



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ziane Achour de Djelfa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme master

Option : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

THEME

**L'activité antioxydante des huiles essentielles de quelques
plantes aromatiques et médicinales**

Présenté par : IMRAZENE SALIM

FEITAS LARBI

Devant le jury :

Président : Mr. CHIEB Tayeb.

Maître de Conférences A U.Z.A. Djelfa

Promotrice : Mme. KHEMKHAM A.

Maitre de Conférences B U.Z.A. Djelfa

Examinatrice : Mlle. BENMOUAFFEKI F.

Maître Assistante A U.Z.A. Djelfa

Année universitaire 2021-2022

Remerciements :

En premier lieu nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir permis de bien mener ce travail.

Avant d'entreprendre la rédaction de notre mémoire, nous souhaitons vivement remercier et exprimer notre gratitude à :

Notre promotrice Mme. Khemkham Aicha, à qui nous sommes très reconnaissants pour ces remarques.

Nous adressons nos plus vifs remerciements aux honorables membres de jury M. **CHIEB Tayeb**, et Mlle. **BENMOUAFFEKI Fatima**, qui ont bien accepté de juger ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos reconnaissances et notre sincère gratitude à tous les enseignants qui nous ont accompagnés durant ce cursus universitaire.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

Partie 1 Synthèse bibliographique.

| | |
|---|-----------|
| Chapitre I Généralités sur les espèces étudiées | 5 |
| I.1.Plantes aromatiques et médicinales :..... | 6 |
| I.1.1.Quelques définitions :..... | 6 |
| I.1.2.Les grandes familles de plantes aromatiques :..... | 6 |
| I.2.Présentation des deux espèces étudiées :..... | 7 |
| I.2.1. <i>Artemisia herba alba</i> :..... | 7 |
| I.2.1.1.Description morphologique..... | 7 |
| I.2.1.2.Taxonomie : | 8 |
| I.2.1.3.Noms vernaculaires : | 9 |
| I.2.1.4.Habitat et répartition géographique :..... | 9 |
| I.2.1.5.Usages : | 9 |
| I.2.2. <i>Teucrium polium L</i> :..... | 10 |
| I.2.2.1.Description morphologique :..... | 10 |
| I.2.2.2.Taxonomie : | 11 |
| I.2.2.3.Noms vernaculaires : | 11 |
| I.2.2.4.Habitat et répartition géographique :..... | 27 |
| I.2.2.5. Usage : | 28 |
| Chapitre II Les Huiles Essentielles | 29 |
| II.Les huiles essentielles..... | 30 |
| II.1.Définitions : | 30 |
| II.2.Les principaux composés chimiques des huiles essentielles :..... | 30 |
| II.2.1.Les terpénoïdes : | 30 |
| II.2.2.Les composés aromatiques : | 31 |
| II.2.3.Les composés d'origines diverses : | 31 |
| II.3.Méthodes d'extraction des huiles essentielles :..... | 31 |
| II.3.1.Entraînement à la vapeur d'eau :..... | 32 |
| II.3.2.Hydro distillation : | 32 |
| II.3.2.1.Principe général l'hydro distillation simple :..... | 32 |
| II.3.3.L'hydro diffusion : | 33 |
| II.3.4.La distillation à vapeur saturée :..... | 33 |
| II.3.5.Extraction par les solvants :..... | 34 |

| | |
|---|-----------|
| Chapitre III Activité antioxydante..... | 35 |
| III.Activité antioxydane..... | 36 |
| III.1.Définition de l'antioxydant : | 36 |
| III.2.Radicaux libres et stress oxydatif : | 36 |
| III.2.1.Les radicaux libres : | 36 |
| III.2.2.Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) : | 37 |
| III.2.3.Stress oxydatif : | 38 |
| III.3.Mécanismes d'action des espèces réactives oxygénées : | 38 |
| III.4.Méthodes de dosage de l'activité antioxydante : | 38 |

Partie 2 Etude expérimentale

| | |
|--|-----------|
| Chapitre I Matériel et méthodes | 42 |
| I.Matériel et méthode | 43 |
| I.1.Matériels : | 43 |
| I.1.1.Matériel végétal : La récolte des plantes | 43 |
| I.1.1.1.Plantes étudiées : <i>Teucrium polium</i> et <i>Artemisia herba alba</i> | 43 |
| I.1.1.2.Zone de prélèvement : | 43 |
| I.1.2.Appareillage et produits : | 44 |
| I.1.2.1.Appareillage : | 44 |
| I.1.2.2.Produits : | 46 |
| I.2.Méthode : | 46 |
| I.2.1.Préparation des plantes médicinales : | 46 |
| I.2.2.Extraction des huiles essentielles : | 46 |
| I.2.3.Calcul du rendement : | 47 |
| I.2.4.Préparation des solutions : | 48 |
| I.3.Dosage des antioxydants : | 49 |
| I.3.1.Essai de piégeage des radicaux DPPH : | 49 |
| I.3.2.Détermination des composés phénoliques totaux : | 49 |
| I.3.3.Analyses statistiques : | 50 |
| Chapitre II Résultats et discussion | 51 |
| II.Résultats et discussion : | 52 |
| II.1.Rendement : | 52 |
| II.2.Dosage de polyphénols totaux : | 53 |
| II.3.Piégeage du radical libre DPPH : | 55 |
| Conclusion : | 61 |
| Références Bibliographie : | 62 |
| Annexes | |
| Résumé | |

Liste des Abréviations :

DPPH : 2,2- Diphényle-1-picrylhydrazyle.

R : Rendement.

ERO : Espèces réactifs oxygénés.

ERN : Espèces réactives azotées.

UV : Ultraviolet.

HE : Huile essentielle.

IC50 : Concentration inhibitrice.

(I%) : Pouvoir d'inhibition.

(%) : Pourcentage.

TBHQ : Tributyl-hydro-quinone.

Mg : Milligramme.

ml : Millilitre.

T. polium: *Teucrium Polium*.

nm: Nanomètre.

µL: Microlitre.

FRAP: Ferric Reducing Antioxydant Power .

AG : Acide gallique.

Mm : Millimètre.

Cm : Centimètre

Abs : Absorbance

CE50 : Concentration Efficace de l'extrait pour réduire le DPPH de 50%.

EAG : Equivalent d'acide gallique

Liste des figures :

| | |
|---|----|
| Figure 01: Photographie illustrant l'aspect général d' <i>Artemisia herba alba</i> | 08 |
| Figure 02: Photographie illustrant l'aspect générale de <i>Teucrium polium L</i> | 27 |
| Figure 03: <i>Teucrium polium L</i> | 43 |
| Figure 04: <i>Artemisia herba alba</i> | 43 |
| Figure 05: Localisation géographique de la région de récolte par Google maps | 44 |
| Figure 06: Photographie de Rotavapeur dans laboratoire de biologie université de Djelfa... | 45 |
| Figure 07: <i>Artemisia herba alba</i> | 46 |
| Figure 08: <i>Teucrium polium L</i> | 46 |
| Figure 09: Montage d'extraction..... | 47 |
| Figure 10: Séparation liquide-liquide..... | 47 |
| Figure 11: Courbe d'étalonnage d'acide gallique | 53 |
| Figure 12: Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux | 54 |
| Figure 13: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d' <i>Artemisia herba alba</i> | 56 |
| Figure 14: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE de <i>Teucrium polium</i> | 56 |
| Figure 15: Histogramme représentant les valeurs d'IC50 (µg/ml) de deux espèces étudiées.. | 58 |

Liste des tableaux :

| | |
|--|----|
| Tableau 01: Classification d' <i>Artemisia herba-alba</i> | 08 |
| Tableau 02: Principaux noms vernaculaires d' <i>Artemisia herba alba</i> | 09 |
| Tableau 03: Principaux noms vernaculaires de <i>Teucrium polium</i> | 11 |
| Tableau 04: Principaux types d'espèces réactives oxygénées | 37 |
| Tableau 05: Principaux radicaux libres oxygénés | 37 |
| Tableau 06: Description de quelques tests antioxydants in vitro chimiques..... | 39 |
| Tableau 07: Rendement des huiles essentielles de <i>Teucrium polium</i> et <i>Artemisia herba alba</i> | 52 |
| Tableau 08: Teneur en polyphénols totaux..... | 54 |
| Tableau 09: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d' <i>Artemisia herba alba</i> | 57 |
| Tableau 10: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE de <i>Teucrium polium</i> | 57 |
| Tableau 11: Activité antioxydant (méthode DPPH) d'huiles essentielles d' <i>Artemisia herba alba</i> | 58 |
| Tableau 12: Activité antioxydant (méthode DPPH) d'huiles essentielles d' <i>Teucrium polium</i> | 59 |
| Tableau 13: Activité antioxydant (méthode DPPH) d'huiles essentielles de mélange <i>Teucrium polium et Artemisia herba alba</i> | 59 |

Introduction



Introduction :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède à diverses maladies humaines. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des composés, dits alors actifs (principes actifs), qu'elles renferment. Parmi ces composés potentiellement intéressants, les composés phénoliques qui sont particulièrement utilisés comme antioxydants dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé [1].

L'utilisation des plantes médicinales sous différentes formes, brutes ou préparées s'est considérablement élargie. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population globale dépend notamment de la médecine traditionnelle et de la phytothérapie pour les soins sanitaires, ce qui semble être une solution acceptable [2].

Au continent africain, plus de 90% des plantes médicinales sont utilisées dans la médecine traditionnelle [3].

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (parfumerie, pharmacie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, la source des huiles essentielles [4].

Actuellement, l'augmentation des conditions pathologiques associées au stress oxydatif, à la résistance aux antibiotiques, et les effets indésirables de certains médicaments, conduit les chercheurs à se tourner vers le monde végétal à la recherche d'alternatives à base de plantes.

