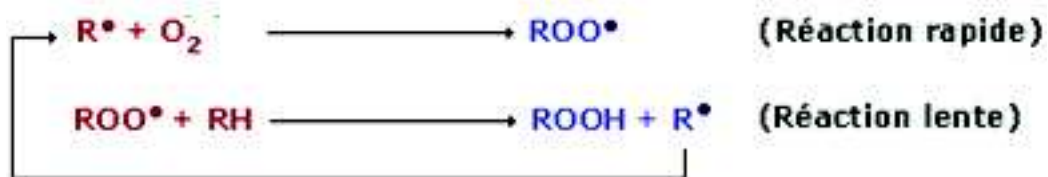


Figure 10 : Phase de propagation

Cette étape se traduit aussi par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation, par deux voies principales (**Judde, 2004**) :

- Une voie dite de scission, conduisant par coupure à la libération de composés volatils, notamment aldéhydiques, responsables de flaveurs de rance, caractérisés par un seuil de détection très faible ;
- Une voie dite de remaniement, conduisant suite à différents types de pontage intra ou inter-acides gras à l'apparition d'acides gras oxydés et de triglycérides oxydés.

A ce stade dit de rancissement, la flaveur de rance est bien entendu perceptible, et peut être accompagnée par d'autres conséquences d'ordres fonctionnels (aspects, couleur, texture) et d'ordre physiologique (altération des acides gras essentiels et les vitamines liposolubles).

Au cours de la phase de propagation l'auto oxydation s'auto – entretient, les lipides insaturés disparaissent progressivement. Puis, la concentration en hydroperoxydes croit pour atteindre son maximum (**Richard, 1992**) ;

Phase de terminaison (Figure 11) :

Après avoir atteint une vitesse maximale d'oxydation, celle-ci diminue par combinaison des radicaux lipidiques entre eux pour donner des produits non radicalaires. La réaction la plus fréquente est une réaction de dimérisation qui est liée à la pression partielle d'oxygène du milieu. À pression d'oxygène élevée se sont surtout les radicaux peroxydes qui réagissent entre eux (**Cillard, Cillard, 2006**).

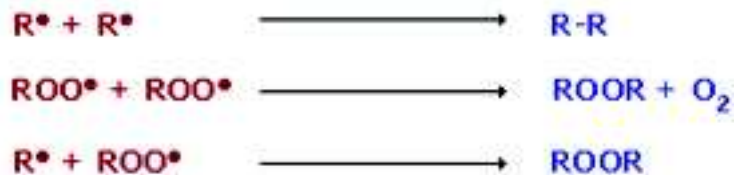


Figure 11 : Phase de terminaison

Il est à noter que certains antioxydants vont provoquer la terminaison de la peroxydation en piégeant les radicaux peroxydes. Ces antioxydants sont appelés « **Chain breaking** » (**Cillard, Cillard, 2006**) (Figure 12).



Figure 12 : Action des antioxydants appelés « Chain breaking »

2-4-2- Photo-oxydation

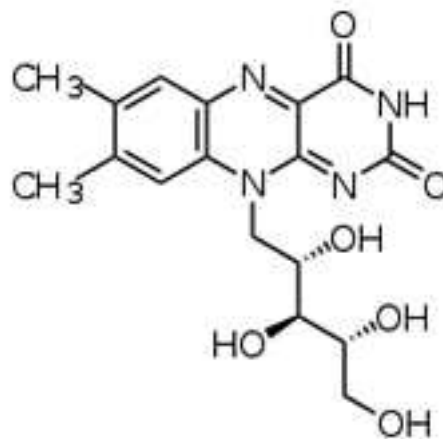
La **photo-oxydation** est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs, tels que les hémoprotéines, la chlorophylle ou la riboflavine (**Hultin, 1992**).

Dans ce cas deux situations peuvent se présenter (**Judde, 2004**) :

- **une photoxydation directe** où la lumière joue le rôle d'accélérateur des cinétiques des réactions d'oxydation et où les mécanismes chimiques restent les mêmes ;
- **une oxydation photosensibilisée** où grâce à la présence nécessaire d'un agent photosensibilisateur (pigments type chlorophylle, colorants, vitamines), les **photosensibilisateurs** (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens³). Ils interviennent ainsi dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (**Frankel, 1998**) :

Selon le premier mécanisme : les **photosensibilisateurs** de type I, **telle que la riboflavine**, agissent comme des radicaux libres initiateurs.

Exemple de photosensibilisateurs (Sens) : la riboflavine :



Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène (**Figure 13**) ;

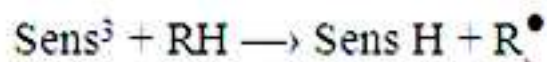


Figure 13 : Formation d'un radical capable de réagir avec l'oxygène

Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens^3) avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) (**Figure 14**) :



Figure 14 : Formation de l'oxygène singulet

L'oxygène singulet ainsi formée est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxydes (ROOH) (**Figure 15**).

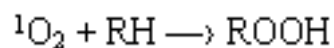


Figure 15 : Formation de l'hydroperoxyde (ROOH)

Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto - oxydation. Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par auto - oxydation (**Frankel, 1998**).

2-4-3- Oxydation enzymatique

Le phénomène d' **oxydation des acides gras** insaturés peut être d' **origine enzymatique** . Les deux enzymes principalement impliquées sont la **lipoxygénase** et la **cyclooxygénase** (**Hultin, 1994**).

La **lipoxygénase** catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique et aboutit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et des phospholipases.

La **cyclooxygénase** est une **lipoxygénase** qui incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras insaturé pour former des hydroperoxydes spécifiques (**Eymard, 2003**).

L' **oxydation enzymatique** se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé l'activité enzymatique est ralentie. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0 à 4°C atteintes, cette activité reprend et s'accroît.

A -40 °C, l'oxydation enzymatique des lipides est complètement arrêtée (**Frankel, 1998**).

2-5- Facteurs influençant l'oxydation des lipides

Les facteurs qui influencent ou initient l'oxydation des lipides au cours des procédés de transformation et de conservation des aliments sont nombreux. Il s'agit de facteurs intrinsèques, tels que la composition en acides gras des lipides (nombre et position des insaturations), la présence de pro-oxydants (ions métalliques, enzymes, etc.) ou d'antioxydants naturels (tocophérols, caroténoïdes, etc.) et des facteurs externes, tels que la température, la lumière, la pression partielle en oxygène, l'activité de l'eau, les conditions de stockage et de transformation.

2-5-1- Facteurs endogènes

Les facteurs endogènes corrélés à une augmentation du risque oxydatif sont ceux qui caractérisent la nature et/ou la qualité du corps gras tels que le taux d'insaturation, les traces de photosensibilisateurs ainsi que l'absence d'antioxydants naturels. La qualité du corps gras est également garante de la maîtrise du risque oxydatif donc la sélection d'un corps gras dépourvu de peroxydes (indice de peroxyde faible), dépourvu d'acides gras libres (acidité oléique faible), ne comportant pas de traces de métaux pro-oxydants, contribuera à améliorer la stabilité à l'oxydation de la formule (**Judde, 2004**).

- Initiation par les formes activées de l'oxygène

L'oxygène moléculaire est dans son état fondamental, à l'état triplet. Il ne peut réagir directement avec les lipides car la barrière de spin est trop élevée. La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes (**Eymard, 2003**).

Le premier correspond aux voies de l'auto-oxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs comme les ions des métaux de transition, et les formes activées de l'oxygène comme le radical hydroxyle. Le radical hydroxyle est très réactif, il peut arracher un hydrogène et former ainsi un radical alkyle qui va initier la peroxydation lipidique.

Le second mécanisme est la formation d'oxygène singulet capable de réagir directement avec les chaînes grasses. C'est ce qui se produit généralement lors de la photo oxydation.

Le troisième est lié à l'intervention d'enzymes permettant une fixation directe de l'oxygène moléculaire.

- Initiation par les métaux

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération des radicaux libres de l'oxygène, ils sont les premiers activateurs des molécules d'oxygène (**Love, 1980**). Au

sein des tissus biologiques, les principaux métaux de transition présents sont le **fer** et le **cuivre**. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques.

La voie non enzymatique intervient en présence d'agent réducteur tel que les superoxydes, l'ascorbate et la cystéine (**Kanner et al. , 1987**).

En présence des métaux de transition, les hydroperoxydes produits par les enzymes, seraient décomposés pour former des composés volatils responsables des mauvaises odeurs.

L'initiation de l'oxydation lipidique par les métaux peut se faire par transfert d'électron ou formation de complexe de transition ou de complexe avec peroxyde d'hydrogène qui catalysent l'auto - oxydation et la décomposition par les réactions redox (**Frankel, 1998**).

2-5-2- Facteurs exogènes

Il s'agit principalement de facteurs environnementaux :

- température ;
- pH ;
- activité de l'eau ;
- pression partielle en oxygène.

2-6- Conséquences de l'oxydation

Les principaux **problèmes posés par l'oxydation des lipides** résident dans la perte de la valeur marchande du produit. D'après **Rossignol – Castera (2006)**, celle-ci est due à :

- La dégradation des propriétés biochimiques par la formation de radicaux libres, d'hydroperoxydes, de composés furaniques et surtout d'aldéhydes saturés et insaturés, qui en présence d'ammoniac, d'amines ou d'acides aminés soufrés, peuvent être à l'origine de nouveaux composés d'arômes, dont des hétérocycles ;
- La dégradation des propriétés organoleptiques par la formation de composés volatils d'odeur désagréable et le rancissement du produit qui influe sur son acceptabilité par le consommateur ;
- La perte de la valeur nutritionnelle, la disparition des vitamines A, E et C, et l'oxydation des acides aminés de l'aliment ;
- La perte de l'appétence du produit (Feed & pet-food) et la modification de l'aspect du produit (couleur / pigments, texture).

Conséquences des peroxydations lipidiques

Les hydroperoxydes instables en se décomposant vont donner de nouveaux radicaux libres provoquant l'oxydation des biomolécules, mais aussi des aldéhydes réactifs qui feront des adduits sur les groupements NH₂ des biomolécules (acides nucléiques, protéines, lipides).

L'oxydation des protéines au niveau de leurs fonctions thiols altère leurs structures et leurs fonctions (perte d'activité des enzymes et des récepteurs), toutes les structures de la cellule seront ainsi touchées et particulièrement les membranes (membranes plasmique, mitochondriale et lysosomale) (**Cillard, Cillard, 2006**).

Des composés toxiques (peroxydes, époxydes, aldéhyde mutagènes) s'accumuleront enfin dans les aliments.

La toxicité de ces composés est débattue. Il existe au niveau de la barrière intestinale des systèmes de détoxification. Une glutathion peroxydase spécifique de l'intestin a été identifiée. Elle réduit les hydroperoxydes en dérivés hydroxylés correspondants non toxiques (Florians, Wingler, Schmehl, et al., 2001).

2-7- Prévention contre l'oxydation

Il existe au niveau des tissus vivants, des mécanismes naturels de contrôle de l'oxydation afin de prévenir la destruction oxydative des lipides membranaires, des protéines et des acides nucléiques. Ainsi, il existe une régulation des systèmes **pro-oxydants** et **antioxydants** qui permettent de maintenir la balance entre les facteurs impliqués dans les **réactions d'oxydation**. La régulation des facteurs pro- et antioxydants est perturbée à la mort des cellules animales ou végétales et durant les processus de transformation et de stockage des aliments, ce qui favorise le développement des réactions d'oxydation. Les antioxydants vont par conséquent jouer un rôle important dans la prévention et la propagation des dommages oxydatifs (Cillard, Cillard, 2006).

2-8- Le contrôle ou l'inhibition de l'oxydation des lipides

Le **contrôle ou l'inhibition de l'oxydation des lipides** est basé sur la maîtrise des paramètres suivant : température, pH, activité de l'eau et concentration en oxygène.

L'action sur plusieurs paramètres en même temps permet d'augmenter ou de réduire davantage la vitesse de l'oxydation.

L'utilisation des **antioxydants** (tocophérols, polyphénols, flavonoïdes, vitamine E, vitamine C, etc.) est souvent la méthode la plus courante en industries agroalimentaires pour **inhiber l'oxydation des lipides**. Les **antioxydants** utilisés sont soit des **agents de prévention** qui bloquent la **phase d'initiation** en réagissant avec les **initiateurs** de la réaction (O₂, lumière, métaux, etc.), soit des **agents de terminaison** qui bloquent la poursuite de la **phase de propagation** en réagissant avec les **radicaux libres** et en les transformant en composés stables (El Atyqy, 2007).

3- Les antioxygènes ou antioxydants

3-1- Définition

Les antioxydants sont des substances utilisées pour lutter contre la dégradation oxydative des aliments par l'oxygène de l'air. Ils protègent essentiellement les constituants de nature lipidique comportant des acides gras insaturés durant le stockage.

Les antioxydants agissent à la manière d'un catalyseur négatif capable d'interrompre la réaction en chaîne d'oxydation et empêchant la formation de radicaux libres (Pascal, Martel, 1992).

3-2- Motifs nécessitant la protection contre l'oxydation

La protection contre l'oxydation des graisses, huiles et produits alimentaires renfermant des lipides, est souvent nécessaire. En effet la dégradation oxydative des constituants de nature lipidique de nos aliments présente des inconvénients à la fois aux plans organoleptique, nutritionnel et hygiénique.

Cette dégradation oxydative, phénomène chimique complexe, conduit à ce que l'on baptise couramment « **le rancissement** » dont les répercussions économiques peuvent être importantes, puisqu'il aboutit souvent à la perte de denrées alimentaires devenues souvent inconsommables en raison de l'altération de leurs propriétés organoleptiques. Aussi, au plan sécurité alimentaire, il apparaît que les produits résultant de la simple oxydation des matières grasses (produits volatils, peroxydes, acides « oxydés ») ou de l'oxydation jointe à la dégradation thermique au cours de leur chauffage (monomères cycliques, polymères) ne seraient pas dépourvus de toxicité.

La lutte contre l'oxydation des denrées alimentaires au cours de leur transformation technologique, du stockage et de la distribution, s'impose donc. Parmi les diverses solutions technologiques possibles, l'addition d'agents antioxygènes est pratiquée depuis fort longtemps. Au début empirique, cette opération fait aujourd'hui appel à de nombreux composés naturels ou de synthèse dont le mécanisme d'action a été largement étudié. Il est cependant primordial, pour l'hygiéniste, de veiller à ce que l'utilisation d'agents antioxygènes dans nos aliments ne fasse courir au consommateur aucun risque important d'ordre toxicologique (**Pascal, Martel, 1992**).

3-3- Mécanisme d'action

L'action des antioxygènes se situe, pour la plupart d'entre eux, au niveau de l'étape de terminaison du processus d'auto-oxydation (phénomène qui se développe spontanément dans des conditions relativement douces et qui conduit au rancissement, à la réversion, et à divers types d'odeurs ou de saveurs désagréables). Par ailleurs, certaines substances permettent de limiter l'initiation de l'auto-oxydation (**Multon, 1992**).

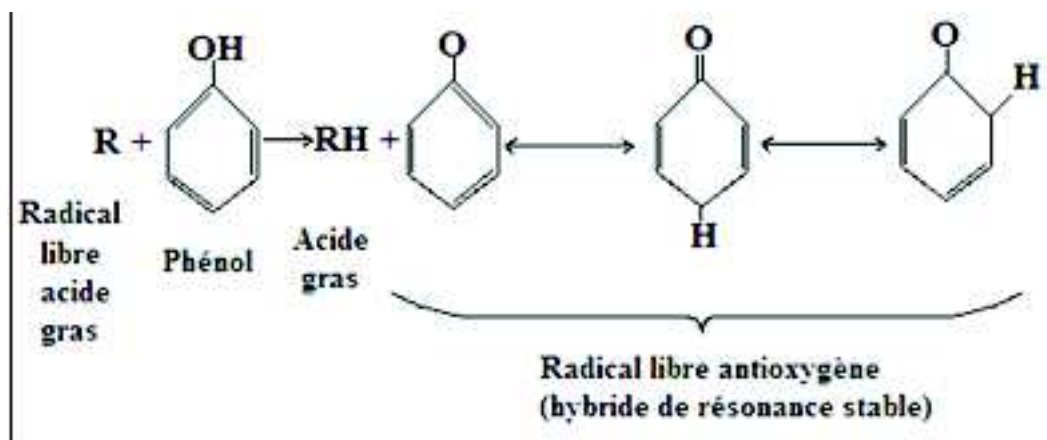


Figure 16 : Formation d'un radical libre antioxygène

D'une façon générale, l'antioxygène phénolique (AH) bloque la propagation de la réaction en chaîne par sa capacité à réagir avec différents types de radicaux :



Le radical antioxygène formé (A^{\bullet}), stabilisé par résonance, confère à l'antioxygène phénolique son efficacité (**Multon, 1992**).

Suivant leurs mécanismes d'action les antioxydants peuvent être classés en trois types :

- **Les antioxydants de type I** : l'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents (**Belaiche, 1979**).
- **Les antioxydants de type II** : Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants (**Roeding-Penman et Gordon, 1998**) ;
- **Les antioxydants de type III** : Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière. L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (**Frankel, 1998**).

3-4- Les différents types d'antioxydants

Les antioxydants fréquemment rencontrés ainsi que leurs caractéristiques sont illustrés dans le tableau ci-suivant.

Code CEE	Nature	Principales autorisations
E 300 à E 304 : acide ascorbique et dérivés		
E 300	Acide ascorbique (vitamine C)	Viandes en conserves, surgelés, charcuteries, salaisons, produits de la pêche, fruits et légumes en conserve, sauces, boissons, confitures, pommes de terre déshydratées...
E 301	Ascorbate de Na	
E 302	Ascorbate de Ca	
E 303	Diacétate d'ascorbyle	
E 304	Palmitate d'ascorbyle	
E 306 à E 309 : tocophérols		
E 306	Extraits naturels de tocophérols	Matières grasses, margarines, gommes à mâcher, produits diététiques
E 307*	Alpha-tocophérol de synthèse	
E 308*	Gamma-tocophérol de synthèse	
E 309*	Delta-tocophérol de synthèse	
E 311 à E 312 : gallates		
E 311	Gallate d'octyle	Huiles et graisses destinées à l'industrie, gommes à mâcher, potages en sachets
E 312	Gallate de dodécyle	
E 320	BHA (Butyl-Hydroxy-Anisol)	Corps gras destinés à l'industrie, gommes à mâcher, flocons
E 321	BHT (Butyl-Hydroxy-Toluène)	Flocons de pomme de terre déshydratés
E 322	Lécithines (produits naturels extraits du soja et du jaune d'œuf)	Chocolat, lait en poudre, margarine
E 326 à E 327 : lactates		
E 326	Lactate de K	Fromages fondus Confiseries
E 327	Lactate de Ca	
E 330 à E 333 : acide citrique et dérivés		
E 330	Acide citrique	Confitures, gelées, sirops, crevettes, fromages, pain de seigle, laits pour enfant, moutarde, pruneaux, confiseries, boissons gazeuses
E 331	Citrate de Na	
E 332	Citrate de K	
E 333	Citrate de Ca	
E 334 à E 337 : acide tartrique et dérivés		
E 334	Acide tartrique	Fromages fondus, moutarde, confiseries, confitures, gelées, sirop
E 335	Tartrate de Na	
E 336	Tartrate de K	
E 337	Tartrate double de Na et K	

* Additifs interdits en France.

Tableau 5 : Les antioxygènes autorisés par la CEE (SCÉRÉN – CNDP, 2001)

3-4-1- Les antioxydants endogènes

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

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

- La superoxyde dismutase (SOD) qui diminue la durée de vie de l'anion superoxyde O_2^- ;
- La catalase qui transforme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en une simple molécule d'eau ;
- La glutathion peroxydase (GPx) qui détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques ;
- Les molécules piégeant le glutathion (GSH), l'acide urique, les protéines à groupement thiols, l'ubiquinone, etc.

- **Un système de défense secondaire composé d'enzymes protéolytiques, de phospholipases, d'ADN endonucleases, de ligases et de macroxyprotéinases** (Pincemail et al., 1998).

La stabilité des enzymes participant à la neutralisation excédentaire en radicaux libres en présence de lipides est difficile à prédire c'est pour cela que leur utilisation n'est pas autorisée dans l'UE (union Européenne), on estime que des recherches sont nécessaires dans ce domaine.

3-4-2- Les antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo*. Celle-ci incluent la vitamine E, la vitamine C, le gallate d'épigallocatechine, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles, l'albumine, l'acide urique, les oestrogènes, les polyamines, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles peuvent également lier les acides gras libres (**Svoboda et Hampson, 1999**).

- La **vitamine E** est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement (**Maydani (1), 2000**) et la diminution de l'athérosclérose (**Maydani (2), 2000**). La **vitamine E** joue un rôle important dans l'agrégation de la β -amuloïde ($A\beta$), d'ailleurs, les données cliniques ont prouvé que les patients atteints de la maladie d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la **vitamine E** (**Pieroni et al., 2002**). Il a été déterminé que la **vitamine E naturelle**, semble être deux fois plus biodisponible que la **vitamine E synthétique** (**Burton et al., 1998**). La **vitamine E** est rencontrée surtout dans les huiles végétales, les noix et les germes de diverses graines (**Vansant, 2004**).
- **La vitamine C** est largement répandue dans les fruits (**Vansant, 2004**), c'est un puissant agent antioxydant, hydrosoluble, elle régénère le tocophérol (prévention de la cataracte) et elle a un effet antioxydant dans le tube digestif empêchant l'oxydation des nitrates en nitrites et en nitrosamides (agents cancérigènes).

Des études en laboratoire présentées à une réunion de l'American Chemical Society en septembre 1997 ont démontré que le **gallate d'épigallocatechine** était **100** fois plus efficace que la **vitamine C** et **25** fois plus efficace que la **vitamine E** pour neutraliser les radicaux libres. La recherche semble indiquer que cette puissance antioxydante pourrait jouer un rôle dans le maintien de l'immunité humaine. Dans le cadre d'études menées sur des animaux au Japon au début des années 1990, des chercheurs ont constaté que les polyphénols du thé vert augmentent l'activité des macrophages, des lymphocytes B, des lymphocytes T et des cellules tueuses naturelles. Toutes ces cellules sont des globules blancs (**Hegarty et al., 2000**).

Les caroténoïdes sont une classe de composés phytochimiques très importante, trouvés dans les légumes, les fruits, et le lait. Elles empêchent les dommages génétiques, protègent contre les dommages oxydants en augmentant le métabolisme de désintoxication, en empêchant l'expression des oncogènes, et en augmentant l'activité de communication des gap junctions.

Les exemples de caroténoïdes, incluent l'alpha carotène, bêta carotène, lycopène, phytofluène, phytoène, lutéine, neoxanthine, viloxanthine, anthéranthine, alpha cryptoxanthine et bêta cryptoxanthine. Leur structure polyène leur permet d'absorber la lumière et de neutraliser l'oxygène singulet. Cette chaîne polyène, par mécanisme d'addition, permet l'incorporation des espèces réactives ou radicaux libres et de ce fait ralentir leur propagation. Les caroténoïdes sont impliqués dans la prévention de nombreux types de cancer ; cancer de la prostate ; cancer du poumon (**Hale, 2003**).

Les composés phénoliques extraits de plantes sont des produits extraits de plantes et en particulier d'épices : romarin, cumin, thym, origan, clou de girofle, sauge (Chevolleau, 1990 ; Vardar-Unlu et *al.*, 2003 ; Skerget et *al.*, 2005 ; Lee et *al.*, 2005 ; Küçük et *al.*, 2007). Les molécules actives sont soit des flavonoïdes (quercétine, myricétine, etc.), soit des dérivés de l'acide benzoïque (acide vanillique, acide syringique, etc.), soit des dérivés de l'acide cinnamique (acide caféique, acide rosmarinique...) ou des composés phénoliques (thymol, carvacrol) (Das, Pereira, 1990 ; Chevolleau, 1990 ; Pokorny, 1991 ; Schwarz et Ternes, 1992 ; Crapiste et *al.*, 1999 ; Tepe et *al.*, 2006).

La prise de **composés phénoliques** a été largement rapportée pour protéger contre le développement de maladies coronariennes. De nombreuses preuves montrent que les composés phénoliques peuvent prévenir l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (**Meyer et al. , 1997**).

Les flavanols (catéchine, flavan-3-ols), un groupe important de polyphénols de thé, existent en grande partie sous forme d'esters de gallate, et sont considérés par beaucoup comme responsables des effets anticarcinogénique du thé vert (**Basu et al., 1999**).

Serafini et al. (2000) ont trouvé qu'à la fois le thé noir et le thé vert étaient capables d'inhiber l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL), **Mcanlis et al. (1998)** ont échoué à trouver un effet significatif.

Ohran et al. (1999) ont examiné plusieurs composés naturels et synthétiques sur des cataractes induites par du sélénite chez le rat, et ont montré que du dicloferae (60 %), de la vitamine C (58 %) et de la quercétine (40 %) sont protecteurs.

Il semble que la capacité antioxydante d'un flavonoïde dépend de son affinité pour les radicaux libres et donc de sa structure (**Bruneton, 1993**).

Certaines huiles essentielles volatiles et leurs composants sont cytostatiques aux lignées de cellules de tumeur et peuvent offrir le potentiel comme agents antiprolifératifs. L'examen des huiles volatiles de *Pelargonium sp.*, *Monarda citriodora var. citriodora*, *Myristica fragrans*, *Origanum vulgare ssp. Hirtum* et *Thymus vulgaris* pour leur effet antioxydant en utilisant le test à l'acide thiobarbiturique (TBA) a montré une action hépatoprotéctrice (**Svoboda et Hampson, 1999**).

Des études ont suggéré que des suppléments glyconutritionnels (GN), jouant un rôle au niveau de la communication cellulaire et de la fonction immunitaire, ont des propriétés antioxydantes à la fois in vitro et in vivo. Des cellules de foie de rat, cultivées dans un milieu de culture contenant des suppléments GN, ont permis de mettre en évidence des niveaux plus élevés de glutathion réduit que dans des cellules témoins, démontrant ainsi une protection antioxydante accrue (**Boyd et al. , 2003**).

3-4-3- Les antioxydants de synthèse

Les principaux antioxydants de synthèse sont : le BHA (butyl-hydroxy-anisole) qui est un mélange de deux isomères ayant des propriétés carcinogènes chez le rat et le hamster ;

Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé)

et le BHT (butyl-hydroxy-toluène ou hydroxytoluène butylated) doté d'une structure voisine de celle du BHA.

Ces deux antioxydants (BHA, BHT) sont particulièrement utilisés dans la conservation des pommes de terre déshydratées en flocons, des huiles essentielles, matières grasses, margarines, beurres, gommes à mâcher et autres.

On peut citer parmi les autres antioxydants de synthèse : le TBHQ (ter-butylhydroxy-quinone), l'anhydride sulfureux, les sulfites, l'acide érythroborique, l'érythroborate de sodium et le palmitate d'ascorbyle.

3-5- Propriétés des antioxygènes

Les propriétés des antioxygènes sont décrites dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Propriétés des antioxygènes (Multon, 1992)

Nature	Solubilité	Stabilité à la chaleur	Remarques	Exemples d'applications
Tocophéroles	liposolubles	Dégradés par la chaleur	Présents naturellement dans les huiles végétales	- Matières grasses et aliments diététiques
Acide ascorbique	Hydrosoluble	-	-	- Boissons
Palmitate d'ascorbyle	Peu liposoluble amélioré en présence de monoglycérides	-	-	-
BHA	Très soluble dans huiles et graisses	Très bonne stabilité	Action « carry-through » synergie avec BHT et gallates	- Huiles pour friture, produits transformés
BHT	Bonne solubilité dans huiles et graisses	Bonne stabilité	Plus volatile que BHA	Efficace dans les graisses
Gallates	Solubles dans huiles et graisses	Thermo-sensibles	Formation de complexes colorés avec le fer en présence d'eau	Stabilisation des huiles
TBHQ	Très soluble dans les huiles	Thermostable	Peu volatile, mais sensible au pH	Stabilisation des huiles

4- Mesure du degré d'oxydation et du pouvoir antioxydant

La détermination de l'état d'oxydation des lipides pendant un temps donné permet d'évaluer l'efficacité d'un antioxygène ajouté dans le milieu. Selon **Gray (1978)**, il n'y a pas de méthode idéale, bien corrélée aux changements organoleptiques se produisant au cours des réactions d'oxydation (**Berset et Cuvelier, 1996**).

On peut classer les tests de mesure de l'activité antioxydante dans les aliments et les systèmes biologiques dans deux groupes :

- Ceux utilisés dans l'évaluation de la peroxydation des lipides et dans lesquels le substrat utilisé est un lipide ou une lipoprotéine sous des conditions standard et où l'inhibition de l'oxydation est mesurée (**Sanchez-Moreno, 2002**) ;
- Ceux utilisés dans la mesure du pouvoir de piégeage des radicaux libres (Scavenging of free radicals). On rencontre parfois aussi, des tests de mesure des pouvoirs chélateur et réducteur de métaux qui sont des initiateurs de l'oxydation lipidique.

4-1- Mesure de l'oxydation des lipides

Lors des études de cinétique d'oxydation des lipides, l'état d'avancement de la réaction peut être évalué par la mise en évidence de la disparition des substrats de l'oxydation.

Afin de déterminer l'état d'oxydation d'un aliment, il est nécessaire de mesurer simultanément les quantités des produits primaires et secondaires résultant de l'oxydation des lipides. Une grande variété de méthodes est disponible en fonction de l'information, de la précision recherchée et du substrat étudié (**Dobarganes, 2002**).

4-1-1- Analyse des substrats de l'oxydation

L'étude de la consommation d'oxygène permet de suivre les phases d'initiation et de propagation de la réaction. Les méthodes de mesure sont manométriques (mesure de la pression partielle en oxygène), polarographique (mesure de la consommation d'oxygène), chromatographiques ou gravimétriques par mesure de l'augmentation du poids consécutive à la fixation d'oxygène. Ce type d'analyse est employé pour déterminer les cinétiques d'oxydation des lipides en système modèle pour des tests accélérés d'oxydation ou dans le cas de conservation d'échantillons en emballage étanche. Mais il n'est pas utilisé pour déterminer les degrés d'oxydation d'un produit.

La cinétique de disparition d'un ou de plusieurs acides gras peut être étudiée. L'analyse des acides gras est réalisée après extraction des lipides, méthylation des acides gras et chromatographie en phase gazeuse. La difficulté consiste à extraire quantitativement la matière grasse et à minimiser les pertes au niveau des réactions de méthanolyse (**Berset & Cuvelier, 1996**) .

4-1-2- Mesure des acides gras non oxydés résiduels

La mesure des acides gras non oxydés résiduels suit d'une façon générale la cinétique de disparition d'un ou de plusieurs acides gras insaturés présents dans l'aliment, après extraction, méthylation et analyse par chromatographie en phase gazeuse.

4-1-3- Méthodes chromatographiques

Parmi les méthodes chromatographiques on peut citer :

- la chimiluminescence, où l'on mesure les photons produits lors de la transition des électrons de l'état excité à l'état fondamental, au cours de la formation des peroxydes. En présence d'antioxydant, la quantité de lumière détectée est toujours plus faible (**Miyazawa et al. , 1994**) ;
- la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) : elle permet de doser séparément les hydroperoxydes produits (**Koskas et al ., 1983**) ;
- la thermolyse : on analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG), les produits volatils formés par thermodécomposition des hydroperoxydes (**Saidia et Hammond, 1989**).

4-2- Analyse des peroxydes

4-2-1- Mesure du taux de peroxydes

Les hydroperoxydes, produit primaire de l'oxydation, sont des intermédiaires transitoires instables surtout aux températures élevées, ou en présence de métaux.

En réalité, l'indice de peroxyde représente la différence entre la formation et la décomposition des peroxydes (**déterminé selon la méthode AFNOR T60-220**).

