

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers



Département de biologie

MEMOIRE

Présenté par

Nom et Prénom

STITOU Mohamed Zakariya

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Alimentation et nutrition

Thème

**Etude de l'activité antioxydant des extraits de
*Petroselinum crispum (Persil)***

Soutenu le 01/07/2017 , devant le jury composé de :

Président AZZINoureddine Grade MAA Université d'origine Tlemcen.

Encadreur TEFIANI Choukri Grade MCA Université d'origine Tlemcen.

Examineur GHANEMI Fatima Grade MAA Université d'origine Tlemcen.

Année universitaire 2016-2017

Dédicaces

*Je dédie mon travail aux personnes les plus chères au monde
Maman et Papa et à ma sœur .*

*Mes dédicaces sont également adressées à tous mes amis avec lesquels j'ai
partagé de beaux
moments et dont je garde d'excellents souvenirs.*

Remerciement

*Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné
la*

force et la patience.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à
Mr*

*Tefiani Choukri, maitre de conférence A , pour avoir encadré et dirigé ce
Travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil
et la*

confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail.

*J'adresse mes sincères remerciements à Melle Ghanemi Fatima Zohra ,
Maitre assistante, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens également mes vifs remerciements à Mr Azzi Nour eddine,
mètre assistant A pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner
ce*

*mémoire. Aux personnels du laboratoire pour leur aide, en particulier
khadidja pour son aide. Enfin de nombreuses personnes m'ont accompagné
dans la réalisation de ce travail. Je les remercie sincèrement pour m'avoir
entouré et prodigué conseils, pour m'avoir apporté chaleur et
compréhension.*

*À tous mes amis. À tous les étudiants de master Alimentation et nutrition,
promotion 2017.*

*À toute personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou
indirectement, à la réalisation de ce travail.*

*Qu'ils trouvent dans ce témoignage L'expression de ma gratitude, Mon
profond*

respect, et ma Parfaite considération.

Table de matière

- Remerciements**
- Dédicaces**
- Liste des abréviations**
- Glossaire**
- Liste des tableaux**
- Liste des figures**
- Résumé**

Introduction.....01

Chapitre I : Données Bibliographiques

- I.1.Phytothérapie.....02
 - I.1.1.Définition de la phytothérapie.....02
 - I.2.Plantesmédicinales02
 - 2.1. Définition des plantes médicinales.....02
 - I.2.2. Définition des principale actifs des plantes03
 - I.2.3. Différents groupes des principes actifs03
 - I.3 Aromathérapie07
 - 3.1. Définition de l'aromathérapie07
 - I.4 Généralités sur les huiles essentielles08
 - 4.1. Définition sur les huiles essentielles08
 - 4.2. Composition Chimique des Huiles Essentielles08
 - I.5. Etude botanique des plantes étudiés.....08
 - 5.1Généralités sur la famille des apéacees09
 - 5.2Répartition géographique10
 - 5.3.Histoire du persil en phytothérapie 11
 - 5.4.Genre Petroselinum crispum11
 - 5.5.Description 12
 - 5.6.Plante condimentaire.....13
 - 1.6.Antioxydants.....13
 - 6.1 Définition.....13

6.2.Mécanisme d'action	14
6.3.Les antioxydants primaires	15
6.4.Les antioxydants secondaires	15
6.5.Utilisation des antioxydants	15
6.6.Classification des antioxydants	15
1.7.L'utilisation des extraits des plantes médicinales	16
7.1Extraits aqueux	16
7.2.Extrait par solvant éthanoliques ou hydro alcooliques.....	17
7.3.Extraits glycinées	17

Chapitre II : Matériel et méthode

II.1 choix des plante	21
1.2 collecte du matériel végétal	21
II.2 Méthode de préparation de l'extrait de <i>Petroselinum crispum</i>	21
II.3 évaluation de pouvoir antioxydant des extraits étudiés	21
3.1 Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH.	22
3.2 Mesure du pouvoir de piégeage du radical ABTS ^{o+}	23
3.3 Pouvoir Chélateur du fer	25

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Mésure du pouvoir antioxydant des extraits De <i>Petroselinum Crispum</i>	28
III.1Piégeage du radical DPPH	29
1. Les extrait éthanoliques de <i>Petroselinum Crispum</i>	30
2. Les extrait méthanolique de <i>Petroselinum Crispum</i>	31
III .2 Piégeage du radical ABTS ^o	31
1 Les extraits éthanolique de <i>Petroselinum Crispum</i>	31
2 Les extraits méthanolique de <i>Petroselinum Crispum</i>	32
III.3 Pouvoir chélateur du fer	33

1 Les extrait éthanologique de <i>Petroselinum Crispum</i>	34
2 les extrait éthanologique de <i>Petroselinum Crispum</i>	35
III.4 Discussion	36

Chapitre IV : Conclusion

Conclusion.....	40
-----------------	----

Liste des tableaux

Tableau 1 : la structure de base des principaux flavonoïdes

Tableau2 : Position de la famille des Apiacées dans les systèmes de classifications évolutives

Tableau3: Répartition mondiale des genres d'Apiacées

Tableau4 : Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical DPPH par les extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Tableau 5 : Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical DPPH par les extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*

Tableau 6: Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical ABTS par les extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Tableau 7 : Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical ABTS par les extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*

Tableau 8 : Les IC₅₀ montrant la chélation du fer par les extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Tableau 9 : Les IC₅₀ montrant la chélation du fer par les extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Liste des figures

Figure 1: Structure de base des acides benzoïque et cinnamique

Figure 2: Exemple d'alcaloïde la morphine

Figure 3: Unité isoprénique

Figure 4: Structure de noyau stéroïde

Figure 5: Répartition géographique mondiale des Apiacées

Figure 6: (*Petroselinum crispum* Feuilles de persil plat)

Figure 7 : les systèmes de défense contre les radicaux libres

Figure 8 : Diverses formes d'utilisation des plantes médicinales

Figure 9 : Réaction entre le radical DPPH[•] et l'antioxydant pour former le DPPH stable

Figure 10 : Formation de l'ABTS^{•+} par un oxydant persulfate de potassium

Figure 11: Structure chimique de la ferrozine

Figure 12: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH[•] en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Figure 13: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH[•] en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Figure 14: Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS^{•+} en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Figure 15: Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS^{•+} en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*

Figure 16: Pourcentages de chélation du fer en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Figure 17: Pourcentages de chélation du fer en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

ملخص

يعد عالم النبات مصدر اساسي للمكونات الفعالة على المستوى الحيوي والنشاط المضاد للاكسدة مما يجعلها موضوع للبحث في الطب البديل وصناعة المواد الحافظة

تهدف الدراسة لتعرف فعليا لنشاط البيولوجي لمستخلص النبتة (*Petroselinum crispum*) مقتطفات من الإيثانول لمقتطفات بالميثانول

تم تقدير النشاط المضاد للاكسدة لهذه المستخلصات باستخدام اختبار DPPH ABTS والقدرة chélateur للحديد

النتائج المتحصل عليها أثبت وجود نشاط خاص بمضادات الاكسدة تجد معتبر استخراج الإيثانول والمستخلص ميثانول للنبتة (*Petroselinum crispum*)

الكلمات المفتاحية

استخراج الميثانول- القدرة chélateur للحديد - DPPH – ABTS - استخراج الإيثانول- *Petroselinum crispum*

Résumé

Le monde végétal est une excellente source de principes actifs, ce qui lui confère d'importantes activités biologiques ; souvent recherché dans la médecine alternative et le domaine agroalimentaire pour la conservation des aliments. Dans le but de connaître les activités biologiques des plantes médicinales utilisées traditionnellement par la population. Dans ce contexte notre travail s'est articulé sur l'étude d'activités antioxydantes à savoir le test de piégeage du radical DPPH, piégeage du radical ABTS et pouvoir chélateur des extraits éthanoliques et méthanoliques des feuilles, tiges et graine de *Petroselinum crispum* (Apiaceae). Les résultats obtenues ont montré une bonne efficacité des extraits étudiés à piéger le radical DPPH en enregistrant des IC50 de l'ordre de 0,019mg/ml, 0,616 mg/ml et 2,28 mg/ml respectivement des extraits éthanoliques des feuilles, graines et tiges et des IC50 de l'ordre de 0,359 mg/ml, 0,023 mg/ml et 2,361 mg/ml respectivement des extraits méthanoliques des feuilles, graines et tiges de même une bonne efficacité de ces extraits à piéger le radical ABTS en enregistrant des IC50 de l'ordre de 0,0214 mg/ml, 0,0975 mg/ml et de 0,1536 mg/ml respectivement des extraits éthanoliques des feuilles, graines et tiges et des IC50 de l'ordre de 0,019 mg/ml, 0,005 mg/ml et de 0,018mg/ml respectivement des extraits méthanoliques des feuilles, graines et tiges. Les extraits de cette plante ont exercé également un excellent pouvoir chélateur du fer avec des IC50 de l'ordre de 0,0726 mg/ml, 0,0939 mg/ml et 0,288mg/ml respectivement des extraits éthanoliques des feuilles, graines et tiges et des IC50 de l'ordre de 0,0866mg/ml, 0,0991mg/ml et 0,039mg/ml respectivement des extraits méthanoliques des feuilles, graines et tiges. Les résultats obtenus ont confirmé la présence d'une importante activité antioxydante pour des extraits méthanoliques et éthanoliques de *Petroselinum crispum*.

Mots clé : *Petroselinum crispum* – extrait éthanolique – extrait méthanolique – DPPH – ABTS – Pouvoir chélateur.

Abstract

The plant world is an excellent source of active ingredients, which gives it important biological activities Often sought after in alternative medicine and the agri-food field for food preservation. In order to know the biological activities of medicinal plants traditionally used by the population. In this context, our work was based on the study of antioxidant activities, namely the trapping test of the DPPH radical, the trapping of the ABTS radical and the chelating power of the ethanolic and methanolic extracts of the leaves Stems and seed of *Petroselinum crispum* (Apiaceae). The results obtained showed a good efficiency of the extracts studied to trap the DPPH radical by recording IC50 of the order of 0.019 mg / ml, 0.616 mg / ml and 2.28 mg / ml respectively of the ethanolic extracts of the leaves, seeds and stems And IC50s of the order of 0.359 mg / ml, 0.023 mg / ml and 2.361 mg / ml respectively of the methanolic extracts of the leaves, seeds and stems of the same efficacy of these extract to trap the ABTS radical by recording Of the ethanolic extracts of leaves, seeds and stems and IC50s of the order of 0.019 mg / ml, 0.0975 mg / ml and 0.1536 mg / , 0.005 mg / ml and 0.018 mg / ml respectively of the methanolic extracts of leaves, seeds and stems . The extracts of this plant also had excellent chelating power of iron with IC50s of the order of 0.0726 mg / ml, 0.0939 mg / ml and 0.288 mg / ml respectively of the ethanolic extracts of leaves, seeds and stems And IC50 of the order of 0.0866mg / ml, 0.0991mg / ml and 0.039mg / ml Respectively, of the methanolic extracts of the leaves, seeds and stems. The results obtained confirmed the presence of an important antioxidant activity for methanolic and ethanolic extracts of *Petroselinum crispum*.

Key words:*Petroselinum crispum*-Ethanol extract- Methanolic extract- Chelating power- DPPH-ABTS.

Introduction :

Depuis l'apogée de l'humanité les plantes permettent à l'homme de se nourrir, se loger, se chauffer et aussi elles jouent un rôle pour soulager les souffrances, préserver et soigner contre des maladies nuisent à la santé.

Par ailleurs les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle très important dans le secteur des industries agroalimentaire dans la parfumerie et surtout dans l'industrie pharmaceutique (**Bruneton, 2013**).

En effet , les plantes représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les hétérosides, les saponifies, les quinones et surtout des huiles essentielles(**Lafon,1991**).

La famille des Apiacées, anciennement appelée ombellifères, comprend des plantes alimentaires comme la carotte, le céleri, le fenouil,... et des plantes condimentaires comme le carvi, la coriandre, le cumin. Cette famille est connue pour sa richesse en huile essentielle (**Kambouche , et al 2011**).

Les herbes culinaires ont une longue histoire d'utilisation depuis la nuit des temps avec leur constituants qui peuvent réduire la détérioration et le contrôle de la croissance des agents pathogènes d'origine alimentaire. Néanmoins, de nombreuses plantes contribuent L'amélioration de la saveur dans les aliments et les boissons. Le persil (*Petroselinum crispum*) est l'une des herbes culinaires couramment utilisées pour la saveur dans la cuisines chinoise, Mexicaine, de l'Amérique du Sud, de l'Inde ainsi que celle de l'Asie du Sud-Est (**Jaswired al., 2000**). En outre, les extraits des herbes culinaires et leur huiles essentielles sont devenus de plus en plus populaires comme sources alternatives d'agents conservateurs naturels, en grande partie parce que les herbes sont largement cultivées, Et ce pour la consommation .