Le développement de nouveaux antioxydants d'une bonne capacité antioxydante s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes d'oxydations. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à caractère antioxydant, si l'on considère que ces plantes peuvent contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires.

Dans notre travail nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales : *Teucrium Polium L* et *Artemisia herba alba*.

Pour cela, notre étude est divisée en quatre chapitres :

- ✓ Dans le premier chapitre nous avons exposé des généralités sur les plantes médicinales et aromatiques : *Teucrium polium* et *Artemisia herba alba*
- ✓ Le deuxième chapitre représente un aperçu théorique sur les huiles essentielles: l'extraction par différentes méthodes, l'identification des composés des huiles essentielles...
- ✓ Le troisième chapitre sera consacré à une étude bibliographique portant sur les activités antioxydantes d'une façon générale.
- ✓ Le quatrième chapitre concerne la partie expérimentale de notre travail, où on a décrit la méthode d'extraction des huiles essentielles, le dosage des phénols totaux et l'étude de leur activité antioxydante par le piégeage du radical DPPH.
- ✓ Une discussion des résultats obtenus lors de cette étude est établie au dernier chapitre.

PARTIE
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I
Généralités sur les espèces
étudiées

I.1.Plantes aromatiques et médicinales :

I.1.1.Quelques définitions :

De nos jours, la phytothérapie est définie comme l'utilisation des plantes médicinales et des médicaments à base de plantes à des fins thérapeutiques ou préventives. Il faut donc aujourd'hui distinguer l'utilisation des plantes médicinales, définies par la Pharmacopée européenne de celle des médicaments à base de plantes définis par l'Organisation Mondiale de la Santé [5].

On appelle plante médicinale tout plantes renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies [6].

Les plantes médicinales sont des plantes dont un des organes (écorce, feuille) plante, possède des vertus curatives et parfois toxiques selon son dosage. Les plantes médicinales sont les plantes utilisées en phytothérapie pour leurs principes actifs. Elles peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays [7].

I.1.2.Les grandes familles de plantes aromatiques :

Les espèces aromatiques sont retrouvées en grande majorité chez les végétaux supérieurs et dans un nombre limité de familles :

- Les Lamiacées : thym, lavande, sauge, menthe, romarin, origan, marjolaine, sarriette...
- Les Myrtacées : eucalyptus, giroflier...
- Les Rutacées : citron, orange, bergamote...
- Les Cupressacées : cyprès, genévrier...
- Les Pinacées : sapin, pin, cèdre...
- Les Apiacées : coriandre, fenouil, anis, carvi...
- Les Astéracées : camomille romaine, matricaire, armoise, estragon, hélichryse, absinthe...
- Les Lauracées : laurier noble, cannelle de Ceylan, bois de rose camphrier, ravintsara...
- Les Géraniacées : géranium bourbon et géranium rosat...
- Les Myrtacées : eucalyptus, giroflier, myrte, niaouli, melaleuca (tea tree) ...
- Plus rarement, les Poacées (citronnelle de Java, palmarosa, lemon-grass), les Éricacées (Gaulthérie), les Annonacées (ylang-ylang), Zingiberacées (gingembre) [8], [9].

I.2. Présentation des deux espèces étudiées :

I.2.1. *Artemisia herba alba* :

Des plantes du genre *Artemisia* (Asteraceae) ont été employées dans la médecine traditionnelle par beaucoup de cultures depuis les périodes antiques. Des thés de fines herbes de ces espèces ont été employés comme agents analgésiques, antibactériens, anti-plasmodique, et hémostatiques, anthelminthique, anti-diarrhéique et diurétique [10]. Alors que plusieurs extraits et huiles essentiels montraient un certain nombre d'activités biologiques telles que antihyperglycémique [11], antimicrobien [12], antioxydant [13], et anti-inflammatoire [14].

I.2.1.1. Description morphologique

C'est une plante odorante vivace dressée, suffrutescentes à tiges nombreuses, tomenteuses, rigides et droites de 30 à 50 cm. L'armoise blanche présente une racine principale, épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfoncent dans le sol comme un pivot. Le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramifications latérales particulièrement abondantes entre 2 et 5 cm de profondeur met en relation cette forme de racine avec l'existence d'une croûte calcaire superficielle. Quand l'armoise se développe dans une région plus humide, ses racines pénètrent profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifient qu'à cette profondeur [15]. La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm [16].

Elle est présentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs. L'armoise présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, très ramifiée qui se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines ; chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm [17].

Les feuilles sont courtes, blanches, laineuses, argentées et pinnatipartites, elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse [19]. La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre.

La fleur est formée d'inflorescences en capitules. Ces derniers sont très petits, étroits (1 à 1.5 mm) ovoïdes à involucres scarieux ne contenant que 3 à 8 fleurs, toutes hermaphrodites.

Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support [18].

I.2.1.2. Taxonomie :

Selon [19], la classification de l'espèce *Artemisia herba-alba* est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 01:Classification d'*Artemisia herba-alba* :

| | |
|---|---------------|
| Embranchement : | Phanérogames |
| Sous embranchement : | Angiospermes |
| Classe : | Dicotylédones |
| Sous classe : | Gamopétales |
| Ordre : | Astérales |
| Familles : | Composées |
| Sous famille : | Tubilifoidées |
| Tribu : | Antimidées |
| Genre : | Artemisia |
| Espèce : <i>Artemisiaherba-alba</i> Asso. | |

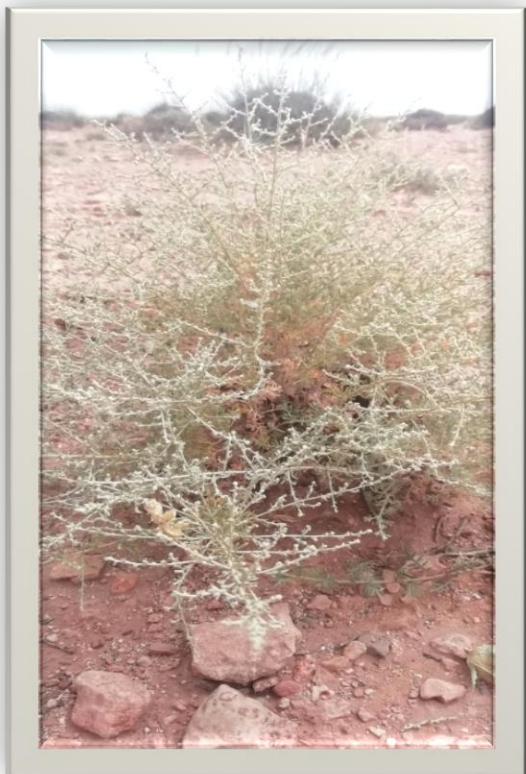


Figure 01: Photographie illustrant l'aspect général d'*Artemisia herba alba*

I.2.1.3.Noms vernaculaires :

Tableau 02:Principaux noms vernaculaires d'*Artemisia herba alba* :

| Langue | Nom | Références |
|----------|-----------------|---------------------------------|
| Français | Armoise blanche | [38] : Bendjilali et al., 1984) |
| Anglais | White wormwood | [20] : Marc et al., 2008) |
| Arabe | Chih, Chiha | [21] : Quezel et al., 1963) |
| Kabyle | Ghurayrah | [20] : Marc et al., 2008) |

I.2.1.4.Habitat et répartition géographique :

Elle s'étend de l'Espagne, des canaries à l'Egypte et l'Asie occidentale. En Algérie, elle est particulièrement répandue dans les secteurs des Hauts-Plateau algérois et oranais ; secteurs Haut- Plateau constantinois, et secteurs de Sahara Septentrional (Zousfana, El Goléa, Hamada de Tinghert), assez rare dans l'oranais, le tell constantinois, et le Sahara central où elle pousse en montagne [21]

Cette espèce présente une vaste répartition géographique couvrante, en Algérie, environ 4 millions d'hectares [22].

I.2.1.5.Usages :

Artemisia herba alba est une espèce d'Afrique du Nord. En Algérie, elle pousse dans la steppe, zone d'élevage ovin nomade. Elle se caractérise par une bonne valeur fourragère et par une composition en huiles essentielles ayant des propriétés antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques. Ces résultats expliquent son utilisation dans la médecine traditionnelle.

Très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques, l'armoise blanche est utilisée pour traiter : les ulcères, les dyspepsies, les troubles hépatiques, les aphtes, les mycoses, les piqûres d'insectes et de scorpions, et toutes les formes d'empoisonnement [17]

En plus de ses propriétés, les feuilles et les sommités fleuries de l'armoise blanche sont antigestive, emménagogue, stomachique, vermifuge (ascaris, oxyures) [23]. Elle est également utilisée dans le traitement des blessures externes et dans le cas de désordre

neurologique (tics, spasmes, convulsion ...) et la maladie d'Alzheimer [24] Au Sud – Est du Maroc, l'armoise blanche est utilisée dans le traitement de l'hypertension et du diabète [25].

L'infusion de cette plante est conseillée pour le rhumatisme et l'arthrite [26].

I.2.1.6. Composition chimique d'*Artemisia herba alba*:

Plusieurs types de sesquiterpènes lactones ont été trouvés dans les parties aériennes d'*Artemisia herba alba* [27].

Les flavonoïdes détectés dans *Artemisia herba alba* montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'à les flavonoïdes méthylés [28]. Les flavonoïdes glycosides comprennent des O-glycosides tels que la quercitrine-3-glucoside, mais aussi des flavones C-glycosides.

L'analyse phytochimique révèle la richesse de cette plante en huiles essentielles [29], en coumarines et en tannins [30].

I.2.2. *Teucrium polium* L :

Le nom générique des germandrées désigne en Latin "teucrion" en grec "teukpion" troie, oude teucros, prince troyen qui aurait découvert les propriétés médicinales de la plante [31].