Deux méthodes sont classiquement appliquées pour doser les peroxydes :

- méthode iodométrique de **Lea** : dans ce cas on mesure l'iode produit par décomposition de l'iodure de potassium (KI) par les peroxydes (**Lea, 1946; AOCS, 1989**) ;
- méthode colorimétrique où les peroxydes présents dans le milieu oxydent le Fe^{2+} en Fe^{3+} , qui est dosé sous forme de chlorure ou de thiocyanate ferrique (**Mitsuda et al. , 1966**).

Plusieurs tests accélérés de production d'hydroperoxydes dans l'aliment ou dans les matières grasses ont été normalisés tels que :

- le test de Swift ou AOM chauffage à 98 °C sous un courant d'air ;
- le Rancimat : qui consiste à faire buller dans la matière grasse chauffée à haute température, un courant d'air. Le gaz qui sort et qui transporte les produits d'oxydation, en particulier des acides, est recueilli dans un bain d'eau distillée dont on mesure en continu la conductivité.

4-2-2- Détermination des diènes conjugués

Les diènes conjugués absorbent à 232 nm et à 270 nm (**norme AFNOR T60-223**).

4-2-3- Analyse des produits secondaires d'oxydation

Au cours de la décomposition des peroxydes, des composés de nature très diverse apparaissent : aldéhydes, cétones, hydroxy-acides, hydrocarbures, et polymères, hydroperoxydes. Beaucoup de ces produits de scission ont une odeur désagréable. Parmi les méthodes les plus utilisées, on peut citer :

- le dosage des composés aldéhydiques (test à l'acide thiobarbutirique " TBA " avec production de pigments qui absorbent à 530 nm) ;
- la mesure de l'indice de para-anisidine (IpA) – IUPAC 2.504 où les composés aldéhydiques α -insaturés oxydés réagissent avec la p-anisidine pour former un complexe coloré qui absorbe à 350 nm ; ce test est souvent associé à l'indice de peroxyde ;
- et le dosage des composés volatils :
 - hydrocarbures pentane, hexane, éthane, etc. ;
 - aldéhydes pentanal, hexanal ;
 - cétones 1,5 octadiène 3-one.

4-3- Mesure du pouvoir de piégeage des radicaux libres

On peut éviter d'avoir à oxyder le substrat sur lequel on veut tester l'efficacité d'un antioxydant en choisissant de réduire un radical stable. C'est le cas du radical DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) qui a pour formule :

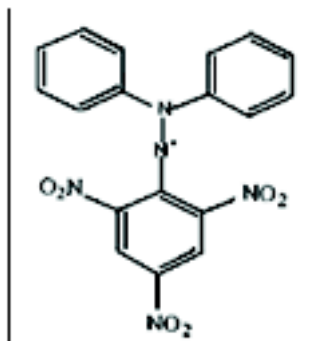


Figure 17 : Formule du DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Ce DPPH[•] peut fixer un H[•] arraché à l'antioxydant AH. Il perd alors son absorbance à 517 nm. L'avantage de ce test est d'être rapide et de ne nécessiter aucune condition drastique puisqu'il a lieu dans la cuve du spectrophotomètre en milieu méthanolique sans oxygénation. C'est le test le plus répandu et le plus utilisé de nos jours. **Nous avons choisi de l'utiliser dans notre présente étude.**

D'autres tests mettant en jeu d'autres radicaux stables sont disponibles dans la littérature.

4-4- Mesure du pouvoir réducteur

Les principaux métaux de transition présents au sein des tissus biologiques sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques, ils possèdent des capacités privilégiées d'interaction avec l'oxygène soit pour le lier soit pour lui échanger des électrons. Il n'est donc pas surprenant de voir les métaux traces avoir une place particulière dans les mécanismes impliquant les radicaux libres de l'oxygène. Dans notre cas nous avons choisi la méthode **Oyaizu (1986)** dans le but d'étudier la capacité des huiles essentielles et de certains antioxydants de synthèse à réduire le fer ferrique.

4-5- Mesure du pouvoir chélateur

La capacité chélatrice est très importante du fait qu'elle réduit la concentration de métaux de transitions catalyseurs de la peroxydation lipidique. En effet, le fer peut stimuler l'oxydation des lipides par la réaction de Fenton, et accélère également cette oxydation en décomposant les hydroperoxydes en radicaux peroxydes et alcoxydes qui peuvent à leur tour entretenir la réaction en chaîne (**Elmastaş et al, 2006**). Il a été rapporté que les agents chélateurs qui forment une liaison de type σ avec les métaux sont actifs comme antioxydants secondaires car ils réduisent le potentiel redox et stabilisent la forme oxydée de l'ion métallique (**Suresh-Kumar et al, 2008**). Selon la littérature, les composés phénoliques s'avèrent comme de bons chélateurs des ions métalliques (**Morris, 1995 ; Brown, 1998**).

Dans notre cas nous avons choisi la méthode de **Carter (1971)** dans le but d'étudier la capacité chélatrice des extraits étudiés et de certains antioxydants de synthèse.

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1- Matériel végétal

1-1- Espèces étudiées

Le matériel végétal (**Tableau 7**) est constitué de plantes de différentes espèces et de différentes origines.

Tableau 7 : Plantes étudiées

Plante	Espèce	Provenance
Fenouil annuel	<i>Ammi visnaga</i> Lamk.	Tessala El-Merdja (Blida)
Thé mexicain	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Arbatache (Boumerdes)
Thym	<i>Thymus pallescens</i> de Noé	Kadiria (Bouira)

Les huiles essentielles et les extraits non volatils étudiés ont été extraits à partir des parties aériennes constituées par les feuilles et les fleurs.

1-2- Authentification des espèces

L'authentification des espèces a été réalisée par comparaison de nos échantillons par rapport aux spécimens existants à l'herbier de l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique) et confirmation de l'authenticité de chaque espèce par les professeurs d'écologie végétale du département de botanique de l'ENSA.

2- Description des espèces étudiées

2-1- Le thym (*Thymus pallescens* de Noé)

La description donnée par **Quezel et Santa (1963)** et par **Morales (2002)**, nous donne ci-dessous les principales caractéristiques :

C'est un petit arbuste de **36** cm de longueur en moyenne, portant des tiges dressées et robustes. Les feuilles (**10 - 17 × 3 - 6** mm) sont oblongues, lancéolées, glabres et rarement hispides (**Figure 18**).

L'inflorescence est plus ou moins interrompue à la base. Le calice est à **5** dents toutes longuement subulées, bien plus longues que le tube, à lèvre supérieure divisée dans son tiers supérieur.



Figure 18 : *Thymus pallescens* de Noé

Les fleurs sont blanches à peine plus longues que le calice. La période de floraison s'étale du mois d'avril au mois de juillet.

Thymus pallescens de Noé est une espèce endémique en Algérie, elle pousse généralement entre **450** et **750** mètres d'altitude.

2-2- Le thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.)

C'est une plante herbacée annuelle ou pérenne dotée d'une tige dressée et ramifiée depuis sa base (**voir figure 19**). Pouvant atteindre **1,20** m de hauteur, elle est irrégulièrement ramifiée, parsemée de poils fins et courts ou presque glabres et présentant un polymorphisme foliaire important.

Elle a plusieurs branches et possède des tiges rougeâtres multi branchées, couvertes de petites feuilles fortement dentées, oblongues et lancéolées jusqu'à **12** cm de long. Ses rameaux se distribuent de façon régulière et diminuent de taille vers l'extrémité de la plante, ce qui donne un port pyramidal. Sa tige est cylindrique, pleine, finement pubescente et à poils vésiculeux blancs. Elle est parcourue de stries de couleur verte et peut présenter une pigmentation pourpre.

A l'aisselle de ses feuilles larges (**voir figure 20**), simples, alternes, courtement pétiolées, odorantes, dotées d'une face supérieure glabre et d'une face inférieure parsemée de petites glandes, ovales (jusqu'à **4** cm de long et **1** cm de large) ou elliptiques et fortement dentées se dressent des panicules de fleurs.

Son limbe est étroitement ovale ou elliptique, aigu au sommet, atténué en coin et aigu à la base. Il est long de **2,5** à **14** cm et large de **1,5** à **3,5** cm.

Les fleurs sont petites, parfumées, jaunâtres et vertes de **0,5** à **1,5** mm de diamètre, elles sont groupées par **4** ou **5** pour former de petits glomérules sessiles.



Figure 19 : *Chenopodium ambrosioides* L.



Figure 20 : Feuille de *Chenopodium ambrosioides* L.

2-3- Le fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.)

C'est un petit arbuste herbacé annuel ou bisannuel à tige élevée (80 à 200 cm), robuste, vert, ramifié, glabre, couvert de feuilles et à racine pivotante. *Ammi visnaga* Lamk. (voir **figure 21**) est reconnue par son inflorescence en ombelle (Franchomme, Pénéol, 2001).



Figure 21 : *Ammi visnaga* Lamk.

Ses feuilles sont petites, bi ou tri-pennatiséquées, à segments linéaires, canaliculées, non cartilagineuses aux bords, jaunes groupées et découpées en molles et en minces lanières. (Lazouni et al., 2005).

Ses fleurs sont petites, nombreuses et blanches (Figure 22). Leur involucre comporte des folioles divisées en lanières linéaires et filiformes, elles sont rassemblées en ombelles composées de très nombreux rayons inégaux (plus de 60), épaissis et connivents après la floraison (Bock, 2011).



Figure 22 : Fleur d'*Ammi visnaga* Lamk. (G×8)

Ammi visnaga Lamk. dégage un parfum puissant et produit un nectar abondant attirant de nombreux insectes. Ses fruits sont oblongues à ovoïdes. Ils atteignent une largeur de 1,7 mm et une longueur de 2,5 mm au moment de la maturation (Julve, 1998).

À maturité, les ombelles d'*Ammi visnaga* s'insèrent sur un réceptacle dilaté en disque (Figure 23). Les bractées sont laciniées, longues et très denses, elles sont composées de très nombreux rayons. La floraison de cette plante est très longue puisqu'elle s'étale de l'été à l'automne.



Figure 23 : Ombelle d'*Ammi visnaga* Lamk. à l'état mûr

3- Localisation des sites producteurs des huiles essentielles

3-1- Elaboration des coupes anatomiques

Pour mieux définir la localisation des sites producteurs des huiles essentielles des parties aériennes des espèces étudiées, il est nécessaire d'observer la structure anatomique des organes végétaux (tige, feuille).

Mode opératoire

Plusieurs coupes transversales ont été réalisées au niveau des feuilles fraîches et de la tige supérieure des espèces étudiées (thym, fenouil annuel, thé mexicain).

Ces coupes ont été préparées au niveau du laboratoire du département de Botanique de l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach) à l'aide d'une moelle de sureau à main levée dans le but d'avoir des coupes transversales très fines.

Elles ont été ensuite trempées dans différents bains :

- **Bain n°1** solution aqueuse d'hypochlorite et de chlorure de sodium à 12 degrés pendant 15 à 20 minutes dans le but de vider les cellules de leur contenu.
- **Bain n°2** Eau distillée pendant 5 minutes afin de se débarrasser de la solution aqueuse d'hypochlorite et de chlorure de sodium.
- **Bain n°3** Acide acétique à 5 % pendant 5 minutes dans le but de préparer les coupes à la coloration.
- **Bain n°4** Eau distillée pendant 5 minutes afin de stopper l'effet de l'acide acétique.
- **Bain n°5** Coloration pendant 1 minute au *carmino-vert* donnant un aspect rose aux parois celluloses et une coloration verte aux parties lignifiées.
- **Bain n°6** Eau distillée.

Préparation du carmino-vert :

- Pour 120 ml d'eau distillée, on utilise :

- 4 g d'alun de potasse ;
- 2 g de carmin.
- Dissoudre l'alun de potasse à chaud ;
- Dissoudre le carmin à chaud jusqu'à saturation :
 - faire bouillir pendant **30** min ;
 - agiter pendant **30** min ;
 - filtrer à froid (environ **12** heures).
- Mélanger les deux solutions pour obtenir du **carmin aluné**

Obtention du carmino-vert :

- Mélanger **1** volume d'une solution de vert iode à **1** % avec **10** volumes de carmin aluné ;
- Ajouter **1** ml d'acide phénique ou d'acide acétique à **10** %. Maintenir à l'abri de la lumière.

Un montage des coupes dans une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle est observé immédiatement au microscope photonique doté d'un appareil photo de marque Aus Jena Jenalumar.

Plusieurs coupes ont été observées et les plus intéressantes ont été photographiées à l'aide d'un microscope photonique.

4- Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par une seule méthode retenue par la pharmacopée Européenne, à savoir : l'hydrodistillation à partir de la matière sèche des plantes étudiées, au laboratoire de chimie de l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach) par le biais d'un appareil de type **Clevenger** modifié.

4-1- Protocole expérimental

Pour chaque extraction, une prise d'essai d'environ **100** g des parties aériennes (feuilles + sommités fleuries pour le thé mexicain et le thym et ombelles seulement pour le fenouil annuel) sont introduites dans un ballon de **2** litres rempli d'eau jusqu'aux **2/3** de sa capacité. Ce dernier est ensuite mis à ébullition pendant **3** heures.

Le ballon chauffé à l'aide d'une calotte chauffante produit de la vapeur qui se charge de produits volatils qu'elle entraîne avec elle. Cette vapeur se condense au contact du réfrigérant.

4-2- Récupération, séchage et conservation des huiles essentielles

Le condensât est recueilli dans une ampoule à décanter où l'on sépare par différence de densité la phase aqueuse de la phase organique (phase supérieure) qui constitue l'huile essentielle.

L'huile essentielle ainsi séparée de la phase aqueuse, contient des traces d'eau. Afin de les éliminer, l'huile essentielle sera séchée avec du sulfate de sodium anhydre. L'huile séchée est séparée du sulfate de sodium par filtration sur de la laine de verre.

L'huile est ensuite conservée à une température de **4 à 6 °C** dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement en vue de son analyse.

5- Elaboration des extraits éthanoliques

5-1- Principe

Les extraits éthanoliques ont été obtenus en utilisant une extraction solide-liquide, par Soxhlet, réalisée au laboratoire de chimie de l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach).

5-2- Mode opératoire

Les feuilles, fleurs et les tiges des échantillons étudiées ont été broyées et réduites en poudre fine. **20 g** de la poudre obtenue ont été placées dans une cartouche et soumises à une extraction avec **100 ml** d'éthanol à **99 %**. L'extraction est répétée jusqu'à ce que le solvant récupéré devienne incolore.

Après environ **6 heures** d'extraction, le solvant riche en substances extraites, a été récupéré dans un ballon et évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor).

L'extrait ainsi récupéré a été placé dans un dessiccateur, pesé et conservé à **4 - 6 °C** jusqu'à son utilisation.

Le taux d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Le taux de matière extraite (\%)} = [(P1 - P0) / E] \times 100$$

P0 : poids du ballon vide (g).

P1 : poids du ballon après évaporation du solvant (g).

E : poids de l'échantillon (poudre) (g).

6- Chauffage des échantillons de thym

Nous avons procédé, au laboratoire de chimie de l'ENSA (Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach) au chauffage de l'huile essentielle de *Thymus pallescens*. Trois échantillons de 500 µL d'huile ont été chauffés dans des tubes à essais munis de bouchons à vis pendant **3 heures** à différentes températures : **100, 150 et 190 °C (Tableau 8)**. Par la suite, ces trois échantillons ont été comparés avec un quatrième laissé à température ambiante (**25 °C**).

Tableau 8 : Huile essentielle de thym sans chauffage et chauffée à différentes températures

Echantillon de Thymus pallescens	Température (°C)	Durée de chauffage (Heure)
TP sc	25	-
TP 100 °C	100	3
TP 150 °C	150	3
TP 190 °C	190	3

*TP : *Thymus pallescens* ; * SC : sans chauffage

Le chauffage des huiles essentielles est assuré par une huile alimentaire qui elle-même est chauffée par une plaque chauffante à température réglable.

7- Caractérisation des huiles essentielles

La caractérisation d'une huile essentielle consiste à :

- apprécier ses caractéristiques organoleptiques ;
- déterminer ses indices physiques (densité et indice de réfraction) ;
- obtenir son profil chromatographique ainsi qu'une quantification relative de ses différents constituants.

7-1- Propriétés organoleptiques

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles nécessite l'utilisation de nos sens afin d'évaluer l'aspect, l'odeur, la couleur ainsi que la saveur de ces dernières.

7-2- Caractéristiques physico-chimiques

Indices physiques

Ce sont ceux indiqués par le recueil des normes de l'association Française de normalisation (AFNOR).

- Densité relatives à 20 °C Norme NF T 75 – 111

Elle est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20 °C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à la même température. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est

- Indice de réfraction à 20 °C Norme NF T-112

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un appareil du type **Bellingham**. Lorsque celles-ci sont effectuées à une température T (°C) différente de 20 °C, on effectue alors la correction à 20 °C par le biais de la formule suivante :

$$n_D^{20} = n_D^T + 0,0004 (T - 20)$$

n_D^T : est la valeur de la lecture obtenue à la température T (°C).

7-3- Analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles par CPG et CG /SM

7-3-1- Analyse qualitative des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Principe :

L'analyse qualitative par CPG des échantillons d'huiles essentielles a été effectuée au laboratoire d'analyse instrumentale du département de Technologie Alimentaire de l'ENSA

(Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach) selon les conditions opératoires ci-dessous.

- Appareil de type CP Chrompack 9002.
- Colonne capillaire Stabilwax de phase stationnaire polyéthylenglycol (PEG) d'une longueur de **30 m** ; d'un diamètre interne de **0,320 mm** et d'une épaisseur du film de la phase de **0,25 µm**.
- Programmation de la température de **50 °C** en isotherme pendant **3 minutes** puis augmentation de la température à raison de **2 °C/min** jusqu'à **220 °C**, maintenu en isotherme pendant **15 min**.
- Mode d'injection split avec un rapport de division de **1/50**.
- Température de l'injecteur et du détecteur (FID) de **250** et **280 °C** respectivement.
- Pression : **30 K Pascal**.
- Gaz vecteur : Azote.
- Débit du gaz vecteur : **1 ml/min**.
- Volume injecté : **0.2 µL**.

Mode d'identification

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs indices de rétention (indice de Kovats) en programmation de température à ceux cités par la littérature ainsi qu'à ceux d'étalons injectés dans les mêmes conditions (**Adams R. P., 1995**). Pour le calcul de ces indices, un mélange d'alcane ($C_6 - C_{24}$) est injecté dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon.

Les indices de Kovats (**IK**) sont calculés selon la formule suivante :

$$IK = 100z + 100n \cdot \frac{t_{Rc} - t_{Rz}}{t_{Rz+n} - t_{Rz}}$$

t_{Rc} : temps de rétention du composé étudié (min) ;

t_{Rz} : temps de rétention de l'alcane à **z** atomes de carbone qui précède le composé étudié (min) ;

t_{Rz+n} : temps de rétention de l'alcane à **z+n** atomes de carbone qui suit le composé (min) ;

n: différence des nombres d'atomes de carbone.

7-3-2- Analyse semi-quantitative des huiles essentielles par CPG/SM

Cette analyse a été faite au laboratoire du Centre de Recherches en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) selon les conditions opératoires ci-dessous.

Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

- Appareil de type **GC 6890** série GC systems (HP Agilent technologies).
- Colonne HP 5 - MS (**5 %** phenylmethylpolysiloxane) d'une longueur de **30 m**, d'un diamètre interne de **0,25 mm** et d'une épaisseur du film de la phase de **0,25 µm**.
- Programmation de la température **35 °C** en isotherme pendant **2 mn** puis augmentation de la température à raison de **5 °C/mn** jusqu'à **320 °C**.

- Mode d'injection Split à T = **250 °C**.
- Température de détection **280 °C** « interface ».
- Pression : **6,75** psi.
- Gaz vecteur : Helium.
- Débit du gaz vecteur : **1** ml/mn.
- Volume injecté : **0,2** µL.
- Spectrométrie de masse (SM)
- Mode de détection Scan ; **30 - 550** amu.
- Appareil **MS-5973 N** (HP Agilent Technologies)
- Potentiel d'ionisation : **70** ev.
- Pression (source, analyseur) : **6,75** psi.

Mode d'identification

L'identification des constituants des huiles essentielles extraites est basée sur :

- La comparaison des spectres de masse des molécules inconnues à ceux des composés purs fournis par la base de donnée Wiley 7N utilisé par le logiciel « Enhanced Chemstation » et en tenant compte de l'ordre d'élution du composé sur la colonne considérée ;
- L'élution du composé sur la colonne considérée ;
- La proportion et le pourcentage de probabilité de présence du composé fournis par la base de données du micro-ordinateur couplé au spectromètre de masse. (à vérifier avec M.Hazzit)

8- Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits étudiés

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par **quatre méthodes** parmi celles citées par la littérature. En général, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits testés est estimé par comparaison avec des antioxydants de synthèse BHT, BHA, acide ascorbique. Tous les tests ont été réalisés avec **3** répétitions indépendantes pour chaque concentration.

8-1- Mesure du pouvoir réducteur

8-1-1- Principe

L'aptitude des huiles essentielles et de certains composés à réduire le fer ferrique a été évaluée par la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

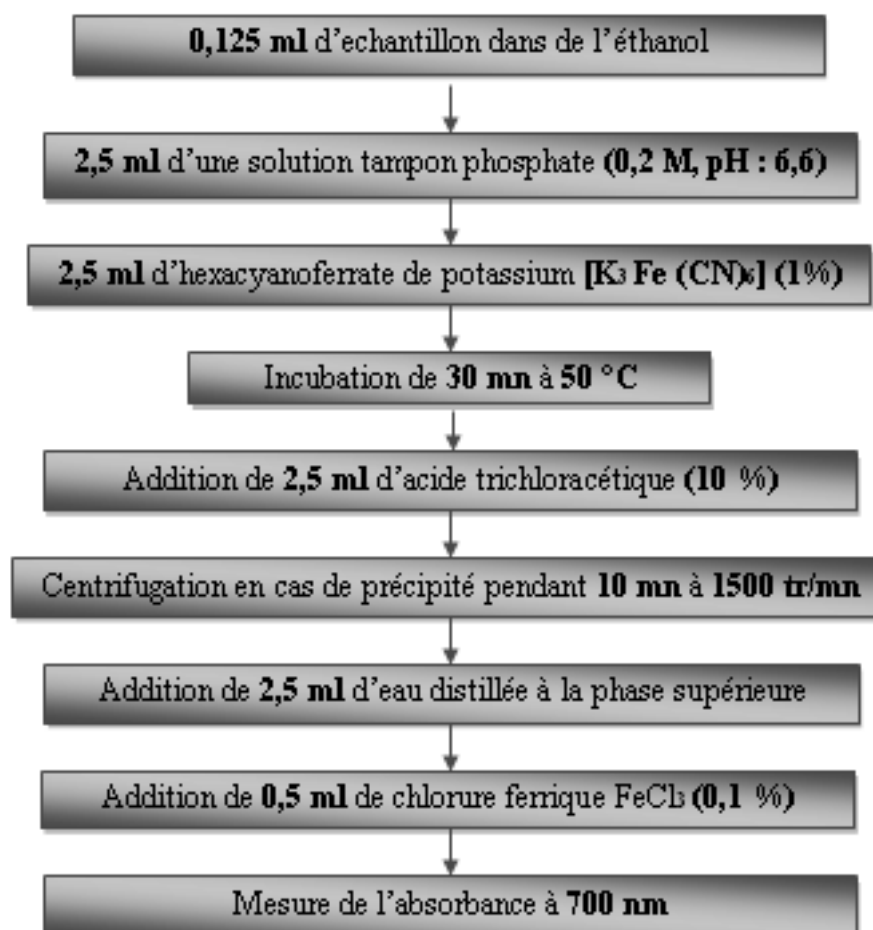


Schéma 1 : Protocole de la mise en œuvre du test du pouvoir réducteur

8-1-2- Mode opératoire

L'estimation du pouvoir réducteur des échantillons étudiés (huiles essentielles, extraits, BHT et BHA) est obtenue selon le protocole expérimental cité dans le schéma ci-dessous.

L'augmentation de l'absorbance indiquera une augmentation du pouvoir réducteur. Le test a été répété **3** fois pour chaque concentration et pour chaque huile essentielle ou extrait.

8-2- Test du pouvoir de piégeage du radical DPPH[•]

8-2-1- Principe

La capacité de donation des électrons par les huiles essentielles ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH[•] (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).

8-2-2- Mode opératoire

Le test utilisant le radical DPPH[•] a été réalisé en suivant la méthode décrite par **Cuendet et al. (1997)**, **Burits et Bucar (2000)** où **50 µL** de chacune des dilutions des huiles essentielles testées et de certains composés purs tels que le **BHT** et le **BHA** sont mélangés dans la cellule placée dans la cuvette du spectrophotomètre avec **2 ml** d'une solution méthanolique ou éthanolique de DPPH[•] (**60 µM**).

Après une période d'incubation de **30 minutes** à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, et à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à **517 nm**. Les expériences sont réalisées en **3 répétitions** successives. Le pourcentage d'activité antioxydante **I (%)** est calculé selon la formule suivante :

$$I (\%) = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échan}}) / A_{\text{blanc}}] * 100$$

A blanc : absorbance du témoin (nm).

A échan : absorbance de l'échantillon testé (nm).

A blanc : absorbance du DPPH[•] au temps zéro avant addition de l'échantillon d'huile essentielle.

9- Concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres (IC₅₀)

Elle est définie comme étant la quantité ou concentration d'antioxydant, d'huile essentielle ou d'extrait nécessaire pour inhiber ou faire disparaître **50 %** des radicaux libres. En d'autres termes, c'est la concentration nécessaire pour obtenir une activité en % égale à **50**.

Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant, de l'huile essentielle ou de l'extrait.

10- Test des substances réactives à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBARS)

C'est une méthode spectrométrique qui dose le malonaldéhyde (MDA). Le malonaldéhyde est un produit secondaire de l'oxydation des acides gras poly-insaturés possédant au moins trois doubles liaisons. L'acide thiobarbiturique réagit avec le malonaldéhyde pour former un composé qui absorbe à **532–535 nm**. Divers protocoles ont été mis au point dans la littérature, ces derniers varient essentiellement selon le mode d'extraction et la méthode de détection.

10-1- Principe

Dans notre étude, ce test a été réalisé selon la méthode modifiée décrite par **Miguel et al. (2004)**, où le jaune d'œuf est utilisé comme substrat riche en lipides. Le test a été répété **3 fois** pour chaque concentration. L'acide thiobarbiturique réagit avec les produits de l'oxydation en donnant un pigment qui absorbe à **532 nm**.

10-2- Mode opératoire

Les différentes étapes de la mise en œuvre du test de TBARS sont résumées dans le schéma ci-suit :

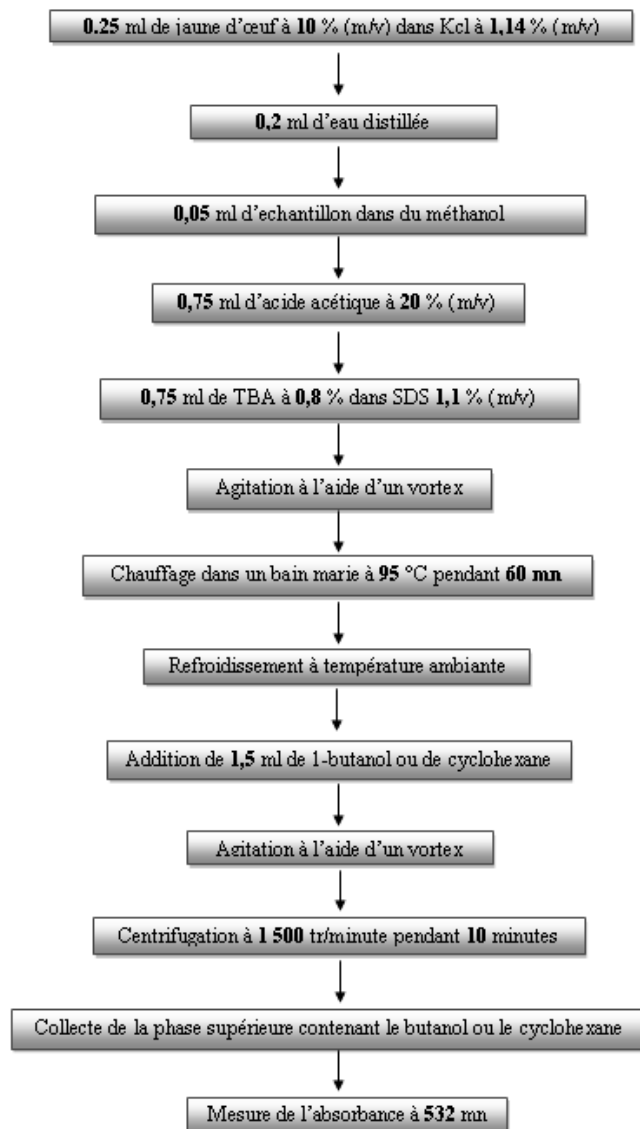


Schéma 2 : Protocole de la mise en œuvre du test TBARS

La capacité d'inhibition de la peroxydation **I** en % (ou le pourcentage d'activité antioxydante) est calculée selon la formule suivante :

$$I (\%) = (1 - T/C) \times 100$$

C : absorbance du témoin complètement oxydé (ou absorbance du témoin négatif) ;

T : absorbance de l'échantillon testé.

Le mélange réactionnel relatif au témoin négatif est constitué de tous les réactifs à l'exception de l'échantillon (huile essentielle) tandis que celui du témoin positif contient la substance choisie comme référence de comparaison (**BHT**) à la place de l'huile essentielle.

11- Test du pouvoir chélatant

11-1- Principe

Le test de chélation à la ferrozine (**Figure 24**) est un test colorimétrique basé sur la coloration de l'ion ferreux Fe^{2+} par la ferrozine (**Riemer J. et al ., 2004**). La ferrozine ne se lie pas avec l'ion Fe^{3+} .

Une intense couleur magenta apparaît lorsqu'un complexe chromophore rouge (Fe (II)-Ferrozine), ayant une absorption maximale à **562 nm**, est formé (**Figure 25**) avec le fer résiduel (Fe^{2+}).



Figure 24 : Ferrozine

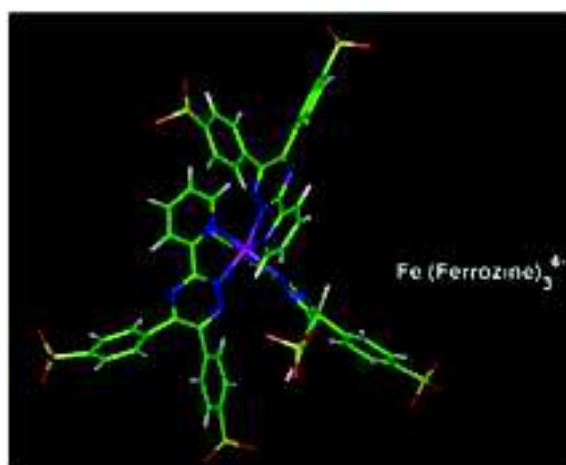


Figure 25 : Composé Fe(II)-Ferrozine

*Les atomes de carbone sont de couleur verte, les hydrogènes sont en blancs, les atomes de fer sont de couleur magenta, les atomes d'azote sont en bleus, les atomes d'oxygène sont en rouge, et les atomes de soufre sont de couleur jaune.

Ce test permet la détermination d'un ordre du potentiel chélateur des échantillons étudiés grâce au calcul des concentrations nécessaires en composé pour que **50 %** de la quantité totale du Fe^{2+} présente dans le milieu soit piégé.