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets antioxydants des extraits méthanoliques et éthanoliques de *Petroselinum crispum*

Le travail s'articule sur trois chapitres :

- Un premier chapitre bibliographique ;
- Dans le second chapitre nous avons cité le matériel utilisé et expliqué les protocoles réalisés dans ce travail ;
- Dans le dernier chapitre nous avons présenté et discuté les résultats obtenus.

I.1.Phytothérapie

1.1 Définition de phytothérapie

La phytothérapie est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes...) (Hmamouchi, 1999 ; Gazengel, 2013).

Le recours à la phytothérapie s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, non seulement les populations des pays en développement y ont accès mais aussi ceux des pays où la biomédecine occupe une grande place dans le système de santé. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de la population mondiale compte toujours sur l'utilisation des plantes médicinales comme un premier traitement (Khalil et al., 2007). Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. C'est pour cela que l'industrie pharmaceutique se tourne vers la nature et a entrepris une vaste étude sur le terrain pour répertorier les plantes les plus prometteuses parce qu'il est nécessaire aujourd'hui, de valider l'usage traditionnel de ces plantes et d'évaluer scientifiquement leurs activités pharmacologiques retenues (Bahorun, 1997).

I.2.Plantes médicinales

2.1. Définition des plantes médicinales

Définie par la pharmacopée par une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, également appelée « drogue végétale » (Gazengel, 2013).

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, quinones,

flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et polypeptides (**Cowan, 1999**).

Cette ruée vers la médecine par les plantes peut s'expliquer par le fait que les plantes sont accessibles et abondantes, rendant ainsi la médecine par le traitement des plantes, abordable surtout dans les pays en voie de développement (**OMS, 2002**). De plus, les effets secondaires causés par les plantes sont minimes voire absents, au contraire des médicaments semi-synthétiques ou synthétiques (**Cowan, 1999 ; Iwu, 1999**).

I.2.2 Définition des principes actifs

Le principe actif est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (**Pelt, 1980**). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (**Benghanou, 2012**). Les plantes contiennent des métabolites secondaires qui peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi qu'à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) (**Sarnimanchado et Cheynier, 2006**).

I.2.3 Différents groupes des principes actifs

a) Polyphénols

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qu'on trouve au niveau des tissus superficielles des plantes, ils sont des composés phytochimiques polyhydroxylés et comprennent au moins un noyau aromatique à 6 carbones. On les subdivise en plusieurs sous classe principalement : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignines et les tanins (**Sarnimanchado et Cheynier, 2006**). Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante dont parmi la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (**Sarnimanchado et Cheynier, 2006**).

b) Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle (**Figure 1**), elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (**Wichtl et Anton, 2009**). Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (**Iserin et al., 2001**).

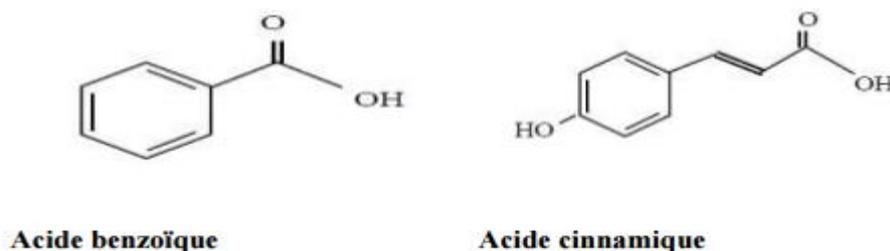


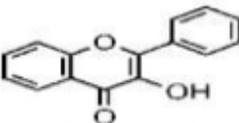
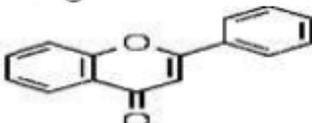
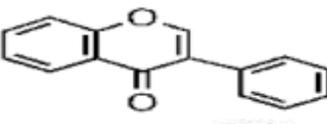
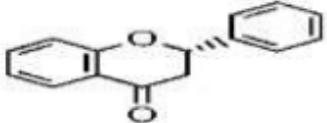
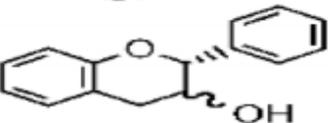
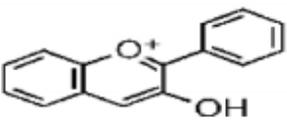
Figure 1: Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (**Bruneton, 2009**).

c) Flavonoïdes

Les flavonoïdes, proviennent du terme latin flavus et qui signifie jaune, ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible et peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (**Wichtl et Anton, 2009**). Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés par la présence de deux ou plusieurs cycles aromatiques existants sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides (**Tableau 1**), chacun porte un ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliés par un pont carboné (**Heller et Forkmann, 1993**). Généralement, les flavonoïdes possèdent une activité antibactérienne (**Wichtl et Anton, 2009**).

Ils peuvent être exploités dans plusieurs domaines dont parmi l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron), ainsi que l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales) (**Iserin et al., 2001**). Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Iserin et al., 2001**).

Tableau 1: la structure de base des principaux flavonoïdes (**Harborne et Williams, 2000**).

Sous classe	Structure
Flavonoles	
Flavones	
Isoflavones	
Flavanones	
Flavan-3-ol	
Anthocyanes	

d) Tanins

Le terme Tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (**Hopkins, 2003**). On distingue deux catégories : Les tanins condensés qui sont des polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines et les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (**Hopkins, 2003**). Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (**Iserin et al., 2001**).

e) Lignines

Ce sont des composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), on les retrouve également au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités

phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

f) Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale (**figure 2**), qui possèdent un caractère alcalin et une structure complexe (noyau hétérocyclique), on peut les trouver dans plusieurs familles des plantes, la partie majeure des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**).

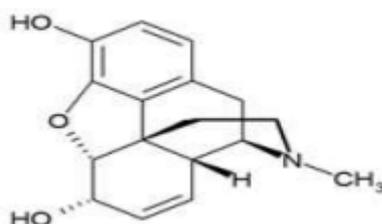


Figure 2: Exemple d'alcaloïde la morphine (**Osbourn et Lanzotti, 2009**).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (**Hopkins, 2003**). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (**Iserin et al., 2001**).

g) Terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels avec près de 15000 différentes molécules et avec un caractère généralement lipophile, leur grande diversité est due principalement au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$ selon la variation du nombre de n (**figure 3**), dont on peut citer les monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, ... (**Wichtl et Anton, 2009**). Dans la nature, ces molécules se présentent sous forme des huiles essentielles ; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).

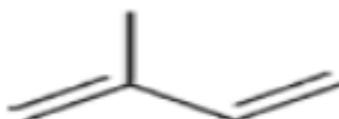


Figure 3: Unité isoprénique (Osbourn et Lanzotti, 2009).

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone (**figure 4**), synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (**Hopkins, 2003**).

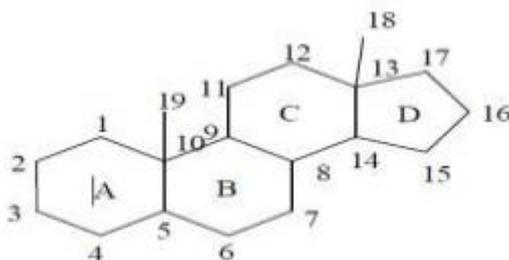


Figure 4: Structure de noyau stéroïde (Ling et Jones, 1995).

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liés à un groupement d'alcool pour être nommés les stérols; ces molécules prennent une forme plane, glycosylée. Cette molécule peut être analogue à la molécule de cholestérol et ne diffère de cette dernière que par la chaîne latérale comme: B-Sitostérol, Stigmastérol (**Hopkins, 2003**).

h) Saponosides

Le terme saponosides est dérivé du mot savon, ils sont des terpènes glycosylés comme on peut aussi les trouver sous forme aglycones (stéroïdes), ils possèdent un goût amer et acre (**Iserin et al., 2001 ; Hopkins, 2003**).

I.3 Aromathérapie

3.1 Définition de l'aromathérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie, elle recourt aux extraits aromatiques des plantes (essences et huiles essentielles). Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante (Hmamouchi M.1999, Lorrain E.2013). L'aromathérapie, qui signifie littéralement "soin par les odeurs" est le terme que l'on utilise pour désigner la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles. Il s'agit donc de la capacité et de l'art de soigner avec les huiles essentielles (**Buronzio, 2008**). Autrement vue, c'est une "biochimio-thérapie" naturelle sophistiquée qui repose sur la relation existante entre les composants chimiques des huiles essentielles et les activités thérapeutiques qui en découlent. Elle recourt à une méthodologie rigoureuse qui s'inspire de données

scientifiquement solides confirmées tant par la clinique que par le laboratoire, donc c'est une thérapeutique naturelle de qualité supérieure (**Baudoux, 2008**).

I.4. Généralités sur les huiles essentielles

4.1. Définitions

Ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues à partir des végétaux par entraînement à la vapeur d'eau. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire (**Sanon et Garba, 2002**). Les huiles essentielles sont des mélanges liquides très complexes. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance d'une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (**Afnor, 1986**).

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner.

4.2. Composition Chimique des Huiles Essentielles

Dans les plantes, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines (**Brunetton, 1987**). Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Kurin, 2003**).

I.5. Etude Botanique de la plante étudiée :

Le persil (*Petroselinum crispum*) est une espèce du genre *Petroselinum*. C'est une plante herbacée de la famille des Apiacées (Ombellifères), couramment utilisée en cuisine pour ses feuilles très divisées, et en Europe centrale pour sa racine pivot. C'est également une plante médicinale (**Quezel, P; Santa, S 1963**).

Nom scientifique : *Petroselinum crispum*

Noms communs : persil, persil cultivé, persil odorant, persin, de : Petersilie, en : parsley, persel, et : prezzemolo, petrosello.

Cette espèce est divisée en trois variétés principales :

- *Petroselinum crispum* var. *crispum*, le persil frisé ;
- *Petroselinum crispum* var. *neapolitanum*, le persil plat ou persil de Naples ;
- *Petroselinum crispum* var. *tuberosum*, le persil tubéreux.

5.1 Généralités sur la famille des Apiacées :

Cette vaste famille a été créée par Antoine Laurent de Jussieu en 1789 sous le nom d'Umbelliferae, puis nommée Apiacées par John Lindley en 1836 (**Boldi, 2014**). Cette famille a été également, jusqu'à il y a quelques années, très fréquemment décrite sous le nom d'Ombellifères, en relation avec la structure en ombelles des inflorescences. Selon la classification classique d'Arthur Cronquist, basée sur des caractères morphoanatomiques et chimiques, la famille appartient à la division des Magnoliophyta (encore appelées Angiospermes ou plantes à fleurs), classe des Magnoliopsida, sous-classe des Rosidae et ordre des Apiales (**Clardy et Walsh, 2004**). Cette position systématique est discutée au sein de la communauté scientifique des Botanistes. En effet, d'autres auteurs classiques de référence tels que Thorne, Dahlgren ou encore Takhtajan, la placent au sein des Araliales en raison de caractères morphologiques proches de la famille des Araliacées (**Newman 2012**). Dans la systématique classique, suivant en cela les travaux de Drude, les Apiacées se répartissent en 3 sous-familles selon les caractères morphologiques du fruit : les Apioideae (sous-famille la plus vaste), les Hydrocotyloideae et les Saniculoideae (**Radford, E 2011**). Une autre classification, plus récente, est la classification phylogénétique dite «APG» (Angiosperm Phylogeny Group), régulièrement actualisée (dernière version en 2009 APG III). Celle-ci, basée sur des caractères moléculaires issus de gènes chloroplastiques, permet de faire apparaître une dynamique évolutive ainsi que des liens de parenté existant entre les différents taxons. Selon cette classification, l'ordre des Apiales serait monophylétique.

Les Apiacées occupent une position assez haute dans l'évolution en faisant partie des Eu-dicotylédones évoluées encore appelées Astérides. Malgré tout, les Apiacées n'en possèdent pas tous les critères, à savoir par exemple des fleurs encore dialypétales, alors que la majorité des Astérides présentent des fleurs gamopétales, reflet d'une adaptation évolutive

à la protection des pièces reproductrices. Par contre, le caractère tenuinucellé des ovules et la présence d'un seul tégument, ou bien encore certains caractères biochimiques, signent leur appartenance aux Astérides.