Le genre *Teucrium* fait partie des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae. Ce genre est réparti en 340 espèces et variétés. D'un point de vue taxonomique, elles sont identifiables grâce à la forme du calice et inflorescence [32].

Il s'agit d'un grand genre qui diffère des autres que dans ses Corolles formées d'une lèvre supérieure fendue et à étamines redressées au-dessus de cette fente, de sorte que la corolle paraît n'avoir qu'une lèvre inférieure à cinq lobes [33].

I.2.2.1. Description morphologique :

C'est une plante tomenteuse, blanchâtre, vivace de 10 à 30 cm moyennement velue à odeur forte et désagréable, les tiges sont nombreuses, ligneuses à la base révolutes, en général à marges, grêles, dressées ascendantes, plus ou moins ramifiées, les feuilles sessiles, oblongues ou linéaires, cunéiformes, crénelées, à bords plus ou moins enroulés régulièrement dentés d'une couleur verte pâle en dessus, blanches en dessous. Les inflorescences en têtes denses

capituli formes serrés ; les fleurs jaunâtres et globuleuses ou ovoïdes, courtement, pédonculés, calice petit (3 à 4 mm) en cloche, à dents courtes triangulaires presque égaux, très velus. Corolle à tube ne dépassant pas le calice, velu en dehors, à lobes <latéraux linéaires, le médian ovoïde ; les fruits murs et sec d'un couleur noir, légèrement creusés, de rocailleur et sèche.

La floraison est en avril à juin ; les fleurs sont d'un jaune doré de 5 mm et la récolte en printemps-été ; commun dans les broussailles et les friches [34].

I.2.2.2. Taxonomie :

Position systématique de *Teucrium polium* est la suivante [35] :

Règne : Plantae
 Ordre : Lamiales
 Famille : Lamiaceae
 Genre : Teucrium
 Espèce : *Teucrium polium* L.

I.2.2.3. Noms vernaculaires :

Principaux noms vernaculaires de *Teucrium polium* L

Tableau 03: Principaux noms vernaculaires de *Teucrium polium* L

| Langue | Nom commun | Référence |
|----------|---|----------------------|
| Anglais | Mountain germander | (36 : Krache ,2009). |
| Français | Pouliot de montagne, germandrée tomenteuse, Germandrée blanc-grisâtre | |
| Arabe | J'ada, khayata, Katabet ledjrah | |

Nom scientifique :

Teucrium polium L, synonymes: *Teucrium tomentosum*, *Teucrium gnaphalodes*, *Teucrium chamaedrys* et *Teucrium capitatum* [37].

I.2.2.4.Habitat et répartition géographique :

Teucrium polium L est plus souvent herbacées dans toutes les régions et plus spécialement dans les régions méditerranéennes et l'Europe méridionale et les endroits secs [39].

Le genre *Teucrium* est représenté en Iran par 13 espèces, en Turquie par 27 espèces. Une vingtaine de cette espèce poussent spontanément en Algérie, elles prédominent la région du tell [40].

Teucrium polium L est une espèce rare, très réponsus dans le haut plateau, ainsi dans l'atlas saharien [40].



Figure 02: Photographie illustrant l'aspect générale de *Teucrium polium L*

I.2.2.5. Usage :

Déjà utilisée comme fébrifuge chez les anciens Egyptiens, *Teucrium polium L.* possède les propriétés communes aux plantes amères et aromatiques, c'est-à-dire qu'elle est tonique, appétitive, fébrifuge, vermifuge et carminatif. Elle combat la paresse de l'ensemble du tube digestif et celle du foie, on l'utilise dans les maladies de l'estomac, les bronchites chroniques, les troubles de digestion et les douleurs abdominales [41].

Depuis longtemps, on utilise la germandrée, en infusion, pour combattre la goutte, les rhumatismes, la fièvre, la bronchite chronique et les mucosités abondantes. En bain de bouche, elle soigne les gingivites, et, en lotion, elle accélère la cicatrisation des blessures [42].

Chapitre II Les Huiles Essentielles



II. Les huiles essentielles :

II.1. Définitions :

Selon Durvelle (1930, 1893), les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques-unes sont solides ou en partie cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier.

II.2. Les principaux composés chimiques des huiles essentielles :

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures. En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes [43]. Le groupe des terpénoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. Il existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, esters et autres...) [44].

II.2.1. Les terpénoïdes :

Les terpènes sont des hydrocarbonés naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_8)_n$ dont le "x" est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et "n" peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc)[45].

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène: hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes (C₄₀) et les polyterpènes [46].

On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres [47].

II.2.2. Les composés aromatiques :

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol ; ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles [48].

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc. [49].

II.2.3. Les composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés [50].

La composition d'une huile essentielle est en général très complexe. Les méthodes analytiques modernes rendent possibles, la détection, l'identification et la quantification de plus d'une centaine de constituants pour une même huile essentielle [51].

II.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont extraites de la matière végétale par différents procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétal [52]. En effet, le mode technologique d'exploitation du matériel végétal peut avoir une influence sur la composition chimique finale de l'essence. Chaque mode d'extraction marque de son empreinte cette composition finale [53].

II.3.1. Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter [54].

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils séparés par distillation de l'eau ou expression mécanique. Ils proviennent des feuilles, des graines, des bourgeons, des fleurs, des branches, de l'écorce, du bois, des racines, des tiges ou des fruits, ainsi que des gommés qui s'écoulent du tronc. Les huiles essentielles sont obtenues par distillation de l'eau et pression à froid, comme les agrumes. De nouvelles technologies pour améliorer l'efficacité de la production ont été développées, telles que l'extraction à l'aide de dioxyde de carbone liquide à basse température et haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes [55].

II.3.2. Hydro distillation :

C'est la méthode la plus simple et plus utilisée. Il comprend l'immersion Les matières premières sont directement dans l'eau puis bouillies entières. Cette opération est généralement réalisée sous pression atmosphérique. La vapeur formée est condensée par le système de réfrigération à débit d'eau. Des expériences menées jusqu'à épuisement de l'essence matricielle montrent que le temps de distillation des organes végétaux. Ligneux est plus long que celui des plantes herbacées. Cette différence est étroitement liée à l'emplacement des systèmes de production ou de stockage de H. Es, qui sont soit situés à la surface de la plante, soit à l'intérieur du tissu végétal. Ces ouvrages ont donc un impact sur le processus de distillation de l'eau, c'est-à-dire sur le mécanisme continu mis en jeu, et donc sur la durée de l'opération d'extraction. Si ces structures sont superficielles, la membrane externe ou la couche cornée se brise rapidement lors de l'ébullition et les composés volatils s'évaporent immédiatement [56].

II.3.2.1. Principe général l'hydro distillation simple :

La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition [57]. Les vapeurs sont

condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité.

Chaque substance qui compose l'huile essentielle est volatile et possède une tension de vapeur qui permet de l'extraire de la matière solide à une certaine température lors de la distillation. De façon générale, l'augmentation de la température accroît le nombre de molécules qui passent à l'état vapeur.

Ce phénomène est absorbé durant la distillation à l'eau et la distillation combinant l'eau et la vapeur qui se fait à pression atmosphérique.

Après l'entraînement des éléments volatils par la vapeur, leur retour à l'état liquide est obtenu par un simple contact avec une surface réfrigérée (exemple : condenseur...)

II.3.3.L'hydro diffusion :

Dans le cas de l'hydro diffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau + huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau [58].

II.3.4.La distillation à vapeur saturée :

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales.

En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100 C, Température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées [59].

II.3.5.Extraction par les solvants :

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillée à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson [60].

Chapitre III Activité antioxydante

III. Activité antioxydante

III.1. Définition del'antioxydant:

Un antioxydant est une substance qui en faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable qui, de manière significative retarde ou empêche l'oxydation de ce substrat. Il peut agir en supprimant les ROS ou en empêchant leur formation ou encore en réparant les dommages causés par ceux-ci. Des activités antioxydants liées aux saponines, aux triterpènes aux esters gras dérivant tous des plantes ont été reportées. [61].

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non-cytotoxiques de (ROS) [62].

III.2. Radicaux libres et stress oxydatif :

La recherche sur la capacité antioxydante représente un enjeu scientifique important ; notion largement relatée dans l'étude des propriétés biologiques de l'açaï. Au travers du chapitre suivant, nous allons présenter les molécules responsables de l'oxydation et celles qui permettent de la combattre.

III.2.1. Les radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. La molécule d'oxygène (ou dioxygène, O_2) présente la particularité d'avoir la structure d'un biradical libre, en raison de ses deux électrons célibataires situés sur les deux orbitales de plus grande énergie.

Ne possédant qu'un seul électron sur ses orbitales, l'oxyde d'azote (NO) est un radical peu réactif, synthétisé à partir d'un atome d'azote et d'une molécule d'oxygène.

Dans les phénomènes de stress oxydant prenant place dans les milieux biologiques, les radicaux libres qui interviennent, partagent pour caractéristique celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène ou d'azote. Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (EOR ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS)[63].

III.2.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) :

Symbolisés par le symbole (ERO) et appelé aussi dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Ces molécules sont très réactives chimiquement en raison de la présence d'électrons de valence non-appariés dans leur orbitale la plus externe. L'équilibre est rétabli soit par oxydation (perte de cet électron libre) ou réduction (gain d'un autre électron). Il existe également d'autres molécules radicalaires qui sont des dérivées d'autre atome comme l'azote tel que le monoxyde d'azote $\text{NO}\bullet$, l'anhydride nitreux N_2O_3 , et l'ion peroxydite ONOO^- [64].