11-2- Mode opératoire

La capacité chélatrice des extraits a été mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de **Carter (1971)** décrite dans le schéma ci-suivant :

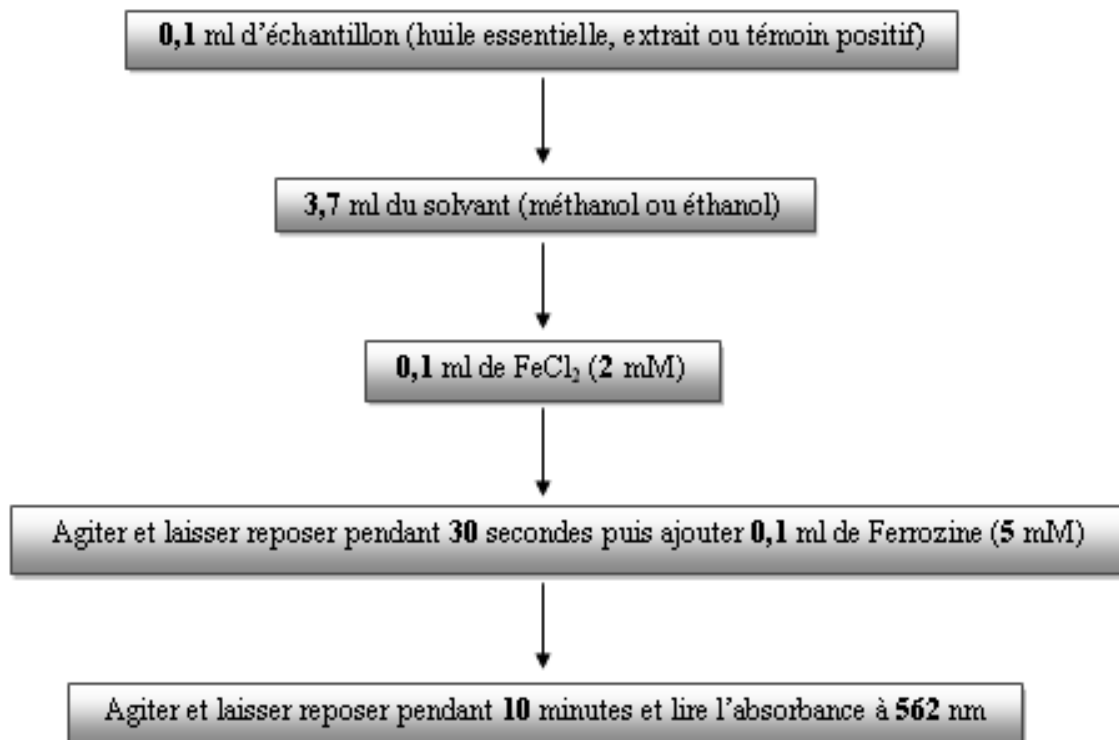


Schéma 3 : Protocole de la mise en œuvre du test chélatant

Le pouvoir chélatant déterminant l'effet séquestrant des échantillons étudiés vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage de chélation selon l'équation suivante :

$$\text{Pouvoir chélatant (\%)} = (1 - A_t / A_0) \times 100$$

A_t = absorbance de l'échantillon ;

A_0 = Absorbance du témoin négatif.

12- Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus

12-1- Dosage des phénols totaux

Les phénols totaux des extraits ont été déterminés par la méthode de **Folin-ciocalteu** décrite par **Singleton et al . (1999)** utilisant l'acide gallique comme standard.

12-1-1- Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est

réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum à **765 nm**, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique (**Figure 26**).

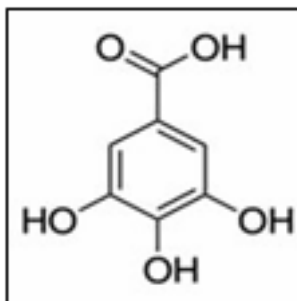


Figure 26 : Formule chimique de l'acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque)

12-1-2- Mode opératoire

Un volume de **0,25 ml** d'extrait dissout dans de l'éthanol est mélangé à **1,25 ml** de réactif de **Folin-ciocalteu**. Après **3 minutes** de temps de réaction du mélange, **1 ml** de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de **75 g/l** est ajouté.

Après **30 minutes** d'incubation à l'abri de la lumière et à une température ambiante, l'absorbance est lue à **765 nm**. L'expérience est répétée trois fois pour chaque concentration d'extrait.

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et sera exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.

12-2- Dosage des flavonoïdes

La méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) modifiée (**Lamaison et Carnet, 1990 ; Huang et al ., 2004**) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits étudiés.

12-2-1- Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe avec les flavonoïdes dont l'absorbance a été estimée à **420 nm**. Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la quercétine (**Figure 27**).

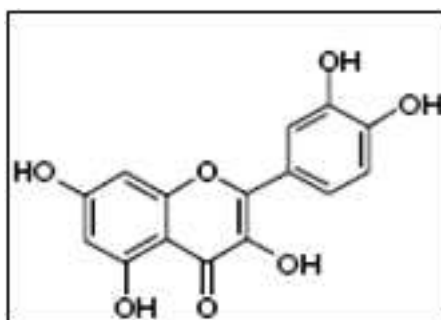


Figure 27 : Formule chimique de la quercétine

12-2-2- Mode opératoire

1 ml d'extrait dissout dans de l'éthanol est ajouté à 1 ml de la solution éthanolique de chlorure d'aluminium. Après 1 heure d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. Cette expérience est répétée trois fois.

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine et sera exprimée en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait.

13- Analyse statistique

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons étudiés (**huiles essentielles, extraits, BHT, BHA, acide ascorbique**) ont fait l'objet d'une analyse de la variance et d'une analyse par le test Post Hoc (LSD) en utilisant le logiciel **SPSS 10.0**.

Tous les graphes et les histogrammes obtenus ont été réalisés en utilisant le logiciel **Excel** (Microsoft Office 2007).

Chapitre II : Résultats et discussion

1- Localisation des sites producteurs d'huile essentielle

L'observation des coupes histologiques de la tige et de la feuille de *Thymus pallescens* de Noé, d'*Ammi visnaga* Lamk. et de *Chenopodium ambrosioides* L. révèle la présence autour des tiges et des feuilles de poils tecteurs (PT), sécréteurs (PS) et de canaux sécréteurs (CS) respectivement illustrés dans les figures ci-dessous.

1-1- Cas du thym

Seuls les poils glandulaires et sécréteurs ont l'aptitude de synthétiser, sécréter et séquestrer les huiles essentielles en quantité significative. Ce type de poils était beaucoup plus répandu et plus dense sur les feuilles que sur les tiges et on peut même les voir à l'œil nu. C'est la raison principale qui fait que les tiges produisent une quantité infime d'huiles essentielles par rapport aux feuilles et aux fleurs.

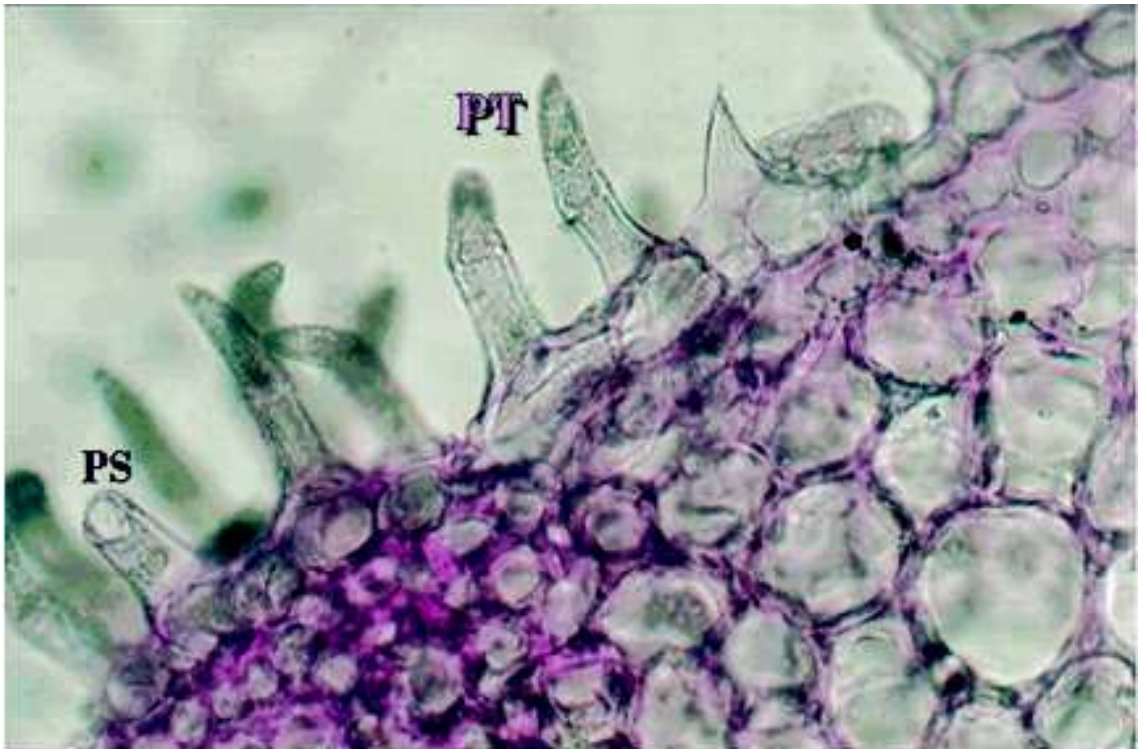


Figure 28 : Coupe transversale de la tige de *Thymus palleescens* de Noé (PT : poil tecteur ; PS : poil sécréteur) (G×80.)

Dans la famille des *lamiaceae* à laquelle appartient le thym, les huiles essentielles sont stockées dans des trichomes glandulaires qui sont situés sur la surface épidermique sur les deux côtés des feuilles et caractérisés par une anatomie typique (Figure 29).

Bruni Et Modenesi ont intensivement étudié en 1983 les trichomes et suivi leur développement dans le thym (*Thymus vulgaris*) par microscopie électronique. On peut retenir de cette étude que les huiles essentielles sont produites par les cellules sécrétrices qui sont au nombre de 10 à 14, puis stockées dans la cavité subcuticulaire. La cellule basique joue le rôle d'obstacle et permet l'écoulement de l'huile produite vers la cavité de stockage.

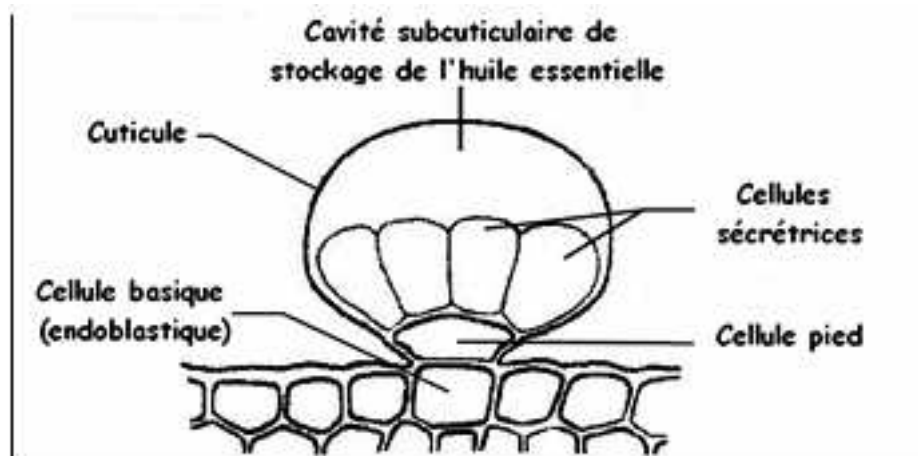


Figure 29 : Anatomie d'un trichome glandulaire d'après *Stah-Biskup* (2002)

1-2- Cas du fenouil annuel

Chez certains végétaux tel qu'*Ammi visnaga* Lamk., les essences prennent naissance à l'intérieur de la plante et sont sécrétées par de petits canaux ou canaux sécréteurs qui s'étendent parfois dans toute la longueur de la plante et dont les parois sont formées d'une assise de cellules sécrétrices (Figures 30, 31 et 32). On en trouve des cas semblables chez les Ombellifères, telles que le persil, l'anis et la carotte, ainsi que chez de nombreuses plantes de la famille des Composées (absinthe, camomille, etc.).

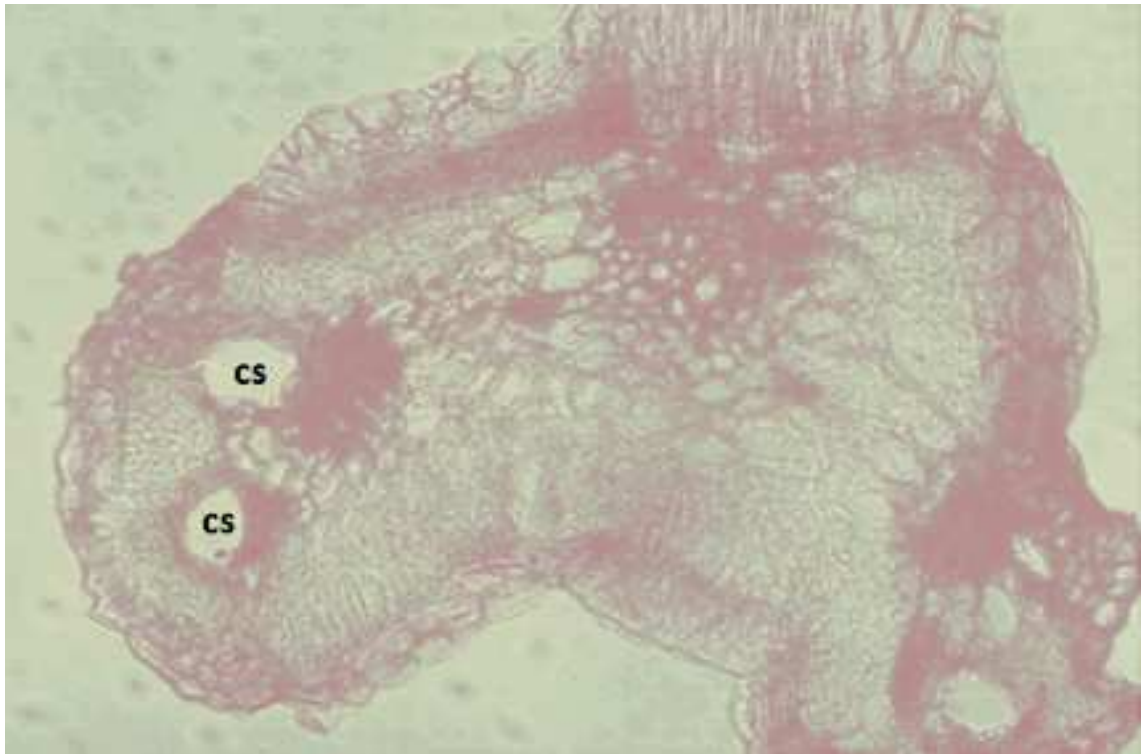


Figure 30 : Coupe d'une feuille d'*Ammi visnaga* Lamk. sur laquelle on peut noter la présence de deux canaux sécréteurs (CS) l'un à côté de l'autre (G×40)

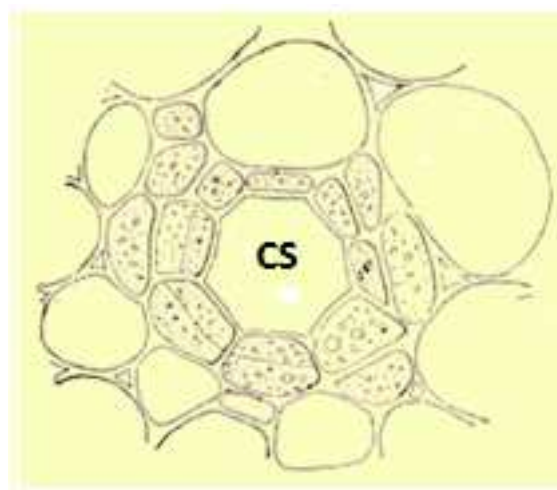


Figure 31 : Canal sécréteur (CS) d'ombellifère (coupe en travers)

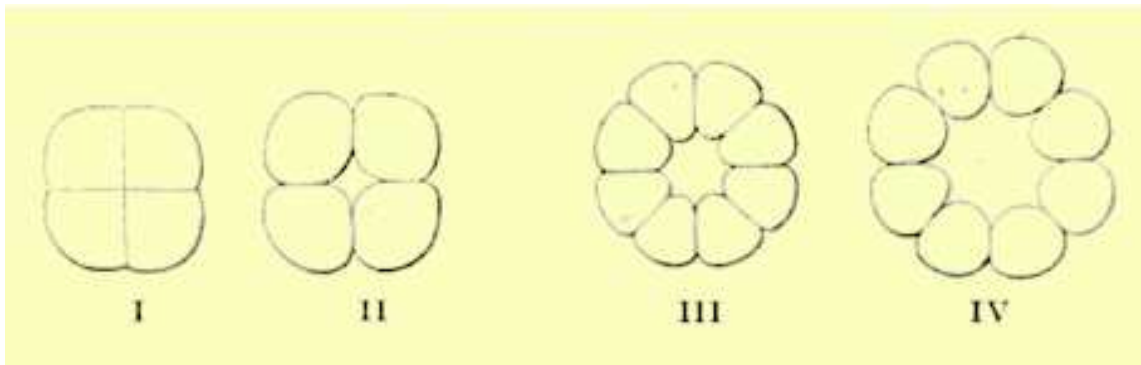


Figure 32 : Développement d'un canal sécréteur (les cellules de IV se divisent ensuite tangentielle pour donner deux assises)

1-3- Cas du thé mexicain

Les coupes transversales effectuées au niveau des feuilles de *Chenopodium ambrosioides* L. révèlent la présence de poils : sécréteurs et tecteurs (Figures 33 et 35).

Situés à la périphérie de divers organes (calices, feuilles, tiges), les poils sécréteurs sont généralement formés d'un pédicelle plus ou moins long et d'une tête formée d'une ou de plusieurs cellules sécrétrices (Figure 34).

L'épiderme de la famille des Chénopodiacées montre par ailleurs une tendance commune représentée par la présence de stomates et d'une mince cuticule (Metcalf & Chalk, 1950). Santos (1925), révèle de plus la présence de trichomes observés dans les feuilles de *C. ambrosioides*. Metcalfe et Chalk (1950) décrivent trois types de trichomes glandulaires se référant aux différentes étapes de développement de la même structure, ou aux différents stades de développement foliaire.



Figure 33 : Coupe transversale d'une feuille de *Chenopodium ambrosioides* L. sur laquelle on peut noter la présence de deux types de poils et d'une gouttelette d'huile essentielle (G×40)



Figure 34 : Poil sécréteur vu au microscope

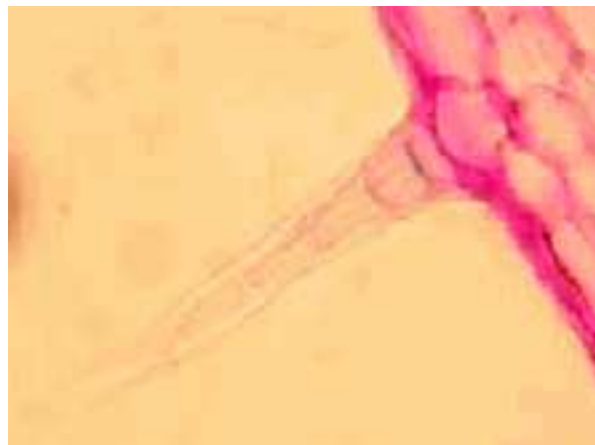


Figure 35 : Face inférieure d'un poil tecteur (G×400)
(Portet Bénédicte, 2007)



Figure 36 : Coupe transversale d'une feuille de *Chenopodium ambrosioides* L. mettant en évidence la présence de gouttelettes d'huiles essentielles ($G \times 20, 16$)

2- Caractéristiques des huiles essentielles

2-1- Cas du thym

Les caractéristiques physiques et organoleptiques de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noésont résumées dans le tableau 9.

Caractéristiques		Huile essentielle de <i>Thymus pallescens</i> de Lakhdaria
Organoleptiques	Aspect	Liquide mobile.
	Couleur	Orangée
	Odeur	Caractéristique, aromatique, phénolique avec un fond légèrement épicé.
Physiques	Indice de réfraction à 20 °C	1,501
	Densité relative à 20 °C	0,964

Tableau 9 : Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé

Ces résultats sont différents de ceux donnés par **AFNOR (2000)**. Le recueil des normes **AFNOR 2000** indique les caractéristiques des huiles essentielles de *Thymus zygis* et de *Thymus mastichina* d'Espagne qui sont différentes entre elles.

Tableau 10 : Caractéristiques physiques et organoleptiques de quelques espèces de thym selon AFNOR (2000)

Huile essentielle	Aspect, couleur	Odeur	Densité relative à 20 °C	Indice de réfraction à 20 °C
<i>Thymus zygis</i> Leofl. EspagneL.	Liquide brun rouge.	Caractéristique, aromatique, phénolique, agréable avec un fond légèrement épicé.	0,915 à 0,935	1,496 à 1,505
<i>Thymus mastichina</i> L.	Liquide jaune pale.		0,900 à 0,920	1,462 à 1,468

2-2- Cas du fenouil annuel

Il n'existe pas de normes officielles pour l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk.

A titre indicatif, les caractéristiques physiques et organoleptiques de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. sont résumées dans le tableau 11.

Caractéristiques		Huile essentielle d' <i>Ammi visnaga</i>
Organoleptiques	Aspect	Liquide limpide et fluide
	Couleur	Jaune clair à jaune foncé plus ou moins soutenu.
	Odeur	Une odeur particulièrement anisée et âcre.
	Goût	Amer
Physiques	Indice de réfraction à 20 °C	1,439
	Densité relative à 20 °C	0,877

Tableau 11 : Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk.

2-3- Cas du thé mexicain

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. sont résumées dans le tableau ci-suitant.

Caractéristiques		Huile essentielle de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.
Organoleptiques	Aspect	Liquide mobile
	Couleur	Couleur jaune pâle à jaune orangé devenant brunâtre par le vieillissement.
	Odeur	Odeur particulière, désagréable.
	Goût	Amer

Tableau 12 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L.

3- Analyse qualitative et semi quantitative des huiles essentielles par CPG et CG/SM

L'identification des composés des huiles essentielles par CG/SM est basée sur la comparaison du spectre de masse de la molécule inconnue à celui d'un composé pur fourni par la base de données Wiley 7N.

3-1- Cas du thym

3-1-1- Effet du chauffage sur la composition chimique de l'huile essentielle de thym

Les profils chromatographiques des échantillons de thym sans chauffage (TP25) et avec chauffage aux températures 100 °C (TP100), 150 °C (TP150) et 190 °C (TP190) sont représentés par la figure 37.

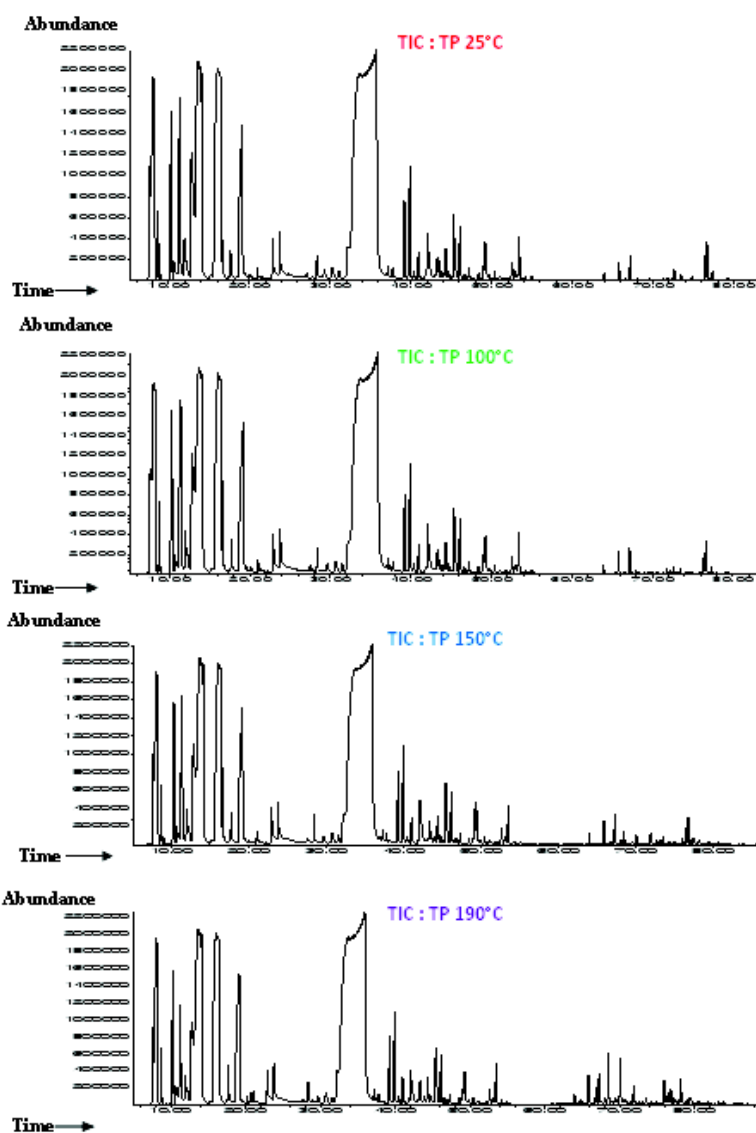


Figure 37 : Profil chromatographique des échantillons de thym sans chauffage (TP25 °C) et avec chauffage aux températures 100 °C (TP100°C), 150 °C (TP150°C) et 190 °C (TP190°C)

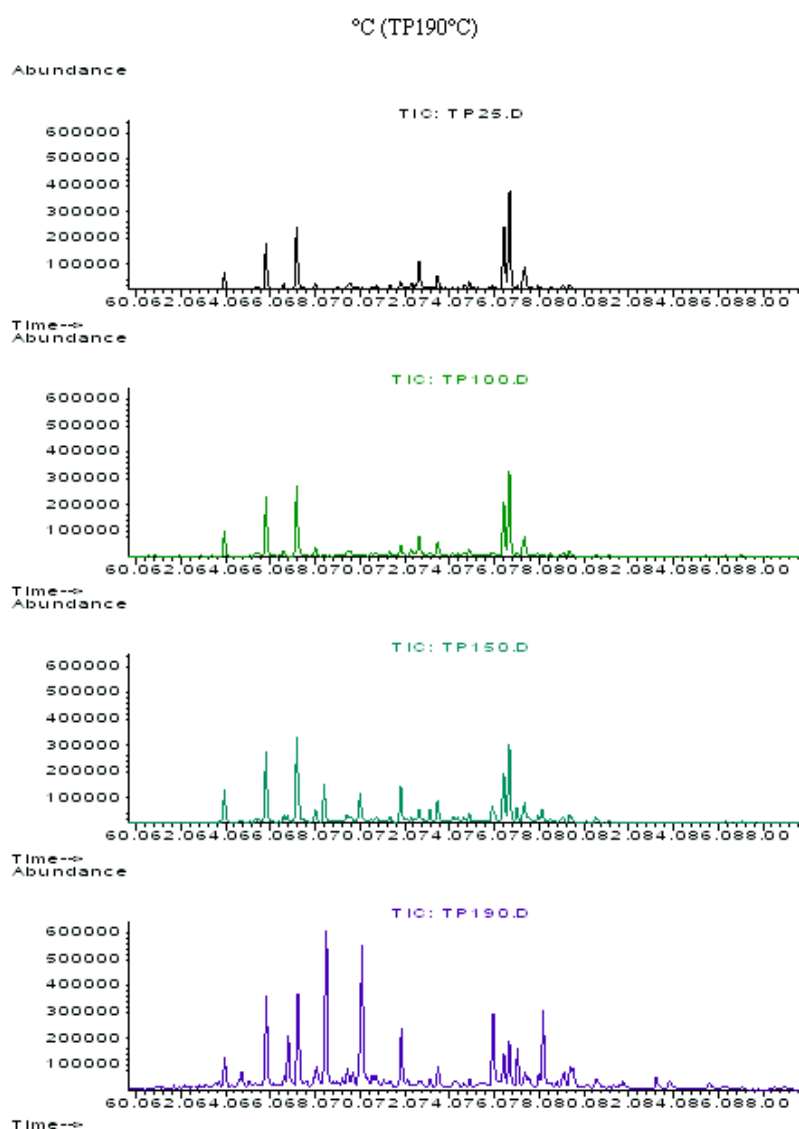


Figure 38 : Variation du profil chromatographique de la fraction lourde des échantillons de thym

On remarque d'après la figure 37 que les chromatogrammes des quatre échantillons de *Thymus pallescens* (25 °C ; 100 °C ; 150 °C ; 190 °C) ne montrent pas une variation visible pour un temps de rétention compris entre 5 min et 55 min. Toutefois, la variation du profil chromatographique est nettement appréciable pour un temps de rétention de plus de 60 min (figure 38).

52 composés ont pu être identifiés dans les différentes huiles essentielles (sans chauffage et avec chauffage à 100, 150 et à 190 °C), ces composés ont été reportés dans le tableau ci-dessous.

Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé)

Composé	Indice de retenue (IR)	Température				M	
		TP ₀	TP ₁₀₀	TP ₁₅₀	TP ₁₉₀		
tricyclène	923	1017	1	1	1	RMES-GC	
α-pinène	925	1029	2,1	1,9	1,9	1,5	RMES-GC
α-pinène	935	1036	6,1	6,1	5,6	5,5	RMES-GC
camphène	948	1072	0,4	0,4	0,3	0,4	RMES-GC
verbenène	953	1121	1	1	0,1	1	RMES
α-bisabolène	972	1133	1	1	1	1	RMES-GC
β-pinène	976	1119	1,9	1,9	1,8	1,8	RMES-GC
1-Octène-3-ol	982	1401	0,3	0,4	0,4	0,5	RMES
β-myrcène	992	1135	2,8	2,9	2,6	1,6	RMES-GC
α-phellandène	1005	1137	0,8	0,9	0,9	0,8	RMES-GC
α-terpinène	1017	1192	3,6	3,3	2,9	2,5	RMES-GC
p-cymène	1026	1200	10,0	10,6	11,0	10,0	RMES-GC
β-phellandène	1045	1223	1,4	1,4	1,4	1,3	RMES-GC
(E)-β-ocimène	1052	1232	0,1	1	0,1	1	RMES-GC
γ-terpinène	1061	1261	7,9	10,5	10,5	10,1	RMES-GC
α-sabinène	1069	1267	0,6	0,6	0,5	0,3	RMES
1-Héno-3-ol	1085	1235	1	1	1	1	RMES
terpinolène	1090	1300	0,2	0,3	0,3	0,4	RMES-GC
p-cymène	1089	1402	1	1	1	1	RMES-GC
limonène	1104	1338	4,1	4,2	4,4	4,3	RMES-GC
linalol	1167	1392	0,6	0,5	0,6	0,5	RMES-GC
4-terpénoïl	1177	1413	0,6	0,6	0,6	0,5	RMES-GC
isopropyl thymol	1235	1611	1	1	1	1	RMES
isopropyl eucalyptol	1242	1616	0,2	0,2	0,2	0,2	RMES
α-terpénoïl	1194	1723	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES-GC
rac-dihydrocarvone	1197	1626	0,2	0,2	0,2	0,3	RMES
trans-dihydrocarvone	1203	1647	0,2	0,1	0,1	0,1	RMES
thymol	1302	2212	0,9	0,7	0,9	0,8	RMES-GC
carvacrol	1318	2238	44,1	43,0	43,4	42,9	RMES-GC
α-copaène	1332	1309	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
β-caryophyllène	1380	1336	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
α-gurjunène	1426	1349	0,7	0,7	0,7	0,8	RMES
β-caryophyllène	1415	1612	1,4	1,4	1,4	1,4	RMES-GC
α-santalolène	1407	1603	0,2	0,3	0,3	0,3	RMES
α-bisabolène	1405	1587	1	0,1	0,1	0,1	RMES
γ-santalolène	1492	1590	0,2	0,3	0,3	0,3	RMES
α-pinène D	1497	1326	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES-GC
β-bisabolène	1485	1713	0,4	0,4	0,4	0,3	RMES
α-santalolène	1485	1740	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
β-bisabolène	1505	1748	0,6	0,6	0,6	0,6	RMES
γ-cadinène	1511	1736	0,3	0,3	0,3	0,3	RMES
δ-cadinène	1518	1732	0,5	0,6	0,6	0,6	RMES
α-cadinène 1,4-diol	1526	1757	1	0,1	0,1	0,1	RMES
α-Bisabolène	1537	1795	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
palliatol	1558	1803	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
α-phellandène	1570	2154	0,3	0,4	0,4	0,4	RMES
α-caryophyllène	1575	2014	0,4	0,4	0,4	0,4	RMES-GC
gibérol	1574	2098	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
isopellétanol	1629	2251	1	1	1	1	RMES
γ-cadinol	1635	2198	0,2	0,2	0,2	0,2	RMES
β-cadinol	1644	2255	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
α-cadinol	1650	2299	0,1	0,1	0,1	0,1	RMES
Composés							
Monoterpènes (M)		851	96,5	97,5	97,3		
Composés		851	96,5	97,5	97,3		
Hydrocarbures monoterpéniques		37,3	39,2	39,4	35,9		
Monoterpènes oxygénés		51,6	50,2	51,0	50,0		
Hydrocarbures sesquiterpéniques		4,6	5,3	5,3	5,4		
Sesquiterpènes oxygénés		1,3	1,4	1,4	1,4		
Autres		0,9	0,4	0,4	0,5		

Tableau 13 : Composition (%) des échantillons d'huiles essentielles de *Thymus pallescens* de Noé conservés à température ambiante et chauffés pendant 3 heures à différentes températures

Les résultats de l'analyse des huiles essentielles de thym par CPG et CG/SM a permis l'identification d'environ **95,1 %** des composés, où les monoterpènes oxygénés sont les plus abondants avec **51,6 %** suivi par les hydrocarbures monoterpéniques avec **37,3 %** et les **hydrocarbures sesquiterpéniques** avec un pourcentage de **4,6**.