Une synthèse de la position systématique de la famille des Apiacées selon les principaux auteurs précédemment cités figure dans le tableau-01 suivant.

Tableau2 : Position de la famille des Apiacées dans les systèmes de classifications évolutives

Auteur	Engler	Cronquist	Thorne	Dahlgren	Takhtajan	APGIII
Super-classe						Tricolpées (Eudicotylédones)
Classe	Dicotyledonae	Magnoliopsida				Tricolpées évoluées
Sous-classe	Archichlamydae	Rosidae	Magnoliidae		Cornidae	Asteridae
Super-ordre			Cornanae	Aralianae		Euastéridées IIIou Campanulidées
Ordre	Umbelliflorae	Apiales	Araliales			Apiales
Famille	Umbelliflorae	Apiaceae				

5.2 Répartition géographique :

La vaste famille des Apiacées rassemble 446 genres et environ 3500 espèces cosmopolites (**Bousetla et al.2005**), mais elle est particulièrement représentée dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et des montagnes tropicales (figure :5)



Figure 5: Répartition géographique mondiale des Apiacées (**Bousetla, A 2005**).

La famille des Apiacées est très homogène, elle est plus faciles à reconnaître, grâce à ses inflorescences en ombelles généralement composées, par contre les espèces sont parfois difficiles à distinguer les unes des autres. Les principaux genres de cette famille sont *Eryngium*, avec 230 espèces ; *Bupleurum*, avec 180 espèces ; *Ferula*, avec 170 espèces ; *Pimpinella*, avec 150 espèces, *Peucedanum*, avec 120 espèces ; *Hydrocotyle*, avec 120 espèces ; *Angelica*, avec 100 espèces ; *Lomatium*, avec 70 espèces ; *Heracleum*, avec 65 espèces et *Apium*, avec 25 espèces. Les genres se répartissent entre les continents, avec une prédominance pour le continent asiatique (**Bousetla, 2005**).

Tableau3: Répartition mondiale des genres d'Apiacées (**Bousetla, 2005**).

Continent	Genres	Endémiques
Afrique	126 divers	50
Amérique	197	52
Asie	265	159
Australie	36	11
Europe	139	29

La famille des Apiacées occupe une importante place dans la flore algérienne car elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (**Benahmed,2006**).

5.3.Histoire du persil en phytothérapie

Il y a 5000 ans sur le Bassin méditerranéen on la découvert , le persil pendant longtemps considéré comme une plante de mauvais augure. au moyen age, le persil a été reconnu comme étant une plante médicinale aux multiples vertus stimulantes, diurétiques et toniques. Sa culture s'est répandue dans l'ouest de l'Europe, puis autres zones tempérées du monde. C'est à partir du XVe siècle que les Français ont commencé à apprécier les propriétés culinaires du persil. Le persil est alors connu pour soigner les nausées, les douleurs d'estomac ou encore l'hypertension artérielle. Plus tard, il est utilisé pour apaiser les rhumatismes, les douleurs menstruelles et les troubles digestifs (**ANSM, 2012**).

5.4.Genre *Petroselinum crispum*

Selon (Crété, P 1968) ,la classification qu'occupe *Petroselinum crispum* dans la systématique est la suivante:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	<i>Petroselinum</i>
Espèce	<i>Petroselinum crispum</i>

5.5.Description de *Petroselinum crispum* :

Le persil est une plante bisannuelle de 25 à 80 cm de haut, à odeur caractéristique et très aromatique au froissement. Ses tiges sont striées et ses feuilles sont glabres.

Les feuilles, vert luisant, sont généralement doublement divisées, surtout celles de la base, les feuilles supérieures ayant souvent seulement trois lobes étroits et allongés(Figure 6).Les fleurs, d'une couleur jaune verdâtre tirant sur le blanc en pleine floraison, sont groupées en ombelles composéescomprenant huit à vingt rayons. Les ombellules sont munies d'un involucelle à nombreuses bractées.(Wicht 1999)

La racine allongée de type pivotant est assez développée. Elle est jaunâtre, d'odeur forte et aromatique.

Le persil à feuille plate peut être confondu avec la petite ciguë (*Aethusa cynapium*), plante toxique de la même famille. La petite ciguë ressemble beaucoup au persil par ses feuilles, mais s'en distingue par des traces rougeâtres à la base des tiges et par son odeur peu agréable.(Wicht 1999).



Figure 6: (*Petroselinum crispum* Feuilles de persil plat)

5.6. Utilisation condimentaire du persile

Le persil frais est utilisé à la fois comme assaisonnement et comme garniture. Comme condiment, il s'emploie entier (pour une marinade) ou le plus souvent haché. Il est utilisé pour orner les plats de poissons bouillis, ou même de viandes bouillies. Une garniture de persil frit (laisser frire 2 minutes) accompagne les plats de poissons frits, ou d'autres fritures. (Simon JE 1988)

Les feuilles, riches en vitamines A et C (à noter : 170mg/100g vitamine C soit deux fois plus que le kiwi et trois fois plus que le citron) sont très employées, finement ciselées comme condiment, tant dans les cuisines orientale, européenne, qu'américaine moyenne. Deux formes de persil sont utilisées : persil à feuille frisée ou crépue, et persil à feuille plate ou italienne. Beaucoup de gens pensent que le persil à feuille plate a une saveur plus forte. Le persil à feuilles frisées, souvent utilisé pour la décoration des plats, présente l'avantage d'éviter toute confusion avec la petite ciguë. Le persil aromatise aussi bien les crudités et les salades que les potages, les sauces, et les plats de légumes et de viande. Le persil est l'un des composants du bouquet garni. (Kasting R 1972)

1.6. Les Antioxydants

6.1 Définition

Le stress oxydative a été relié à plusieurs problèmes de santé comme l'artériosclérose, le cancer, la maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, le diabète et l'asthme (**Edris, 2007**). La balance cellulaire des radicaux libres est maintenue par différents antioxydants (**Raut & Karuppayil, 2014**).

Le pouvoir antioxydant des molécules peut être évalué soit *in vivo*, sur des organismes vivants, soit *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique (**Alam et al., 2013**).

Pour la stabilité des aliments, les antioxydants sont capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit (**Bouhadjra, 2011**).

En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble, efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable à l'aliment, résistant aux processus technologiques de fabrication, et stable dans le produit finidurant la conservation (**Bouhadjra, 2011**).

6.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Pour évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, des aliments, extraits naturels et antioxydants commerciales, différentes méthodes ont été développées (**Alam et al., 2013**). Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération formation de radicaux libres.

L'antioxydant peut agir sous différents mécanismes comme le piégeage des radicaux libres, par la décomposition des radicaux libres et par la chélation des ions métalliques (**Cam, et al., 2009**).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci (**bouhadjra, 2011**). Ces antioxydants peuvent agir selon trois mécanismes majeurs, par transfert d'atome d'hydrogène, par transfert d'électron ou bien par inhibition d'enzymes d'oxydations (**Miguel, 2010**). En plus leurs

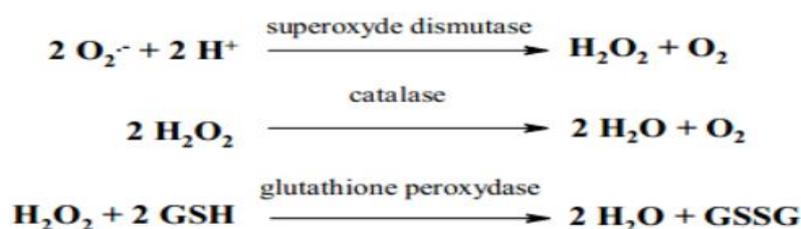
radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (**bouhadjra, 2011**).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**bouhadjra 2011**).

Ainsi, compte tenu des différents facteurs impliqués, tels que les propriétés physico-chimiques des molécules, il est recommandé d'utiliser plusieurs tests pour confirmer une activité antioxydante (**Prior et al., 2005 ; Miguel, 2010 ; Alam et al., 2013**).

6.3. Les antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydants qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase, de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (**Favier, 2006**). Selon cet auteur, ces enzymes antioxydants permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

6.4. Les antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydants, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette

molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (**Figure 8**) (**Dacosta, 2003**).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β - carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. (**Kohen et Nyska, 2002**)

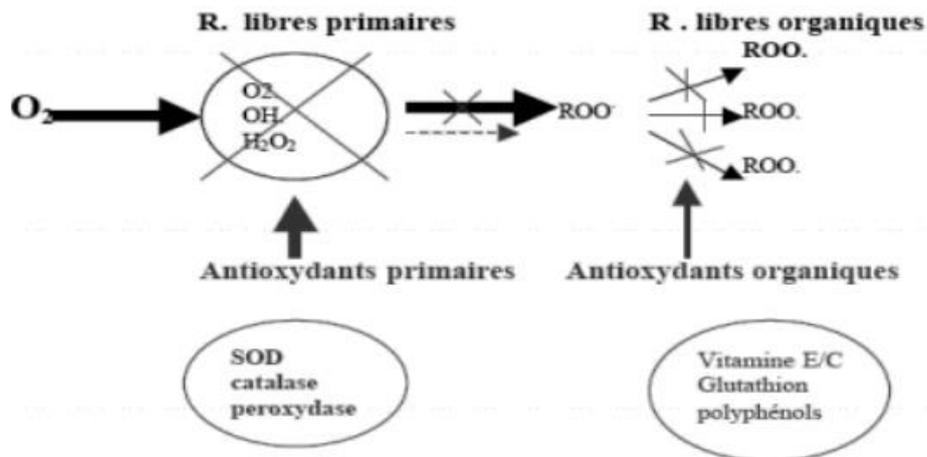


Figure7 :les systèmes de défense contre les radicaux libres(**Kohen et Nyska, 2002**).

6.5.Classification des antioxydants

Selon **Hellal (2011)**, les antioxydants sont classés dans trois catégories différentes :

- Les antioxydants synthétiques.
- Les substances synergiques.
- Les antioxydants d'origine végétale.

6.6.Utilisation des antioxydants

(**Hellal 2011**) résume l'utilisation des antioxydants dans trois domaines

- Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture.

1.7.L'utilisation des extraits des plantes médicinales

Selon **Hosttmann (1997)**, les extraits des plantes médicinales peuvent être utilisés sous plusieurs formes.

7.1. Extraits aqueux

A. Les tisanes : on prépare les tisanes soit sous forme d'infusions ou de décoctions.

-L'infusion elle est utilisée surtout pour parties de la plante les plus fragiles par exemple : les pétales, les feuilles très fines. Pour préparer l'infusion on verse de l'eau chaude ou bouillante sur les plantes sèches. Le temps d'infusion change selon le type de la plante (le temps est variable de quelques minutes à 1 ou 2 heures) (**Nogaret-Ehrhart,2003**).

-La décoction cette méthode est utilisée pour tirer les bienfaits des parties ligneuses de la plante comme les tiges, les racines et l'écorce. Pour préparer une décoction on plonge, à froid, les parties des plantes sèches dans de l'eau et on porte l'ensemble à ébullition entre 10 minutes à 1 heure en fonction des plantes utilisées (**Potel,2002**).

-La macération cette méthode utilise l'eau froide afin de dissoudre les composés actifs des plantes à gommages et à mucilages, pour le faire on trempe la plante sèche ou fraîche dans de l'eau et on laisse le temps nécessaire et qui peut aller jusqu'à 3 semaines (**Bertrand, 2010**)

Avec ces techniques, une filtration avant la consommation est nécessaire pour séparer les principes actifs hydrosolubles extraits dans l'eau des impuretés qui peuvent nuire au consommateur.

7.2.Extrait par solvants organiques

L'extraction est réalisée par un solvant organique (généralement de l'éthanol) à partir d'un ou plusieurs lots de drogue, qui peuvent subir préalablement plusieurs traitements comme l'inactivation des enzymes présents, un broyage ou encore un dégraissage. La consistance peut être modifiée selon les conditions de travail la température et la pression réduites. Certains excipients, stabilisants et conservateurs, même que les huiles essentielles séparées au cours de l'extraction peuvent être rajoutées aux extraits. Dans le cas de la production d'extraits titrés et quantifiés, des procédures spécifiques de purification permettent d'augmenter les proportions par rapport aux valeurs attendues : on parle alors d'extraits purifiés (**Wichtlet & Anton, 2003**)

7.3.Extraits glycérinées

Les extraits fluides de plantes fraîches standardisés :

La plante fraîche est cryobroyée et ses principes actifs sont isolés par extraction successive dans de l'eau et de l'alcool de degré croissant. L'alcool est évaporé sous vide puis le résidu sec est mis dans du glycérol (Bertrand,2010).