Tableau 04: Principaux types d'espèces réactives oxygénées [64].

| Classification des ERO | |
|--|---|
| Espèces radicalaires | Espèces non radicalaires |
| - Anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$) | - Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) |
| - Radicale hydroxyle ($\text{OH}\bullet$) | - Oxygène singulier (O) |
| - Monoxyde d'azote ($\text{NO}\bullet$) | - Acide hypochlorique (HOCl) |

Tableau 05: Principaux radicaux libres oxygénés. [65]

| Radicaux libres | Structure chimique |
|--------------------------------|------------------------|
| Radicale hydroxyle | OH |
| Radicale alkoxyde | RO |
| Radicale hydro peroxide | HOO |
| Radicale peroxyde | ROO |
| Radicale oxyde nitrique | NO |
| Radicale peroxyde d'hydrogène* | H_2O_2 |
| Radicale peroxydite | ONOO |
| Radicale super oxyde | O_2 |

III.2.3.Stress oxydatif :

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN, les lipides (peroxydation), les protéines ...etc.

Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro- dégénératives, cancer, diabète...) et la dégradation des cellules et des tissus [66].

III.3.Mécanismes d'action des espèces réactives oxygénées :

Les EOR et ERN sont connues pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques, puisqu'ils peuvent être à la fois nocifs mais aussi bénéfiques, voire indispensables pour les organismes vivants [67] :

- Bénéfiques, lorsqu'ils sont impliqués dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire,
- Nocifs, lorsqu'il y a un déséquilibre entre la balance des ERO et ERN et les systèmes de défense, avec comme conséquence l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule (ADN, protéines, lipides) en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves (cancer, artériosclérose, arthrite, maladies neurodégénératives) : c'est le stress oxydatif [68].

III.4.Méthodes de dosage de l'activité antioxydante :

Diverses méthodes de dosage de l'activité antioxydante in vitro induisent la mesure de l'inhibition de l'oxydation des lipides et des lipoprotéines. Celles-ci ne seront pas abordées, ni celles mesurant le pouvoir antioxydant in vivo sur le modèle animal ou chez l'Homme. Cette étude se focalisera sur les méthodes témoignant de l'aptitude d'une molécule ou d'un extrait naturel à piéger des radicaux libres – par transfert d'électron et/ou de proton -issus de phénomènes d'oxydations [69]. On parlera alors d'évaluation in vitro de l'activité antioxydante.

Seules les méthodes les plus utilisées, en particulier pour les tests in vitro chimiques, seront représentées ici, en mettant en avant les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de la méthode (Tableau 04).

Tableau 06 : Description de quelques tests antioxydants in vitro chimiques :

| QUELQUES TESTS IN VITRO CHIMIQUES | | | | |
|-----------------------------------|--|---|---|--|
| Tests | DPPH | ABTS ou TEAC | FRAP | ORAC |
| Mécanismes réactionnels | • transfert d'électron majoritaire | • transfert d'électron et de proton | •transfert d'électron | • transfert de proton |
| Nature des molécules testées | • hydrophiles et lipophiles | • hydrophiles et lipophiles | •hydrophiles | •hydrophiles et lipophiles |
| Expression des résultats | • CI50et/ou en mg ou μmol équivalent Trolox® | • CI50et/ou en mg ou μmol équivalent Trolox® | •en mg ou μmol équivalent Fe^{2+} | • CI50et/ou en mg ou μmol équivalent Trolox® |
| Avantages | •très facile à mettre en œuvre • peu couteux | • très facile à mettre en œuvre • cinétique de réaction très rapide • peu couteux | • très facile à mettre en œuvre •peu couteux | •facile à mettre en œuvre •couteux (nécessité d'un fluorimètre) • Utilisation d'un générateur de radicaux (ROO•) |
| Inconvénients | • encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires •interférences possibles à 515 nm •forte dépendance au pH et au solvant • radical inexistant in vivo | • produits de dégradation antioxydants • radical inexistant in vivo | •pH utilisé non physiologique •interférences possibles à 595 nm• interférences avec composés possédant $E^\circ < 0,77 \text{ V}$ | • mécanismes de génération des ROO• non physiologique • interférences possibles des protéines |
| Références | [Brand-Williams et al., 1995 ; Pinelo et al., 2004] | [Awika et al., 2003 ; Arts et al., 2004 ; Osman et al., 2006] | [Benzie et Strain, 1996 ; Ou et al., 2002] | [Ou et al., 2001 ; Lopez et al., 2003] |
| | [Prior et al., 2005] | | | |

PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE



Chapitre I

Matériel et méthodes



I. Matériel et méthodes

Objectif :

Ce présent travail réalisé au niveau du laboratoire de biologie de l'université de Ziane Achour de Djelfa pour le dosage des phénols totaux, test DPPH pour évaluer l'activité antioxydant des deux espèces: *Teucrium polium* et l'*Artemisia herba alba*, nous avons fait l'extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation, ensuite on fait les tests biologiques (activité antioxydante). Prélevé à partir de quelques régions de la wilaya de Djelfa.

I.1. Matériels :

I.1.1. Matériel végétal : La récolte des plantes

I.1.1.1. Plantes étudiées: *Teucrium polium* et *Artemisia herba alba*.

La récolte des deux espèces est faite dans le foret de Toghersane, régions de la wilaya de Djelfa (lieu d'échantillonnage).



Figure 03: *Teucrium polium*.



Figure 04: *Artemisia herba alba*.

(Photos personnelles)

I.1.1.2. Zone de prélèvement :

A fin de réaliser la récolte des espèces, dans le foret de Toghersane, deux zones d'échantillonnage ont été choisies :

Zone 1 : Situé à 35.4 km du sud-est de la wilaya de Djelfa.

Zone 2 : Située à 59 km du sud-est de la wilaya de Djelfa.

Les différents échantonnages et analyses ont débuté le 20 juin 2022 et se sont terminés le 25 août 2022.



Figure 05 : Localisation géographique de la région de récolte par google maps.

I.1.2. Appareillage et produits :

I.1.2.1. Appareillage :

- Balance
- Rotavapeur
- Spectrophotomètre UV-Visible
- Verrerie : Erlen-mayer de 500 ml, Béchers (300 ml, 100 ml, 50 ml).
- Eprouvette graduée (250 ml, 100 ml).
- Burette graduée de 50 ml.
- Pipette graduée de 5ml.
- flacon.
- tubes à vis.

- Support et pince.
- Micropipette de (10-100 μ l) et (100-1000 μ l)



Figure 06 : Photographie de Rotavapeur dans laboratoire de biologie université de Djelfa.

I.1.2.2. Produits :

L'ensemble des produits et réactifs utilisés lors des expériences

- ✓ Eau distillée
- ✓ Méthanol
- ✓ Ethanol
- ✓ Carbonate de sodium
- ✓ DPPH (2,2-diphenyle-1-picrylhydrazyle)
- ✓ Réactif de Folin-Ciocalteu
- ✓ Acide gallique

I.2. Méthode :

I.2.1. Préparation des plantes médicinales :

Les plantes sont nettoyées et séchées à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant quelques jours. Après séchage, nous écrasons la plante et pesons la quantité nécessaire pour effectuer le processus d'extraction



Figure 07: *Artemisia herba alba*.



Figure 08: *Teucrium polium L.*

I.2.2. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au laboratoire pédagogique du département des sciences biologiques à l'université de Djelfa par la méthode d'hydrodistillation (Figure 09).

La méthode d'extraction consiste à prendre 60g de la matière sèche de *Teucrium polium* ou d'*Artemisia herba alba*, On met cette quantité dans le ballon et on ajoute 400 ml d'eau distillée. Le ballon est ensuite déposé sur une chauffe ballon. La durée de distillation est de 3 heures.

Nous avons recueilli le distillat dans un récipient en verre et nous effectuons le processus de séparation liquide-liquide par l'utilisation d'éther diéthylique (400ml de distillat avec 200ml de l'éther diéthylique) (Figure 10).



Figure 09: Montage d'extraction



Figure 10: Séparation liquide-liquide

I.2.3. Calcul du rendement :

Le rendement d'extraction est calculé selon la relation suivante [70] :

$$R (\%) = (M_{ext} / M_{éch}) \times 100$$

Où :

R : le rendement en (%).

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g).

$M_{éch}$: la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

I.2.4. Préparation des solutions :

a) Solution de DPPH:

Sous la hotte, dans une fiole de verre marron de 250 ml, une masse 15,77mg (pesée à l'aide d'une balance précise à 1g près) de DPPH, est mélangée avec une quantité de méthanol suivi d'une agitation jusqu'à sa dissolution totale, ensuite la fiole est remplie jusqu'au trait de jauge (250ml), stocké à l'abri de la lumière et au réfrigérateur en attendant son utilisation.

b) Solution de Folin-Ciocalteu (diluée avec méthanol 1 :1) :

Un volume du réactif Folin-Ciocalteu de 100 ul est dilué avec l'eau distillée.

Stocké à l'abri de la lumière dans le réfrigérateur en attendant son utilisation.

c) Solution de carbonates de sodium (Na₂CO₃) à 2 % :

Une fiole de 10 ml une masse de 0.2g est pesée à l'aide d'une balance précise (à 1 mg près) de carbonate de sodium, puis mélangé avec une quantité d'eau distillée suivi d'une agitation jusqu'à sa dissolution totale, ensuite la fiole est remplie jusqu'au trait de jauge (10ml).

d) Solution des substrats utilisés dans le test DPPH:

La première étape consistait à préparer la solution mère d'une concentration (100µg/ml), pour les produits de référence (le Butylhydroxytoluene (BHT) comme antioxydant de synthèse) et pour les extraits du *Teucrium* et *Artemisia* en utilisant le méthanol comme diluant.

La deuxième étape consistait à préparer les dilutions à partir de la solution mère dans des tubes à essai à différentes concentrations (25, 50, 100, 200µg/ml).

e) Solution des produits d'établissement de la courbe d'étalonnage de référence:

Lors du dosage des polyphénols totaux en utilisant l'acide gallique comme produit de référence et l'eau distillée comme diluant.

f) Solution des extraits du *Teucrium* / *Artemisia*:

Pour le dosage des polyphénols, des solutions mères d'une concentration de (100 ug/ml) sont préparés à partir des extraits de *Teucrium* / *Artemisia* par différents diluants (eau / méthanol) selon le protocole, répété trois (03) fois pour chaque extrait.