D'après ces résultats, il apparaît que l'huile essentielle de *Thymus pallescens* est caractérisée par la dominance d'un composé phénolique le **carvacrol** avec une teneur de **44,1 %** pour l'échantillon de thym sans chauffage, **43,0 %** pour l'échantillon chauffé à 100 °C, **43,4 %** pour l'échantillon chauffé à 150 °C, et **42,9 %** pour celui chauffé à 190 °C.

Ce composé majoritaire est suivi par deux hydrocarbures monoterpéniques le **p-Cymène** et le **γ-Terpinène**. Pour ce qui est du **p-Cymène**, la teneur est de **10,0 %** pour l'échantillon de thym sans chauffage et celui chauffé à 190 °C, de **10,6 %** pour celui chauffé à 100 °C et de **11,0 %** pour l'échantillon chauffé à 150 °C.

Concernant le **γ -Terpinene**, la teneur est de **7,9 %** pour l'échantillon sans chauffage, **10,5 %** pour l'échantillon chauffé à 100 °C et pour celui chauffé à 150 °C, et **10,1 %** pour l'échantillon chauffé à 190 °C.

Nous remarquons que le **thymol** varie faiblement entre **0,7** et **0,9 %**.

Selon **Granger et al . (1973)**, le **thymol** peut-être en faible proportion, suivant l'origine géographique de la plante, cédant généralement sa place à son isomère le **carvacrol**.

Nous pouvons avoir d'une façon générale selon l'origine géographique, des populations de thym connues pour être :

- Très aromatiques : prédominance du p-Cymene et du carvacrol ;
- Aromatiques : dominance du Linalool et du Terpinéol ;
- Peu aromatiques : prédominance du Linalool libre et estérifié.

Dans notre étude, on en déduit par la présence d'environ **10 à 11 %** de **p-Cymene** et de **43** à **44 %** de **carvacrol** que notre espèce *Thymus pallescens* est **très aromatique**.

Il existe par ailleurs des rapports biogénétiques entre le **γ -Terpinene** et le **p-Cymene**. Une hypothèse avancée par des auteurs stipule qu'en présence d'oxygène et/ou sous l'action des UV le **p-Cymene** est le précurseur du **carvacrol** et du **thymol**. D'ailleurs, plus les taux de **γ -Terpinene** et de **p-Cymene** sont élevés dans l'huile essentielle, plus le **taux des phénols** est élevé (**Gilly, 2005**).

La variation des principaux composés de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* est illustrée par la figure ci-dessous.

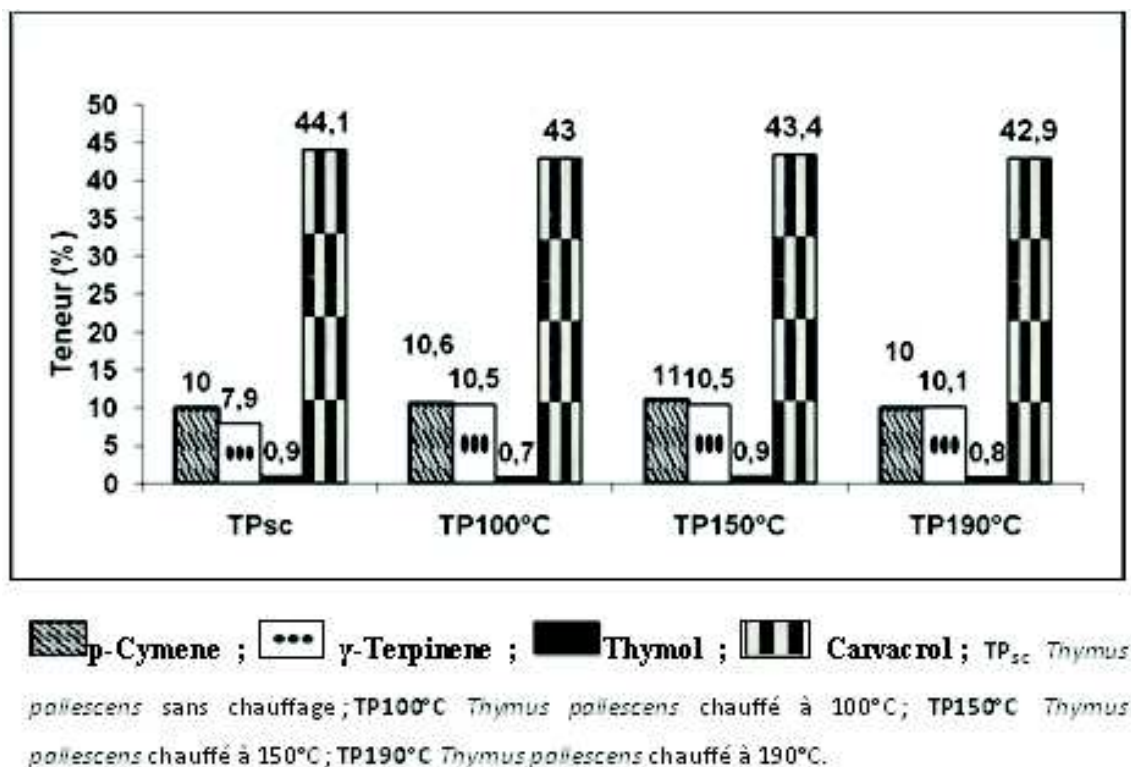


Figure 39 : Variation des principaux composés de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* en fonction du chauffage

Les variations les plus remarquables des composés des huiles essentielles de *Thymus pallescens* chauffées aux différentes températures sont reportées dans le tableau 14.

Composés	Echantillons de l'huile essentielle de <i>Thymus pallescens</i> de Noé			
	TP _{25°C}	TP _{100°C}	TP _{150°C}	TP _{190°C}
α-Pinene	6.1	6.1	5.6	5.5
α-Thujene	2.1	1.9	1.9	1.5
β-Myrcene	2.8	2.9	2.6	1.6
α-Terpinene	3.6	3.3	2.9	2.5
p-Cymene	10.0	10.6	11.0	10.0
γ-Terpinene	7.9	10.5	10.5	10.1
Thymol	0.9	0.7	0.9	0.8
Carvacrol	44.1	43.0	43.4	42.9

TP_{25°C} *Thymus pallescens* sans chauffage ; TP_{100°C} *Thymus pallescens* chauffé à 100°C ; TP_{150°C} *Thymus pallescens* chauffé à 150°C ; TP_{190°C} *Thymus pallescens* chauffé à 190°C.

Tableau 14 : Principales variations des composés des quatre échantillons de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé en fonction de leur chauffage

D'après le tableau 14, l'échantillon qui nous a fourni le pourcentage maximal est celui chauffé à **150 °C** avec **97,5 %**. Par contre, l'échantillon chauffé à **190 °C** a fourni le pourcentage minimal de **93,2 %**.

D'après la figure 39 et le tableau 14, on remarque que les variations entre les échantillons de **25 °C**, **100 °C**, et **150 °C** sont faibles. Par ailleurs, les variations de ces trois échantillons avec celui chauffé à **190 °C** sont notables.

La variation la plus importante est attribuée au **γ-Terpinene** avec une différence de **2,6 %** entre l'échantillon de thym sans chauffage et ceux chauffés à **100** et **150 °C**.

Pour ce qui est du **β-Myrcene**, la variation est de **1,3 %** entre l'échantillon chauffé à **100 °C** et celui chauffé à **190 °C**.

La teneur en **Carvacrol** varie de **1,2 %** entre l'échantillon sans chauffage et l'échantillon chauffé à **190 °C**.

La variation de la teneur en **α-Terpinene** est de **1,1 %** entre l'échantillon sans chauffage et l'échantillon chauffé à **190 °C**.

Le reste de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* est constitué par un grand nombre de composés dont le pourcentage reste inférieur ou égale à **1 %**.

3-2- Cas du fenouil annuel

L'analyse par CPG et CG/SM de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. de la région Tessala El-Merdja (Blida), nous a permis d'identifier un total de **52 composés**.

Les résultats obtenus sont présentés dans le profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* (**Figure 40**) et dans le tableau 15.

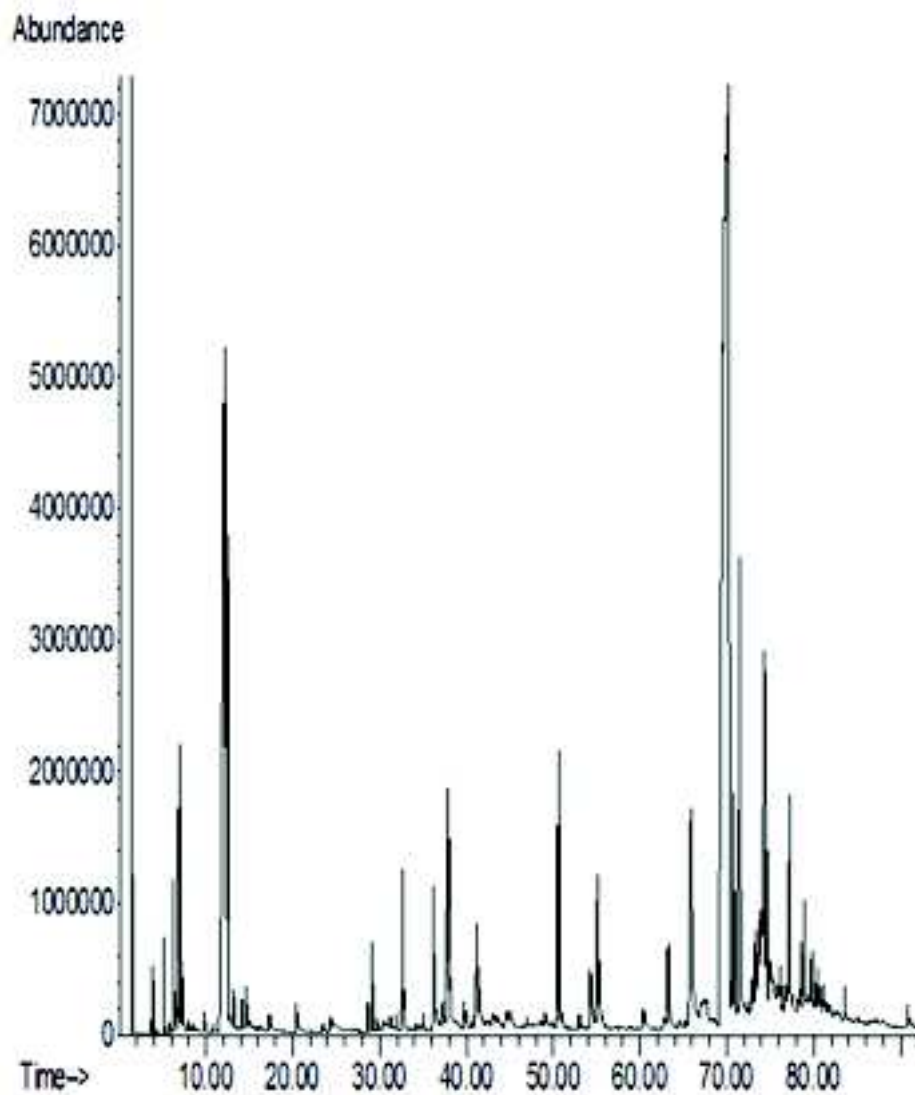


Figure 40 : Profil chromatographique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. de la région de Tessala El-Merdja (Blida)

Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé)

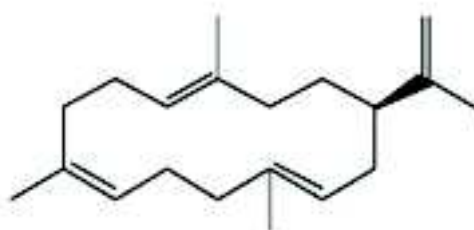
N°	Composés	Indice de rétention (IR)		%
		HSMS	PEG	
1	Isobutyl isobutyrate	909	1092	1
2	α -Thuyène	925	1029	0,2
3	α -Pinène	925	1036	0,1
4	Camphène	948	1072	1
5	Sabinène	972	1132	0,4
6	β -pinène	976	1119	1
7	β -myrcène	992	1173	0,1
8	Isobutyl 2-méthylbutyrate	1012	-	0,7
9	Isobutylvalérate	1018	-	0,2
10	Isobutyl isobutyrate	1021	-	0,2
11	2-Méthylbutyl isobutyrate	1022	1194	1,7
12	p-cymène	1026	1290	0,2
13	Limonène	1044	1212	0,3
14	1,8-Cineole	1046	1223	0,1
15	cis- β -Ocimène	1047	1246	0,1
16	trans- β -Ocimène	1052	1272	0,1
17	cis-Linalol oxide	1072	1480	0,2
18	trans-Linalol oxide	1080	1338	0,1
19	Linalol	1104	1338	14,8
20	Amyl isovalérate	1098	-	3,0
21	Chrysanthène	1125	1493	0,2
22	Camphor	1126	1629	0,2
23	α -Terpinol	1194	1723	0,1
24	Bornyl acétate	1285	1608	0,1
25	Levandulyl acétate	1288	1397	0,1
26	2-Undécanoate	1297	-	0,1
27	α -Copaène	1372	1509	0,2
28	β -Sesquiphène	1380	1536	0,6
29	β -Cubène	1383	1548	0,1
30	β -Damascone	1384	1632	0,1
31	Geraniol	1240	1820	1
32	Benzyl isovalérate	1260	-	0,1
33	β -myrcophène	1415	1612	0,1
34	β -guyonène	1426	1548	0,1
35	Geranyl acétate	1385	1770	1,3
36	β -Furène	1456	1641	0,1
37	Chrysanthène D	1480	1726	0,2
38	cis-2,6-Diméthyl-2,6-octalène + citronellyl acétate	1356	1668	1,1
39	β -bisabolène	1505	1748	0,2
40	Geranyl isovalérate	1613	1895	1,2
41	Propoate acyl, 2-méthyl, decyl ester	1627	-	0,2
42	Citronellyl propionate	-	1735	0,8
43	Citronellyl butyrate	-	1811	0,2
44	β -Cortol	1680	-	0,1
45	Farnesol	1722	2371	0,2
46	butyric acid, tridecyl ester	1725	2390	2,6
47	Farnesyl acétate	1883	2283	0,7
48	Valeric acid tetradecyl ester	1890	-	1,2
49	butyric acid, hexadecyl ester	1925	-	0,2
50	Palmitic acid	1982	-	0,1
51	1,4-diméthylcyclohexane	1985	-	0,7
52	Cembrene C	2023	2395	50,7
Total				86,0 %

*Composé classé dans l'ordre d'élution sur la colonne non polarisée HSMS ; Indice de rétention relatif aux n-alcane C₁₀-C₁₇ ; + trace (<0,1%).

Tableau 15 : Composition (%) de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. de la région de Tessala El-Merdja (Blida)

D'après les résultats du tableau 15, l'analyseCPG et CG/SM de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. de la région de Tessala El-Merdja (Blida) nous a permis d'identifier **86,0 %** des composés.

Il apparaît que l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. est caractérisée par la dominance du **Cembrene C (Figure 41)** enregistrant une teneur de **50,7 %**.



Cembrene C

Figure 41 : Formule chimique du Cembrene C

Ce composé majoritaire est suivi par le **Linalool** avec une teneur de **14,5 %**, et par l'**Amyl isovalerate** avec une teneur de **3,0 %**.

Le reste de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* est constitué par un grand nombre de composés dont le pourcentage reste inférieur ou égale à **1 %** (**Figure 42**).

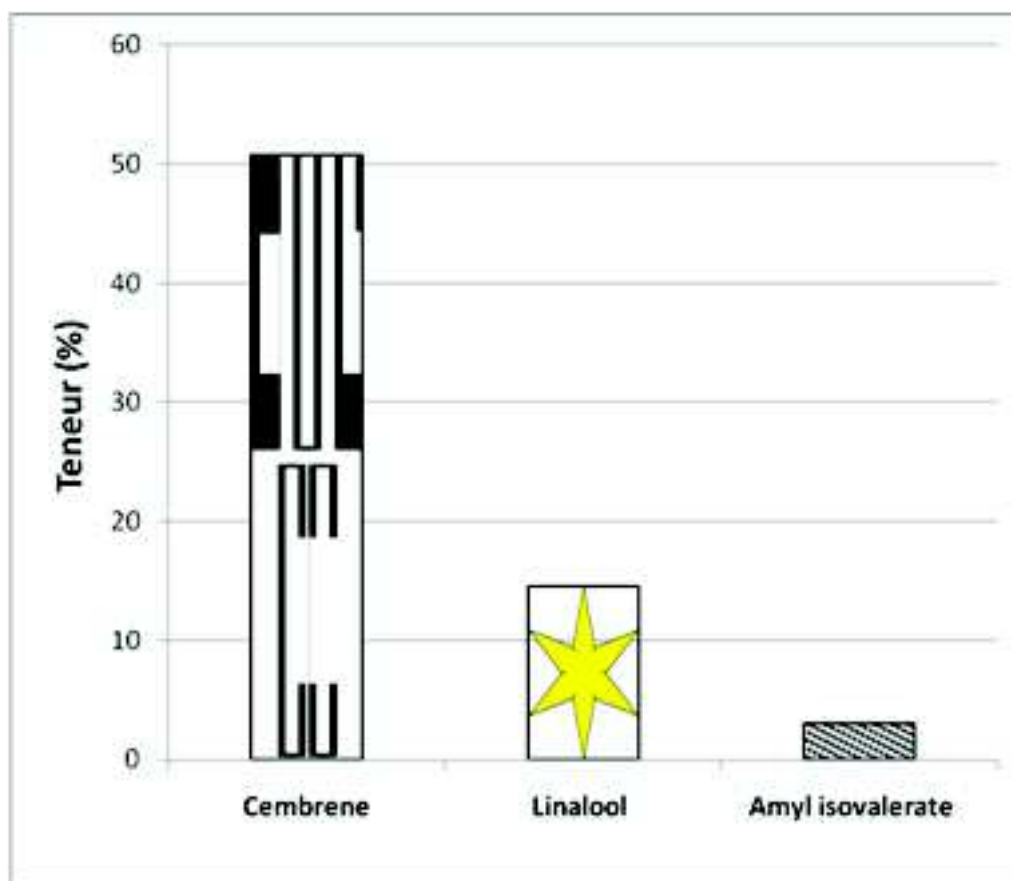


Figure 42 : Teneurs des composés majoritaires dans l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. de la région de Tessala El-Merdja (Blida)

La teneur en huiles essentielles des différentes parties d'*Ammi visnaga* ainsi que son profil chromatographique présentent une importante variabilité génotypique. À celle-ci, s'ajoute une variabilité due à l'environnement, aux conditions de culture, de récolte, d'extraction et d'analyse (**Lamarti et al ., 1993**). Ainsi, les principaux composants de l'huile essentielle des ombelles séchées d'*Ammi visnaga*, recueillies par exemple auprès de la

région de Quazzane (à 150 km au nord de Rabat) sont représentés par le 2-méthylbutyle 2-méthylbutyrate (**27,7 %**) ; le linalool (**22,7 %**) ; le 2-méthylbutyle isobutyrate (**16,6 %**) et le d'isoamyle isovalérate (**9,98 %**) (**Zrira et al ., 2002**).

La forte bio-activité de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. a été attribuée essentiellement à sa richesse en Linalool (**Satrani, 2006**).

3-3- Cas du thé mexicain

Les premiers travaux sur la composition chimique de l'huile essentielle de *C. ambrosioides* remontent à **1854**. **Nelson (1911)** précise qu'ils ont été réalisés par **Garrigues** qui reporta la présence d'une oléfine et d'un composé oxygéné. Diverses autres études menées de 1911 à 1925 ont permis de mieux caractériser l'huile essentielle de *C. ambrosioides*, par l'identification de plusieurs constituants, dont le p-cymène, l' α - terpinène, le limonène et l'ascaridole (**Nelson, 1911 ; Henry et al ., 1925**).

L'analyse par CPG et CG/SM de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. de la région de l'Arbatache (Boumerdes), nous a permis d'identifier un total de **24 composés**.

Les résultats obtenus ainsi que le profil chromatographique de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. sont présentés dans la figure 43 et le tableau 16.

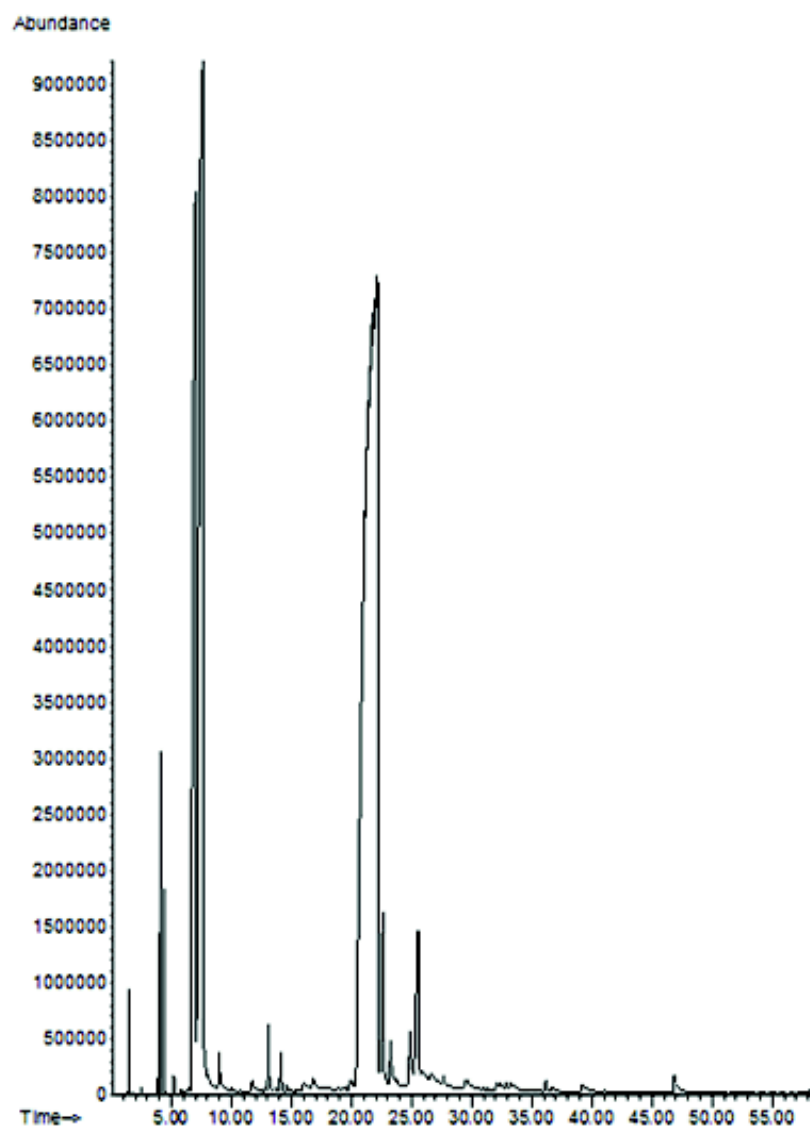


Figure 43 : Profil chromatographique de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. de la région de l'Arbatache (Boumerdes)

Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé)

N°	Composés	Indice de rétention (IK)		%
		HP5MS	PEG	
1	Toluene	762	1042	t
2	2H-Pyran, 3,4-dihydro-6-methyl	774	-	t
3	Hexanal	805	1084	t
4	3-Penten-1-yne	840	-	t
5	2-Hexenal	857	1201	t
6	p-Benzoquinone	923	-	t
7	α -Pinene	939	1026	t
8	Camphene	948	1072	t
9	1,4-Cyclohex-2-enedione	952	1024	0,1
10	Furan, 2-pentyl	991	-	t
11	β -Myrcene	992	1173	0,1
12	δ -3-Carene	1009	1163	t
13	α -Terpinene	1017	1192	18,3
14	p-Cymene	1026	1290	26,4
15	Limonene	1029	1212	0,2
16	γ -Terpinene	1061	1261	0,2
17	p-Cymenene	1089	1452	0,1
18	Nonanal	1108	-	t
19	Terpinolene	1087	1300	27,1
20	Piperitone oxide	1262	1408	0,3
21	Ascaridole	1305	1828	23,3
22	Hexyl tiglate	1331	1602	0,1
23	2,3-Dimethyl-3-isopropyl-	1340	-	t
	cyclopent			
24	β -Ionone	1488	1920	0,1
Total				96,3 %

¹Composés classés dans l'ordre d'éluion sur la colonne non polaire HP5MS ; ²Indice de rétention relatifs aux n-alcane C-C₁₁; t = trace (<0.1%).

Tableau 16 : Composition (%) de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. de la région de l'Arbatache (Boumerdes)

D'après les résultats du tableau 16, l'analyseCPG et CG/SM de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. de la région de l'Arbatache (Boumerdes) nous a permis d'identifier environ **96,4 %** des composés, dont **4** composés majoritairement présents (figure 46) : α -Terpinene (**18,3 %**), p-Cymene (**26,4 %**), Terpinolene (**27,1 %**) et Ascaridole (**23,3 %**) (**Figure : 44**).



Figure 44 : Formule chimique de l'ascaridole

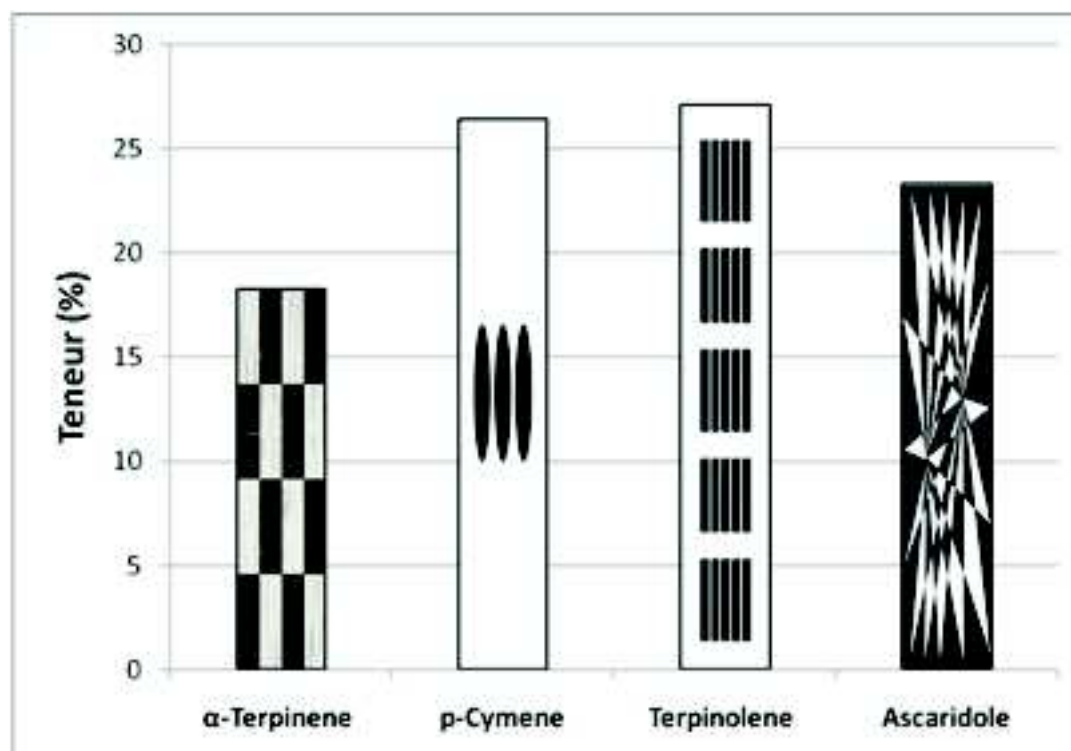


Figure 45 : Teneurs des composés majoritaires de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. de la région de l'Arbatache (Boumerdes)

Il apparaît que l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. est caractérisée par la dominance du **Terpinolene** avec une teneur de **27,1 %** et du **p-Cymene** avec **26,4 %** (**Figure 45**).

Ces deux composés majoritaires sont suivis par l'**Ascaridole** avec une teneur de **23,3 %**, et par l'**α-Terpinene** avec une teneur de **18,3 %**. L'ascaridole (2,3-dioxa-1-méthyl-4-isopropylbicyclo[2.2.2]oct-5-ène) est un endopéroxyde bicyclique ponté qui aurait l'α-terpinène comme précurseur dans le schéma de biosynthèse dans les fruits de *C. ambrosioides* (**Johnson, 1984**). L'ascaridole a été décrit comme composé majoritaire (**41,1 - 91,6 %**) dans l'huile essentielle de *C. ambrosioides* de diverses origines : Amérique du Nord (**Johnson, 1984 ; Guenther 1982 ; Kato, et al ., 2000**) ; Brésil (**Guenther, 1982**) ; Inde (**Gupta et Behari, 1976**) ; Australie (**Betts, 1988**) ; Espagne (**De Pascual, et al ., 1980**).

Le reste de l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. est constitué par un grand nombre de composés, dont le pourcentage reste inférieur à **1 %**.

Nos résultats sont ainsi en accord avec ceux obtenus par **Cavalli et al ., (2004)** et qui démontrent que l'huile de *Chenopodium ambrosioides* L. est un mélange d'**ascaridole** (**55,38 %**), de **p-cymène** (**16,2 %**), d'**alpha-terpinène** (**9,7 %**), d'**isoascaridole** (**4,3 %**) et de **limonène** (**3,8 %**) (**Oyebanji, Efiuvwevwe, 1999 ; Kumar et al ., 2007**).

Ces résultats sont par ailleurs significativement différents de ceux obtenus par **Tapondjou et al . (2003)** pour une huile extraite des feuilles sèches de *C. ambrosioides*. Il est possible dans ce cas que certains constituants chimiques aient subi des transformations et aient disparu pendant le processus de séchage. Cela peut être le cas du **p-mentha-1,8-diène** et de quelques autres constituants qui ont été absents de cet échantillon. Ces différences peuvent aussi être dues aux variations physiologiques, aux facteurs génétiques,

au moment de la récolte ainsi qu'à la durée écoulée entre le moment de la récolte et la période d'analyse (**Figueiredo et al ., 2008**).

