



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



**UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCCEN**

# MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN CHIMIE**

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Par :

**Melle BELOUFA Meriem**

Sur le thème

---

**Etude chimique et activité antioxydante des huiles Essentielles du *Thymus fontanesii*, *Rosmarinus Officinalis* et *Artemisia herba alba* de la région de Tlemcen.**

---

Soutenu publiquement le 26 Juin 2018 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mr GHALEM Said	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mme MERAD Nouria	MCA	Université de Tlemcen	Examineur
Mr BENSALD Okkacha	Professeur	Université de Tlemcen	Encadreur
Mr DIB Mohammed El Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Co-encadreur

*Laboratoire LASNABIO*  
*BP 119, 13000 Tlemcen - Algérie*

## Remerciements

En préambule à ce mémoire je remerçant ALLAH qui m'aide et me donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

La construction de ce mémoire n'aurait été possible sans l'intervention de certaines personnes. Qu'elles trouvent ici l'expression de mes plus sincères remerciements pour leurs précieux conseils.

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude au Professeur. DIB Mohammed El Amine, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je désire aussi remercier le Professeur Mr BENSaid Okkacha, Je le remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les Professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.

J'exprime aussi toute ma reconnaissance au Professeur GHALEM Saïd et au Docteur MERAD Noria pour avoir bien voulu accepter de présider et examiner ce mémoire. Que tous le jury, trouve ici l'expression de mes vifs remerciements pour avoir bien voulu juger ce travail.

Mes plus profonds remerciements vont à mes parents. Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenu, encouragé et aidé. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

# I. TABLE DES MATIERES

---

II. INTRODUCTION GENERALE .....	7
III. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....	10
III.1 Les huiles essentielles .....	11
III.1.1 Principaux domaines d'applications et définition.....	11
III.1.2 Echantillonnage du matériel végétal.....	11
III.1.3 Préparation des huiles essentielles .....	12
III.1.4 Analyse des huiles essentielles .....	12
III.2 Activité antioxydante .....	13
III.2.1 Définition d'un antioxydant.....	13
III.2.2 L'activité antioxydante des HEs .....	14
III.3 Synthèse bibliographique des différentes plantes étudiées .....	15
III.3.1 <i>Thymus fontanesii</i> .....	15
III.3.2 <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	16
III.3.3 <i>Artemisia herba-alba</i> .....	17
IV. RESULTATS ET DISCUSSIONS .....	19
IV.1 Le rendement des HEs .....	20
IV.2 Propriétés organoleptiques des HEs.....	20
IV.3 Composition chimique des huiles essentielles .....	21
IV.3.1 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Thymus fontanesii</i> .....	21
IV.3.2 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>A. herba-alba</i> .....	22
IV.3.3 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>R. officinalis</i> .....	24
IV.4 Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles.....	25
IV.4.1 Introduction.....	25
IV.4.2 Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	25
IV.4.3 Méthode de réduction des ions ferreux FRAP .....	27
IV.4.4 Conclusion .....	30
V. CONCLUSION GENERALE .....	31
VI. MATERIELLES ET METHODES.....	34
VI.1 Matériel végétale.....	35

VI.2	L'extraction des huiles essentielles.....	35
VI.3	Analyse de la composition chimique par chromatographie en phase gazeuse et couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse.....	36
VI.3.1	Chromatographie en phase gazeuse.....	36
VI.3.2	Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse.....	36
VI.4	Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	37
VI.4.1	Principe .....	37
VI.4.2	Mode opératoire .....	37
VI.5	Méthode de réduction du fer.....	39
VI.5.1	Principe .....	39
VI.5.2	Mode opératoire .....	39
VI.6	Évaluation de l'activité antioxydante des mélanges .....	40
VI.7	Mesures spectrophotométries .....	40

## Liste des abréviations

**T. fontanesii** : *Thymus fontanesii*.

**A. herba alba**: *Artemisia Herba alba*.

**R. officinalis**: *Rosmarinus officinale*.

**ANSM**: L'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

**CPG**: La chromatographie en phase gazeuse.

**CPG/SM**: Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse.

**ORAC**: capacité d'absorption des radicaux oxygénés.

**HE**: Huile essentielle

**BHA**: L'hydroxyanisole butylé .

**BHT**: L'hydroxytoluène butylé.

**DPPH**: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

**ABTS**: L'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

**FRAP**: La capacité réductrice ferrique du plasma (the ferric reducing ability of plasma).

## Liste des tableaux

Tableau 1: le rendement (%) des trois plantes. ....	20
Tableau 2 : Propriété organoleptiques des HEs .....	20
Tableau 3: Composition chimique des H.Es des trois plantes .....	23
Tableau 4: % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des mélanges des huiles essentielles de <i>T. fontanesii</i> , <i>R. officinalis</i> et <i>A. herba alba</i> et du BHT à différentes concentrations. ....	26