Remarque : Chaque solution est fraîchement préparée, au moment de la réalisation du protocole.

I.3. Dosage des antioxydants :

I.3.1. Essai de piégeage des radicaux DPPH :

L'activité antioxydante des deux HE étudiées a été évaluée sur la base de l'activité de piégeage du radical libre stable 2,2 -diphényl-1-picrylhydrazyl, Diverses concentrations des deux HE (c'est-à-dire 25, 50, 100 et 200 µg/ml) ont été diluées cinq fois avec une solution de DPPH dans du méthanol. Le blanc consistait en une solution méthanolique 0,4 mM de DPPH. Après 30 min d'incubation à température ambiante, la réduction du nombre de radicaux libres a été mesurée par lecture de l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre BECKMAN DU 520. Le TBHQ (Sigma) a été utilisé comme étalon de référence. Toutes les déterminations ont été effectuées en triple.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par chaque HE a été calculé selon la formule suivante [71] :

$$\% \text{ Inhibition} = [(AB - AA) / AB] \times 100$$

Où AB absorption de l'échantillon blanc (t = 0 min) et AA = absorption de l'huile testée (t = 30 min).

Les valeurs IC₅₀, qui représentaient la concentration d'HE ou de TBHQ qui a provoqué 50 % de piégeage, ont été déterminées à partir du tracé du pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration.

I.3.2. Détermination des composés phénoliques totaux :

L'équivalent phénolique total des deux HE étudiées a été déterminé selon la méthode décrite par [72]. En bref, 100 µl de chaque HE pur (100%) ont été dissous dans 10 ml de méthanol, et 2 ml de cette solution ont été complétés avec 0,3% de HCl à 5 ml. Une aliquote de 100 µl de la solution résultante a été ajoutée à 2 ml de Na₂CO₃ à 2 % et après 2 min, 100 µl de réactif de Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Allemagne) (dilué avec du méthanol 1:1) ont été ajoutés et bien mélangés. Après 30 min d'incubation, l'absorbance des mélanges a été enregistrée par spectrophotométrie à 750 nm. Les teneurs phénoliques totales ont été calculées en équivalent d'acide gallique (EAG) à partir d'une courbe d'étalonnage de solutions étalons d'acide gallique et exprimées en mg d'acide gallique par 100 µl d'HE.

I.3.3. Analyses statistiques :

L'hydro-distillation des HE, les déterminations du poids frais et sec des herbes, de l'activité antioxydante et du contenu phénolique total ont été réalisées en triple exemplaire. Les données ont été exprimées en moyenne \pm écart-type.

Chapitre II Résultats et discussion



II. Résultats et discussion :

II.1. Rendement :

Les huiles essentielles de *Teucrium polium* et d'*Artemisia herba-alba* ont été obtenues par l'hydrodistillation des parties aériennes (tiges et feuilles) des plantes. Les rendements correspondants sont exprimés en pourcentage de masse de chaque extrait par rapport à la masse de matière végétale sèche. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Rendement des huiles essentielles de *Teucrium polium* et *Artemisia herba alba*

| Matériel végétal | <i>Artemisia herba alba</i> | <i>Teucrium polium</i> |
|------------------|-----------------------------|------------------------|
| Rendement (%) | 1,46 ± 0,30 | 0,57 ± 0,04 |

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart-type, n= 3.

Les résultats obtenus ci-dessus, montrent une différence entre le rendement d'extraction des deux plantes. L'*Artemisia herba alba* possède un rendement d'extraction plus élevé que le *Teucrium polium* avec des valeurs enregistrées de 1,45% et 0,57% pour l'*Artemisia* et le *Teucrium*, respectivement.

Le rendement de l'huile essentielle de *Teucrium polium* est inférieure à celui rapporté par (Moghtader, 2009) (0,75%) et (Kabouche et al., 2007) (1,7%). En revanche ce résultat est supérieur à celui trouvé par (Roukia et al., 2013) (0,1%).

L'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a donné une huile de couleur jaune-pâle avec un rendement de 1,46 %.

Notre résultat est proche de celui rapporté par (Ghanmi et al., 2010) (1,23%) d'une plante originaire de Maroc. En revanche, ce résultat ne s'accorde pas avec les résultats trouvés par (Bechiri et Tahar Mezedek, 2018) (0,28%) (Bouzidi, 2016) (0,93%) (Bezza et al., 2010),(0,95%), (Nacéra Dahmani-Hamzaoui & Baaliouamer 2015) (0,65%)

Un rendement très faible a été enregistré de l'ordre de 0.051% (Al-Wahaibi et al., 2018).

Les différences des résultats de rendement (entre les deux plantes étudiées elles-mêmes, ainsi que ceux retrouvés par d'autres auteurs) sont dues à plusieurs facteurs :

L'origine des plantes et leurs variétés, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante et la durée de conservation (PARK et CHA, 2003).

II.2. Dosage de polyphénols totaux :

Le taux de polyphénols totaux contenus dans les deux huiles essentielles a été déterminé à partir de la droite de la courbe d'étalonnage d'acide gallique à différentes concentrations (Figure 11).

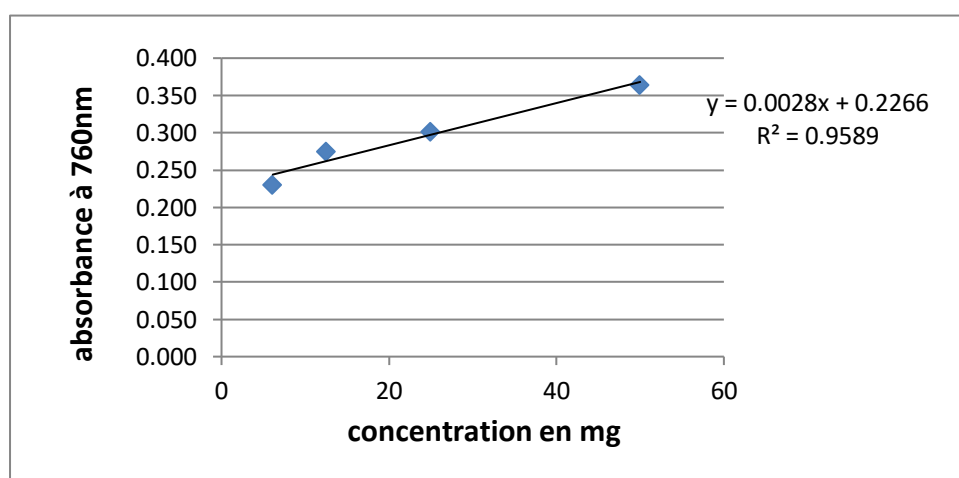


Figure 11: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les teneurs en polyphénols totaux pour les deux huiles essentielles ont été calculés à l'aide de l'équation: $y = 0,0028 x + 0,2266$ avec $R^2 = 0,9589$ issue de la droite de la courbe d'étalonnage d'acide gallique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

La teneur en polyphénols totaux contenue dans les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Teucrium polium* est variable, et elle se diffère d'une huile à une autre. L'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a présenté la plus grande teneur en composés phénoliques (20,97mg EAG/100 μ l HE). Alors que l'huile essentielle de *Teucrium polium* renferme moins de polyphénols avec une teneur de 15,73mg EAG/100 μ l HE. Et le mélange des huiles nous donne une teneur en composés phénolique $35,381 \pm 1,65$ mg EAG/100 μ lHE.

Tableau 08 : Teneur en polyphénols totaux

| Matériel végétal | Teneur en polyphénols (mg EAG/100 µl HE) |
|---|---|
| <i>Artemisia herba alba</i> | 20,976 ± 2,42 |
| <i>Teucrium polium</i> | 15,738 ± 1,68 |
| Melange (<i>Teucrium</i> + <i>Artemisia</i> : 50%+50%) | 35,381 ± 1,65 |

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart-type, n= 3.

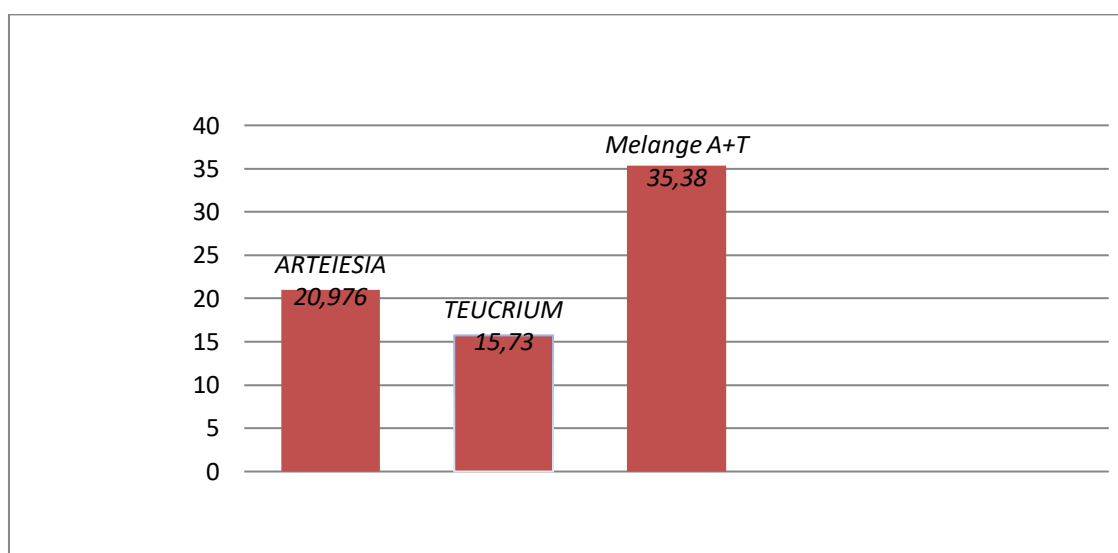


Figure 12: Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux

La teneur moyenne en polyphénol du l'*Artemisia* est supérieure à celle de *Teucrium polium*, qui sont respectivement de 20,976 ± 2,42 et de 15,738 ± 1,68 mg EAG/100 µl (Tableau 08).