Aussi, les résultats publiés jusqu'à présent démontrent que la concentration des principaux constituants de l'huile de *C. ambrosioides* varie considérablement. La concentration de l'**ascaridole** reste toutefois décrite comme un indicateur de qualité de cette huile (**Potawale et al ., 2008**), des travaux ont démontré que celle-ci est très faible dans les huiles essentielles de *Chenopodium ambrosioides* d'origine camerounaise, nigérienne (**Onocha et al ., 1999**) et indienne (**Gupta et al ., 2002**). Elle est en revanche très importante dans les huiles essentielles provenant du Brésil (**Jardim et al ., 2008**), du Togo (**Koba et al ., 2009**) et de France (**Cavalli et al ., 2004**). Bien que la composition chimique de l'huile essentielle puisse être influencée par l'environnement, ces disparités dans les résultats peuvent aussi suggérer l'existence de différents chémotypes de l'huile essentielle de *C. ambrosioides* (**Goka et al ., 2010**).

4- Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus

4-1- Dosage des phénols totaux

La teneur en phénols totaux des différents écotypes étudiés est déterminée par la méthode colorimétrique de **Folin-Ciocalteu**, en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique.

La méthode de **Folin-Ciocalteu** a été choisie pour doser les polyphénols pour les raisons suivantes ; (i) c'est une méthode qui satisfait aux critères de faisabilité et de reproductibilité, (ii) la disponibilité du réactif de Folin et la méthode est bien standardisée, (iii) la grande longueur d'onde (765 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré, (iv) c'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (**Huang et al ., 2005**). Si le dosage de **Folin-Ciocalteu** est simple à mettre en oeuvre et très sensible, il n'est cependant pas spécifique des polyphénols car il réagit avec les acides aminés (tyrosine et tryptophane) des protéines. De telles interférences peuvent être négligées car ces acides aminés aromatiques sont en proportions trop faibles par rapport aux composés phénoliques non protéiques dans les extraits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les résultats du dosage des phénols totaux sont représentés dans le tableau 17.

Tableau 17 : Teneur en phénols totaux des différents extraits étudiés

Extraits	Teneurs en phénols totaux (mg eq. ag/g d'extrait) *
Thé mexicain	100,875
Thym	385
Fenouil annuel	91

* mg équivalent d'acide gallique/g d'extrait

Les résultats du dosage des phénols totaux ont permis d'enregistrer de fortes teneurs pour l'ensemble des extraits étudiés, avec cependant des différences notables. Ainsi l'extrait de **thym** se distingue par **la plus forte teneur** en phénols totaux (**385 mg eq.ag /g d'extrait**) suivi par l'extrait du **thé mexicain** (**100,875 mg eq.ag /g d'extrait**) et enfin par celui du **fenouil annuel** avec une valeur de **91 mg eq.ag /g d'extrait**.

Les variations importantes des teneurs en phénols totaux du thym s'expliqueraient, en plus de l'aspect purement génétique, par des facteurs environnementaux tels que le climat, l'altitude, l'exposition etc...., qui influenceraient directement sur le métabolisme de la production des composés phénoliques (métabolites secondaires). Il faut cependant noter, qu'en plus des facteurs intrinsèques à la plante influençant la teneur en phénols totaux, les conditions et les méthodes d'extraction affectent directement la concentration finale en composés phénoliques (Albu et al., 2004 ; Wada et al., 2004). En général, la teneur en polyphénols d'un extrait dépend de la méthode d'extraction utilisée, de la nature du solvant ainsi que du matériel végétal utilisé (Hayouni et al., 2007).

4-2- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode au **trichlorure d'aluminium** en utilisant la courbe d'étalonnage établie pour la quercitrine.

La teneur en flavonoïdes des trois extraits étudiés est représentée dans le tableau 18.

Tableau 18 : Teneur en flavonoïdes totaux des différents extraits étudiés

Extraits	Teneurs en flavonoïdes totaux (mg eq. qr/g d'extrait) *
Thé mexicain	65
Thym	57,7
Fenouil annuel	33,75

* mg équivalent de quercitrine /g d'extrait

Les résultats du dosage des flavonoïdes des trois extraits étudiés révèlent de fortes teneurs en flavonoïdes.

L'extrait du **thé mexicain** occupe dans ce cas **la première place** avec une teneur en flavonoïdes totaux de **65 mg eq. qr /g** d'extrait, il est suivi par celui du **thym** avec une valeur de **57,7 mg eq. qr /g** d'extrait et enfin par celui du **fenouil** enregistrant une valeur de **33,75 mg eq. qr /g** d'extrait .

5- Evaluation de l'activité antioxydante

Pour cette partie, nous avons effectué en premier lieu une étude portant sur l'effet du chauffage sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus palleescens*, nous avons pour cela réalisé le test du **pouvoir réducteur** et celui de l'inhibition du radical **DPPH[•]** **sur quatre échantillons d'huile essentielle de thym** (sans chauffage et avec chauffage aux températures 100, 150 et 190 °C).

Nous nous sommes intéressés en second lieu à l'élaboration des extraits éthanoliques à partir des plantes étudiées dans le but de comparer leur activité antioxydante avec celle des huiles essentielles et de quelques antioxydants de synthèse (BHA, BHT, acide ascorbique). Nous avons donc procédé à l'étude de l'activité antioxydante in vitro du thym, du fenouil annuel et du thé mexicain par le biais de quatre méthodes :

- la mesure du pouvoir réducteur ;
- le test du DPPH[•] ;
- le test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) ;
- la mesure du pouvoir chélatant.

5-1- Etude de l'effet du chauffage sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé

5-1-1- Mesure du pouvoir réducteur des huiles essentielles de thym chauffées à différentes températures

Selon (Pin-Der-Duh, 1998), les groupements réductones sont connus pour être des terminators vis-à-vis des réactions en chaînes des radicaux libres.

Ces composés sont capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), céder des électrons et transformer les radicaux libres actifs en des produits stables (Dorman et al., 2004, Singh et al., 2006).

Cette partie du travail s'intéressera dans un premier lieu à la comparaison de la capacité réductrice des huiles essentielles étudiées à celle des antioxydants de synthèse (BHT, BHA).

Après comparaison du pouvoir réducteur des différents échantillons, on observera en second lieu, l'effet du chauffage sur la capacité réductrice des huiles essentielles étudiées.

Les résultats du pouvoir réducteur des huiles essentielles de thym, du BHT, et du BHA, exprimés par l'absorbance à 700 nm, sont résumés dans la figure 46.

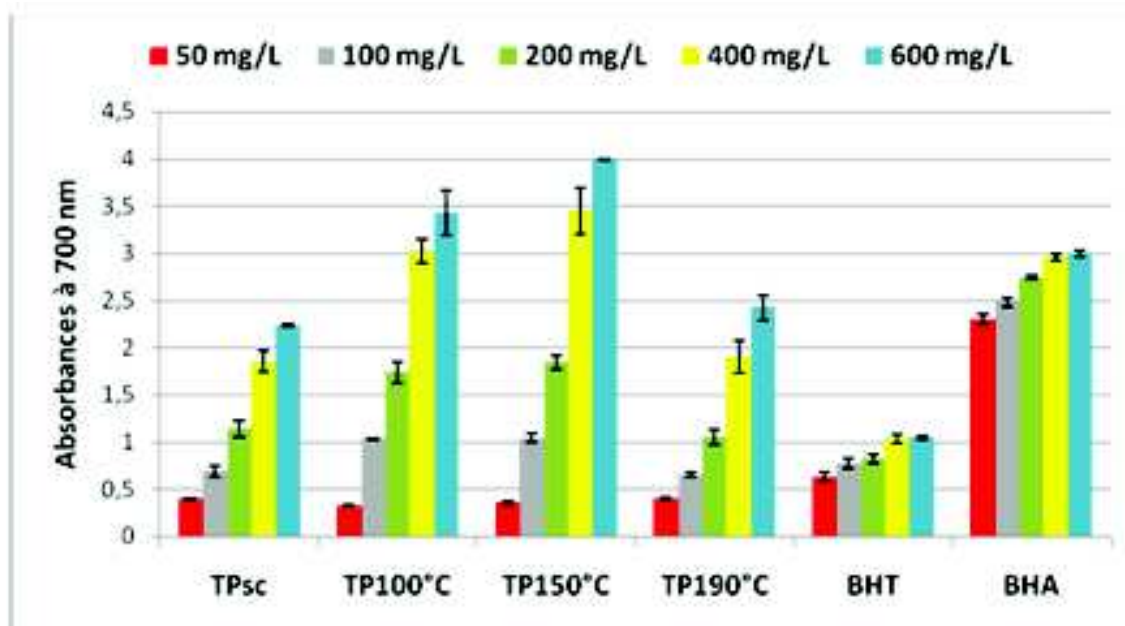


Figure 46 : Pouvoir réducteur des différents échantillons des huiles essentielles de *Thymus pallescens* de Noé et de deux antioxydants de synthèse (BHT, BHA)

BHT : Butyl Hydroxy Toluène ; **BHA :** Butyl Hydroxy Anisol ; **TPsc :** *Thymus pallescens* sans chauffage ; **TP100°C :** *Thymus pallescens* chauffé à 100°C ; **TP150°C :** *Thymus pallescens* chauffé à 150°C ; **TP190°C :** *Thymus pallescens* chauffé à 190°C.

A première vue, la figure 46 montre que le pouvoir réducteur des huiles essentielles de thym (TP sc , TP 100°C , TP 150°C , et TP 190°C) comparé à ceux des deux antioxydants de synthèse (BHT, BHA) augmente en fonction de leur concentration.

Pour les concentrations allant de 50 mg/L jusqu'à 200 mg/L, la capacité réductrice maximale est enregistrée avec le BHA (2,74 nm). On remarque que la capacité réductrice

du BHT est supérieure à celles des huiles essentielles de thym pour les concentrations de **50 mg/L** et de **100 mg/L**. Cependant, à partir de **200 mg/L**, les valeurs du **BHT** sont les plus faibles.

A partir de **400 mg/L**, la capacité réductrice **maximale** est enregistrée avec *Thymus pallescens* chauffé à **150 °C**.

Pour les quatre échantillons d'huiles essentielles étudiés, la capacité réductrice maximale est notée pour le *Thymus pallescens* chauffé à **150 °C**. Alors que la valeur minimale est notée pour le *Thymus pallescens* sans chauffage (**TP_{sc}**).

On remarque que les valeurs enregistrées à **50 mg/L** sont proches pour les quatre échantillons.

Le **BHA** présente l'efficacité la plus élevée à faible concentration comparée aux autres échantillons étudiés. Pour ce qui est du **BHT**, il a un pouvoir réducteur intermédiaire par rapport aux quatre échantillons d'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noétraités à la chaleur.

Afin de percevoir l'effet de la chaleur sur la capacité réductrice de l'huile essentielle de thym, il est préférable de classer les valeurs du pouvoir réducteur par ordre décroissant comme suit **TP_{150°C} > TP_{100°C} > TP_{190°C} > TP_{sc}**. On constate en premier lieu que l'efficacité la plus intéressante est donnée par l'huile essentielle de thym chauffée à **150 °C**.

On remarque en second lieu, que les deux huiles essentielles de thym chauffées à **100** et à **150 °C** ont des capacités réductrices équivalentes, leur composition similaire pourrait être à l'origine de cette équivalence de même que pour le couple huile essentielle de thym sans chauffage et chauffée à **190 °C**.

5-1-2-Activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) des huiles essentielles de thym chauffées à différentes températures

Ce test est très largement utilisé dans les études de l'activité antioxydante car il évite l'oxydation du substrat sur lequel on veut tester l'efficacité d'un antioxydant en choisissant de réduire un radical stable. Les résultats de ce test sont hautement reproductibles et comparables à d'autres méthodes de piégeage des radicaux libres.

Le radical **DPPH•** fixe un radical **H•** qu'il arrache à l'antioxydant **AH**. Ainsi, il perd sa couleur violette et son absorbance à **517 nm** pour se transformer en **DPPH-H** de couleur jaunâtre (**Figure 47**). Ce test a lieu directement dans la cuve du spectrophotomètre en milieu méthanolique ou éthanolique sans oxygénation et on peut suivre à des intervalles de temps réguliers la cinétique d'établissement de l'équilibre.

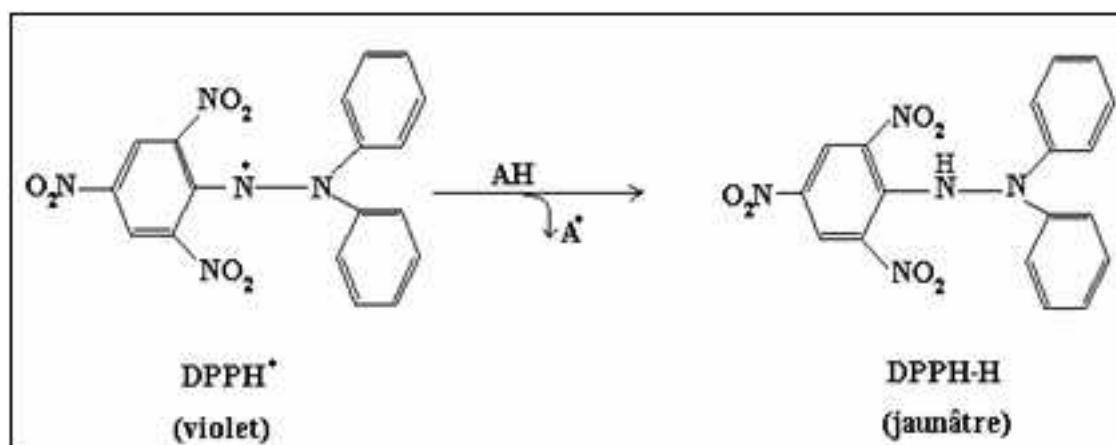


Figure 47 : Réaction du radical DPPH[•] avec un antioxydant AH

Les résultats du pouvoir de piégeage du DPPH[•] par les huiles essentielles de *Thymus pallescens* sans chauffage, et chauffées à différentes températures (100 °C, 150 °C, et 190 °C) comparés aux résultats du BHT sont présentés dans la figures 48.

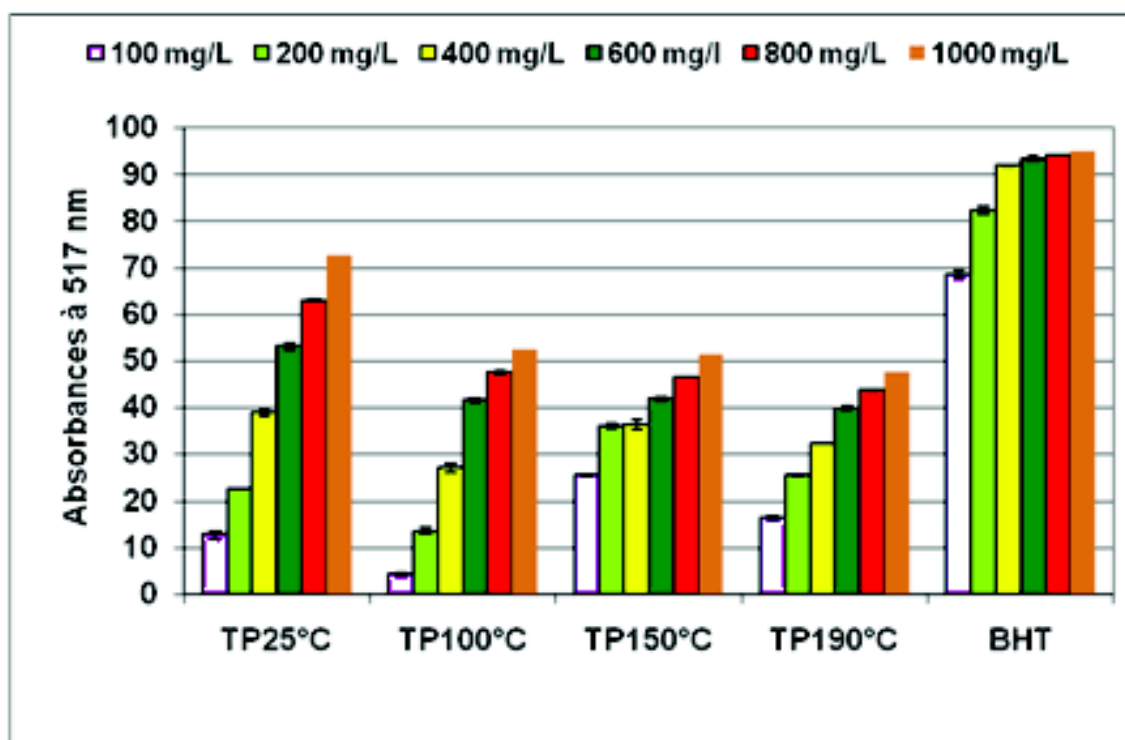


Figure 48 : Activité de piégeage du radical DPPH[•] du BHT et des échantillons de *Thymus pallescens* de Noé sans chauffage (TP25 °C) et avec chauffage aux températures 100 °C, 150 °C et 190 °C

BHT : Butyl Hydroxy Toluène ; **TP25°C** : *Thymus pallescens* sans chauffage ; **TP100°C** : *Thymus pallescens* chauffé à 100°C ; **TP150°C** : *Thymus pallescens* chauffé à 150°C ; **TP190°C** : *Thymus pallescens* chauffé à 190°C.

D'une façon générale, l'activité antioxydante des huiles essentielles étudiées, et du BHT augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration.

Pour une concentration de **100 mg/L**, l'échantillon le plus actif est celui chauffé à **150 °C** avec **25,4 %**. Tandis que la plus faible capacité à réduire le radical DPPH[•] par les échantillons testés est signalée pour l'huile essentielle chauffée à **100 °C**.

L'huile non traitée s'est montrée la plus active pour la concentration maximale de **1000 mg/L** avec une activité de **72,6 %**, tandis que pour la même concentration les huiles chauffées ont légèrement diminué d'activité en fonction de l'augmentation du chauffage (**100 °C : 53,2% ; 150 °C : 51,2 % ; 190 °C : 47,5 %**).

Cette tendance est en accord avec les résultats obtenus avec les huiles essentielles de la noix de muscade et de la cannelle chauffées à différentes températures (**80, 100, 120 et 180 °C pendant 3 heures**) (Tomaino et al. 2005). La diminution observée pour l'inhibition du radical DPPH[•] peut être attribuée partiellement aux légères diminutions des teneurs du composé phénolique principal (carvacrol) auquel est attribué un rôle important conjointement avec une synergie positive avec d'autres composés (Martino et al. 2010).

Malgré leur légère diminution en efficacité d'inhibition du radical DPPH[•], les huiles chauffées restent douées d'une activité importante, surtout pour la concentration de **1000 mg/L**.

Le **BHT**, manifeste une forte activité même à de faibles concentrations. Pour une concentration de **100 mg/L**, la valeur enregistrée est de **68,6 %** pour atteindre **95,0 %** à une concentration de **1000 mg/L**.

Les échantillons étudiés peuvent donc être classés par ordre décroissant selon leur activité antioxydante comme suit **BHT > TP_{sc} > TP 100°C , TP 150°C > TP 190°C**.

Lors de l'analyse de la composition chimique des quatre échantillons de l'huile essentielle de thym, on a noté que plus l'intensité du chauffage était importante plus la teneur en **carvacrol** diminuait. Ce qui explique alors la diminution de leur activité antioxydante puisque la littérature attribue un rôle prépondérant au **carvacrol**.

5-1-3- Comparaison de l'activité antioxydante pour 50 % d'inhibition des radicaux libres des différents échantillons étudiés

La concentration inhibitrice de 50 % des radicaux libres des différents échantillons étudiés est représentée dans le tableau 19.

Tableau 19 : Concentrations pour 50 % d'inhibition déterminées par le test du DPPH[•], du BHT et des différents échantillons de *Thymus pallescens* conservés à température ambiante et chauffés à différentes températures pendant 3 heures

Echantillons	TP _{sc}	TP 100°C	TP 150°C	TP 190°C	BHT
IC 50 (µg/mL)	512,1 ± 5,6	946 ± 7,1	962,9 ± 5	n.a.	28 ± 0,7

Les valeurs sont exprimées en moyenne ±SD de trois expériences différentes ; n.a. : ne sont pas disponibles ; **IC 50** : concentration pour 50% d'inhibition (µg/mL) ; **BHT** : Butyl Hydroxy Toluène ; **TP_{sc}** : *Thymus pallescens* sans chauffage ; **TP 100°C** : *Thymus pallescens* chauffé à 100°C ; **TP 150°C** : *Thymus pallescens* chauffé à 150°C ; **TP 190°C** : *Thymus pallescens* chauffé à 190°C.

Il apparaît d'après le tableau 19 que le **BHT** présente la **IC₅₀** la plus basse avec **28 µg/mL** suivie de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* sans chauffage avec **512,1 µg/mL**, puis de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* chauffée à 100 °C avec **946 µg/mL** et enfin de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* chauffée à 150 °C avec une valeur de **962,9 µg/mL**.

La capacité d'inhiber 50 % des radicaux DPPH • est très grande avec le BHT et l'huile non chauffée, par contre les huiles traitées manifestent une capacité qui est environ la moitié de celle de l'huile non chauffée.

5-2- Etude de l'activité antioxydante in vitro du thym, du fenouil annuel et du thé mexicain

5-2-1-Mesure du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur mesure la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), donc la mesure de l'aptitude d'une huile essentielle ou d'un extrait à interagir avec les espèces chimiques réactives en tant que donneur d'électrons tels que les radicaux libres. Ces radicaux ainsi réduits deviennent plus stables.

5-2-1-1- Pouvoir réducteur des HE des différentes espèces étudiées

Les résultats du pouvoir réducteur des huiles essentielles des trois espèces étudiées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique exprimés par l'absorbance à **700 nm** sont résumés dans la figure 49.

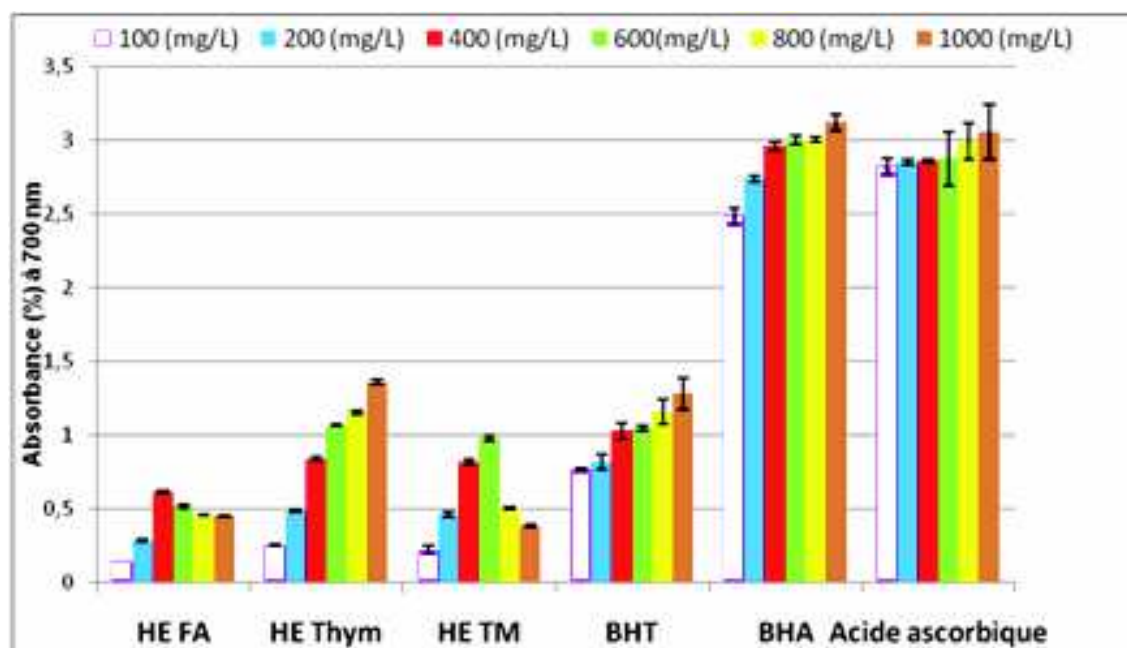


Figure 49 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles du fenouil annuel, du thym, du thé mexicain, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique

HE FA : huile essentielle fenouil annuel ; **HE TM** : huile essentielle thé mexicain ; **BHT** : Butyl Hydroxy Toluène ; **BHA** : Butyl Hydroxy Anisol.

D'après la figure 49, le pouvoir réducteur de l'**huile essentielle du thym**, du **BHT**, du **BHA** et de l'**acide ascorbique** augmente en fonction de leur concentration à l'inverse de l'activité réductrice de l'huile essentielle du **fenouil annuel** et du **thé mexicain** qui diminue respectivement à partir de **400 mg/L** et de **600 mg/L**. Cette diminution, s'explique d'après la littérature par le caractère pro-oxydant de certaines huiles essentielles à partir de certaines concentrations.

Pour les concentrations de **100** et de **200 mg/L**, la capacité réductrice maximale est enregistrée avec l'**acide ascorbique** (**2,823** et **2,850**). Celle-ci est suivie par celles du **BHA**, du **BHT**, et des huiles essentielles de **thym**, du **thé mexicain** et du **fenouil annuel**, notant la plus faible capacité réductrice avec **0,286**.

Nous remarquons par la suite qu'à partir de **400 mg/L**, la capacité réductrice maximale est enregistrée par le **BHA (3,121)** suivi par l'**acide ascorbique** qui enregistre à partir de **400 mg/L** une capacité réductrice supérieure à celle du **BHT**, de l'**huile essentielle du thym**, de l'**huile essentielle du thé mexicain** et de l'**huile essentielle du fenouil annuel**.

Nous notons par ailleurs, que le couple **BHT – huile essentielle de thym** présente des activités réductrices équivalentes, de même que pour le couple huile essentielle du thé mexicain – huile essentielle du fenouil annuel.

Pour les trois échantillons d'huiles essentielles étudiés, la capacité réductrice maximale est notée pour le thym enregistrant une valeur de **1,359**. Alors que la valeur minimale est notée pour l'huile essentielle du fenouil annuel (**0,142**).

Plusieurs auteurs attribuent le pouvoir réducteur des huiles essentielles à la présence de composés phénoliques (donneurs d'électrons) dans ces dernières (**Dorman et al., 2003**).

La capacité réductrice pourrait aussi être attribuée à d'autres types de composés, appelés réductones, ayant l'aptitude de céder des électrons (**Pin-Der-Duh, 1998**). Ces derniers correspondent à l'ensemble des substances, dont la structure chimique contient des fonctions énols issues de l'énolisation des composés cétoniques.

Analyse statistique

Tableau 20 : Résultats de l'analyse de la variance du pouvoir réducteur des différentes huiles essentielles étudiées du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Antioxydant	94139,399	3	31379,800	488042,430	0,000
Concentration	189,898	5	37,980	590,688	0,000
Antioxydant × Concentration	438,781	15	29,252	454,951	0,000
Erreur	3,086	48	0,064		

Le tableau 20 montre que le facteur **type d'antioxydant utilisé**, que la **concentration** ainsi que le facteur **interaction (type d'antioxydant × Concentration)** agissent de manière significative au seuil de 5 %.

5-2-1-2- Pouvoir réducteur des différents extraits des espèces étudiées

Les résultats du pouvoir réducteur des extraits des trois espèces étudiées, du BHT et de l'acide ascorbique exprimés par l'absorbance à 700 nm sont résumés dans la figure 50.

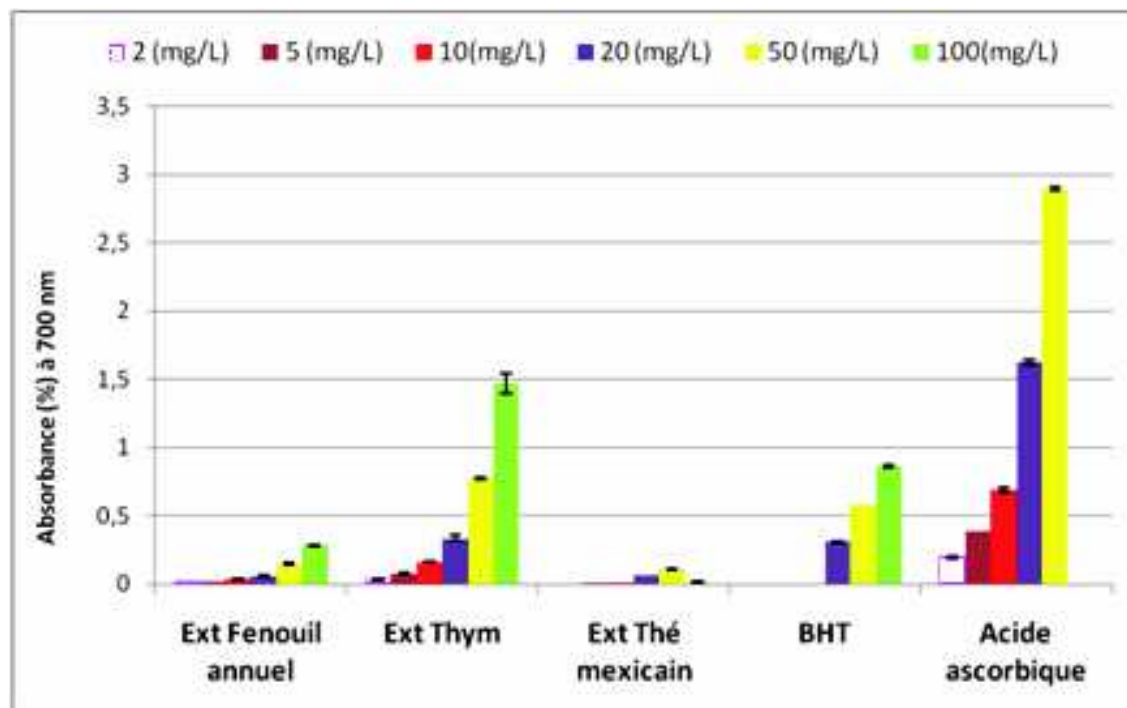


Figure 50 : Pouvoir réducteur des extraits du thym, du fenouil annuel, du thé mexicain, du BHT et de l'acide ascorbique

Ext : extrait ; BHT : Butyl Hydroxy Toluène.

Nous remarquons, d'après la figure 50, que le pouvoir réducteur de l'extrait du thym, du fenouil annuel, du BHT et de l'acide ascorbique augmente en fonction de leur concentration à l'inverse de l'activité réductrice de l'extrait du thé mexicain qui diminue respectivement à partir de 50 mg/L.

Cette diminution, s'explique d'après la littérature par le caractère pro-oxydant de l'extrait du thé mexicain à partir de certaines concentrations, résultat appuyé par celui obtenu pour l'huile essentielle du thé mexicain.

Pour l'ensemble des concentrations, la capacité réductrice maximale est notée pour l'acide ascorbique enregistrant une valeur de 1,359. Cette dernière est suivie par l'extrait de thym et par le BHT.

Pour les trois échantillons d'extraits étudiés, la capacité réductrice maximale est notée pour l'extrait de thym avec une valeur de 1,470. Alors que la valeur minimale est notée pour l'extrait du thé mexicain (0,008).

On remarque que la capacité réductrice des huiles essentielles est nettement supérieure à celle des extraits à l'exception du thym où la capacité réductrice de l'extrait de thym est supérieure à celle de l'huile essentielle particulièrement pour les concentrations les plus élevées (50 et 100 mg/L).

Le thym enregistre par ailleurs la plus importante capacité réductrice dans le cas des extraits et des huiles essentielles.

On note aussi que l'extrait et l'huile essentielle du thé mexicain ont exprimé le même comportement à savoir une augmentation de la capacité réductrice puis une diminution à des concentrations élevées.