Autres formes galéniques

Selon Cazau-Beyret Nelly (2013), il y a plusieurs méthodes de préparations d'extraits qui peuvent être mises en œuvre pour en bénéficier des effets thérapeutiques d'une plante et on cite par exemple :

A-Les extraits secs pulvérulents : la préparation se fait en trois phases : La première est l'extraction des principes actifs par macération ou lixiviation à l'aide d'eau ou de l'alcool.

Après on effectue la filtration puis la concentration et en dernier lieu l'élimination du solvant par séchage ou évaporation.

B-La poudre de plante : Cette poudre peut être obtenue par simple broyage de la plante sèche, ce type de préparation conserve le contenu de la plante. Des gélules peuvent être fabriquées avec cette poudre.

C-Les topiques : D'autres formes galéniques existent comme les suppositoires, les ovules gynécologiques, les crèmes, les pommades, les emplâtres et les onguents. Il est important de donner la forme galénique adaptée à l'effet recherché. Il est important de savoir si le principe actif est hydrophile ou alcool soluble pour privilégier la tisane ou la teinture mère par exemple. La concentration des principes actifs diffère selon les formes galéniques. Certaines formes seront donc plus faciles à utiliser que d'autres et ceci est principalement en fonction de la dose nécessaire au traitement.

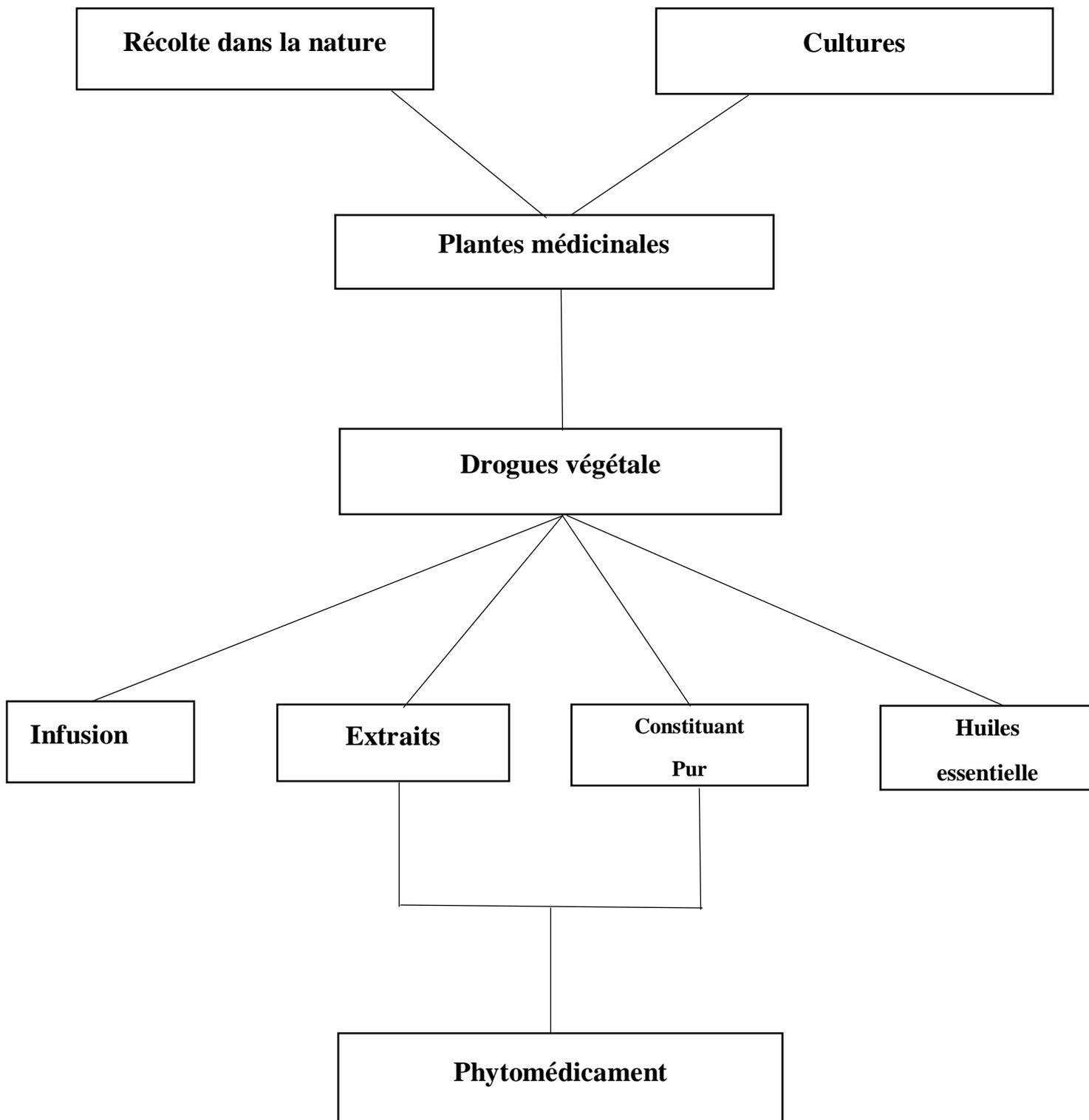


Figure8 : Diverses formes d'utilisation des plantes médicinales (Hosttmann, 1997)

Matériel et méthode

III-Matériel et méthodes :

III.1 Choix des plantes

L'intérêt de ce travail est la valorisation d'une plante médicinale (*Petroselinum crispum*) poussant à l'état spontané dans la région de Tlemcen par l'étude de son activité antioxydante.

La plante étudiée a été choisie essentiellement sur son intérêt et leur fréquence d'emploi dans notre cuisine et grâce à l'enquête ethno-pharmacologique faites au cours de cette étude auprès des tradi-thérapeutes, des herboristes.

Collecte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des feuilles, tiges et graines de *Petroselinum crispum* acheté dans la région de Tlemcen en Mars 2017.

Après séparation entre les feuilles et les tiges, le matériel végétal fraîchement obtenu a été séché sur du papier à l'ombre pendant 15 jour, à température ambiante et dans un endroit sec à l'abri de l'humidité jusqu'au moment de préparation des extraits (**Laouer et al., 2003**).

III.2 Méthode de préparation de l'extrait de *Petroselinum crispum*

Les feuilles, les tiges et la graine de *Petroselinum crispum* ont été utilisées dans la préparation des extraits éthanoliques et selon la méthode décrite par **Haddouchi et al. (2014)**.

L'extraction a été réalisée par agitation magnétique des différentes parties de la plante (20g) avec deux types de solvants (éthanol et méthanol) mélangés avec de l'eau à la proportion de 80 : 20 (200 ml) pendant 24H. Après filtration de l'extrait brut obtenu une filtration a été réalisée pour éliminer les résidus solides. Par la suite, une évaporation du solvant a été réalisée et puis une re-dissolution de l'extrait sec obtenu dans le solvant pur de la première extraction.

III.3 Évaluation de pouvoir antioxydant des extraits étudiés

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel (**Miguel, 2010**).

Selon la bibliographie, les méthodes les plus utilisées sont celles de la réduction du 2,2 - diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•), réduction des sels d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) (ABTS•), de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique (Hussain, 2008), du blanchiment du β - carotène dans l'acide linoléique et de la chélation des métaux (Wang 2009 ; Nikhat, 2010).

Dans notre étude nous avons utilisé trois différents tests chimiques à savoir : le piègeage du radical DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl), le piègeage du radical ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique) et le pouvoir chélateur du fer par les différents extraits étudiés

III.4 Mesure du pouvoir de piègeage du radical DPPH •

La méthode utilisée pour l'évaluation du piègeage du radical DPPH par les extraits des plantes étudiées est celle décrite par Dandlen *et al.* (2010).

Le potentiel anti - radicalaire d'une substance peut être évalué à l'aide d'une méthode colorimétrique en utilisant des radicaux de substitution tels que le radical 1,1 - diphényl - 2 - picrylhydrazyle appelé DPPH. Selon Moon et Shibamoto (2009), à température ambiante et en solution, le radical DPPH • présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques s'accompagne de la disparition de la coloration violette et l'apparition d'une couleur jaune pale (Figure 9).

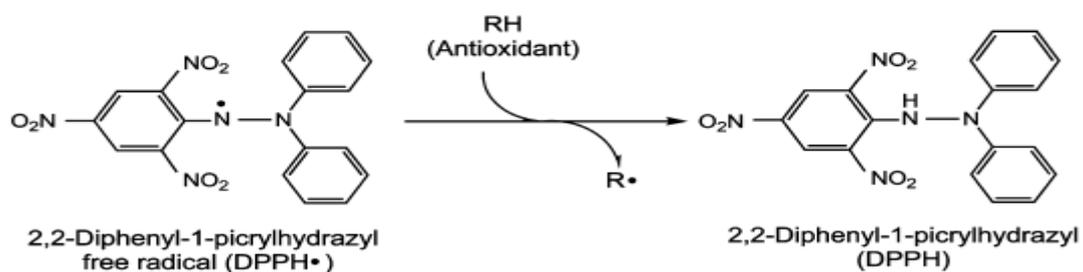


Figure 9 : Réaction entre le radical DPPH• et l'antioxydant pour former le DPPH stable (Moon & Shibamoto, 2009).

La capacité de donation des électrons par les différents extraits étudiés est mise en évidence par une méthode spectrophotométrie, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH • (1,1 - diphényl - 2 -

picrylhydrazyle). La diminution de l'intensité de la coloration est suivie par mesure colorimétrique à 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé suivant la formule :

$$PI = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

avec :

PI: pourcentage d'inhibition.

A₀ : absorbance du control (sans échantillon)

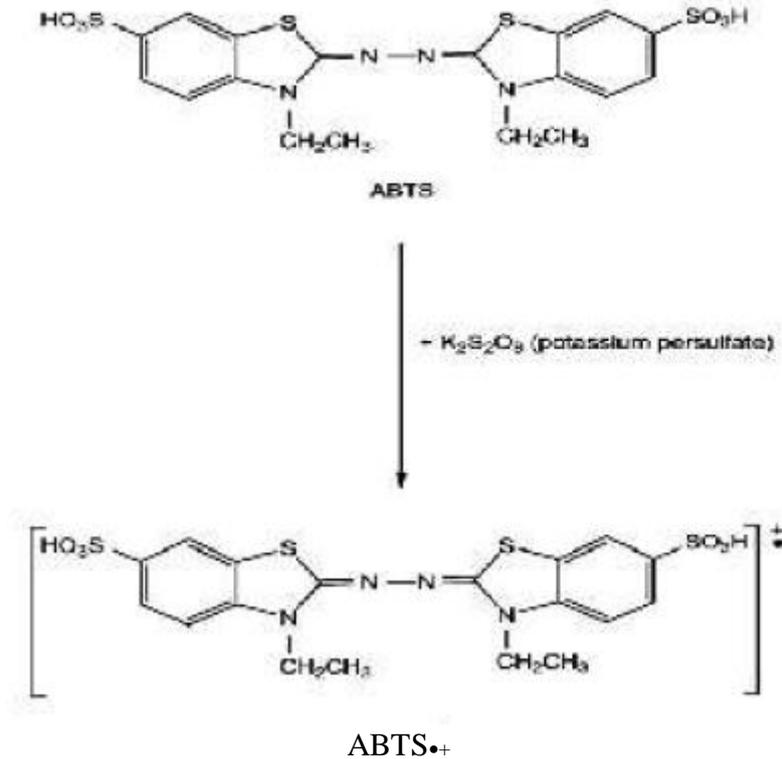
A₁ : absorbance de l'échantillon après 60 min

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la IC₅₀, sachant que l'IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH. Une faible valeur d'IC₅₀ correspondant à une grande efficacité des extraits.

III.5 Piégeage du radical ABTS•+ :

Dans la méthode ABTS, l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite par sa capacité à inhiber le radical ABTS•+. L'obtention du radical cation ABTS•+ résulte du contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation qui est la peroxydase metmyoglobine (**Miller & Rice Evans, 1997**) en présence de H₂O₂ ou d'un oxydant, le dioxyde de manganèse (**Benavente-Garcia et al., 2000 ; Miller et al, 1996**) ou le persulfate de potassium (**figure10**)(**Moon & Shibamoto, 2009**).

Cette formation se traduit par l'apparition d'une coloration verte bleue intense. En présence d'un donneur d'hydrogène (agent antioxydant), le passage du radical ABTS•+ à la forme non radicalaire s'accompagne par la disparition de cette coloration mesurée à la longueur d'onde de 734 nm (**Lien et al, 1999 ; Re et al., 1999**).