La teneur en polyphénols totaux du mélange (50%+50%) est égale à 35,38% mgEAG /100 µl HE.

Nos résultats en polyphénols de l'*Artemisia* sont similaires à ceux retrouvés par Boulanouar et *al.* (2017) et Ababsan (2018) ont montré que la teneur en polyphénols de l'armoise blanche est respectivement de l'ordre (22,41 mg AG/g d'ES et 24,963 mg AG /g d'ES). Cependant, nos résultats sont largement inférieur aux résultats retrouvés par Saffidine et *al.* (2013) Ils ont trouvé une teneur en polyphénols totaux de (114,45 mg AG/g d'extrait).

Les différences de quantités de composés phénoliques contenues dans les extraits des plantes étudiées elles-mêmes, ainsi que celles retrouvées par d'autres auteurs sont dues : En plus des facteurs liés à la plante (origine des plantes et leur variétés, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique,...etc) PARK et CHA (2003), et les conditions de préparation, et d'extraction de ces composés (solvant, diluant, épuisement, température, la pression,....etc)

II.3. Activité antioxydante:

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Nous avons employé la méthode au DPPH, ce radical libre présente une coloration violet sombre, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pale, cette coloration dépend de la puissance de la substance anti radicalaire.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante des huiles essentielles de deux plantes étudiées sont représentés sur les tableaux (09 et 10) et les figures (13 et 14).

Nous avons constaté que le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de plantes étudiées augmente avec l'augmentation des différentes concentrations préparées.

Tableau 09: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d'*Artemisia herba alba*.

| Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d' <i>Artemisia herba alba</i> . | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|
| Concentration (µg/ml) | 25 | 50 | 100 | 200 |
| % inhibition | 13,19 | 40,68 | 70,02 | 98,45 |

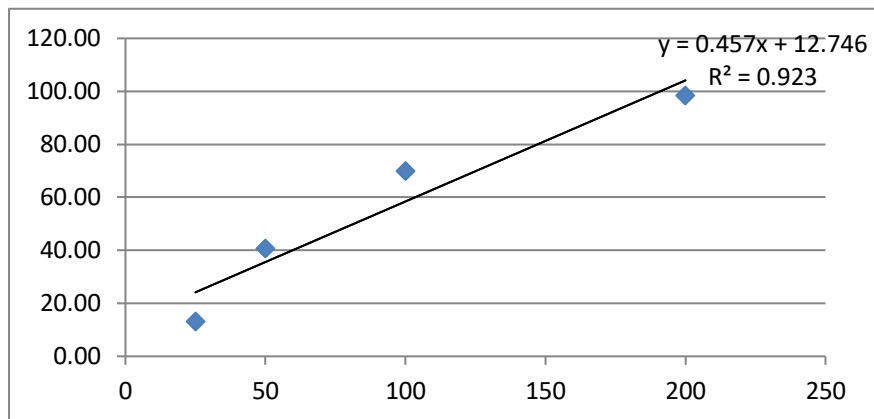


Figure 13: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d'*Artemisia herba alba*.

Tableau 10 : pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE de *Teucrium polium*.

| Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE de <i>Teucrium polium L.</i> | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|
| Concentration (ug/ml) | 25 | 50 | 100 | 200 |
| % inhibition | 40,27 | 59,05 | 75,93 | 93,55 |

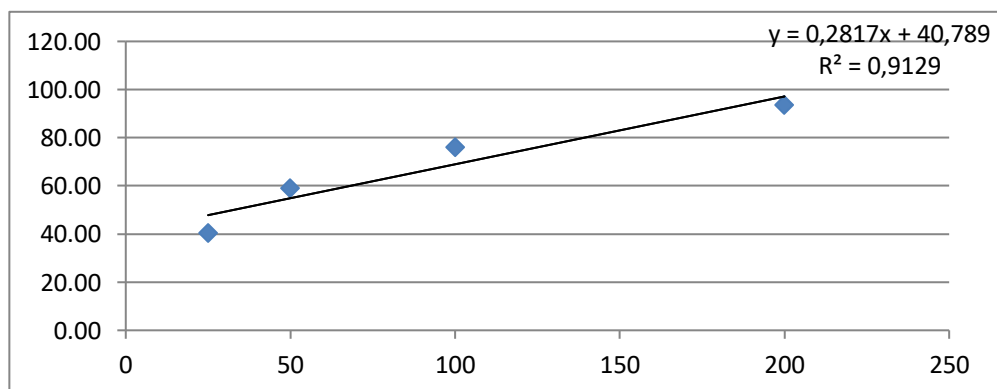


Figure 14: Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE de *Teucrium polium L.*

Le pouvoir antioxydant est exprimé par la concentration inhibitrice de 50% des radicaux appelée IC50. Cette grandeur a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés en appliquant l'équation : $y = ax + b$.

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

Les deux HE de *Artemisia herba alba*, *Teucrium polium* et leur mélange ont représenté un IC50 de (81.52 µg/ml) et (32.70 µg/ml) et (55.52 µg/ml) respectivement, ce qui signifie que les deux extraits possèdent une activité antioxydante puissante et la *Teucrium polium* a représenté une activité antioxydante élevée par rapport à *Artemisia herba alba* figure (15). Le tableau (11), (12) et (13) représente les valeurs d'IC50 des extraits étudiés.

Tableau 11: Activité antioxydante (méthode DPPH) d'huiles essentielles d'*Artemisia herba alba*

| | Equations | R2 | IC50 (µg/ml) |
|----|------------------------|--------|--------------|
| HE | $Y = 0.2817x + 40.789$ | 0,9129 | 81.52 |

Tableau 12: Activité antioxydante (méthode DPPH) d'huiles essentielles de *Teucrium polium*

| | Equations | R2 | IC50 (µg/ml) |
|----|------------------------|-------|--------------|
| HE | $Y = 0.457 x + 12.746$ | 0,923 | 32.70 |

Tableau 13 :Activité antioxydante (méthode DPPH) d'huiles essentielles de mélange *Teucrium polium* et *Artemisia herba alba*

| | Equations | R2 | IC50 (µg/ml) |
|----|-------------------------|--------|--------------|
| HE | $Y = 0.3572 x + 30.167$ | 0,9139 | 55.52 |

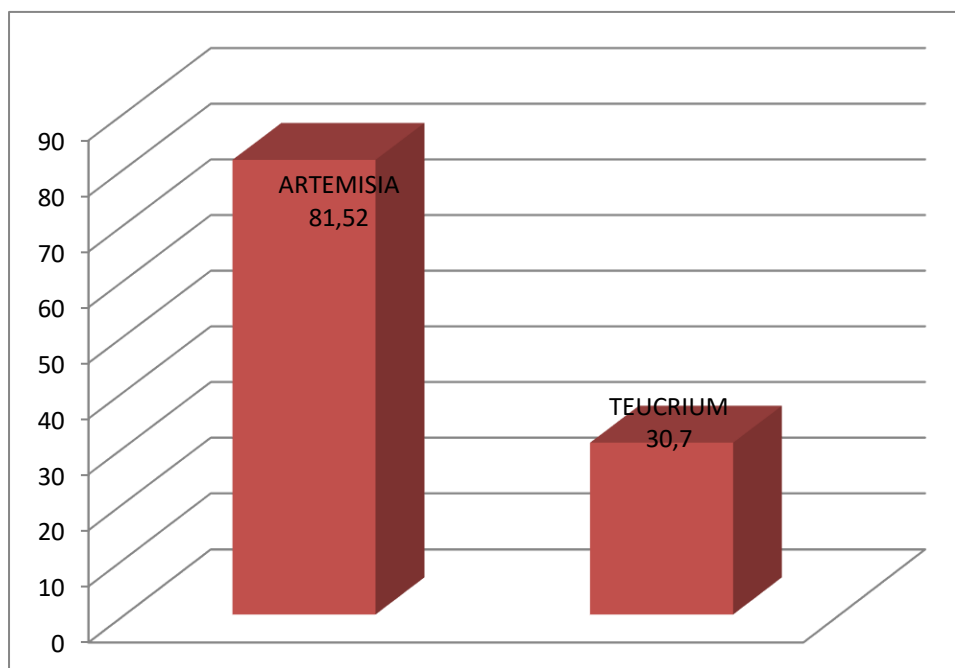


Figure 15: Histogramme représentant les valeurs d'IC50 (µg/ml) de deux espèces étudiées

Concernant l'huile essentielle de *Teucrium polium* on constate que Khaled-Khodja N. et al. (2014) ont trouvé une valeur d'IC50 de 95 µg/ml, en étudiant l'effet antioxydant de l'huile essentielle de *Teucrium polium* de (Bejaïa, Algérie), ce qui est inférieur au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de la plante étudiée (32,70 µg/ml).

Et pour l'*Artemisia herba alba* on remarque que Boulanouar et abedelaziz (2014) ont indiqué que l'*Artemisia herba alba* exerce une activité antiradicalaire plus importante avec une valeur d'IC50 (39 µg/ml), ce qui est supérieur au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de notre étude (81,52 µg/ml)

Leur mélange est représenté un IC50 qui signifie que les deux extraits possèdent de bonnes activités antioxydantes.

Il est difficile de comparer les résultats obtenus (entre les deux plantes étudiées elles-mêmes, ainsi que celles retrouvées par d'autres auteurs), à cause de l'influence et la diversité des conditions climatiques (la température et l'humidité), répartition géographique, l'organe végétal, lieu de récolte, la conservation du matériel végétal et la méthode de l'extraction.