L'huile essentielle du fenouil annuel n'a par contre pas eu le même comportement que l'extrait, du moment où la capacité réductrice de l'extrait du fenouil annuel augmente en fonction de la concentration alors que celle de l'huile essentielle atteint un maximum de 0,617 à une concentration de 400 mg/L pour ensuite diminuer pour les concentrations les plus élevées.

La capacité réductrice des huiles essentielles et des extraits du fenouil annuel et du thé mexicain par rapport à l'acide ascorbique, au BHA et au BHT (connus pour leur fort pouvoir réducteur) reste cependant relativement faible.

Exception faite pour l'extrait et l'huile essentielle du thym où l'extrait enregistre une capacité réductrice équivalente à celle du BHT pour une concentration de 20 mg/L, et nettement supérieure à celle du BHT pour des concentrations de 50 et de 100 mg/L. La capacité réductrice de l'huile essentielle du thym est supérieure à celle du BHT pour les concentrations de 600 et de 1000 mg/L.

Analyse statistique

Tableau 21: Résultats de l'analyse de la variance du pouvoir réducteur des extraits étudiés étudiées du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique :

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Antioxydant	24322,149	3	8107,383	92382,960	0,000
Concentration	877,913	5	175,583	2000,750	0,000
Antioxydant * Concentration	2363,284	13	181,791	2071,494	0,000
Erreur	3,861	44	0,088		

Le tableau 21 montre que le facteur **type d'antioxydant utilisé**, la **concentration** ainsi que le facteur **interaction (type d'antioxydant × Concentration)** agissent de manière significative au seuil de 5 %.

5-2-2- Activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH●)

5-2-2-1- Activité de piégeage du radical DPPH● des différentes huiles essentielles étudiées

Les résultats de l'évaluation de l'activité de piégeage du radical DPPH● par les huiles essentielles et le BHT sont résumés dans la figure 51.

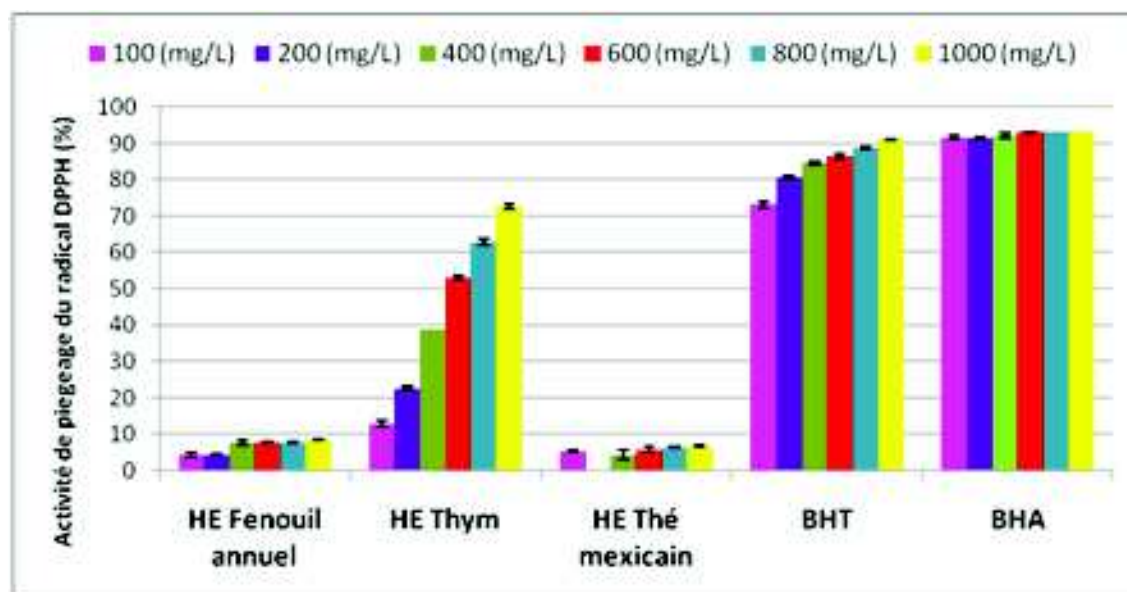


Figure 51 : Activité de piégeage du radical DPPH• des huiles essentielles du thym, du fenouil annuel, du thé mexicain, du BHT et du BHA

HE : huile essentielle ; BHT : Butyl Hydroxy Toluène. ; BHA : Butyl Hydroxy Anisol.

D'une façon générale, l'activité antioxydante des huiles essentielles étudiées, du BHT et du BHA augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration.

Nous remarquons en premier lieu d'après la figure 51 que l'huile essentielle du thym enregistre l'activité antioxydante la plus élevée à toutes les concentrations allant de 12,8 % à 100 mg/L pour atteindre les 72,6 % à une concentration de 1000 mg/L.

La capacité antioxydante de l'huile essentielle du thé mexicain est supérieure à celle de l'huile essentielle du fenouil annuel pour les concentrations de 100 et de 200 mg/L. L'inverse se produit lorsque la concentration dépasse les 200 mg/L, on remarque dans ce cas là que le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle du fenouil annuel dépasse celui de l'huile essentielle du thé mexicain pour les concentrations de 400, 600, 800 et 1000 mg/L. Cependant, pour toute la gamme des concentrations la capacité réductrice des huiles de ces deux plantes reste très faible en variant entre un minimum de 4,27% et 8,43 %.

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles du fenouil annuel, du thym et du thé mexicain par rapport au BHT et au BHA (connus pour leur fort pouvoir réducteur) reste cependant relativement faible.

Analyse statistique

Tableau 22 : Résultats de l'analyse de la variance de l'activité de piégeage du radical DPPH des différentes huiles essentielles comparée à celle du BHT et du BHA

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Antioxydant	75677,955	3	25225,985	71551,801	0,000
Concentration	4053,380	5	810,676	2299,428	0,000
Antioxydant × Concentration	4876,056	15	325,070	922,040	0,000
Erreur	16,923	48	0,353		

Le tableau 22 montre que le facteur **type d'antioxydant utilisé**, que la **concentration** ainsi que le facteur **interaction (type d'antioxydant × Concentration)** agissent de manière significative sur l'activité de piégeage du radical DPPH au seuil de 5 %.

5-2-2-2-Activité de piégeage du radical DPPH• des différents extraits étudiés

Les résultats de l'évaluation de l'activité de piégeage du radical DPPH • par les différents extraits étudiés et le BHT sont résumés dans la figure 52.

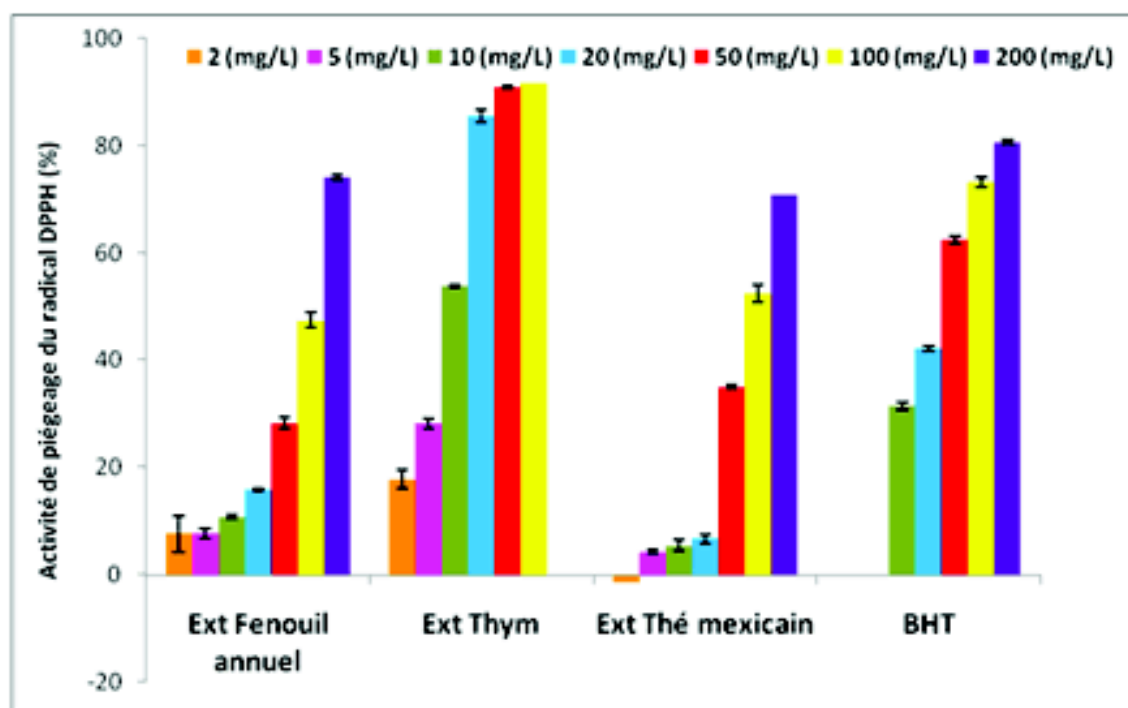


Figure 52 : Activité de piégeage du radical DPPH• du BHT et des extraits éthanoliques du thym, du thé mexicain et du fenouil annuel

Ext : extrait ; **BHT** : Butyl Hydroxy Toluène.

D'une façon générale, l'activité antioxydante des **trois échantillons** d'extraits étudiés, et du **BHT** augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration.

L'extrait de thym enregistre l'activité antioxydante la plus élevée pour toutes les concentrations, allant de 17,79 % pour une concentration de 2 mg/L à plus de 91,703 % pour une concentration de plus de 100 mg/L.

Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé)

Nous notons de plus que l'extrait de thym se révèle être encore plus efficace que le BHT. En effet, pour une faible concentration, telle que 10 mg/L, l'activité d'inhibition du radical DPPH[•] de l'extrait de thym est de **53,76 %** alors que celle du **BHT** n'est que de **31,40 %**.

Concernant les extraits de fenouil annuel et de thé mexicain, nous remarquons que l'activité antioxydante de l'extrait du fenouil annuel dépasse celle de l'extrait du thé mexicain pour les concentrations de **2, 5, 10, 20** et 200 mg/L. Cette tendance s'inverse toutefois pour les concentrations de 50 et de 100 mg/L. L'activité antioxydante des extraits de fenouil annuel et de thé mexicain par rapport au BHT (connu pour son fort pouvoir réducteur) reste cependant relativement faible pour les concentrations allant de 2 à 100 mg/L, cette activité se rapproche tout de même de celle du BHT pour une concentration de 200 mg/L où les capacités antioxydantes sont de l'ordre de 74,10 % pour l'extrait du fenouil annuel, de 70,76 % pour l'extrait du thé mexicain et de 80,62 % pour le BHT.

Analyse statistique

Tableau 23 : Résultats de l'analyse de la variance de l'activité de piégeage du radical DPPH[•] des différents extraits étudiés comparée à celle du BHT

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Antioxydant	22655,271	3	7551,757	6841,706	0,000
Concentration	41411,712	6	6901,952	6252,999	0,000
Antioxydant * Concentration	5708,888	15	380,593	344,808	0,000
Erreur	55,189	50	1,104		

Le tableau 23 montre que le type d'antioxydant utilisé, que la concentration ainsi que le facteur interaction (type d'antioxydant × Concentration) agissent de manière significative sur l'activité de piégeage du radical DPPH[•] au seuil de 5 %.

5-2-2-3- Comparaison de la concentration inhibitrice de 50 % d'inhibition des radicaux libres des extraits non volatils des différents échantillons étudiés

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 24.

	Echantillons			
	Ext Thym	Ext Fenouil annuel	Ext Thé mexicain	BHT
*IC₅₀ (µg/mL)	8,68 ± 0,19	110,91 ± 2,19	103,67 ± 3,58	28 ± 0,7

* : Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD de trois expériences différentes ; IC₅₀ : Concentration pour 50 % d'inhibition (µg/mL) ; Ext : extrait ; BHT : Butyl Hydroxy Toluène.

Tableau 24 : Concentrations pour 50 % d'inhibition du radical DPPH[•], par le BHT, et les extraits du thym, du fenouil annuel et du thé mexicain.

D'après le tableau 24, il apparaît que l'extrait de thym présente la **IC₅₀** la plus basse avec **8,68 µg/mL**, suivie du **BHT** avec **28 µg/mL**, de l'extrait de thé mexicain (**103,67 µg/mL**) et de l'extrait du fenouil annuel (**110,91 µg/mL**).

Ces **IC₅₀** peuvent être expliquées par les fortes teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes du thym, du thé mexicain et du fenouil annuel. En effet, ces polyphénols sont considérés comme d'excellents antioxydants, dont les propriétés oxydo-réducteurs leurs permettent d'agir comme des agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et inhibiteurs de l'oxygènesingulet et triplet (**Pietta, 2000**).

La capacité des flavonoïdes ainsi que des phénols totaux à piéger les radicaux libres s'explique par leurs structures chimiques comportant un nombre important d'atomes d'hydrogène, des groupements hydroxylés, des noyaux phényles qui seraient capables de capter les radicaux libres en démobilisant leurs électrons célibataires (**Calliste et al., 2001, Torres de Pinedo et al., 2007 ; Wojdyło et al., 2007**).

6- Test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

Parmi les conséquences de l'oxydation des lipides, il y a la formation de produits secondaires d'oxydation, dont les aldéhydes en font partie. Il y a plusieurs méthodes pour analyser les différents produits secondaires (analyse sensorielle, analyse des aldéhydes, analyse des produits volatils).

Pour l'analyse des aldéhydes, le test qui a été et qui demeure le plus répandu des tests de mesure du degré d'oxydation des acides gras insaturés est celui de la réaction au TBA (acide thiobarbiturique), avec parfois de légères modifications. Ce test a été réalisé sur différents substrats riches en lipides oxydables parmi lesquels on peut citer le saindoux, le cholestérol, les matières grasses, l'acide linoléique, les huiles végétales, le jaune d'œuf, le foie de rat etc. (Madsen, Bertelsen, 1995).

Dans le test de l'acide 2- thiobarbiturique (TBA), une molécule de malonalaldéhyde (MA) réagit avec deux molécules d'acide thiobarbiturique pour former un complexe de couleur rose à rouge absorbant à **532 nm (Figure 53)**. Il est à noter que l'expression souvent employée dans la littérature de malondialdéhyde (MDA) est incorrecte, puisqu'il s'agit d'un monoénol/monoaldéhyde (**Berset, Cuvelier, 1996**).

La molécule de malonalaldéhyde (MA) se formerait uniquement à partir des acides gras comportant au moins trois doubles liaisons. De ce fait, le test au TBA ne prend pas en compte les dérivés du linoléate ou de l'oléate. Mais, le MA n'est pas le seul produit d'oxydation à réagir avec le TBA : les 4-hydroxyalkénals, les 2-4-alkadiénals, les 2-alkénals forment également un chromogène (**Hoyland, Taylor, 1991**). C'est la raison pour laquelle on préfère parler de « **substances réactives au TBA : SRTBA** », ou de **TBARS** en anglais (Thiobarbituric Acid Reactive Substances).

Dans tous les cas, la réaction a lieu en milieu acide et à haute température (95 – 100 °C) dans le but d'accélérer la vitesse et d'augmenter la sensibilité .

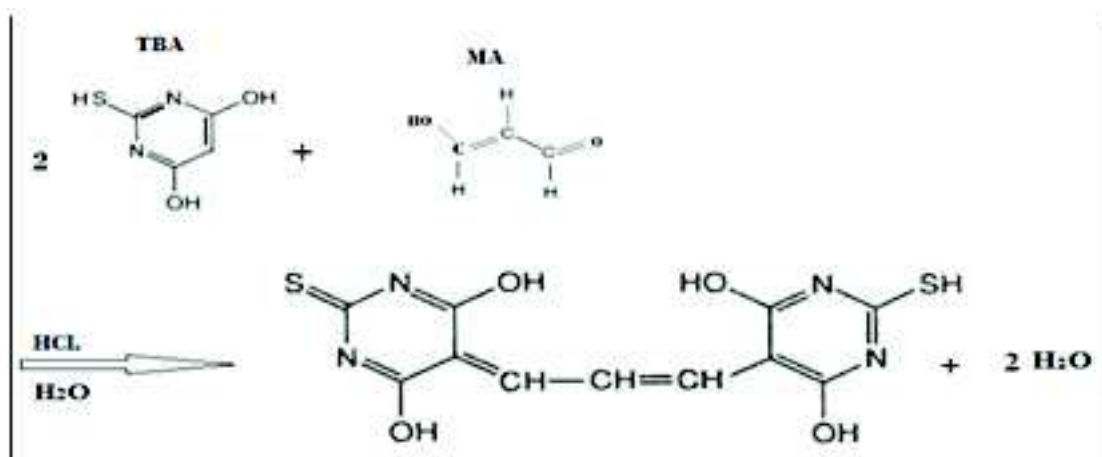


Figure 53 : Réaction du TBA avec le malonaldéhyde pour former un chromogène

6-1- Cas des différentes huiles essentielles étudiées

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante (%) des différentes huiles essentielles étudiées (thym, fenouil annuel, thé mexicain) comparée à celle du BHT en utilisant le test des substances réactives à l'aide de l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont présentés dans le tableau 25 et la figure 54.

Concentration (mg/L)	Activité antioxydante (%)*			
	HE Fenouil annuel	HE Thym	HE Thé mexicain	BHT
20	ND	23,423 ± 0,900	ND	-
50	ND	34,084 ± 1,133	ND	61,036 ± 3,105
100	29,729 ± 1,624	55,105 ± 0,937	21,195 ± 4,103	73,1 ± 0,8
200	12,012 ± 4,185	64,414 ± 0,780	33,876 ± 0,830	80,6 ± 0,3
400	-20,270 ± 0,688	77,627 ± 0,937	36,050 ± 1,131	84,7 ± 0,5
600	-71,321 ± 3,831	76,576 ± 0,780	9,057 ± 1,367	86,3 ± 0,6
800	-119,369 ± 2,064	83,333 ± 1,191	-4,166 ± 1,568	88,8 ± 0,3
1000	-142,792 ± 0,450	84,084 ± 1,581	-18,659 ± 1,568	91,1 ± 0,1

* : Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD de trois expériences différentes ; BHT : Butyl Hydroxy Toluène ; HE : huile essentielle ; ND : non définie.

Tableau 25 : Activité antioxydante (%) du BHT et des différentes huiles essentielles étudiées à différentes concentrations (mg/L) en utilisant le test BARS

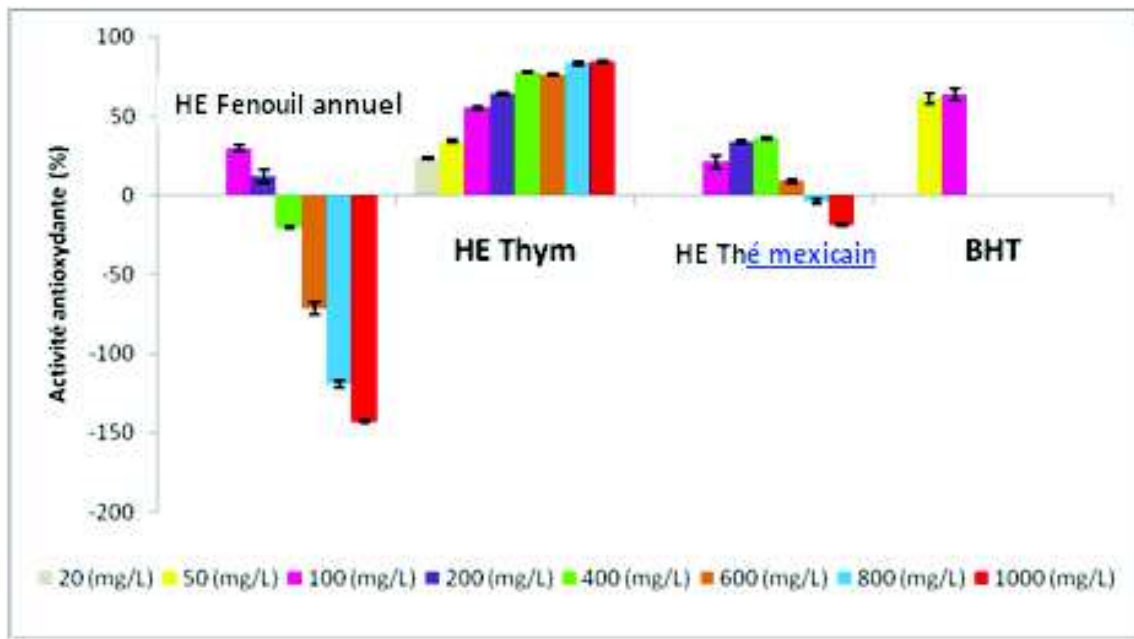


Figure 54 : Activité antioxydante (%) du BHT et des huiles essentielles du thym, du fenouil annuel et du thé mexicain en utilisant le test TBARS

L'activité antioxydante de l'**huile essentielle de thym** et du **BHT** augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration. L'huile essentielle du *Thymus palleescens* enregistre les plus hautes valeurs atteignant une activité antioxydante de **84,08 %** pour une concentration de **1 000 mg/L**. Cette activité est néanmoins plus faible que celle du BHT, particulièrement pour les concentrations de 50 et de 200 mg/L.

La capacité réductrice des huiles essentielles du fenouil annuel et du thé mexicain par rapport au BHT est très faible pour l'ensemble des concentrations.

Les huiles essentielles du fenouil annuel et du thé mexicain ont toutefois eu des comportements différents. Nous observons en effet d'après la figure 56 que l'activité antioxydante de l'huile essentielle du fenouil annuel diminue avec l'augmentation des concentrations enregistrant une valeur de **29,72 %** pour une concentration de **100 mg/L**, et une valeur de **-142,79 %** pour une concentration de **1000 mg/L**.

Alors que l'activité antioxydante de l'huile essentielle du thé mexicain traverse deux phases de progression, l'une positive connaissant ainsi une augmentation proportionnelle à celle de la concentration atteignant une activité antioxydante maximale de **36,05 %** pour une concentration de **400 mg/L**, l'autre négative enregistrant à partir de **400 mg/L** des activités antioxydantes négatives atteignant une valeur de **-18,65 %** pour une concentration de **1000 mg/L**.

Des résultats presque similaires ont été retrouvés dans les travaux de **Miguel et al . (2004)**. Portant sur l'évaluation de l'activité antioxydante de *Thymus caespititius*, de *Thymus camphoratus* et de *Thymus mastichina* par le biais du test du TBARS (en présence de l'initiateur de radicaux ABAP), ces travaux ont démontré que les huiles essentielles de *Thymus caespititius* et de *Thymus mastichina* enregistrent des activités antioxydantes négatives.

Thymus caespititius enregistre ainsi une activité antioxydante de **-35,7 %** pour une concentration de **62,5 mg/L**, celle-ci remonte ensuite pour atteindre une valeur de **42,0 %** à une concentration de **500 mg/L**.

L'huile essentielle de *Thymus mastichina* note par ailleurs des activités antioxydantes de **-19,5 %** pour une concentration de **62,5 mg/L**, de **-14,7 %** pour une concentration de **125 mg/L** et de **-9,6 %** pour celle de **250 mg/L**.

L'activité antioxydante de cette espèce atteint toutefois une valeur positive (**16,0 %**) pour une concentration de **500 mg/L**.

Ces auteurs indiquent qu'il est nécessaire de réaliser des travaux supplémentaires afin de pouvoir clarifier le comportement pro-oxydant de *T. caespititius* (**62,5 mg/L**) et de *T. mastichina* (**62,5, 125 et 250 mg/L**).

On en déduit ainsi que l'**huile essentielle de thym** possède une **activité antioxydante appréciable** pour l'**ensemble des concentrations** étudiées, alors que l'huile essentielle du **fenouil annuel** exprime un caractère antioxydant jusqu'à une concentration de **200 mg/L**, au delà de cette concentration, elle **se comportera comme une entité pro-oxydante**. L'huile essentielle du thé mexicain enregistre par ailleurs le même comportement que l'huile essentielle du fenouil annuel, celle-ci enregistre toutefois une activité antioxydante maximale à une concentration de **400 mg/L**, pour connaître par la suite une diminution la menant à des activités négatives, exprimant ainsi un caractère pro-oxydant à partir d'une concentration de **600 mg/L**.

Analyse statistique

Tableau 26 : Résultats de l'analyse de la variance de l'activité antioxydante (%) du BHT et des différentes huiles essentielles étudiées à différentes concentrations (mg/L) en utilisant le test TBARS

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Antioxydant	94139,399	3	31379,800	488042,430	0,000
Concentration	189,898	5	37,980	590,688	0,000
Antioxydant × Concentration	438,781	15	29,252	454,951	0,000
Erreur	3,086	48	0,064		

Le tableau 26 montre que le type d'antioxydant utilisé, que la concentration ainsi que le facteur interaction (type d'antioxydant × Concentration) agissent de manière significative sur l'activité antioxydante des différents échantillons étudiés au seuil de 5 %.

6-2- Cas des différents extraits étudiés

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante (%) des différents extraits étudiés (thym, fenouil annuel, thé mexicain) comparée à celle du BHT en utilisant le test des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) sont présentés dans le tableau 27 et la figure 55.

Concentration (mg/L)	Activité antioxydante (%)*			
	Ext Fenouil annuel	Ext Thym	Ext Thé mexicain	BHT
5	10,377 ± 2,050	1,675 ± 0,558	13,565 ± 6,216	ND
10	16,981 ± 0,943	2,979 ± 0,853	0,193 ± 4,440	ND
20	15,880 ± 0,544	22,346 ± 0,322	7,364 ± 5,823	ND
50	17,452 ± 0,471	24,022 ± 0,00	2,131 ± 2,747	61,036 ± 3,105
100	18,867 ± 0,943	26,443 ± 2,257	12,596 ± 2,201	63,867 ± 3,720
200	21,069 ± 1,187	33,147 ± 1,405	10,658 ± 0,888	84,7 ± 0,5
400	ND	ND	-6,976 ± 1,162	86,3 ± 0,6

*Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD de trois expériences différentes ; **BHT** Butyl Hydroxy Toluène ; Ext : extrait ; **ND** : non définie.

Tableau 27 : Activité antioxydante (%) du BHT et des extraits non volatils du thym, du thé mexicain et du fenouil annuel à différentes concentrations (mg/L) en utilisant le test TBARS

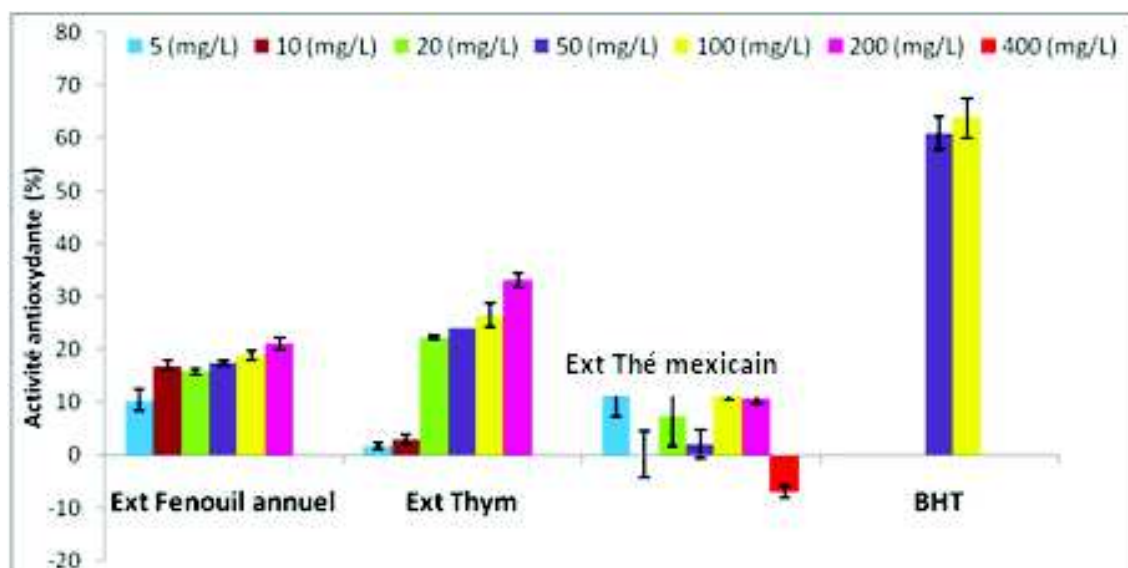


Figure 55 : Activité antioxydante (%) du BHT et des extraits non volatils du thym, du thé mexicain et du fenouil annuel étudiés à différentes concentrations (mg/L) en utilisant le test TBARS

L'activité antioxydante de l'extrait de thym, de l'extrait du fenouil annuel ___ et du BHT augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration.

L'extrait de thym enregistre ainsi d'une façon générale des activités antioxydantes supérieures à celles du fenouil et du thé mexicain, sauf pour la concentration de **5 mg/L** où l'extrait du thé mexicain se montre plus efficace que celui du thym enregistrant une activité antioxydante de **13,56 %** contre une activité de **1,67 %** pour le thym. Notons toutefois, que par la suite c'est l'extrait du fenouil annuel qui se montre beaucoup plus efficace que ceux du thym et du thé mexicain enregistrant à une concentration de **10 mg/L** une activité

antioxydante de **16,98 %** contre **2,97 %** pour l'extrait de thym et **0,19 %** pour l'extrait du thé mexicain.

Nous observons d'après la figure 57 que les activités antioxydantes enregistrées pour l'extrait de thé mexicain n'ont pas eu un comportement proportionnel à l'augmentation des concentrations. En effet, on remarque d'après le tableau 27 que l'activité antioxydante de l'extrait de thé mexicain a un comportement en dents de scie.

On en déduit d'une façon générale que c'est l'extrait du thym qui enregistre les activités antioxydantes les plus importantes. Il est suivi par l'extrait du fenouil annuel dont l'activité antioxydante reste plus ou moins équivalente et moyenne pour les concentrations allant de 10 à 100 mg/L. L'extrait de thé mexicain enregistre globalement les plus faibles activités antioxydantes, allant même jusqu'à l'expression d'un caractère pro-oxydant pour les concentrations de plus de 200 mg/L.

On note enfin que les huiles essentielles n'ont pas eu le même comportement que les extraits, exception faite pour le thym qui enregistre les meilleurs résultats pour les deux formes, à savoir huile essentielle ou extrait, et pour le thé mexicain où l'huile essentielle et l'extrait expriment un caractère pro-oxydant à partir de 200 mg/L pour l'extrait et à partir de 400 mg/L pour l'huile essentielle.

L'huile essentielle du fenouil annuel exprime pour de faibles concentrations un caractère antioxydant, et se comporte comme une entité pro-oxydante pour de fortes concentrations, alors que l'extrait de cette même plante exprime une activité antioxydante notée pour l'ensemble des concentrations.

Analyse statistique

Tableau 28 : Résultats de l'analyse de la variance de l'activité antioxydante (%) du BHT et des différents extraits étudiés à différentes concentrations (mg/L) en utilisant le test TBARS

Source	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
Antioxydant	24322,149	3	8107,383	92382,960	0,000
Concentration	877,913	5	175,583	2000,750	0,000
Antioxydant × Concentration	2363,284	13	181,791	2071,494	0,000
Erreur	3,861	44	0,088		

Le tableau 28 montre que le facteur type d'antioxydant utilisé, que la concentration ainsi que le facteur interaction (type d'antioxydant × Concentration) agissent de manière significative sur l'activité antioxydante des différents échantillons étudiés au seuil de 5 %.

7- Mesure du pouvoir chélatant

La capacité chélatrice des extraits a été mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de **Carter (1971)**.

Le test de chélation à la ferrozine est un test colorimétrique basé sur la coloration de l'ion ferreux **Fe²⁺** par la ferrozine (**Riemer et al., 2004**).

Une intense couleur magenta apparaît lorsqu'un complexe chromophore rouge (Fe (II)-Ferrozine), ayant une absorption maximale à **562 nm**, est formé avec le fer résiduel (**Fe²⁺**).