Figures10: Formation de l'ABTS^{•+} par un oxydant persulfate de potassium (Moon & Shibamoto, 2009).

Suivant le protocole décrit par Aazza *et al.* (2011), le radical ABTS^{•+} est produit par réaction entre une solution aqueuse d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium (K₂S₂O₈, 2.45mM), utilisé comme oxydant. Ce mélange est laissé pendant au moins 16h à l'obscurité puis dilué par l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0.700 à la longueur d'onde de 734 nm.

Un volume de 1000 µl de cette solution d'ABTS^{•+} est ensuite mélangé avec 10 µl de différents extraits étudiés à différentes concentrations. Après 6 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 734 nm en utilisant un spectrophotomètre contre un blanc (témoin négatif). Le calcul du pourcentage d'inhibition permet d'exprimer cette activité anti radicalaire en IC₅₀ comme décrit précédemment pour le DPPH.

III.6 Pouvoir chélateur du fer

Le fer est un élément essentiel pour le bon fonctionnement physiologique, mais l'excès de cet élément peut causer des dommages à la cellule. En raison de sa forte réactivité, le fer est connu pour son grand rôle pro-oxydant vis-à-vis de l'oxydation des lipides (**Gulcin, 2012**).

Un des mécanismes de l'action anti-oxydative est la chélation de la transition des ions métalliques. La transition stimule la peroxydation des lipides par la participation à l'accélération de cette peroxydation, en l'hydro-peroxyde lipidique en d'autres composés capable à enlever l'hydrogène et aussi par la perpétuation de la peroxydation des lipides (**Miguel, 2010**).

Selon **Gulcin(2012)**, pour évaluer le pouvoir chélateur d'un extrait donné, le composé stabilisant le plus utilisé est la ferrozine (**figure11**). **Zhao et al. (2006)** ajoutent que la ferrozine forme avec le fer libre, présent dans un milieu réactionnel, un complexe ferrozine-Fe²⁺ de couleur violette intense. La quantification de ce complexe par spectrophotométrie à 562 nm dans un milieu de concentration connue en fer, renseigne sur la quantité de fer non chélate et donc sur la capacité des extraits à chélate cet élément. De ce fait, plus la coloration de la solution contenant l'extrait testé est claire, plus le pouvoir chélateur est important.

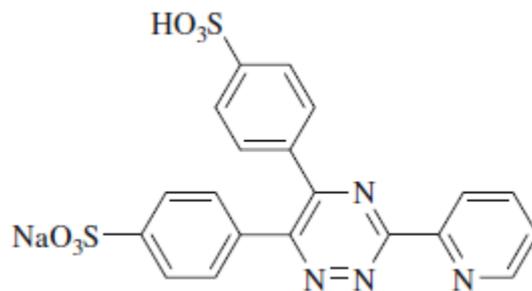


Figure11 : Structure chimique de la ferrozine (**Gulcin,2012**)

Suivant le protocole décrit par **Wang et al. (2004)**, un volume de 100 µl des extraits à différentes concentrations est ajouté à 50 µl de Chlorure de fer (FeCl₂, 4H₂O, 2 mM). Après une agitation vigoureuse de 30 sec, 100 µl de ferrozine (5 mM) sont ajoutés, suivis de 2.75 mL d'eau distillée. Après une vigoureuse agitation le mélange est laissé au repos pendant 5 min à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite, l'absorbance est mesurée à 562 nm contre un blanc (sans ferrozine). Les résultats permettent de calculer le pourcentage d'inhibition et d'exprimer cette activité en IC₅₀ comme décrit précédemment pour le DPPH.

Résultat et discussions

III-Résultats

Mesure du pouvoir antioxydant des extraits de *Petroselinum Crispum*

III-1 Piégeage du radical DPPH'

1. Les extraits éthanoliques de *Petroselinum crispum*

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH sont représentés dans la **figure 12**

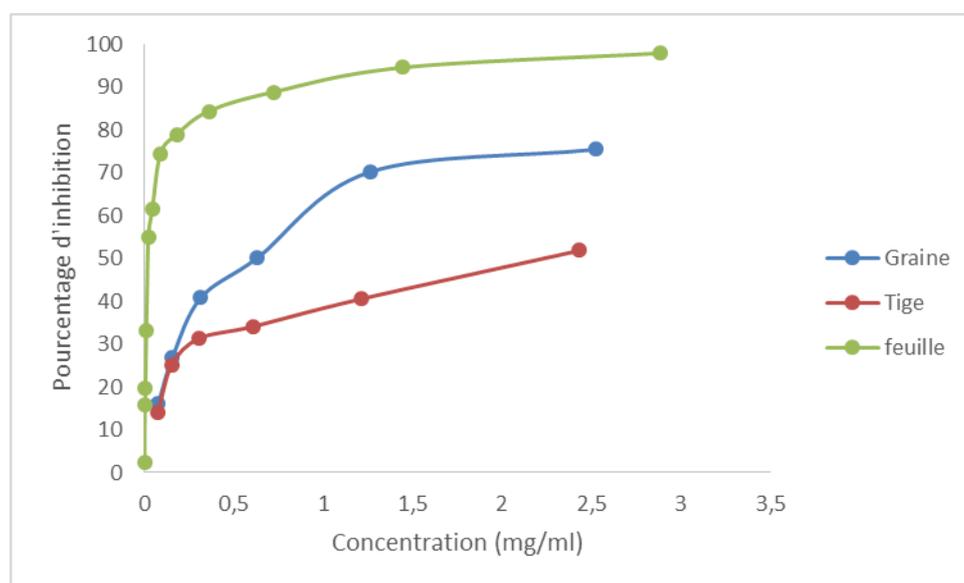


Figure 12: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH' en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

La première remarque faite sur cette figure est que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits éthanoliques des différentes parties (feuilles, graines et tiges) de *Petroselinum crispum*.

Cette figure montre une excellente activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait éthanolique des feuilles avec un taux d'inhibition dépassant 97% pour la concentration de 2,88 mg/ml suivi par l'extrait éthanolique des graines en enregistrant un taux d'inhibition maximale de 75% à la concentration de 2,52 mg/ml et en dernier lieu c'est l'extrait éthanolique des tiges qui enregistre un taux maximal d'inhibition du radical DPPH de l'ordre de 51,85% à une concentration similaire (2,43 mg/ml).

Il faut savoir aussi que l'IC₅₀ est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre (Cuvelier et al., 1992). Sachant que cette IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé car une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte efficacité antioxydante de l'extrait (Babovic et al., 2010).

D'après le **tableau 4**, les IC₅₀ des extraits éthanoliques des différentes parties étudiées viennent confirmer le constat fait sur les pourcentages d'inhibition car nous avons enregistré une IC₅₀ de l'ordre de 0,019mg/ml pour l'extrait éthanolique des feuilles et une IC₅₀ de l'ordre de 0,616mg/ml pour l'extrait de graines et en dernier lieu une IC₅₀ de l'ordre de 2,228mg/ml.

Tableau 4 : Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical DPPH par les extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Partie étudiée	Graines	Feuilles	Tiges
IC ₅₀ (mg/ml)	0,616	0,019	2,228

2. Les extraits méthanoliques de *Petroselinum crispum*

Encore une fois, la figure13 montre que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits méthanoliques des différentes parties (feuilles, graines et tiges) de *Petroselinum crispum*.

Les résultats enregistrés montrent cette fois-ci que l'extrait méthanolique des graines de *Petroselinum crispum* a exercé la meilleure efficacité à piéger le radical de DPPH en enregistrant un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 98% pour une concentration de 2,198mg/ml, comparé à celui de la feuille qui a démontré une efficacité moindre en enregistrant 78% d'inhibition du radical DPPH à la concentration de 4,324 mg/ml, et encore une fois la plus faible efficacité a été enregistrée pour l'extrait méthanolique de la tige avec un taux d'inhibition de l'ordre de 67,43% à la concentration de 3,96%.

De même, les résultats de l'IC₅₀ du tableau 5 viennent confirmer les résultats des pourcentages d'inhibition car la graine a révélé la meilleure IC₅₀ avec 0,0235 mg/ml, vient par la suite la feuille avec une IC₅₀ de 0,3594 mg/ml et en dernier lieu la tige avec une IC₅₀ de l'ordre de 2,3611mg/ml.

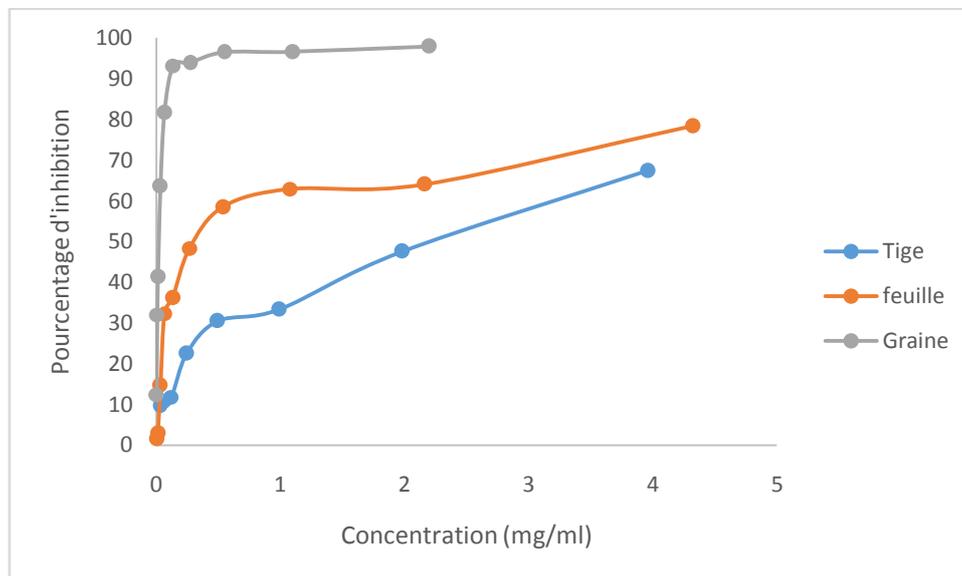


Figure 13: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH^{*} en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Tableau 5 : Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical DPPH par les extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Partie étudiée	Graines	Feuilles	Tiges
IC ₅₀ (mg/ml)	0,023	0,359	2,361

III-2 Piégeage du radical ABTS

1. Les extraits éthanoliques de *Petroselinum crispum*

Les résultats qui ont permis de tracer les courbes de la figure 14 montrent une légère supériorité à atteindre le sommet de la courbe pour l'extrait éthanolique de la graine de la plante étudiée en atteignant un taux de piégeage du radical ABTS dépassant les 99% à la concentration de 0,92mg/ml comparée à l'extrait éthanolique des feuilles en enregistrant une inhibition du radical ABTS atteignant les 93% à la concentration de 1,05mg/ml et en dernier lieu l'extrait de tiges qui enregistre uniquement 76% d'inhibition à la concentration de 0,89mg/ml.

Par contre les IC₅₀ enregistré au cours de cette étude (Tableau 6) montrent une légère supériorité de l'extrait éthanolique des feuilles avec un taux de 0,021 mg/ml comparé à celui des graines avec 0,097mg/ml et en dernier lieu l'extrait de tiges qui a révélé une plus faible efficacité avec une IC₅₀ de l'ordre de 0,153 mg/ml.