Conclusion

De nos jours, un grand nombre des plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes liées certainement aux vertus thérapeutiques attribués à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par les plantes non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux tels que les antioxydants.

Au cours de cette étude, nous avons fait en première temps une extraction des huiles essentielles de la partie aérienne des plantes étudiées « *Artemisia herba alba* » et « *Teucrium polium* » par la méthode d'hydrodistillation. Ensuite une étude quantitative, calcul du rendement, dosage de polyphénol totaux pour les deux plantes étudiées, et en fin l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH.

Partant des résultats obtenus, Nous constatons que le Meilleures rendement d'extraction est enregistré chez *Artemisia herba alba* 1,46% par rapport à *Teucrium polium* 0,57%.

L'extrait d'*Artemisia herba alba* a présenté la plus grande teneur en composés phénoliques (20,97 mg EAG/100µl HE). Alors que l'extrait de *Teucrium polium* renferme moins de polyphénols que l'*Artemisia herba alba* avec une teneur de 15,73 mg EAG/100µl HE.

Les deux HE d'*Artemisia herba alba* et *Teucrium polium*, ainsi que leur mélange ont représenté un IC50 de (81,52 µg/ml) et (32,70 µg/ml) et (55,52 µg/ml) respectivement, ce qui signifie que les deux extraits possèdent une activité antioxydante et la *Teucrium polium* a représenté une activité antioxydante élevée par rapport à celle d'*Artemisia herba alba*.

L'activité antioxydante varie d'une espèce à l'autre et d'un endroit à l'autre et selon la saison à laquelle elle est récoltée. Les plantes médicinales en général restent d'un grand intérêt économique et sanitaire.

Références Bibliographie

- [1] Hirasa K., Takemasa M., (1998). Spice science and technology. Ed. Marcel Dekker, New York, 1184p.
- [2] Macheix J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux. (Ed.) Presses polytechniques et universitaire romandes. Pp :1-32.
- [3] Organisation Mondiale de la Santé., (2003). Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle, Ed. Science & Bio. Paris, 142p.
- [4] Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore LAURENTIENNE, p 19-20 (Aout 2008).
- [5] Les médicaments à base de plantes peuvent-ils complètement remplacer les médicaments actuels : Quels sont les inconvénients de la phytothérapie ?
Disponible sur:<http://phytotherapie-tp1s.e-monsite.com/pages/quelles-sontlesinconvundefinednients-de-la-phytothundefinedrapie.html>.
- [6] Schauenberg, P. Paris, F., (1997). Guide des plantes médicinales : analyse, des cription et utilisation de 400 plantes. Paris : Delachaux et Niestlé ,396p.
- [7] Ramli, I., (2013). Etude, in vitro, de l'activité anti leishmanienne de certaines plantes médicinales locales : cas de la famille des lamiacées. Thèse du magister en Biologie appliquée : Université de Constantine.85p.
- [8] Familles de plantes à huiles essentielles 68. [En ligne]. URL : <https://www.compagniedes-sens.fr/familles-plantes-huiles-essentiellles/>
- [9] The plant list [Internet]. [En ligne]. URL : <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q>
- [10] Ahmed, A.A., Abou El-Ela, M., Jakupovic, J., Seif El-Din, A.A., Sabri, N. (1990). Phytochemistry, 29, 3661–3663.
- [11] Darias V., Bravo L., Barquín E., Martí'n-Herrera D., Fraile C. J., (1986). Ethnopharmacol. 15, 169–193.
- [12] Dhingra V., Rao K.V., Narasu L., (2000). Life sci. 66, 279–300.
- [13] El-MassryK.F., El-Ghorab A.H., Farouk A., (2002). Food Chem. 79, 331–336
- [14] Kim J.H., Kim H.-K., Jeon S.B., Son K.-H., Kim E.H., Kang S.K., Sung N.D., Kwon, B.M., (2002). Tetrahedron Lett, 43, 6205–6208.
- [15] Pourrat, (1974). Propriétés écophysiological associées à l'adaptation d'Artemisia herba-alba plante d'intérêt pastoral au milieu désertique. Thèse de 3ème cycle. Universitéde Paris.

- [16] Aidoud A., (1989). Les écosystèmes Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso). II : Phytomasse et productivité primaire. Biocénoses, 1-2 : 70-90.20
- [17] Atoum, M., Al-charchafchi, F et Modallah, N. (2006). Biological activity and antimutagenicity of water soluble phytotoxins from *Artemisia herba-alba* asso. Pakistan journal of Biological sciences. 9 :1774-1778.
- [18] Pourrat., (1974). Propriétés écophysologiques associées à l'adaptation d'*Artemisia herba-alba* plante d'intérêt pastoral au milieu désertique. Thèse de 3ème cycle. Université de Paris.
- [19] Ozenda P., (1985). La flore du Sahara. Tome II. Ed CNRS, pp 44.
- [20] Saadi H., Benouarat K. (2013). Etude des activités antioxydantes de deux plantes médicinales « *Matricaria pubescens* » et « *Artemisia Herba alba* » et de leur mélange. Université Abderrahmane Mira Bejaia : pp7
- [21] Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris : pp 600.3.
- [22] Ayad N., Hellal B. et Maatoug, M-H. (2007). Dynamique des peuplements d'*Artemisia herba-alba* asso dans la steppe du sud oranais (Algérie Occidentale). Sécheresse. 18(3) :193-198
- [23] Baba Aissa F. (1999). Encyclopédie des plantes utilisées Flore d'Algérie et du Maghreb. Edas, P 368.
- [24] Saadi H., Benouarat K. (2013). Etude des activités antioxydantes de deux plantes médicinales « *Matricaria pubescens* » et « *Artemisia Herba alba* » et de leur mélange. Université Abderrahmane Mira Bejaia : pp 8
- [25] Tahraoui et al., 2007. L'infusion de cette plante est conseillée pour le rhumatisme et l'arthrite
- [26] (Salah et Jager et al., 2008). Salah, S. M., & Jäger, A. K. (2005). Two flavonoids from *Artemisia herba-alba* Asso with in vitro GABA A-benzodiazepine receptor activity. Journal of Ethnopharmacology, 99(1), 145–146. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.031>
- [27] Ahmed, A.A., Abou El-Ela, M., Jakupovic, J., Seif El-Din, A.A., Sabri, N. (1990). Phytochemistry, 29, 3661–3663.
- [28] (Saleh et al., 1985 ; Saleh et al., 1987)
- [29] (Feuerstein et al., 1986),
- [30] Gharabi Z., S. & R.L., (2008). *Artemisia herba alba* Asso. A Guide to Medicinal plants in North Africa.
- [31] Couplan F. (2000). Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (Ed). Luisane. Paris.

- [32] VelascoNegueruela A., PerezAlonso M. J., (1990).The Volatiles of six *Teucrium* species from the Iberian Peninsula and the Balearic islands. *Phytochemistry*, 29 (4): 1165-1169. ; Grubisic R.J., VladimirKnezevic S., Kremer D., Kalodera Z. Vukovic J., 2007.Trichome micromorphology in *Teucrium* (Lamiaceae) species growing in Croatia. *Biologia*, Bratislava, 62(2) : 148-156.
- [33] Ozenda P., (1977). Flore du Sahara. 2^{em} ED. CNRS. Paris.
- [34] Fourment., Roques., (1942). Répertoire des plantes Médicinales et Aromatiques d'Algérie : 159p.
- [35] Caddick, L.R., Wilkin, P., Rudall, P.J., Hedderson, T.A.J., Chase, M.W. (2002). Yams reclassified: a recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon*. 51: 103-114.
- [36] KracheI. (2009). Evaluation des effets toxiques des extraits méthanoliques de *Tamus communis* L. et *Teucrium polium* L. sur des rats blancs albino wistar. Mémoire de magister, université Farhat Abbas -Sétif-.
- [37] Autore G., Capasso F., De Fusco R., Fasulo M.P., Lembo M., Mascolo N., Menghini A. (1984).Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L.). *Pharmacol. Res. Commun*, 1, 16: 21-29.
- [38] Bendjilali B., Richard H; Liddle P. (1984). Chémotypes d'armoise blanche du Maroc. Congrès international de la société italienne de phyto-chimie ; p 131-151.
- [39] G. Forkman, et S., (2001).Martens, metabolic engineering and applications of flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology*, 12, 155-160.
- [40] Quenzel et S. Santa, Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed : CNRS ? Paris, p : 45.
- [41] Rajabalian S., (2008). Methanolic extract of *Teucrium polium* L. potentiates the cytotoxic and apoptotic effects of anticancer drugs of vincristine, vinblastine and doxorubicin against a panel of cancerous cell lines. *Exp Oncol.*, 30(2) :133-8.
- [42] Debuigne G., (1972). Dictionnaire des plantes qui guérissent. Librairie Larousse. Pp.130], [Gharaibeh M.N., Elayan H.H. Salhab A.S., 1988. Hypoglycaemic effects of *Teucrium polium*. *J. Ethnopharm.*, 24, 93-99
- [43] Duquenois P., (1982). Les médicaments aromatiques, leur caractère, leur contrôle, Phytothérapie.
- [44] Rahili G., (2002). Les huiles essentielles et leur intérêt. La forêt algérienne n°4. Institut national de la recherche forestière. Bainem Alger ; El Abed et Kambouche, 2003
- [45] Piochon, (2008)
- [46] Kaloustian et Hadji-Minaglou, (2012), La connaissance des huiles essentielles : qualité et aromathérapie ,31(4) :149-5.

[47] Malecky Mostefa., (2008). Thèse du DOCTORAT. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (agroparistech)., Robinson T. The organic constituents of higher plants. The chemistry and interrelationships. Cordus Press. MA. USA, 1991.