7-1- Pouvoir chélatant des différents extraits étudiés

La méthode **Carter (1971)** indique que les valeurs obtenues doivent aller en diminuant (c'est-à-dire en sens inverse avec les concentrations), ainsi la concentration la plus élevée devra donner l'absorbance la plus faible et donc le pouvoir chélatant le moins important. Dans notre étude nous avons obtenu l'inverse de ce que la méthode préconise : **les concentrations les plus faibles des extraits étudiés nous ont donné les valeurs d'absorbance les plus faibles.**

7-2- Pouvoir chélatant des différentes huiles essentielles étudiées

Les résultats obtenus pour les échantillons d'huiles essentielles étudiées n'ont par contre indiqué aucune régularité dans l'évolution de l'absorbance. Les différentes huiles essentielles n'ont enregistré aucun pouvoir chélatant.

On en déduit que les extraits et les huiles essentielles de thym, de fenouil annuel et de thé mexicain n'ont enregistré aucune activité de chélation des métaux appréciée à l'aide de la méthode de **Carter (1971)**. D'autres études évaluant le pouvoir chélatant du *Thymus capitatus*, du BHT ainsi que du BHA, à l'aide de la même méthode, n'ont aussi démontré l'existence d'aucune activité chélatrice (**Bounatirou et al ., 2007**). Les résultats obtenus dans cette étude sont justifiés par le fait que l'huile essentielle de *Thymus capitatus* soit un mono-hydroxylés n'étant pas en mesure de former un complexe avec l'ion ferreux **Fe²⁺**.

Les travaux de **Tepe et al . (2011)** mesurant le pouvoir chélatant des huiles essentielles de *Thymus hyemalis* et de *Thymus boveii* n'ont également donné aucun résultat. Ainsi, seul l'EDTA a enregistré un pouvoir chélatant de **99,42 %** à une concentration de **0,25 mg/L**. Ces auteurs supposent ainsi l'existence de divers composés mineurs pouvant avoir un impact majeur dans l'expression de l'activité antioxydante.

L'ensemble des résultats cités précédemment sont toutefois en contraste avec ceux rapportés par certains auteurs (**Gülçin Şat et al ., 2004**) qui montrent que le BHT et le BHA enregistrent d'importantes capacités de chélation des métaux (**72 %** et **59 %**, respectivement).

Conclusion

L'oxydation des lipides est l'un des processus de base causant le rancissement des produits alimentaires. Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments, dont la dégradation peut avoir des conséquences néfastes en matière de sécurité alimentaire. Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielles auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antioxydantes.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antioxydants des huiles essentielles et extraits éthanoliques bruts de thym (*Thymus pallescens* de Noé), du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et du fenouil annuel (*Ammi visnaga* Lamk.).

Dans la première partie de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'observation au microscope photonique des coupes histologiques au niveau de la tige et de la feuille de chaque plante, qui a révélé l'existence de poils sécréteurs, tecteurs et glandulaires situés sur la surface épidermique.

Dans la seconde partie, afin de tester l'effet du chauffage sur la composition chimique et l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé, nous avons procédé au chauffage de cette huile pendant trois heures aux températures respectives de **100**, **150** et **190 °C**. Par la suite, nous avons comparé ces trois échantillons avec un quatrième laissé à température ambiante. Nous avons également procédé au dosage des composés phénoliques des extraits obtenus.

L'analyse qualitative par **CPG** des huiles essentielles des échantillons étudiées révèle la présence de **52** composés dans les différentes huiles essentielles de thym (sans chauffage et avec chauffage à 100, 150 et à 190 °C), de **52** composés pour le fenouil annuel et de **24** composés pour le thé mexicain.

L'analyse semi quantitative par **CG/SM** de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé de la région de Kadiria (Bouira) nous a permis d'identifier et de quantifier trois constituants majoritaires à savoir **le carvacrol (44,1 %)**, **le p-cymène (10,0 %)** et **le γ -terpinène (7,9 %)**. On en déduit que l'huile essentielle de thym est un **chénotype à carvacrol**.

L'effet du chauffage s'est traduit par la variation de la composition chimique entre les quatre échantillons d'**huile essentielle de thym**. La variation la plus importante est attribuée au **γ -terpinène** avec une différence de **2,6 %**, suivi par **le β -myrcène** avec **1,3 %**, **le carvacrol** avec **1,2 %** et **l' α -terpinène** avec **1,1 %**. Le reste de l'huile essentielle est constituée par un grand nombre de composés dont la variation reste inférieure ou égale à **1 %**. Les variations entre les échantillons de **25 °C**, **100 °C**, et **150 °C** sont faibles. Par ailleurs, les variations de ces trois échantillons avec celui chauffé à **190 °C** sont notables.

Il apparaît pour ce qui est de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* Lamk. de la région de Tessala El-Merdja (Blida) que celle-ci est caractérisée par la dominance du **Cembrene** enregistrant une teneur de **50,7 %**. Ce composé majoritaire est suivi par le **Linalool** avec une teneur de **14,5 %**, et par **l'Amyl isovalérate** avec une teneur de **3,0 %**.

On note d'autre part que l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* L. de la région de l'Arbatache (Boumerdes) est caractérisée par la dominance du **Terpinolène** enregistrant une teneur de **27,1 %** et du **p-Cymène** avec une teneur de **26,4 %**. Ces deux composés majoritaires sont suivis par l'**Ascaridole** et l'**α-Terpinène** avec des teneurs de **23,3** et **18,3 %**, respectivement.

Les résultats du dosage des phénols totaux ont permis d'enregistrer de fortes teneurs pour l'ensemble des extraits étudiés, avec cependant des différences notables. Ainsi l'**extrait de thym** se distingue par la plus forte teneur en phénols totaux suivi par l'**extrait du thé mexicain** et enfin par celui du **fenouil annuel**. Les résultats du dosage des flavonoïdes des trois extraits étudiés révèlent de fortes teneurs en flavonoïdes.

Selon diverses études, la forte teneur en phénols totaux des extraits est attribuée aux proportions importantes de certains composés phénoliques. Cependant, étant donné la complexité de la composition chimique des huiles essentielles, la corrélation entre l'activité antioxydante et les composants de l'extrait est difficile à établir. Tous les auteurs s'accordent à dire que les phénols jouent un rôle très important dans l'activité antioxydante des extraits, sans qu'ils soient les seuls responsables de cette activité parfois très différente et imprévisible. Ces différences ont été relevées dans plusieurs travaux rapportés dans la littérature et attribuées à des composés mineurs qui pourraient jouer un rôle de **synergie** prooxydante ou antioxydante. Le rôle des composés non identifiés de la fraction lourde de l'huile essentielle n'est jamais mentionné dans la littérature, or nous avons constaté que les grands changements de la composition des huiles sont opérés sur cette fraction. Cette dernière pourrait donc bien être l'une des sources principales des variations des activités.

Dans la troisième partie de notre travail, nous avons effectué en premier lieu une étude portant sur l'effet du chauffage sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé, nous avons pour cela réalisé le test du **pouvoir réducteur** et de celui du radical **DPPH[•]** **sur quatre échantillons d'huile essentielle de thym** (sans chauffage et avec chauffage aux températures 100, 150 et 190 °C).

Nous nous sommes intéressés en second lieu à l'élaboration des extraits éthanoliques à partir des plantes étudiées dans le but de comparer leur activité antioxydante avec celle des huiles essentielles et de quelques antioxydants de synthèse (BHA, BHT, acide ascorbique) nous avons donc procédé à l'étude de l'activité antioxydante in vitro du thym, du fenouil annuel et du thé mexicain par le biais de quatre tests complémentaires (pouvoir réducteur, l'inhibition du radical DPPH[•], substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le test du pouvoir chélatant). Nous avons enfin procédé au dosage des composés phénoliques des extraits étudiés.

Nous avons constaté pour la partie étude de l'effet du chauffage sur l'activité antioxydante de l'**huile essentielle de thym** que tous les échantillons d'huile essentielle de thym ont maintenu une activité antioxydante malgré leur traitement à la chaleur. Les **huiles essentielles** étudiées montrent une bonne activité antioxydante et peuvent donc être efficaces dans le contrôle de l'oxydation des lipides lors d'un processus industriel. C'est en effet le **BHT** qui présente la meilleure activité antioxydante avec une $IC_{50} = 28 \mu g/mL$, il est suivi par l'échantillon de *Thymus pallescens* **sans chauffage** qui enregistre une concentration inhibitrice de **512,1 $\mu g/mL$** .

Concernant l'étude de l'activité antioxydante des différents échantillons étudiés, nous notons que la capacité réductrice maximale est enregistrée avec l'**acide ascorbique**. Celle-

ci est suivie par celles du **BHA**, du **BHT**, et des **huiles essentielles** de **thym**, du **thé mexicain** et du **fenouil annuel**.

Nous notons par ailleurs, que le couple **BHT – huile essentielle de thym** présente des activités réductrices équivalentes, de même pour le couple **huile essentielle du thé mexicain –huile essentielle du fenouil annuel**.

Pour les trois échantillons d'huiles essentielles étudiés, la capacité réductrice maximale est notée pour le **thym**. Alors que la valeur minimale est notée pour l'**huile essentielle** du **fenouil annuel**.

Pour ce qui est des extraits, nous notons que pour l'ensemble des concentrations, la capacité réductrice maximale est enregistrée pour l'acide ascorbique suivi par l'extrait de thym et par le BHT. Pour les trois échantillons d'extraits étudiés, la capacité réductrice maximale est notée pour l'extrait de thym. Alors que la valeur minimale est notée pour l'extrait du thé mexicain.

On remarque enfin que la capacité réductrice des huiles essentielles est nettement supérieure à celle des extraits à l'exception du thym où la capacité réductrice de l'extrait de thym est supérieure à celle de l'huile essentielle. Le thym enregistre par ailleurs la plus importante capacité réductrice dans le cas des extraits et des huiles essentielles.

Nous notons d'autre part que c'est l'huile essentielle ainsi que l'extrait de thym qui enregistre l'activité inhibitrice du radical DPPH• la plus élevée. Nous notons de plus que l'extrait de thym se révèle être encore plus efficace que le BHT.

L'activité inhibitrice du radical DPPH• de l'huile essentielle du thé mexicain est supérieure à celle de l'huile essentielle du fenouil annuel, l'inverse se produit lorsque la concentration dépasse les 200 mg/L, on remarque dans ce cas là que l'activité inhibitrice du radical DPPH• de l'huile essentielle du fenouil annuel dépasse celle de l'huile essentielle du thé mexicain pour les concentrations de 400, 600, 800 et 1000 mg/L.

L'activité inhibitrice du radical DPPH• des huiles essentielles du fenouil annuel, du thym et du thé mexicain par rapport au BHT et au BHA reste cependant relativement faible.

Concernant les extraits de fenouil annuel et de thé mexicain, nous avons remarqué que l'activité inhibitrice du radical DPPH• de l'extrait du fenouil annuel dépasse celle de l'extrait du thé mexicain pour les concentrations de 2, 5, 10, 20 et 200 mg/L. Cette tendance s'inverse toutefois pour les concentrations de 50 et de 100 mg/L.

L'activité inhibitrice du radical DPPH• des extraits de fenouil annuel et de thé mexicain par rapport au BHT reste cependant relativement faible pour les concentrations allant de 2 à 100 mg/L, cette activité se rapproche tout de même de celle du BHT pour une concentration de 200 mg/L.

Il apparaît pour ce qui est des extraits que c'est l'extrait de thym qui présente la IC50 la plus intéressante, il est suivie par le BHT, l'extrait du thé mexicain, et par l'extrait du fenouil annuel.

Nous notons pour ce qui est du test TBARS que c'est l'huile **essentielle de thym** qui possède l'**activité antioxydante la plus appréciable** pour l'ensemble des concentrations étudiées, alors que l'huile essentielle du **fenouil annuel** exprime un caractère antioxydant jusqu'à une concentration de **200 mg/L**, au delà de cette concentration, elle se comportera comme une entité **pro-oxydante**. L'huile essentielle du **thé mexicain** enregistre par ailleurs le même comportement que l'huile essentielle du **fenouil annuel**, celle-ci enregistre toutefois une activité antioxydante maximale à une

concentration de **400 mg/L**, pour connaître par la suite une diminution la menant à des activités négatives, exprimant ainsi un caractère pro-oxydant à partir d'une concentration de **600 mg/L**.

Nous remarquons dans le cas des extraits que c'est l'extrait du thym qui enregistre les activités antioxydantes les plus importantes. Il est suivi par l'extrait du fenouil annuel. L'extrait de thé mexicain enregistre globalement les plus faibles activités antioxydantes, allant même jusqu'à l'expression d'un caractère pro-oxydant.

L'huile essentielle du **fenouil annuel** exprime pour de faibles concentrations un caractère antioxydant, et se comporte comme une entité pro-oxydante pour de fortes concentrations, alors que **l'extrait** de cette même plante exprime une activité antioxydante notable pour l'ensemble des concentrations.

L'ensemble de nos échantillons n'a par ailleurs enregistré aucune activité de chélation des métaux appréciée à l'aide de la méthode de **Carter (1971)**.

L'étude détaillée des huiles essentielles est un travail qui peut être constamment amélioré par les techniques d'extraction, de séparation et d'identification. Ce travail est lié au fait que la composition de ces essences dépend énormément des parties de la plante utilisée, de son potentiel génétique, ainsi que de divers facteurs écologiques.

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait intéressant :

- D'identifier les composés de la fraction lourde des huiles qui sont probablement à l'origine de la variation de l'activité antioxydante ;
- De confirmer le potentiel d'activité antioxydante des extraits par l'application d'autres tests supplémentaires.
- De recourir à d'autres méthodes d'extraction qui permettraient d'évaluer leurs influences sur la composition chimique et les capacités biologiques ;
- D'étudier d'autres activités biologiques de ces huiles et extraits.

Références bibliographiques

A

- Adams R.P., 1995.** Identification of essential oil components by gaz chromatography/ mass spectroscopy. Carol Stream, IL, USA: Allured.
- Adebayo A. Gbolade, Vania Tira-Picos, Jose M. F. Nogueira, 2010.** Chemical Constituents of *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminticum* herb essential oil from Nigeria. *Chemistry of Natural Compounds*, vol.46, n.4.
- Ait Chebib M., Baha L., 2005.** Les huiles essentielles de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*) et du cumin (*Cuminum cyminum*) analyse et évaluation de l'activité antioxydante sur l'huile de soja. Mémoire d'ingénieur, Institut National Agronomique, El-Harrach (Alger), 74p.
- Alan L., Miller N. D., 1996.** Antioxydant flavonoids : Structure, function and clinical usage. *Alt Med Rev*, vol.1, n.2, p.103-111.
- Albu S., Joyce E., Paniwnyk L., Lorimer J. P., Mason T. J., 2004.** Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, vol.11, p.261–265.
- Alibert G., Ranjeva R., et Boudet M.A., 1977.** Organisation subcellulaire des voies de Synthèse des composés phénoliques. *Physiol. Veg.*, vol.15, p.279-301.
- Anon, 2003.** Major groups, families and Genera Lamiaceae (Labiatae). *Science and Horticulture*, Royal Botanic Garden. Kew UK.
- Anonyme., 2010.** Monographie: *Chenopodium ambrosioides*. Association jardins du monde. antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.49, p.3321-3327.
- AOCS, 1989.** Peroxide value using chloroform Official method Cd-8-53. In *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist' Society*, 4th ed.
- Azefack T. L., Adler. C., Bouda. H., Ajong. F. D., 2003.** Bioefficacy of powders and essential oils from leaves of *Chenopodium ambrosioides* and *Eucalyptus saligna* to the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera, Bruchidae). *Cahiers Agricultures*. vol.12, n.6, p.401-407.

B

- Bachelot C., Blaise A., Corbel T., Le Guernic A., 2006.** Les huiles essentielles. Licence 2 Biologie, Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, France, 26p.
- Badoc A., 1988.** Contribution à l'étude du genre *Foeniculum* Mill. Thèse Doctorat Université de Lille.
- Barlow, H. B. 1990.** Conditions for versatile learning, Helmholtz's unconscious inference, and the task of perception. *Vision Research* , vol.30, p.1561--1571.

- Basil A., Jimenez-Carmona M. M., Clifford A. A., 1998.** Extraction of rosemary by super heated water. *Journal of food chemistry*, vol.46, p.5205-5209.
- Bassene E., Mahamat B., Lo M., Boye C.S, Faye B., 1995.** Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae: *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides*. *Fitoterapia*, vol.66, n.1, p.86-87.
- Basu Tapan K., Temple Norman J., Garg Manohar L., 1999.** Antioxydants in human health and disease. CAB International.
- Belaiche P., 1979.** L'aromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1. M. S. A. Editeur, Paris, 204p.
- Benayad N., 2007.** Rapport d'activité utilisation des huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines comme insecticides pour lutter contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées (blé, maïs, riz...) et ceci sans altérer la qualité nutritive de ces denrées et surtout pour minimiser l'utilisation des insecticides chimiques dangereux. Rabat, Université Mohammed V, 7p.
- Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M., Gaset A., 1988.** Extraction des huiles essentielles. *Chimie et technologie Information chimie*, n.298, p.179-184.
- Berset C., Cuvelien M.E., 1996.** Méthode de mesure du pouvoir antioxydant et d'évaluation du degré d'oxydations des lipides. *Science des aliments*, n.16, p.219-245.
- Berthod A., Billardello B. et Geoffroy S., 1999.** Polyphenols in countercurrent Chromatography: An example of large scale separation1. *Analisis*. EDP Sciences, Wiley VCH, vol.27, p.750-757.
- Beta T., Nam S., Dexter J. E. et Sapirstein H.D., 2005.** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Journal of Cereal Science*, vol.82, n.4, p.390-393.
- Beta, 2003.** Anti-nutrients or anti-oxidants in cereal grains: an evaluation of the composition and functionality of phenolic compounds with special reference to sorghum and barley. In: Belton P.S. & Taylor J.R.N., eds. Conference proceedings of the AFRIPRO Workshop on the proteins of sorghum and millets: enhancing nutritional and functional properties for Africa, 2-4 April, Pretoria, South Africa, paper. n.11, p.1-9
- Betts T.J., 1988.** Characterisation of volatile oil constituents with relatively long gaschromatographic retention times on two stationary phases, *Journal of Chromatography*. vol.449, p.312-316.
- Birt D.F., Hendrich S. et Wang W., 2001.** Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology et therapeutics.*, vol.90, p.157-177.
- Bock B., 2011.** Tela Botanica, Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France. BDNFF v 4.02.
- Boizot, N., Charpentier, J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*. p.79-82.
- Bonthoux B., Lebreton C., Perrissin O., 2007.** Profession kinésithérapeute. *Le magazine des masseurs-kinésithérapeutes passionnés*, n.17, 18p.

- Bouchet N., Barrier L., Fauconneau B., 1998.** Radical scavenging activity and antioxydant proprieties of tannins from *Guiera senegalensis* (Combretaceae). *Phytotherapy research*, vol.12, n.3, p.159-162.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S., Abrini J., 2006.** *Thymus* essential oils chemical composition and in vitro antioxydant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Maroc, Agadir.
- Boullard Bernard, 1999.** Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. Estem, 636p.
- Bounatirou S., Smiti S., Miguel M. G., Faleiro L., Rejeb M. N., Neffati M., Costa M. M., Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., 2007.** Chemical composition, antioxydant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link.
- Bown D., 1995.** *Encyclopaedia of Herbs and Their Uses*, Dorling Kindersley, London.
- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B., 2003.** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose A.O.T.M. sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience & Nutrition*, vol.4, n.6, 7p.
- Brouillard R., Figueiredo P., Elhabiri M. et Dangles O., 1997.** Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the colour of fruits and vegetables. In: *Phytochemistry of fruit and vegetables Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*. Oxford. Clarendon Press, p.30-49.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, 623p. (Technique et Documentation).
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, 623p. (Technique et Documentation).
- Bruneton J., 1995.** Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Paris, Lavoisier, 915p. (Technique et Documentation).
- Bruneton J., 1999.** Les tanins. Editions médicales internationales, p.369-404.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, 585p. (Technique et Documentation).
- Bruni A., Modenesi P., 1983.** Development, oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). *Nord. J. Bot.*, vol.3, p.245-251.
- Bu-Abbas A., Clifford M. N., Ioannides C., Walker R., 1995.** Stimulation of rat hepatic UDP glucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. *Food chem. Toxicol* . vol.33, n.1, p.27-30.
- Burits M., Bucar F., 2000.** Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy research*, vol.14, p.323-328.
- Burkill H. M., 1985.** The Useful Plants of West Tropical Africa (Families A-D), Royal Botanic Gardens, London, p.366.
- Burton G.W., Traber M.G., Acuff R.V., 1998.** Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentration response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol.67, p.669-684.

C

- Calliste C. A., Trouillas P., Allais D. P., Simon A., Duroux, J. L., 2001.** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 49, p.p.3321#3327.
- Carter P., 1971.** Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Analytical Biochemistry*, vol.40, p.450–458.
- Carter P., 1971.** Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Analytical Biochemistry*, vol.40, p.450–458.
- Cavalli J. F., Tomi F., Bernardini A. F., and Casanova J., 2004.** *Phytochem. Anal.* vol.15, p.275
- Cavalli J-F., 2002.** Caractérisation par C.P.G., C.P.G./S.M. et R.M.N. du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat, Université de Corse, France, p.261.
- Cavalli J. F., Tomi F., Bermadini A. F., Casanova J., 2004.** Combined Analysis of the Essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and ¹³C NMR Spectroscopy: Quantitative Determination of Ascaridole, a Heat Sensitive Compound. *Phytochem. Anal.* vol.15, p.275-279.
- Chevallier A., 1996.** The Encyclopedia of Medicinal Plants Dorling Kindersley. London,
- Chevolleau S., 1990.** Etude de l'activité antioxydante des plantes: importance de l'alpha tocophérol. Th. Doctorat, Faculté des sciences et techniques de Saint Jérôme, Aix - Marseille, 186p.
- Chittendon F., 1951.** *Dictionary of Plants plus Supplement.* Oxford University Press.
- Cillard J., Cillard P., 2006.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. Laboratoire de biologie cellulaire et végétale « Groupe de Recherche en Thérapeutique Anticancéreuse, G.R.E.T.A.C. », Faculté de pharmacie, Rennes, vol. 13, n. 1.
- Comway G. A. and Slocumb J. C., 1979.** Plants used as abortifacients and emmenagogues by Spanish New mexicans. *Journal of Ethnopharmacology.* n.1, vol.3, p.241-261.
- Conner D.E., 1993.** Naturally occurring compounds antimicrobials in foods. New York, Davidson In.P. & Branen A.L., 468p.
- Cowan M. M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, n. 4, p.564–582.
- Crapiste G. H., Brededan M. I. V. et Caralli A., 1999.** Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of American Oil Chemist's Society*, vol.76, p.1437-1443.
- Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O., 1997.** Iridoid glycosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, vol.80, p.1144-1152.

D

- Da Silva E.J.A., Oliveira, A. B., Lapa, A.J., 1994.** Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids,

- duartin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol.* vol.46, n.2, p.118-122.
- Das N. P., Pereira T. A., 1990.** Effects of flavonoids on thermal autooxidation of Palm oil: structure- activity relationship. *J. American Oil Chemists Society.* vol.67, p.255-258.
- De Pascual-T. J., Bellido I.S., Torres C., Pérez M.A., 1980.** Essential oil from *Chenopodium ambrosioides*, *Rivista Ital. EPPOS*, vol.62, p.123-125.
- De Whalley C. V., Rankin S. M., Hoult J. R. S., Jessup W., Leake D. S., 1990.** Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochem.Pharmacol.* vol.39, n.11, p.1743-50.
- Desmarest P., 1978.** New aspects of fennel cultivation in France. – *Acta Hortic.*, vol.73, p.289-295.
- Dicko M.H., Gruppen H., Voragen A.G.J. & van Berkel W.J.H., 2006.** Biochemical characterization of major sorghum grain peroxidase. *FEBS J.*, vol.273, p.2293-2307.
- Djerrari A., Crouzet J., 1985.** Influence du mode d'extraction sur la composition de l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*). Journée scientifique internationale, Digne-les-bains, France.
- Dobarganes M.C., Velasco J., 2002.** Analysis of lipid hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol.104, p.420-428.
- Dorman D.H.G., Bachmayer O., Kosar M., Hiltunen R., 2004.** Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Tuekey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.52, p.762-770.
- Dorman H. J. D., Peltoketo A., Hiltunen R., Tikkanen M. J., 2003.** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, vol. 83, p.255–262.
- Draglant S., Senoo H., Wake K., Blomhoff R., 2003.** Several culinary and medicinal herbs are important source of dietary antioxidants. *The journal of nutrition*, vol.133, p.1286.
- Dumortier D., 2006.** Contribution à l'amélioration de la qualité de l'huile essentielle d'ylang-ylang (*Cananga odorata* (Lamarack) J.D. Hooker et Thomson, variété genuina) des Comores. Mémoire d'ingénieur, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique, 91p.
- Dykes L. & Rooney L.W., 2006.** Sorghum and millet phenols and antioxidants. *J. Cereal Sci.*, vol.44, p.236-251.

E

- El Atyqy M., 2007.** Qualité et Sécurité des Aliments Réactions d'altération chimiques des aliments. Paris, Techniques de l'ingénieur.
- Elmasta# M., Gülçin, #., I#ildak Ö., Küfrevio#lu Ö.#., #bao#lu K., Aboul-Enein .H.Y., 2006.** Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society.* vol.3, p.258-266.
- Eymard S., 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) choix des

procédés. Thèse de doctorat, Ecole polytechnique de l'Université de Nantes, France, 125p.

F

- Ferreira D., Bekker R., 1996.** Natural Product Reports: Oligomeric Proanthocyanidins: Naturally Occuring O-Heterocycles), p.411-433
- Fesen M. R., Pommier Y., Leteurtre F., Hiroguchi S., Yung J., Kohn K. W., 1994.** Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem Pharmacol* . vol.48, n.3, p.595-608.
- Festy D., 2005.** 100 Réflexes d'aromathérapie je me soigne avec les huiles essentielles. Paris, Leduc S., 120p. (Bon Plan).
- Figueiredo A.C., Barroso J. G., Pedro L.G., Scheffer J. J. C., 2008.** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavor Frag. J.* vol.23, p.213-226.
- Florians G., Wingler K., Schmehl K., 2001.** Cellular and subcellular localization of gastro intestinal glutathione peroxidase in normal and malignant human intestinal tissue. *Free Radic*, vol.35, p.655-63.
- Formacek V., Kubeczka K.H., 1982.** «Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy », John Wiley and sons, New York. ALNAP Database ref: ID 171.
- Foster and J. A. Duke, 1990.** *A Field Guide to Medicinal Plants*. Eastern and Central North. America. Houghton Mifflin Co.
- Franchomme P., Pénoël D., 2001.** L'aromathérapie exactement. France, Edition Roger Jollois.
- Franchomme. , Pénoël D. , 1990.** Clefs pour l'aromathérapie - La molécule aromatique matière, énergie, information, L'aromathérapie exactement. Limoge, R. J. Editeur, p.73-227.
- Frankel E. N., 1998.** Lipid oxidation. The oily press, vol.10.
- Fritsch J., 1931.** Fabrication et raffinage des huiles végétales. Paris, Amédée le grand, p.794.

G

- Gadano A., Gurni, A., López P., Ferraro G., Carballo M., 2002.** In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. J. *Ethnopharmacol.* London, vol.81, p.11-16.
- Galati E. M., Monforte M. T., Kirjavainen S., Forestieri A. M., Trovato A., Tripodo M. M., 1994.** Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco*. vol.40, n.11, p.709-712.
- García-Alonso M., Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C., Rivas-Gonzalo J.C., 2004.** **Evaluation of the** antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, vol.84, p.13-18.
- Garnero M.J., 1977.** Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles. *Parfums – cosmétiques – arômes*, vol.14, p.31-40.

- Garnier G., Bezanger D.L., Debraux G., 1961.** Ressources médicinales de la flore française. Ed. Vigot frères, Tome II, Paris VI.
- Gerard D., Camille T., 2003.** Les plantes bio-indicatrices : guide de diagnostic des sols, édition promoteur, Paris, p. 200.
- Gerhard R., 1993.** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. *Lavoisier Tec and Doc*, p.333-339.
- Gervaise Y., 2004.** Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits méthodes globales (type spectrophotomètre) contre les méthodes fines (type HPLC) : pour quelles applications les choisir? progrès analytiques récents. Communication lors de l'Euro forum, Paris.
- Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. vol.4, p.162-169.
- Gibbs B.F., Zougman A., Masse R., Mulligan C., 2004.** Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. *Food Research International*, vol.37, n.2, p.123-131.
- Goka C. M. S., Keilah L. P., Tamokou J. De D., Kuiate J. R., Tane P., Vilarem G., Cerny M., 2010.** Antifungal Properties of *Chenopodium ambrosioides* Essential Oil Against *Candida* Species. *Pharmaceuticals*. vol.3, p.2900-2909
- Gorger C., Scholz E., et Rimpler H, 1994.** Ellagitannins from *Alchemilla xanthochlora* and *Potentilla erecta*. *Planta Med.* p.384-385.
- Gray J. I., 1978.** Measurement of lipid oxidation a review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol.55, p.539-545.
- Grieve, 1984 .** *A Modern Herbal*. Penguin. ISBN 0-14-046-440-9.
- Guenther E., 1952.** The Essential Oils. Malabar (Florida), Krieger publishing company, vol.5, 507p.
- Guenther E., 1972.** The essential oils. New York, Ed Robert Krieger publishing co. vol.3.
- Guenther E., 1982.** The Essential Oils, R.E. Krieger Publishing Company, Malabar, Floride. vol.6, n.150-161.
- Guignard J. L., 1996.** Biochimie végétale. Paris, Masson, 255p.
- Gülçin #at I. G., Beydemir # ., Elmastas M. & Küfrevio # lu O'. I., 2004.** Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia Caryophyllata* Thumb.) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, vol.87, p.393-400.
- Gupta G.S., Behari M ., 1976.** Indian *Chenopodium* oil, *Indian Perfum.*, vol.18, p.40-43.
- Gupta, D., Charles, R., Mehta, V.K., Garg, S.N., Kumar S., 2002.** Chemical examination of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from the southern hills of India. *J. Essent. Oil Res.*, vol.14, p.93-94.
- Gutteridg J. M. C., Halliwell B.,** Antioxidants in Nutrition, Health and Disease, Oxford University Press, 1994, Oxford.

H

- Hadi M., 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Th. Doctorat, Université Louis Pasteur. 155 P.
- Hale A. L., 2003.** Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Ed. Office of Graduate Studies of Texas A&M University. 260 P.
- Hale A.L., 2003.** Screening potato genotypes for antioxidant activity. Identification of the responsible compounds and differentiating Russet Norkotah strains using AFLP and microsatellite marker analysis. Office of graduate studies of Texas A&M University, Genetics, 260p.
- Haraguchi H. et al. [...], 1996.** *Planta med.*, vol.216, n.62.
- Harborne J.B., 1989.** *Methods in plant biochemistry, I: Plant phenolics.* Academic Press.
- Hayouni E.K., Abedrabba M., Bouix M. et Hamdi M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, vol.105, p.1126–1134.
- Hazzit M., Baaliouamer A., Verissimo A.R., Faleiro M.L. et Miguel M.G., 2009.** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chem.*, 116, 714-721.
- Hegarty V.M. et al. [...], 2000.** Tea Drinking and bone mineral density in older women. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol.71, n.41, p.3-7.
- Heim E.K., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants : chemistry , metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry.*, vol.13, p.572-584.
- Hendrich A.B., 2006.** Flavonoid-membrane interactions : possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta pharmacologica Sinica.*, vol.27, p.27-40.
- Henry T.A., Paget H., 1925.** *Chenopodium* Oil. Part II. The Hydrocarbon Fraction, *J.Chem. Soc.*, vol.127, p.1649-1659.
- Hill. A. F., 1952.** *Economic Botany.* The Maple Press 1952.
- Hollman P. C., Bijlsman M. N., Van-Gameren V., Gnossen E. P., De Vris J. H., Hatan M. B., 1999.** The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoids glycosides in man. *Free radical Res.* vol.31: p.569-573.
- Hoyland, D.V. and Taylor, A.J. 1991.** A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chem.* vol.40, p.271-291.
- Huang D. J., Lin C. D., Chen H. J., Lin Y. H., 2004.** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents *Bot. Bull. Acad. Sin.*, vol.45, p.179-186.
- Huang D., Ou, B., Prior R. L., 2005.** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry.* vol.53, p.1841-1856.