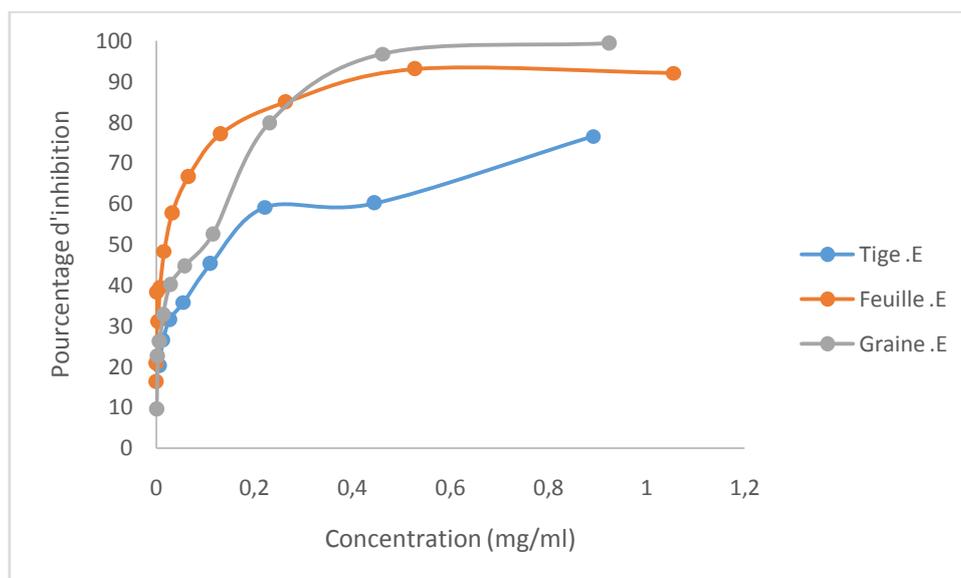


Figure 14: Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Tableau 6: Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical ABTS par les extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Partie étudiée	Graines	Feuilles	Tiges
IC ₅₀ (mg/ml)	0,0975	0,0214	0,1536

2. Les extraits méthanoliques de *Petroselinum crispum*

Les résultats qui ont permis de tracer les courbes de la figure 15 montrent une similitude de résultats avec les faibles concentrations des différentes parties de la plante mais qui se différencie juste avant d'atteindre le pourcentage d'inhibition des radicaux libres de 50% en faveur des extraits de tige et de graines en enregistrant des taux d'inhibition maximales respectivement de l'ordre de 97,8% et de 92,05% et avec des concentrations respectives de 1,45 et 0,80mg/ml par contre l'extrait de feuilles les rattrape à la plus haute concentration en enregistrant 98,12% d'inhibition du radical d'ABTS à la concentration de 1,45mg/ml.

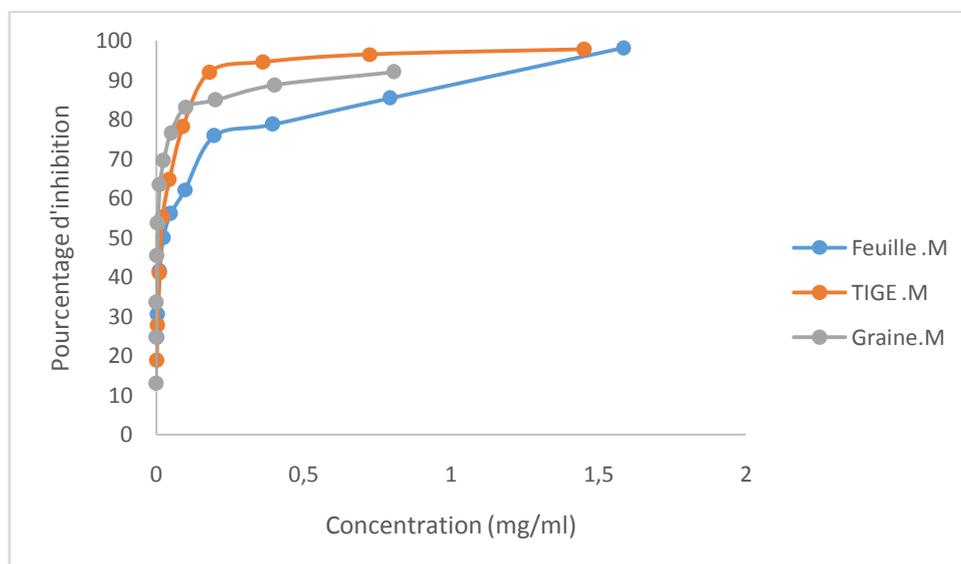


Figure 15: Pourcentages d'inhibition du radical libre ABTS* en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Le **tableau 7** montre une légère efficacité de l'extrait de graine en enregistrant une IC50 de l'ordre de 0,005mg/ml et une similitude des extraits de feuilles et de tiges en enregistrant des IC50 respectives de l'ordre de 0,019 et de 0,018mg/ml

Tableau 7 : Les IC₅₀ montrant l'inhibition du radical ABTS par les extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Partie étudiée	Graines	Feuilles	Tiges
IC ₅₀ (mg/ml)	0,005	0,019	0,018

III-3 Pouvoir chélateur du fer

1. Les extraits éthanoliques de *Petroselinum crispum*

A travers la figure 16 nous remarquons que les trois extraits de *Petroselinum crispum* ont atteints le sommet de la courbe en enregistrant 88,24% pour une concentration de 2,17mg/ml de l'extrait éthanolique de la graine, 95,64% avec la concentration de 2,09mg/ml de l'extrait éthanolique de la tige et le plus haut pourcentage de chélation du fer a été enregistré avec l'extrait éthanolique de feuilles de la plante étudiée en enregistrant 97,55% à la concentration de 2,48mg/ml.

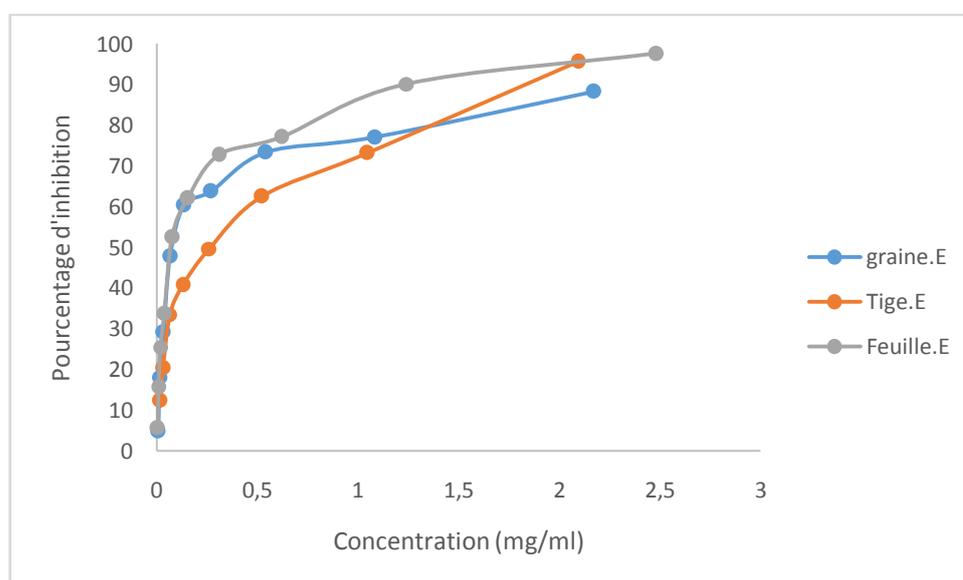


Figure 16: Pourcentages de chélation du fer en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Les résultats des différents IC_{50} enregistrés dans le tableau 8 montrent une légère faiblesse d'activité de l'extrait éthanolique des tiges avec un taux de 0,288mg/ml comparée à celles des feuilles et des graines avec des taux respectif de l'ordre de 0,0726 mg/ml et de 0,0939mg/ml

Tableau 8 : Les IC_{50} montrant la chélation du fer par les extraits éthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Partie étudiée	Graines	Feuilles	Tiges
IC_{50} (mg/ml)	0,0939	0,0726	0,288

2. Les extraits méthanoliques de *Petroselinum crispum*

Les résultats obtenus lors du test de mesure de chélation du fer sont représentés dans la **figure 17**.

Encore une fois Le constat extrait de cette figure est que le pourcentage de chélation du fer augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits de la plante étudiée.

Nous remarquons que l'extrait méthanolique des tiges a exercé une activité chélatante du fer légèrement supérieure par rapport aux autres parties de la plante étudiée mais qui finissent par un taux final similaire aux autres parties avec un pourcentage de 92,5% à la concentration 3,41mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles le pourcentage de chélation du fer a atteint un maximum de 05,11% à la concentration de 3,72 mg/ml. Malgré que l'extrait méthanolique des graines a enregistré le plus faible taux de chélation du fer mais il a lui aussi dépassé les 91% à la concentration de 1,89 mg/ml.

En examinant le tableau 9 qui montre les différentes IC_{50} des extraits méthanoliques de *Petroselinum crispum* nous remarquons qu'ils concordent avec les résultats de pourcentages de chélation du fer précédemment cités, car nous avons enregistré une meilleure efficacité à chélater le fer par l'extrait méthanolique de la tige en enregistrant une IC_{50} de l'ordre de 0,039mg/ml en seconde position vient l' IC_{50} des extraits de feuilles avec un taux de 0,0866mg/ml et sans s'éloigner de celui des graines qui enregistré une concentration de 0,0991mg/ml.

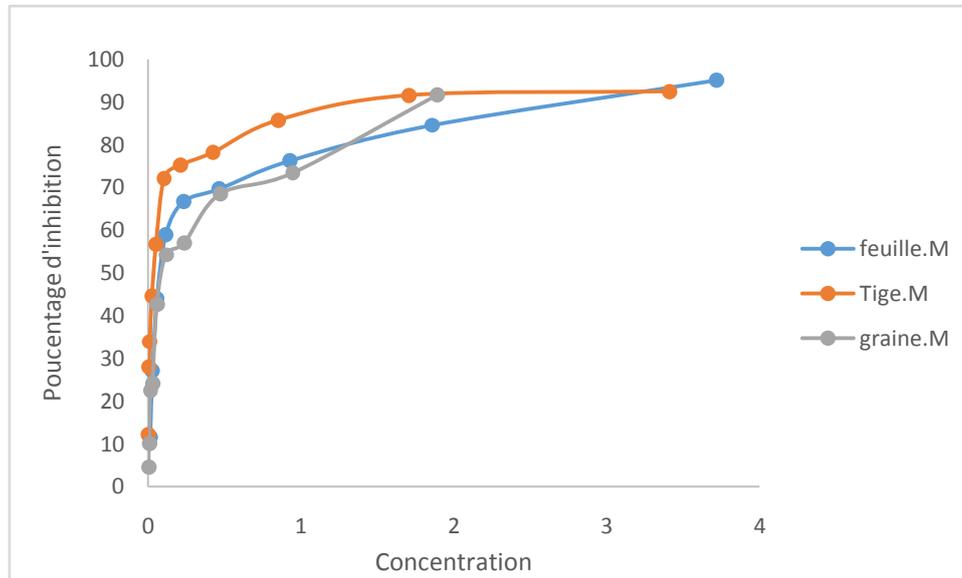


Figure 17: Pourcentages de chélation du fer en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Tableau 9 : Les IC_{50} montrant la chélation du fer par les extraits méthanoliques des différentes parties de *Petroselinum crispum*.

Partie étudiée	Graines	Feuilles	Tiges
IC_{50} (mg/ml)	0,0991	0,0866	0,039

III-4 Discussion

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre de la balance oxydant/antioxydants en faveur des oxydants, ce qui cause des dommages au niveau cellulaires (**Atamer et al., 2008**). La perturbation du statut oxydatif intracellulaire peut être causée soit par production de radicaux libres, soit par la diminution de la capacité de défense antioxydant (**Dfraise et Pincemail, 2008**).

Les radicaux libres sont considérés comme étant des espèces chimiques qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs couches externes, rendant l'espèce chimique beaucoup plus réactive que la molécule ou l'atome dont ils sont issus (**Maritim, 2003**).

Les sources de radicaux libres sont très variées, on retrouve : les rayons UV, le tabac, la pollution, les métaux toxiques(cuivre, chrome) et les radiations (**Favier, 2006 ; Uttara et al., 2009**), ce qui induit à un stress oxydatif et ce qui peut causer plusieurs problèmes de santé comme le diabète et l'asthme (**Edris, 2007**), la maladie de Parkinson (**Bolton et al., 2000**) et la maladie d'Alzheimer (**Smith et al., 2004**). De ce fait, la balance cellulaire entre oxydant et antioxydant doit être maintenue et ce maintien peut être assuré par différents types d'antioxydants (**Raut & Karuppayil, 2014**).

D'une manière générale, une activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. A travers l'étude bibliographique, il apparaît clairement qu'une seule méthode est insuffisante pour prouver l'efficacité complète d'un agent antioxydant (**Rolland, 2004**). Ce pouvoir antioxydant des molécules étudiées (naturels ou commerciales) peut être évalué soit *In vivo*, sur des sujets vivants, soit *in vitro*, en utilisant des tests, généralement chimiques ou biochimiques, qui prouvent son efficacité (**Alam et al., 2013**).

L'efficacité d'un antioxydant peut être exercée sous différentes formes dont parmi : le piégeage des radicaux libres, la décomposition des radicaux libres et aussi par la chélation des ions métalliques (**Cam et al., 2009**).

La diminution de l'absorbance du radical DPPH induite par les antioxydants est due à la réaction entre les molécules du radical et des antioxydants, qui se fait pas le balayage du radical par donation d'hydrogène. Ceci est vue comme décoloration de pourpre au jaune (**Duh et al., 1999; Chang et al., 2002 ; Gülçin et al., ; Ebrahimzadeh et al., 2015**). Le virage vers la coloration obtenue et l'intensité de cette coloration dépend de la concentration et de la nature de la molécule étudié pour son activité anti-radicalaire (**Rolland, 2004**).