[48], [49], [50] Teisseire P J., (1991). Chimie des substances odorantes. Technique et documentation. Lavoisier. Paris, France ; 480 p.

[51] Tenscher et al., (2005).

[52] : GHERIB (A-B)., (1995). Etude comparative des huiles essentielles de menthe en Algérie. Obtention de grade de magister option chimie organique (USTHB).

[53] BabaAissa F. (1999). Encyclopedie des plantes utiles (flores d'Algérie et du Maghreb) librairie moderne. Rouiba: 173p.

[54] Lucchesi., (2005).

[55] Burt, S.A., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. International Journal of Food Microbiology.

[56] Charik Safia., Kadri Yamina. Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandulaofficinalis*, Mémoire de Master Académique ; Chimie Pharmaceutique, UNIVERSITE MOHAMED

[57] Hali L., (2002). Extraction et analyse de l'huile essentielle de la menthe verte. Mémoire de fin d'étude, ingénieur d'état (USTHB).

[58] Lucchesi., (2005)

[59] Bruneton J., (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. Tec et doc. Lavoisier. 3ème édition. Paris.

[60] Brian M L., (1995). The isolation of aromatic materials from plant products. R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem (USA) ; p.57-148 ; El Haib Abderrahim., (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.

[61] Koné, D. (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante, Metz.

[62] Favier A., (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique ; 108-117.

[63] Aïra Rezaire., (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa).

[64] Ayoub Bensakhria., (2018). Toxicologie générale : Le stress oxydatif. Rev : Recheach Gate 16 :70-81.

[65] Bellahsene C., (2017). Examen phytochimique et Pouvoirantimicrobien et anti-radicalaire des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzia) de la région d'Aïn Sefra (Algérie), Université Abou Bekr Belkaid TLEMEN.

[66] Boutaghane N., (2013). Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae).

[67] Valko, M., M. Izakovic., M. Mazur., C. J. Rhodes et J. Telser (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry* 266(1-2) : 37-56.

[68] Evans, P. et B. Halliwell (1999). Free radicals and hearing: Cause, consequence, and criteria. *Annals of the New York Academy of Sciences* 884: 19-40.

[69] Prior, R. L., X. Wu et K. Schaich (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10): 4290-4302.

[70] Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C., (2007). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L: organs and their biological activities. *Compt, Rend. Biol*, 331: 372-379.

[71] Yen GC., Duh PD (1994). Scavenging effect methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 629-632.

[72] Taga MS., Miller EE., Pratt DE., (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 61, 928-931.

ANNEXES

| Matériel végétal Rendement | <i>Artemisia herba alba</i> | <i>Teucrium polium</i> |
|----------------------------|-----------------------------|------------------------|
| 1ère extraction (g) | 1,05 | 0,36 |
| 2ème extraction (g) | 0,89 | 0,34 |
| 3ème extraction (g) | 0,69 | 0,31 |

Annexe 01 : Rendement des plantes étudiées après chaque extraction.

| Resultat d absorbance a 517 nm de melange (A+T) (DPPH) | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|------|------|-------|------|-----|-------|-----|-------|-------|-------|------|
| Concentration ug/ml | 25 | | | 50 | | | 100 | | | 200 | | |
| Abs (nm) | 0,75 | 0,74 | 0,73 | 0,52 | 0,51 | 0,5 | 0,299 | 0,3 | 0,298 | 0,072 | 0,071 | 0,07 |
| Standard de DPPH | 1,020 | | | 1,031 | | | 1,033 | | | 1,04 | | |
| ECARTYPE | 0,010 | | | 0,010 | | | 0,001 | | | 0,001 | | |
| MOYENNE | 0,740 | | | 0,510 | | | 0,299 | | | 0,071 | | |
| % inhibition | 29,45 | | | 53,63 | | | 74,36 | | | 97,17 | | |

Annexe 02: Resultat d'absorbance a 517 nm de melange (A+T) (DPPH)

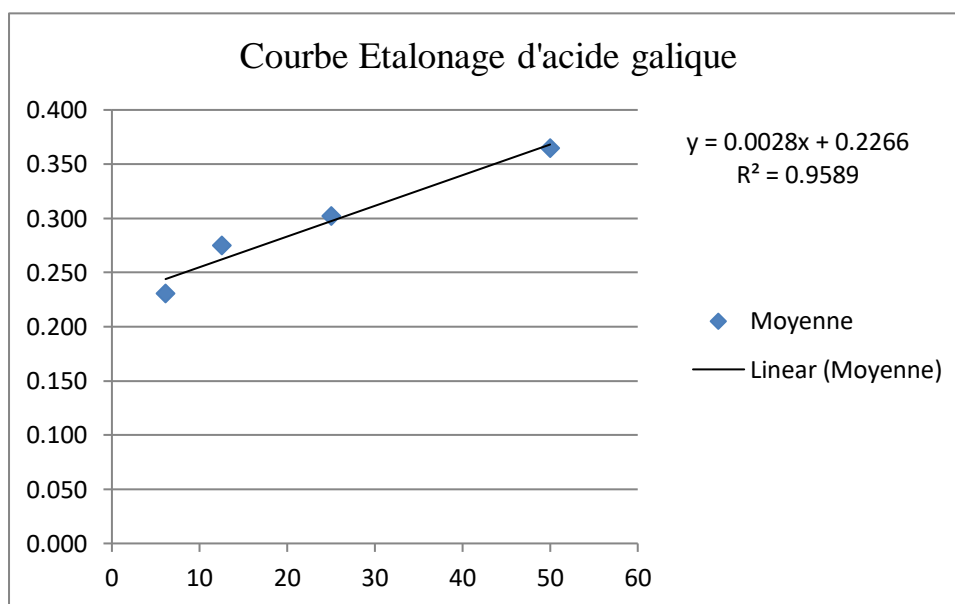
| Resultat d absorbance a 517 nm de l'Artemisia (DPPH) | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentration ug/ml | 25 | | | 50 | | | 100 | | | 200 | | |
| Abs (nm) | 0,908 | 0,925 | 0,919 | 0,635 | 0,633 | 0,6 | 0,334 | 0,333 | 0,352 | 0,064 | 0,063 | 0,066 |
| Standard de DPPH | 1,026 | | | 1,023 | | | 1,030 | | | 1,046 | | |
| ECARTYPE | 0,009 | | | 0,006 | | | 0,011 | | | 0,002 | | |
| MOYENNE | 0,917 | | | 0,630 | | | 0,340 | | | 0,064 | | |
| % inhibition | 13,19 | | | 40,68 | | | 70,02 | | | 98,45 | | |

Annexe 03 : Resultat d'absorbance a 517 nm de l'Artemisia (DPPH)

Resultat d absorbance en 517 nm de *Teucrium P* (DPPH)

| Concentration ug/ml | 25 | | | 50 | | | 100 | | | 200 | | |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Abs (nm) | 0,605 | 0,640 | 0,639 | 0,485 | 0,475 | 0,5 | 0,250 | 0,260 | 0,280 | 0,087 | 0,090 | 0,085 |
| Standard DPPH | 1,019 | | | 1,043 | | | 1,018 | | | 1,021 | | |
| ECARTYPE | 0,020 | | | 0,015 | | | 0,015 | | | 0,003 | | |
| MOYENNE | 0,628 | | | 0,472 | | | 0,263 | | | 0,087 | | |
| % inhibition | 40,27 | | | 59,05 | | | 75,93 | | | 93,55 | | |

Annexe 04 : Resultat d absorbance a 517 nm de *Teucrium P* (DPPH)



Annexe 05: Courbe d'etalonnage d'acide galique

| <i>Artemisia herba alba</i> | | | |
|-----------------------------|-------|-------|-------|
| Standard AG | 0,144 | | |
| Abs (nm) | 0,293 | 0,283 | 0,280 |
| Ecartype | 0,007 | | |
| Moyenne | 0,285 | | |

Annexe 06: Dosage de phenol totaux à 750 nm (*Artemisia herba alba*)

| <i>Teucrium polium</i> | | | |
|------------------------|-------|-------|-------|
| Standard AG | 0,142 | | |
| Abs (nm) | 0,276 | 0,269 | 0,267 |
| Ecartype | 0,005 | | |
| Moyenne | 0,271 | | |

Annexe 07: Dosage de phenol totaux à 750 nm (*Teucrium polium*)

| Etalonnage d'acide galique | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|--------|-------|------|--------|-------|-----|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
| Concentration (ug/ml) | 6,12 | | | 12,5 | | | 25 | | | 50 | | |
| Abs | 0,227 | 0,234 | 0,23 | 0,356 | 0,266 | 0,2 | 0,287 | 0,328 | 0,290 | 0,365 | 0,364 | 0,364 |
| Ecartype | 0,0035 | | | 0,0769 | | | 0,0229 | | | 0,0006 | | |
| Moyenne | 0,230 | | | 0,275 | | | 0,302 | | | 0,364 | | |

Annexe 07: Etalonnage d'acide galique

Résumé:

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales algériennes. Cette étude vise à déterminer l'activité antioxydante des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales: *Teucrium polium* et *Artemisia herba-alba*, de la région de Djelfa. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation des parties aériennes des plantes. L'extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a donné un rendement de 1,46% et pour *Teucrium polium* 0,57%. La teneur en polyphénols totaux: l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a présenté une teneur de 20,97 mg EAG/g HE, alors que l'extrait de *Teucrium polium* a présenté 15,73 mg EAG/g HE. Concernant le test de DPPH: les deux HE de *Teucrium polium*, *Artemisia herba alba* et leur mélange ont représenté un IC50 de 81,52 µg/ml, 32,70 µg/ml et 55,52 µg/ml, respectivement. L'activité antioxydante varie d'une espèce à l'autre. Ces plantes médicinales en général restent d'un grand intérêt économique et sanitaire.

Mots clés : *Teucrium polium*, *Artemisia herba alba*, activité antioxydant,