Hui Dong, Chen SX., Manjunatha Kini R., XU MX. 1998. Effects of tannins from *Geun japonicum* on the catalytic activity of Thrombin and factor X of blood coagulation cascade. vol.61, n.11, p.1356-1360.

Hultin H. O., 1992. Advances in seafood biochemistry lipid oxidation in fish muscle. Flick G.J. And Martin R.E. Editions, Lancaster, p.99-122.

Hultin H. O., 1994. Oxidation of lipids in seafoods. In *Seafoods Chemistry, Processing Technology and Quality*, New York, Blackie Academic & Professional, p.49-74.

Hunault H., Desmarest P., Du Manoir J., 1988. XI *Foeniculum vulgare* Miller: Cell Culture, Regeneration, and the Production of Anethole. - In Bajaj (Y.P.S.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry 7, Medicinal and Aromatic Plants II*, Berlin Heidelberg, Springer, p185-212.

Huxley A., 1992. *The New RHS Dictionary of Gardening*. 1992. MacMillan Press 1992 ISBN 0-333-47494-5.

J

Jalas J., 1971. Note of *Thymus* L. (Labiatae) in Europe Supraspecific classification and nomenclature. *Botanical Journal of the Linnean Society*, vol.64, p.199-215.

Jardim, C. M., Jham, G. N., Dhingra, O. D., Freire, M. M., 2008, Composition and antifungal activity of the essential oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *J. Chem. Ecol.* vol.34, p.1213-1218.

Jardim C. M., Jham G. N., Dhingra O. D., Freire M. M., 2008. Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of chemical ecology*, vol.34, n°9, p.1213-1218. Springer, New York.

Jirovetz L., Buchbauer G., Fleischhacker W., Kaul V. K., 2000. *Sci. Pharm.*, vol.68, p.123

Johnson M. A., 1984. Biosynthesis of ascaridole. *Arch Biochem Biophys*; vol.235, p.254-256.

Johnson M. A., Croteau R., 1984. Biosynthesis of Ascaridole: Iodide Peroxidase-Catalysed Synthesis of a Monoterpene Endoperoxide in Soluble Extracts of *Chenopodium ambrosioides* Fruit, *Archiv. Biochem. Biophys.*, vol.235, p.254-266.

Judde A., 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique mécanisme, conséquences, moyens de mesure. *Corps gras lipides*, vol.11, p.414-418.

Julies A., Christin M., 2002. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects and safety. *Annual Review of Nutrition*, vol.22, p.19-44.

Julve P., 1998. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France.

K

Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z., Benlabeled K., 2005. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromathérapie*, vol.15, p.129-133.

- Kanner J., German J.B., Kinsella J.E., 1987.** Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Food Science and Nutrition*, vol.25, p.317.
- Karadeniz F., Burdurlu H.S., Koca N., Soyer Y., 2005.** Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turk. J. Agric.*, vol.29, p.297-303.
- Kato R., Nakadate T., Yamamoto S., Sugimura T., 1983.** Inhibition of 12-tetradecanoylphorbol 13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxygenase inhibition. *Carcinogenesis*. vol.4, n.10, p.1301-1305.
- Kato S., Bowman D.D., Brown D.L., 2000.** Efficacy of *Chenopodium ambrosioides* as an Antihelmintic for Treatment of Gastrointestinal Nematodes in Lambs, *J. Herbs, Spices & Medicinal Plants*, vol.7, p.11-25.
- Kessler M., Ubeau G., Jung L., 2002.** Anti-and pro-oxydant activity of rutine and quercetin derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.*, vol.55, p.1-11.
- Kishore N., Chansouria J. P. N., Dubey N. K., 1999.** Antidermatophytic action of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* and an ointment prepared from it. *India Phytother. Res.* vol.10, p.453-455.
- Kiss G.** Über die struktur der Ascorbigene . Diss., n°4015, ETH., 1967.
- Kliks M. M., 1985.** *Soc. Sci. Med.*, vol.21, p.879.
- Koba, K.; Catherine, G.; Raynaud, C.; Chaumont J.P.; Sanda, K.; Laurence, N., 2009,** Chemical composition and cytotoxic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. essential oil from Togo. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* vol.44, p.435-440.
- Kolodzie J., Kayser O., Latte KP., Ferreira D., 1999.** Evaluation of the antimicrobial potency of tannins and related compounds using the microdilution both method. *Planta medica*, vol.65, n.5, p.444-446.
- König M., Seholz E., Hartmann R., Lehmann W. et Rimpler H., 1994.** Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patrae* bark. *J. Nat. Prodcut.*, vol.57, p.1411-1415.
- Koskas J.P., Cillard J. et Cillard P., 1983.** Direct high performance liquidChromatographic separation of hydroperoxyde isomers of linoleic acid. *Journal ofChromatography*, vol.258, p.280-283.
- Küçük M., Kolayli S., Karaoglu S., Ulusoy E., Baltaci C. et Candan F., 2007.** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, vol.100, p.526-534.
- Kumar R., Kumar M.A., Dubey N.K., Tripathi Y.B., 2007.** Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxicogenic and antioxidant activity. *Int. J. Food Microbiol.* vol.115, p.159-164.
- Kumar R., Kumar M. A., Dubey N. K., Tripathi Y. B., 2007.** Evaluation of *Chenopodium ambrosioides* oil as a potential source of antifungal, antiaflatoxicogenic and antioxidant activity. *International Journal of Food Microbiology*. vol.115, p.159–164.

L

Laboratoire Bivea, 2004. Huiles essentielles extraction. Pessac (France).

- Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, vol.18, p.435-448.
- Lamaison J.L.C., et Carnet A., 1990.** Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la végétation. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, vol.65, p.315-320.
- Lamarti A., 1987.** Évolution de l'huile essentielle de fenouil amer (*Foeniculum vulgare* Mill.) dans les différents organes de plantules cultivées «in vitro». - Thèse Doct. Univ., Lille, 1987.
- Lamarti A., Badoc A., Carde J.-P., 1993.** Etude chromatographique de l'huile essentielle de la plantule de fenouil amer (*foeniculum vulgare* mill.) ; caractéristiques spectrales (UV, IR, SM) de ses constituants. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, vol.132, p.73-89.
- Lambert Pierre, 2010.** Huiles essentielles pour l'aromathérapie. Laboratoire Florilab, Toulouse (France).
- Lasker J. M., Huang M.T., Conney A. H., 1984.** In vitro and in vivo activation of oxidative drug metabolism by flavonoids. *J.pharmacol. exp. ther.* vol.229, n.1, p.162-70.
- Laszlo P., Rivière S., 1997.** Les Sciences du parfum. Paris, P.U.F., 128p. (Que sais-je?).
- Laughton M.J., Halliwell B., Evans P.J., Hoult J., Robin S., 1989.** Antioxydant and pro-oxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem. Pharmacol.* vol.38, n.17, p.2859-2865.
- Lavollay J., Parrot J.L., Sevestre J., 1943.** Sur la nature de la vitamine P, l'épicatéchine, substance jusqu'ici la plus active sur la résistance capillaire. *C.R. Acad. Sci. Paris*, vol.217, p.540-542.
- Lazouni H. A., Benmansour A., Chabane Sari D., Smahi M. Dj. E., 2005.** Valeurs nutritives et toxicité du *foeniculum vulgare miller*. Département de biologie, Faculté des sciences, Université Aboubekr BELKAID, Tlemcen, Algérie.
- Le Louarn P., 1994.** Guide pratique de l'aromathérapie mieux être, mieux vivre par l'aromathérapie. Paris, De Vecchis S.A., 138p.
- Lea, C.H., 1946.** The determination of the peroxide values of edible fats and oils the iodometric method. *J. Soc. Chem. Ind.*, vol.65 p.286-291.
- Lee S-J., Umamo K., Shibamoto T. et Lee K-G., 2005.** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, vol.91, p.131-137.
- Leslie Taylor, 2005.** The Healing Power of Rainforest Herbs. Square One Publishers, Garden City Park (New York), 535 p.
- Love R.M., 1980.** The chemical biology of fishes. Academy Press London, vol.2, p.286-291.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V. et Biro L. 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, vol.47, n.1-4, p.119-125.
- Lust J., 1983.** *The Herb Book*. Bantam books 1983 ISBN 0-553-23827-2.

M

- Madsen, H. L., & Bertelsen, G. (1995).** Spices and antioxidants. Trends in Food Science and Technology, vol.6, p.271–277.
- Mahamat B., 1990.** Contribution à l'étude des Combretaceae du Sénégal. Comparaison de l'activité anti-bactérienne de trois espèces. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie.
- Mahmood N., Pizza C., Aquino R., De Tommasi N., Piacente S., Colman S., Burke A., Hay A. J., 1993.** Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antivir. Res.* vol.46, n.7, p.1257-1271.
- Mailhebiau P., 1994.** La nouvelle aromathérapie biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Milan, Edition Jakin, 635p.
- Malloy D. M., 1923.** Pharmacology and therapeutics of oil of *Chenopodium* and investigation on the anthelmintic value of its components. *J Pharmacol.* vol.212, p.391-400.
- Mamouni H., 1994.** Application des différents procédés d'extraction des grains de coriandre. Mémoire d'ingénieur, Institut National Agronomique, El- Harrach (Alger).
- Marfak A., 2003.** Radiolyse gamma des flavonoides: Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. *Thèse de doctorat de l'Universités de Limoges*, p.24-42.
- Martino L., Feo V., Fratianni F., Nazzaro F., 2010.** Chemistry, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of volatile oils and their components. *Nat. Prod. Commun.*, vol.5, p.1741-1750.
- Masquelier J., 1948.** Recherches sur les pigments de la graine d'arachide. *Arachis hypogaea* Thèse Doctorat d'Etat Sciences, Bordeaux.
- Mau J. L. Huang P-N. Huang S-L and Chen C.C., 2004.** Antioxidant properties of methanolic extracts from two kinds of *Antrodia camphorate* mycelia. *Food Chemistry.* vol.86, p.25-31.
- Maydani M., 2000.** Effect of functional food ingredients vitamin E modulation of cardiovascular disease and immune status in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol.71, p.1665-1668.
- Maydani M. , 2000.** Vitamin E and prevention of heart disease in high risk patients. *Nutr. Rev.*, vol.58, p.278-281.
- Maynard W., Quimby, 2008.** *Ammi Visnaga Lam.* Massachusetts College of Pharmacy, Boston, Mass .
- Mcanlis G.T., Mceneny J., Pearse J., Young I.S., 1998.** Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. *Eur. J. Clin. Nutr.*, vol.52, p.202-206.
- Metcalf C. R., CHALK L., 1950.** *Anatomy of dicotyledons.* Oxford: Oxford Press, v.2.
- Meyer A. S., Yi O.S., Person D.A. et al. [...], 1997.** Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes. *J. Agricult Food Chem.*, vol.45, p.1638-1643.

- Middleton E. J., Drzewiecki G., 1984.** Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. *Biochem. Pharmacol.* vol.33, n.21 p.3333-3338.
- Middleton Elicoh J., Chithan K., Theoharis C., 2000.** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, vol.4, n.52, p.673-751.
- Middleton, E. J., 1996.** Biological properties of plant flavonoids: an overview. *Int. J. Pharmacol* vol.34, n.5, p.344-348.
- Miguel G., Simoes M., Figueiredo , A. C., Barroso J. G., Pedrp L. G., Carvalho L., 2004.**Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititus*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chem.* vol.86, p.183-188.
- Mila I., Scalbert A., 1994.** Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance*, vol.381, n.2, p.749-755.
- Milane H., 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur.* p.13-36.
- Misirli A., Küden A., Demir G. et Gülcan R., 2001.** Determination of phenolic compounds in some almond hybrids varying in resistance to *Pseudomonas amygdali*. In: 11ème Colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier. Zaragoza. CIHEAM-IAMZ, p.71-86.
- Mitsuda H., Yasumoto K., Iwami K., 1966.** Antioxidative action of indole compounds during the oxidative of linoleic acid. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.*, vol.19, p.210-214.
- Miyazawa T., Fujimoto K., Kinoshita M. et Usuki R., 1994.** Rapid estimation of peroxide content of soybean oil by measuring thermoluminescence. *Journal of Food Science and Technology*, vol.71, p.343-345.
- Molino Pedro, 2005.** A guide to medicinal plants in North Africa, IUCN.
- Mookerjee B. K., Lee T. P., Logue G. P., Lippes H. A. , Middleton E. , 1986.** The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. *Prog. Clin. Biolo.Res.* vol.213, p.511-520.
- Moral es R., 1986.** Taxonomia de los Géneros *Thymus* (excluida la seccion serpyllum) y *thymbra* en la peninsula Iberica, *Ruizia*, vol.3, n.5, p.324.
- Moral es R., 2002.** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In *Thyme : the genus Thymus. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles ; Stahl-Biskup, E.; Saez, F., Eds. ; Taylors &Francis* (vol. 17). London.
- Morales R., 1997.** Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagascalía*, vol.19, n.1-2, p.249-262.
- Morris C. J., Earl J. R., Trenam, C. W., Blake, D. R., 1995.** Reactive oxygen species and iron-a dangerous partnership in inflammation. *The international journal of biochemistry & cell biology.* vol.27, p.109-122.
- Mosyakin & Clemants, 2002.** Taxon: *Dysphania ambrosioides* (L.). *Grin Taxonomy for Plants*, Ukrayinska.

Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J. M., 1985. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *Journal of ethnopharmacology*, vol.13, p.289-300.

Mucsi I., Pragai B. M., 1985. Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia*, vol.41, n.7, p.930-931.

Muhayimana A., Chalchat J.-C., Garry R. P., Essent J., 1998 . *Oil Research*. vol.10, p.690.

Multon J. L., 1992. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Paris, Lavoisier, 792p. (Collection sciences et techniques agroalimentaires).

N

Namgoong S. Y., Son K. H., Chang H. W., Kang S. S., Kim H. P., 1994. Effects of naturally occurring flavonoids on mutagen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci*.vol.54, n.5, p.313-20.

Namiki M., 1990. Antioxidants/antimutagens in food Critical reviews in Food Science et nutrition. vol.29, p.273-300.

Naves Y. R., 1964. Qu'est ce qu'une huile essentielle. Paris, Masson.

Nelson E. K., 1911. A chemical investigation of the oil of *Chenopodium*, *J. Amer. Chem. Soc.*, vol.33, p.1404-1412.

Nijhoff W. A., Bosboom M. A., Smidt M. H., Peters W. H., 1995. Enhancement of rat hepatic and gastrointestinal glutathione and glutathione S-transferases by alphaangelicalactone and flavone. *The Netherlands Carcinogenesis*. vol.16, n.3, p.607-612.

Niokhor Diouf, P. 2003. Étude comparative de méthodes de mesure de l'activité antioxydante. Applications aux extractibles de bois. Liens avec la stabilité de la couleur du bois. Thèse de doctorat en sciences et technologies industrielles. Université Henry Poincaré, Nancy I.

Nonaka G. I., Nishioka I., Nishizawa A., Yamagishi T., Kashiwada Y., Dutschman G. E., Bodner A. J., Kilkuskie R. E., Cheng Y. C., Lee K. H., 1990. Inhibitory effects of tannins on HIV reverse transcriptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells. *Journal of natural products*, vol.53, n.3, p.587-595.

O

Obermeier M. T., White R. E., Yang C. S., 1995. Effects of bioflavonoids on hepatic P450 activities. *Pharm. Res*. Vol.25, n.6, p.575-84.

Odoul M., 2003. Les huiles essentielles. La lettre de l'Institut Français de Shiatsu, n.2, p.1-12.

Ohemeng K. A., Schwender C. F., Fu K. P., Barrett J. F., 1993. DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. vol.3, n.2 p.225-30.

- Ohran H., Marol S., Hepsen I.F., Sahin G., 1999.** Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats. *Toxicology*, vol.139, n.33, p.219-232.
- Okazaki K., Kawazoe K., Takaishi Y., 2002.** Human platelet aggregation inhibition from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Phytother*, vol.4, p.398-399.
- Ono K., Nakane H., Fukushima M., Chermann J. C., Barre-Sinoussi F., 1990.** Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *Eur. J. Biochem.* vol.19, n.3, p.469-76.
- Onocha, P.A.; Ekundayo, O.; Eramo, T.; Laakso, I., 1999.** Essential oil constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. leaves from Nigeria. *J. Essent. Oil Res.*, vol.11, p.220-222.
- Opdyke D. L. J., 1976.** *Food Cosmet. Toxicol.*, vol.14, p.713.
- Oyaizu M., 1986.** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*, Vol. 44, p.p. 307-315.
- Oyebanji A. O., Efiuvwevwere B. J. O., 1999,** Growth of spoilage mould and aflatoxin B1 production in naturally contaminated or artificially inoculated maize as influenced by moisture content under ambient tropical condition. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 44, n.4, p.209-217.

P

- Pascal G., Martel P., 1992.** Additifs antioxygènes. In *Additifs et auxiliaires de fabrication des matières premières naturelles organiques*, Paris, Ed. Apria, p.216-240. (Tec. & Doc.).
- Pellerin P., 2001.** Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique*, vol.94, p.51-62.
- Pibiri M. C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale, Lausanne, 161p.
- Pieroni A., Janiak V., Dürr C.M., Lüdeke S., Trachsel E., Heinrich M., 2002.** In vitro antioxydant activity of non-cultivated vegetables of ethnic Albanians in Southern Italy. *Phytother. Res.*, vol.16, p.467-473.
- Pietta P. G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, vol.63, p.1035-1042.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O., 1998.** Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine. *MEDI SPHERE*, n.73.
- Pin-Der-Duh P. D., 1998.** Antioxidant activity of budrok (*Arctium lappa* L.) Its scavenging effect on free radical and active oxygen. *Journal of American Oil Chemist's Society*, vol.75, p.455-461.
- Pino J. A., Marbot R., Real I. M., 2003 .** *Oil Research .* vol.15, p.213.
- Pokorny J., 1991.** **Natural antioxidants for food use.** *Trends in food science and technology*, vol.9, p.223-227.

- Pollack Y., Segal R. and Golenser J., 1990.** The effect of ascaridole on the development of *Plasmodium falsiparum*. *Parasitol Res.* vol. 7 6, n. 7, p.570-572.
- Porter L. J., 1988.** "Flavans and proanthocyanidins" in *The Flavonoids : Advances in Research since 1980*, Harborne J. B., Chapman et Hall, London.
- Porter L. J., 1993.** "Flavans and proanthocyanidins" in *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*, Harborne J. B., Chapman et Hall, London.
- Portet B., 2007 .** Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. Université Toulouse III - Paul Sabatier. (Doctorat). 270p.
- Potawale, S. E., Luniya, K. P., Mantri R. A., Mehta U. K., Waseem M. D., Sadiq M. D., Vetal Y. D., Deshmukh R. S., 2008.** *Chenopodium ambrosioides*: An ethnopharmacological review. *Pharmacologyonline* vol.2, p.272-286.
- Pradeau D., Cohen Y., 1992.** L'analyse pratique du médicament. Médicales internationales, p.418-428.
- Psoťová J., Lasovsky J. et Vicar J., 2003.** Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging And Cytoprotective Activities Of Six Natural Phenolics. *Biomedical Papers*, vol.147, n.2, p.147–153.
- Puppo A., 1992.** Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*, vol.31, n.1, p.85-88.
- Purchon N., 2001.** La bible de l'aromathérapie. Paris, Marabout, 41p. (Essai).
- Q**
- Quezel P., Santa S., 1963.** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, CNRS, Tome 1 et 2, 1170p.
- R**
- Rajaonarivony J. I. M., Gershenzon J., Croteau R., 1992.** Characterization and mechanism of (4S)-Limonene synthase, A monoterpene cyclase from the glandular trichomes of Peppermint (*Mentha X Piperita*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol.296, p.49–57.
- Ramarathnam N., Osawa T., Ochi.H., Kawakishi S., 1995.** The contributions of plant food antioxidants to humans' health. *Food Science and Technology*, n.6, p.75-82.
- Rees S. B. et Harborne J. B., 1985.** The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochemistry*, vol.24, p.2225 – 2231.
- Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regeat F., 1996.** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut.* vol.32, n.1, p.17-27.
- Richard H., 1992.** Epices et aromates. Paris, Lavoisier, 339p. (Technique & Documentation).
- Richard H., Benjilali B., Banquour N., Baritoux O., 1985.** Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. *Lebensm-Wiss U-Technol*, n.18, p.105-110.
- Riemer J., Hoepken H. H., Czerwinska H., Robinson S. R., Dringen R., 2004),** Colorimetric ferrozine-based assay for the quantitation of iron in cultured cells. *Analytical Biochemistry*, vol.331, p.370-375.

- Robert et al.**, Biorganique et Med. Chem. Letter - 1992, vol 2, n.12, p.1529-1534.
- Roeding-Penman A., Gordon M. H., 1998.** Antioxidant properties of Myricetin and Quercetin in oil and emulsions. Journal of American Oil Chemist's Society, vol.75, p.169- 180.
- Rossignol-Castera A., 2006.**Oxydation et rancissement des matières grasses conséquences sur la qualité nutritionnelle et la durée de vie des produits alimentaires. In Colloque Silliker Sécurité et Qualité des Aliments validation de la durée de vie des produits alimentaires, 5 décembre, Paris, I.T.E.R.G., 2006.
- Rouessac F., Rouessac A., 1995.** Analyse chimique méthodes et techniques instrumentales modernes. Paris, Masson, 302p.
- Rozier J., 2004.** Hygiène et sécurité alimentaire les matières grasses et leur altération.
- S**
- Saidia B. et Hammond E., 1989.** Quantification of Carbonyls produced by the decomposition of hydroperoxydes. Journal of American Oil Chemist's Society, vol.66, p. 1097-1102.
- Sanchez-Moreno C., 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology, vol.8, n.3, p.121-137.
- Sanchez-Moreno C., Lurrari J. A., and Saura-Calixo F., 1998.** A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols, J. Sci. Food Agric., vol.76, p.270-276.
- Santos, J. K. A., 1925.** pharmacognostical study of *Chenopodium ambrosioides* Linn. from Philippines. The Philippine Journal of Science, vol.31, p.529-543,
- Sato M., Tsuchiya H., Takase I., Kureshiro H., Tanigaki S., Iinuma M., 1995.** Antibacterial activity of flavanone isolated from *Sophora exigua* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its combination with antibiotics. *Phytother. Res.* vol.9, n.7, p.509-512.
- Satrani Badr, 2006.** Valorisation de plantes aromatiques et médicinales par l'analyse chimique et l'étude de la bioactivité de leurs huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université Hassan II - Mohammedia, Faculté des Sciences Ben M'Sik, Casablanca.
- Satrani B., Farah A., Fecthal M., Talbi M., Bouamrani M. L. , 2004.**Composition chimique et activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* (L.) Lam. du Maroc. *Acta Bot. Gallica*, vol.151, n.1, p.65-71.
- SCÉRÉN – CNDP, 2001.** Les additifs alimentaires et le risque alimentaire.
- Schery. R. W., 1972.** *Plants for Man. 2nd edn., Prentice-hall, Englewood Cliffs.*
- Schwarz K. et Ternes W., 1992.**Antioxydative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung, vol. 195, p.99-103.
- Serafini M., Laranjinha J. A., Almeida L. M., Maiani G., 2000.** Inhibition of human LDL lipid peroxidation by phenol-rich and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. J. Nutr. Biochem., vol.11, p.585-590.

- Singh G., Marimuthu P., De Heluani C. S., Catalan Cesar A. N., 2006.** Antioxidant and biocidal Activities of *Carum nigrum* (Seed) Essential Oil, Oleoresin, and Their Selected Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.54, n.1, p.174-181.
- Singh. Dr. G. and Kachroo. Prof. Dr. P., 1976.** A good flora of the western Himalayas but poorly illustrated. Some information on plant uses. *Forest Flora of Srinagar*.
- Singleton V. L., Ortofer R., Lamuela-Raventos R. M., 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, vol.299, p.152-178.
- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., 1996.** Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. *Journal of Food Chemistry*, vol.44, p.1202-1205.
- Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonic M., and Knez Z., 2005.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, vol.89, p.191–198.
- Skoog D. A., Holler F. J., Nieman T. A., 2003.** Principe d'analyse instrumentale. Paris, De Boeck université, p.956.
- Smilie W. G., Pessoa S.B., 1924.** A study of the anthelmintic properties of the constituents of the oil of *Chenopodium*. *J Pharmacol*; vol.24, p.359-70.
- Spedding G., Ratty A., Middleton E. J., 1989.** Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antivir. Res.* vol.12, n.2, p.99-110.
- Springer-Verlag., 2007.** Indian medicinal plants an illustrated dictionary.
- Stahl-Bisku p E., 1991.** The chemical composition of thymus oils a review of the literature 1960-1989. *J.E.O.R.*, n.3, p.61-82.
- Stahl-Biskup E., 2002.** Thyme the genus thymus. London, Taylor & Francis.
- Stein R, Mehmet C. Oz., 2004.** *Complementary and Alternative cardiovascular medicine* , Humana Press.
- Sun J., Khtan B., Huang S-H., Whiteman M. et Zhu Y-Z., 2002.** Effects of natural products on ischemic heart diseases and cardiovascular system. *Acta Pharmacol*, vol. 23, n. 12, p.1142 -1151.
- Suresh Kumar K., Ganesan K., Subba Rao P. V. 2008.** Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed. *Food Chemistry*. vol.107, p.289-295.
- Svoboda K.P., Hampson J.B., 1999.** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Ayr (Scotland), Plant Biology Department.
- Szent-Györgyi A., 1938.** Therapeutic properties of vitamins. *Presse Medicale*, vol.46, n.995, p.1893-1971.

T

- Tachen Lin, Feng Lin Hsu, Juei Tang Cheng.** 1993, Anti-hypertensive activity of corilagin and chebulinic acid, tannins from *Lumnitzera racemosa* (Combretaceae). *Journal of natural products*, vol.56, n.4, p.629-692.
- Tapondjou, A. L., Adler, C., Bouda, H., Fontem, A. D., 2003.** Bioefficacy of powders and essential oil from leaves of *C. ambrosioides* and *E. saligna* to the cowpea bruchid *Collosobruchus maculatus* Fab. (coleoptera. Bruchidae). *Cahiers d'études et de Recherches Francophones/Agricultures*, vol.12, p.401-408.
- Tavares, M. A. G.C; Vendramin, J. D., 2005.** Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotrop. Entomol.*, vol.34, p.319-323.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat A. et Sokmen A., 2006.** Screening of the antioxidant potential of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, vol.95, p.200-204.
- Tepe Bektas, Sarikurkcü Cengiz, Berk Seyda, Alim Ahmet, Askin Akpulat H., 2011.** Chemical Composition, Radical Scavenging and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus boveii* and *Thymus hyemalis*. *Rec. Nat. Prod.*, vol.5, n.3, p.208-220.
- Tomaino A., Cimino F., Zimbalatti V., Venuti V., Sulfaro V., De Pasquale A., Saija A., 2005.** Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chem*, vol.89, p.549–554.
- Torres de Pinedo A., Penalver P., Morales J.C., 2007.** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, vol. 103, p.p. 55–61.
- Turgeon M., 2001.** Profil des produits forestiers - première transformation huiles essentielles. Québec, Ministère des Ressources naturelles - Direction du développement de l'industrie des produits forestiers, 16p.

V

- V. Paolini, Dorchies Ph., Hoste H., 2006.** Effets des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Unité Mixte Associée 1225 INRA/ENVIT « Physiopathologie des Maladies infectieuses et Parasitaires des Ruminants ».
- Valnet J., 1979.** Aromathérapie traitement des maladies par les essences des plantes. France, Brodar et Taupin, p.525.
- Valnet J., 1980.** Aromathérapie traitement des maladies par les essences des plantes. Paris, Maloine, 542p.
- Van A. S., Tromp M., Haenen G. R. M. M., van der Vijgh W., Bast A., 1995.** Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochem. Biophys. Res. Co.* vol.214, n.3, p.755-759.
- Vanier Paulette, Cyr Josiane, 2010.** Le fenouil au fil du temps, Usages culinaires, Conservation, Jardinage biologique, Écologie et environnement.
- Vansant G., 2004.** Radicaux libres et antioxydants principes de base. In Symposium « Antioxydants et alimentations », 23 octobre, Louvain (Belgique). Belgique, Université de Leuven UZ Gasthuisberg, Institut Danone, 2004.

- Vardar-Unlu G., Candan F., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen M., Donmez E. et Tepe B., 2003.** Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.51, p.63–67.
- Verma A., K., Johnson J. A., Gould M. N., Tanner M. A., 1988.** Inhibition of 7, 12-dimethylbenz (a)anthracene- and N-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by the dietary flavonol quercetin. *Cancer Res.* vol.48, n.20, p.5754-5758.
- Vermin G., 1982.** Arôme alimentaire et développement récents. Paris, Apria.
- Viaud H., 1993.** Huiles essentielles hydrolats. Lyon, Présence, 39p.
- Vrijssen R., Van Hoof L. M., Vlietinck A. J., Vanden Berghe D. A., Boeye A., 1987.** The poliovirus induced shut-off of cellular protein synthesis persists in the presence of 3- methylquercetin, a flavonoid which blocks viral protein and RNA synthesis. *Antivir. Res.* vol.7, n.1, p.35-42.

W

- Wada M., Kido H., Ohyama K., Kishikawa N., Ohba Y., Kuroda N., 2004.** Evaluation of quenching effects of nonwater- soluble and water-soluble rosemary extracts against active oxygen species by chemiluminiscent assay. *Food Chemistry*, vol.87, p.261–267.
- Wattenberg Lee W., 1983.** Anticarcinogenic effects of several minor dietary components. *Foods, Proc. Int. Conf.* p.157-166.
- Weiner M. A.** *Earth Medicine, Earth Food.* Ballantine Books 1980 ISBN 0-449-90589-6.
- Willem J.P., 2002.** Les huiles essentielles médecine d'avenir. Paris, Dauphin, 311p. (Santé et Mieux Etre).
- Wojdy#o A., Oszmian´ski J., Czemerys R., 2007.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, Vol. 105, p.p. 940–949. Wynn S. G., 1996. *J. Am. Holistic Vet. Med. Assoc.*, vol.15, p.15.
- Wynn S. G., 1996.** *Am. Holistic Vet. Med. Assoc.*, vol.15, p.15.

Y

- Yen G. C., Chen H. Y., Peng H. H., 1997.** Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts. *J.Agr. Food Chem.* vol.45, p.30-34.
- Yoshida T., Hatano. T., Miyamoto K., Okuda T., Brouillard R. (ed), Jay M., 1995.** (ed) Antitumor and related activities of ellagitannin oligomers. *Les colloques : Polyphenols 94, Palma de Mallorca*, vol.69, p.123-132.

Z

- Zhiri A., 2004.** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Luxembourg, Éditions Inspir développement.
- Zhiri A., Baudoux D., 2006.** Huiles Essentielles Chémotypées et leurs synergies. Paris, Pranarôm.

Zrira S., Bessiere J.M., Menut C., lamrani A.E & Benjilali B. 2002. Chemical Composition of the Essential Oil of *Ammi visnaga* Lamk. from Morocco. Journal of Essential Oil Bearing Plants, vol.5, n.1.