Cette technique est souvent utilisée pour sa rapidité à donner les résultats, comme elle est employée pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydants présentes dans les extraits de végétaux (Yi et al., 2008 ; Nabavi et al., 2010).

Il faut savoir aussi que l'IC₅₀ est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres, c'est le paramètre utilisé pour mesurer l'activité de l'extrait à piéger le radical libre (Cuvelier et al., 1992).

L'étude menée par Viuda-Martos et al. (2011) montre que les huiles essentielles de de *Petroselinum crispum* ont exercées une faible activité inhibitrice du radical DPPH en enregistrant une IC₅₀ de l'ordre de 132.49 mg/ml comparée à un antioxydant synthétique (BHT avec une IC₅₀ de 0,53mg/ml) et aux huiles essentielles d'autres plantes à savoir *Nigella sativa*, *Thymus vulgaris* et *Lavandula officinalis* (avec des IC₅₀ respectif de l'ordre de 3,88mg/ml, 7,57mg/ml et de 48,7mg/ml). Les résultats de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles de *Petroselinum crispum* obtenus dans cette étude sont largement faibles par rapport aux extraits (éthanolique et méthanolique) des différentes parties de la même plante étudiées dans notre cas.

Le travail entrepris par Hinneburg et al. (2006) a montré que l'extrait aqueux du persil a exercé une faible activité inhibitrice du radical DPPH avec une IC₅₀ de l'ordre de 12,0±0,10mg/ml comparé aux différents extraits de notre étude. Par contre l'effet chélateur de cet extrait s'est montré plus efficace par rapport aux autres extraits étudié dans la même étude.

Dans l'étude menée par Wong et Kitts (2006), l'extrait méthanolique des feuilles du persil a exercé une plus forte efficacité comparée à l'extrait méthanolique de la graine ce qui ne concorde pas avec nos résultats car nous avons constaté l'inverse. Par contre elles coïncident aux résultats obtenus avec l'extrait éthanolique et l'inverse enregistré avec l'extrait aqueux de leurs étude. Par contre, quel que soit le type d'extraction, les feuilles chelataient mieux le fer comparées aux fleurs, par contre dans notre cas nous avons remarqué une similitude de chelation du fer par les deux parties de la plante (fleurs et feuilles). Ces même auteurs n'attribuent pas l'efficacité des différents extraits à leurs teneurs en composés phénoliques.

Par contre, Fejes et al. (2000) ont signalé la non spécificité des composés phénoliques des feuilles du persil à piéger les radicaux libres.

Nous avons constaté que les différents extraits du persil étudiés dans notre cas ont exercés une efficacité meilleure que celle des huiles essentielles de la même plante étudiées

par **Zhang et al. (2006)** car ils ont enregistré une IC_{50} de l'ordre de 80,21mg/ml. De même, l'efficacité de ces huiles essentielles à chélater le fer enregistrées par ces mêmes auteurs a été nul.

Le travail mené par **Hadjila (2016)** sur l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* a révélé des résultats de piègeage du radical de DPPH légèrement inférieur que les nôtres en enregistrant des IC_{50} de l'ordre de 0,1306mg/ml et de 0,2784 mg/ml respectivement pour les extraits de feuilles et de tiges.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales de la nature présentent une source indéfinie de molécules bio puissantes, ces molécules résultant de métabolites secondaires produits à partir de métabolisme des nutriments, que sont très utilisées par l'homme dans les domaines médicinales (médecine traditionnelle), pharmacologiques, cosmétiques et alimentaires.

Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude de quelques activité antioxydants de *Petroselinum crispum* .

Les résultats trouver indiquent que le rendement de nous extrait de la *Petroselinum crispum* varie avec le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction aussi bien de l'origine de la plante.

Dans un premier temps de ce travail ; nous avons précédé a l'extraction des molécules bioactive à l'aide de solvants (méthanol éthanol)

Dans un deuxième temps, nous avons mis en évidence quelques propriétésantioxydantes de ces extraits.

L'étude de l'activité antioxydant des extraits de *Petroselinum crispum* a donné des résultats efficace par les différentes méthode DPPH, ABTS et Pouvoir chélateur.

Notre études avais pour but de valoriser *Petroselinum crispum* et donner des résultats satisfaisante et de l'utiliser a des couts réduit

Ces résultat obtenue *in vitro* ne constituent qu'une première étape de la recherche des produit antioxydant naturels, il est nécessaire de voir l'effet des extrait étudié *in vivo* et d'entreprendre des études toxicologique et pharmacologiques et d'explorer la composition chimique de cette espèce végétale il serait plus intéressant d'utiliser d'autres méthodes d'évaluation afin de confirmer son efficacité.

Référence :

- Abou Zaid, E. N.** Aromatic and medicinal plants—their agricultural and medicinal products 1988. *El-Dar El-Arabia* for Publishing, Cairo.
- Abrassart JL.** Aromathérapie essentielle : huiles essentielles ; parfums pour le corps et l'âme. Editions *Guy trédaniel* 1997, 271p.
- Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (AFSSAPS). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Mai 2008.
- Ahmad, S.** <Oxidative stress and antioxidant defenses in biology> 1st Ed Chapman & Hall New York, 1005, 1-457 ;
- Alam Md. N., Bristi N. J. & Rafiquzzaman Md. (2013).** Review on *in vivo* and *in vitro* method evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21: 143–152
- Association Française de Normalisation, 1986, "Huiles essentielles", AFNOR, Paris. NF T 75-006
- Atamer A et al., (2008).** The importance of paraoxanase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J. Int. Med. Res* 36, 771-776.
- Bahorun T. (1997)** - Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius.
- BEDOUKIAN R.H., WELDON P.J. 2007.** Spatial inhibitors, deterrents and repellents for *mosquitoes and midges*. USPTO Patent Application 20070049644. (WO/2007/025197).
- Belaiche P.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I, Edition *Maloine* 1979
- Benahmed, M., Akkal, S., Elomri, A., Laouer, H., Vérite, P. and Seguin, E.,** Secondary constituents from *Carum montanum*, 44 (4), 510. *Chemistry of Natural Compounds*,
- Benahmed, M., Akkal, S., Laouer, S., Laouer, H. and Duddeck, H.,** *Biochemical systematics and ecology*, A new furanocoumarin glycoside from *Carum montanum*
- Benavente-Garcia, O., Castillo J. & Lorente J. (2000).** Antioxidant activity of phenolics extracted from *olea europaea* L leaves, *Food Chem*, 68: 457-462.
- BENGHANOU M., 2012.** La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la santé publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56
- Benjilali B.** Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : *de la plante à la commercialisation*. 2004 : 17-59.
- Bergogne - Berezin E and Dellamonica P.** Antibiothérapie en pratique clinique. Ed. *Masson*, Paris, 1995, p. 486.

- Bertrand B. (2010).** Les secrets de l'Ortie.- 7ème édition. Editions de *Terran (Collection Le Compagnon Végétal; N : 01) : 128*
- Billing J. and Sherman P. W.** Antimicrobial Functions of Spices: *Why Some Like it Hot. Q.Rev.Biol.1998; 73: 3-49*
- Blois M.S. (1958).** Antioxydant determination by the use of stable free radical, *Nature*. 181.
- Boldi, A.M.,** Current Opinion in Chemical Biology, Libraries from *natural product-like scaffolds*, 8, **2004, 281.**
- Bousetla, A., Akkal, S., Medjroubi, K., Louaar, S., Azouzi, S., Djarri, L., Zaabat, N., Laouer, H., Chosson, E. and Seguin, E.,***Chemistry of Natural Compounds*, Flavonoid glycosides from *Ammoides pussila*, **41 (1), 2005, 547.**
- Bousetla, A., Akkal, S., Medjroubi, K., Louaar, S., Azouzi, S., Djarri, L., Zaabat, N., Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. **1999**, 3ème édition, *Ed. TEC et DOC, Paris.*
- BRUNETON J., 2009.** Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition de médicales internationales (*Tec et Doc*), Paris: **1288.**
- Bruneton, J.** «*Pharmacognosie*», Plantes médicinales, Ed. Lavoisier, Techniques et Documentation, Paris**1999,405;b)Da Cruz-Cabral, L.; Fernandez-Pinto, V.;**
- Patriarca, A.***Int J Food Microbiol.*2013, 166, **1-14.**
- Çam, M., His il, Y., &Durmaz, G. (2009).** Classification of eight pomegranate juices based on volatile constituents: a review. *Phytother. Res.*, **21: 308–323**
- Cazau-Beyret , N.,(2013)**Prise en charges des douleurs articulaires par aromathérapie et
- Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J.** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.* **1997; 9: 67-75.**
- Chang, L.W., Yen,W.J., Huang, S.C., Duh, P.D.,(2002).**Antioxydant activity of sesamecoat. *Food Chemistry* 78, 347–354.
- Clardy, J. and Walsh, C.,** Nature, Lesson from *natural molecules*, **432, 2004, 729.**
- Collin G.** Quelques techniques d'extraction de produits naturels. *Info-essences*, **2000;13: 4-5.**Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (*ANSM*). Liste A des plantes médicinales utilisées traditionnellement. Pharmacopée **2012.**)
- Couic-Marinier F., Lobstein A.** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques***2013; 52 (525) : 18-21.**
- Cowan M.M.,1999-** Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12: 564-582**
- Crété, P.; Guignard, J. L.** « Pr écis de botanique, Morphologie des plantes vasculaires reproduction et systématique des bryophytes, des ptéridophytes et des gymnospermes » , Tome I. 2°édition, *Masson & Cie* , éditeur, Paris, **1968** , 8 – 10
- Dacosta Y.** Les phytonutriments bioactifs : **669** réfeérences bibliographiques. Ed. *Yves Dacosta*, Paris,**2003**, p. **317**

- Dandlen A. S., Lima A. S., Mendes M. D., Miguel M. G., Faleiro M. L., Sousa M. J., Pedro L. G., Barroso J. G. & Figueiredo A. C., (2010).** Antioxidant activity of six Portuguese thyme species essential oils. *Flavour and fragrance journal*. **25**: 150–155.
- Dfraise J.O. Pincemail J., (2008)** Stress oxydant et antioxydant : mythes et réalités , Rev Med Liège ;63 : Synthèse :10-19
- Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E. and Vérité, P.,** Composition of the essential of aerial parts of an endemic species of the Apiacea of Algeria, *Daucus reboudii* Coss, *Flavour and fragrance journal*, **21**, **2006**, 647.
- Djarri, L., Medjroubi, K., Akkal, S., Elomri, A., Seguin, E., Groult, M-L. and Vérité, P.,** Variability of two Essential oils of *Kundmannia sicula* (L.) DC., *A traditional Algerian Medicinal plant*, *Molecules*, **13**, **2008**, 812.
- Duh, P.D., Tu, Y.Y., Yen, G.C., (1999).** Antioxidant activity of water extract of Harugjyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* **32**, 269–277.
- Duraffourd C., D’Hervicourt L. et Lapraz J. C.** Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. **1990**, 2ème éd. *Masson, Paris*.
- Ebrahimzadeh M. A., Gharekhani M., Ghorbani M. & Dargany P. (2015):** Effect of Extract of Aerial Parts of *Urtica dioica* (Urticaceae) on the Stability of Soybean Oil. *Trop. J. Pharm. Res.*, **14** (1): 125-131
- Edris A. E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual activities of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, **112**(3): 721-726
- en Méditerranée méridionale et orientale*, VICN, Planta life, Gland, Suisse et Malaga, Espagne, 2011. *Eyrolles*, p19-36
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L’actualité chimique*. pp: 108-115.
- Favier A., (2006).** Oxidative stress in human diseases. *Ann. Pharm. Fr.* **64** :390-396.
- Fejes, S., Blazovics, A., Lemberkovics, E., Petri, G., Szoke, E., & Kery, A. (2000).** Free radical scavenging and membrane protective effects of methanol extracted fractions of parsley. *Acta-Alimentaria*, **29**: 81–87.
- France-Ida J.** Bref survol de diverses méthodes d’extraction d’huiles essentielles. *Info-essence* **1996**; **3**: 5-6.
- Frankel, E.N.** «Lipidoxidation». The Oily Press (vol. 10). Dundee, Scotland, **1998**
- Garnero J.** Phytothérapie-aromathérapie. *Encycl. Méd. Nat* **1991**, p :20
- Gazengel J-M., Orecchioni A-M.** Le préparateur en pharmacie. 2ème édition. Ed. *Lavoisier*, Paris, **2013**.
- Georges Sens-Olive**, « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans *Traité de phytothérapie et d’aromathérapie*, éd. *Maloine*, **1979**.
- glycosides from *Ammoides pussila*, **41** (1), 2005, 547

- Gulcin I, Kufrevioglu OI, Oktay M, Buyukokuroglu ME. 2004.** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica Dioica L.*). *J Ethnopharmacol* 90 (2-3) : 205-215
- Gülçin, I., Buyukokuroğlu, M.E., Kufrevioğlu, O. I., (2003);** . Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *Journal of Pineal Research* 34, 278–281
- Gulcin, I., Uğuz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S., Kufrevioğlu, O. I., (2003)** Antioxidant and antimicrobial activities of *Teucrium polium L.* *Journal of Food Technology* 1, 9–17.
- Haddouchi F., Chaouche T. M., Ksouri R., Medini F., Sekkal F. Z., Benmansour A. (2014).** Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **12**(6): 0415-0422.
- Hadjila A. (2016).** Contribution à l'étude de l'effet antimicrobien et antioxydant de l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* (Sauge). Master en Technologie des industries Agro-Alimentaire. *Université de Tlemcen*.
- HARBORNE J. B., WILLIAMS C. A., 2000.** Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*, **55**: 481–504.
- HELLER W., FORKMANN G., 1993.** Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall, London: **499-535**
- Hinneburg I., Dorman H.J. D., Hiltunen R. (2006).** Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, **97**: 122–129.
- Hmamouchi M.** Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions *Fedala*, Mohammedia **1999**.
- Hmamouchi M.** Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions *Fedala*,
- HOPKINS W. G., 2003.** Physiologie végétale. 2^{ème} édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: **514**.
- Hostettmann, K. (1997).** Polterat, O.; Wolfender, J.-L. *Pharm Ind* **1997**, **59**, 339.
- Hussain A.I ; Anwar F ; Sherazi , S.T.H ; Przybylski ,** *Food Chemistry* **2008**, 108, 986-995 *Industrial Crops and Products*, **62**: 250–264. Internationales : **692**.
- ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J. P., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P., DEELESALLE -FEAT T., BIAUJEAUD M., RINGUET J., BLOTH J., BOTREL A., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition de *VUEF*, Hong Kong: **335**
- Iwu M.M., Duncan A.R. & Okunji C.O., 1999.-** New antimicrobials of Plant Origin. In: Perspectives on new crops and new uses. Ed.: *Janick, J., ASHS Press, Alexandria, VA,* 457-462.
- J. Brunetton** Elément de phytochimie et pharmacognosie, Paris : *Lavoisier - Tech. & doc*, **1987**, **584**

- K. Bouhadjra (2011)**, étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- Kambouche, N.; El Abed, D.** J. Essent. oil Res. Janvier/Février **2003** , **15** , 39 - 4 ;
Adamou, Y. *Mémoire de Magister , Université d'Oran Es - Sénia* **2011** .
- Kaneria M., Bhavana K , Sumitra C (2012)** Phytochemical, Pharmacological and Microbiological Laboratory, Department of Biosciences, Saurashtra University, Rajkot-360 005, Gujarat, India.
- Kasting R, Anderson J, von Sydow E (1972)** *Phytochem***11**: 2277–2282
- Kaufmann SHE.** Host response to intracellular pathogens. Ed. *Springer ; R.G. Landes*, New York; Austin, **1997**, p. **34** 5
- Khalil E.A., Afifi F.U. and Al-Hussaini M. (2007)** – Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (*Mus musculus*). *Journal of Ethnopharmacology*. **109**: 104-112.
- Koehn, F. E. and Carter, G. T.,** Nature Review Drug Discovery, *The evolving role of natural products in drug discovery*, 4, **2005**, **206**.
- Kohen R. and Nyska A.** Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.***2002**; **30**: 620-650.
- Lafon, J.P.; Thorand Prager, C. et Levy, G.** « *Biochimie structurale* » Biologie des plantes cultivées. Tome **1** . Lavoisier. TEC. & DOC. **1988** ;
- Lamendin H.** Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Chir. Dent. Fr* **2004**;**1185** : 78-80.
- Laouer H., Zerroug M. M., Sahli F., Chaker A. N. Valentini G., Ferretti G., Grande M. & Anaya J. (2003).** Composition and Antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil. *Journal of Essential oil Research*, **15**: 135-138.
- Laouer, H., Chosson, E. and Seguin, E.,** *Chemistry of Natural Compounds*, Flavonoid **Larousse médicale**. 3ème Ed *Larousse*, Boulogne, **2001**.
Lausanne, édition *Favre S A*, vol. 01, **239**p.
- LEE K.G., SHIBAMOTO, T. 2001.** Antioxidant activities of volatile components isolated from *Eucalyptus species*. *J Sci Food Agric*. **81** : 1573–1579
- Lien E. J., Ren S., Bui H. H. & Wang R. (1999).** Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants, *Free Radic Biol Med*, **26**: 285-294.
- LING W. H., JONES P. J. H., 1995.** Dietary phytosterols of metabolism benefits and side effects. *Review life science*, **57**: 195-206
- Lorrain E.** 100 questions sur la phytothérapie. Ed. *La boétie*, Italie **2013**
- Maritim A.C, Sanders R.A, Watkins J.B,(2003)** Diabetes, oxidative stress and antioxidants: a review, *JBiochemMol Toxicol.*,17(1):p24-38.
- Miguel M. G. (2010).** Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, **15**: 9252-9287.

- Miller, N.J. & Rice-Evans C. A. (1997).** The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink, *Food Chem*, **60**: 331. Mohammedia 1999.
- Moon J. K. & Shibamoto T. (2009).** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **57**:1655–1666.
- Nabavi S.F., Ebrahimzadeh M.A., Nabavi S.M. & Eslami B. (2010):** Antioxidant activity of flower, stem and leaf extracts of *Ferula gummosa* Boiss. *Grasas y Aceites*, **61(3)**: 244-250.
- NEFFATI A., BOUHLEL I., BEN SGHAIER M., BOUBAKER J., LIMEM I., KILANI S., SKANDRANI I., BHOURI W., LE DAUPHIN J., BARILLIER D., MOSRATI R., CHEKIR-GHEDIRA L., GHEDIRA K. 2009a.** Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **27** : 187–194
- NEFFATI A., LIMEM I., KILANI S., BOUHLEL I., SKANDRANI I., WISSEM BHOURI W., BEN SGHAIER M., BOUBAKER J., LEDAUPHIN J., BARILLIER D., GHEDIRA K. 2009b.** A comparative evaluation of mutagenic, antimutagenic, radical scavenging and antibacterial activities of essential oils of *Pituranthos chloranthus* (Coss. et Dur.). *Drug and Chemical Toxicology*. **32(4)**: 372–380.
- Newman D. J., Cragg, G. M.,** *Journal of Natural Products*, Natural products as sources of new drugs over the period 1981 to 2010, **75**, 2012, 311.
- Nikhat, F ; Satynarayana, D . ; Subramanyam Skeel. asian J . Research chem 2009. (2)2, 218-221.**
- Nogaret-Ehrhart AS., (2003).** La phytothérapie Se soigner par les plantes., Edition of new drugs over the period 1981 to 2010, **75**, 2012, 311.
- OSBOURN A. E., LANZOTTI V., 2009.** Plant-derived Natural Products synthesis, function and application. Édition *SPRINGER*, New York: **11-35**.
- Padua L, S, N. Bunyapraphatsara, R.H.M.J. Lemmens,** *Plant Resources of South-East Asia*, **1999, 12**
- PELT J. M., 1980.** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition *Doin, Paris*: **221**.
- Peron L., Richard H.** Epices et aromates, techniques et documentations *Lavoisier* **1992**.
phytothérapie. **p195**.
- Pinar, M.,** Coumarins of *Magydaris panacifolia*, *Cachrys sicula* and *Lafuentea rotundifolia*, *Anales de Quimica*, **73**, 1977, 599.
- Potel A -Ma ., (2002)-** Les plantes médicinales au Sénégal (commune de Nguékokh, zone de la Petite Côte) Extraits du rapport du stage, sciences naturelles, effectué à Nguékokh, **22p**
- Prior R. L., Wu X. & Schaich K. (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.
- Prokorny j ; yanishlieva, N ; Gordon, M** <antioxydant in food , practical applications> Wood head publishing limited CRC press cambridge Angleterre **2001**

- Quezel, P.; Santa, S.** « *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques et méridionales* » , *Tome II.* **1963** , **657, 671, 678**
- Radford, E. A., Catullo, G. and De Montmollin, B.,** Zones importantes pour les plantes en Méditerranée méridionale et orientale, VICN, Planta life, Gland, Suisse et Malaga, Espagne, 2011.
- Raut J. S. & Karuppayil S. M. (2014).** A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, **62**: 250–264.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**: 1231–1237
- RICCI D., FRATERNALE D., GIAMPERI L., BUCCHINI A., EPIFANO F., BURINI G. 2005.** Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activity of the *essential oil of Teucrium marum (Lamiaceae)*. *J Ethnopharmacol.* **98**:195– 200.
- Rolland Y, 2004** : antioxydants naturels des végétaux.2004.Review.11 :1-6.
- Sallé, J.L.** « *Le Totum en Phytothérapie* » Approche de phytothérapie. Ed Frison - Roche. Paris 1991
- SARNI-MANCHADO P., VERONIQUE C., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, *édition TEC et DOC*, Paris (France): **398**.
- Scheffer J.J.C.** Various methods for the isolation of essential oils. *Phytother. Res.* **1996**; **10**:S6-S7.
- Semih O., Buket Y. (2012).** Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk and Leaves of Nettle. *The Scientific World Journal.* 1-12.
- Simon JE, Quinn J (1988)** *J Agric Food Chem* **36**:467–472
- Stagliano M.** Actifs et additifs en cosmétologie, techniques et documentations *Lavoisier* **1992**.
- TUZUN S., YEGEN O. 2000.** A natural and safe alternative to fungicides, bacteriocides, nematocides and insecticides for *plant protection and against household pests*. Patent WO/2000/021364.
- Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak-bkiewicz - Banecka J. and W-Âgrzyn G.** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by *estimation of generation times in liquid bacterial cultures*. *Biologia* **2007**; **62**: 132 - 135.
- Uttara B. ,Singh A.V., Zamboni P .,and Mahajan R.T.(2009).**; Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr.Neuroparmacol.*;7:65-74.
- Valsaraj R., Pushpangadan P., Smitt U. W., Adsersen A., Christensen S. r. B. g., Sittie A., Nyman U., Nielsen C. and Olsen C. E.** New Anti - HIV - 1, Antimalarial, and Antifungal Compounds from *Terminalia bellerica* . *J. Nat . Prod .* **1997**; **60**: 739 - 742.
- Viuda-Martos M., Mohamady M.A., Fernández-López J., Abd ElRazik K.A., Omer E.A., Pérez-Alvarez J.A., Sendra E. (2011).** In vitro antioxidant and antibacterial

- activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control* **22**: 1715-1722
- Wächter G. A., Hoffmann J. J., Furbacher T., Blake M. E. and Timmermann B. N.** Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochem.* **1999**; **52**: 1469 - 1471.
- Wang B. J., Lien Y. H. & Yu Z. R. (2004).**; Supercritical fluid extractive fractionation study of the antioxidant activities of propolis. *Food Chem.*, **86**: 237–243
- Wang, H.F.; Yih, K.H.; Huang, K.F.** *Journal of Food and Drug Analysis* **2010**, (18) 1, 24 - 33; b) **Nikhat, F.; Satynarayana, D.; Subhramanyam, E.V.S.** *Skeel. Asian J. Research Chem.* **2009**, (2)2, 218 – 221
- Wicht el, M. et Auton, R.** « *Plantes thérapeutiques* », Ed. *Tec. & Doc.* **1999**, **405** - 409;35 - **37**; 187 - 190.
- Wong P.Y.Y., Kitts D.D. (2006).** Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*, **97**: 505–515
- YANGUI T., BOUAZIZ M., DHOUB A., SAYADI S. 2009.** Potential use of Tunisian *Pituranthos chloranthus* essential oils as a natural disinfectant. *Letters in Applied Microbiology* ISSN 0266-8254. **48**: 112–117.
- Z.Hellal (2011),** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.
- Zhang H., Chen F., Wang X., Yao H.Y. (2006).** Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Research International*, **39**: 833–839.
- Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y. & Shan L. (2006).**; Effect of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54(19)**: 7277-7286