## Liste des figures

Figure 1. Quelques fameuses molécules dans les HEs. ....	11
Figure 2. La réaction entre les phénols et les radicaux libres. ....	15
Figure 3. <i>Thymus fontanesii</i> .....	15
Figure 4. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	16
Figure 5. Analyse en composante principale des composés majoritaires d'HE <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	17

Figure 6. <i>Artemisia herba-alba</i> Asso. ....	17
Figure 7. Analyse en composante principale des composés majoritaires d'HE <i>Artemisia herba alba</i> . ....	18
Figure 8. HE de <i>Thymus fontanesii</i> .....	21
Figure 9. Montage d'hydrodistillation de type Clevenger. ....	21
Figure 10. Thymol, p-cymène.....	22
Figure 11. Chrysanthénone, Camphre. ....	24
Figure 12. Camphre, Bornéol, Camphre, $\alpha$ -Pinène, Verbénone. ....	25
Figure 13. CI50 des huiles essentielles déterminées par la méthode DPPH .....	26
Figure 14. Pouvoir réducteur des trois huiles essentielles et du contrôle positif (BHT). ....	28
Figure 15. Pouvoir réducteur des trois mélanges et du contrôle positif (BHT). ....	28
Figure 16. Lieux de récoltes, répartition géographique des huiles essentielles de <i>Thymus fontanesii</i> , <i>Rosmarinus officinale</i> , <i>Artemisia Herba alba</i> dans la wilaya de Tlemcen. ....	35
Figure 17. Appareil CPG. ....	36
Figure 18. Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH. ....	37
Figure 19. Capacité antioxydante de H.E de <i>Rosmarinus officinale</i> .....	38
Figure 20. Capacité antioxydante de H.E d' <i>Artemisia Herba alba</i> . ....	38
Figure 21. Capacité antioxydante de H.E de de <i>Thymus fontanesii</i> .....	38
Figure 22. Méthode DPPH.....	39
Figure 23. Réaction de réduction de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ en $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ par un antioxydant. ....	40
Figure 24. Appareils utilisées dans la méthode de FRAP.....	40

## **II. INTRODUCTION GENERALE**

---

## Introduction générale

De nos jours, l'intérêt croissant des plantes aromatiques et médicinales a fait naître un marché fructueux qui génère des revenus énormes à l'échelle mondiale. Plus d'une vingtaine d'espèces sont utilisées pour la production d'huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques destinés essentiellement à l'industrie de parfumerie et cosmétique ainsi que pour la préparation des produits d'hygiène et la formulation des arômes.

La demande en huiles essentielles évolue année après année pour plusieurs raisons : une demande croissante de la part des consommateurs de produits naturels ; la croissance continue des différents marchés et enfin, l'impossibilité de substituer certaines huiles essentielles par des produits de synthèse.

Le secteur des plantes aromatiques et médicinales (PAM) et des huiles essentielles en Algérie, est un secteur totalement vierge et qui n'arrive pas à s'organiser. La situation géographique exceptionnelle de l'Algérie permet une très grande richesse de la flore, bordée par la mer Méditerranée au nord, elle est caractérisée par une très grande variation de reliefs et de climats ; depuis le Tell au Nord, les hauts plateaux pour arriver aux dunes de sables du Sahara situées dans le Sud. Beaucoup d'espèces végétales que l'on trouve en Algérie, contiennent des substances actives qui ont des propriétés médicinales qui sont très recherchées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et l'aromathérapie.

L'objectif de notre travail, consiste en une étude de faisabilité d'une mise en place d'un groupe d'intérêt économique au niveau de l'association forêt modèle de Tlemcen pour la production et la commercialisation des huiles essentielles à l'échelle nationale et éventuellement à leur exportation. Pour pouvoir lancer une production nationale et internationale des huiles essentielles, il est primordial de lancer des études recherchant les huiles essentielles à forte valeur ajoutée. Pour se faire, nous nous proposons, d'une part, d'étudier la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes cultivées dans la région de Tlemcen. D'autre part, de comparer les compositions chimiques trouvées avec ceux commercialisées dans le monde et une étude de leur pouvoir antioxydant.

Les trois plantes étudiées ont été choisies par l'association de la forêt modèle de Tlemcen dans le cadre de créer plusieurs projets qui affectent non seulement le projet de la pépinière d'Aine Fetouh et la GIE, mais aussi de nombreux autres projets futurs comprennent la région de la wilaya de Tlemcen. Tel que la région de Sebdou, dont nous avons choisi deux plantes qui sont l'*A. herba-alba* et le *Thymus fantenezii* ainsi que la pépinière du parc notionnel de Tlemcen ou on a choisi le *Rosmarinus officinalis*.

## Introduction générale

Le présent travail se subdivise en trois chapitres :

**Dans le premier chapitre** nous avons effectué dans un premier temps, une recherche bibliographique portant sur les huiles essentielles, leurs modes d'identification et une recherche sur leurs pouvoirs antioxydant. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressées à une étude bibliographique sur les trois espèces.

Le **deuxième chapitre**, porte sur l'étude de la composition chimique des huiles essentielles des trois plantes et l'évaluation de l'activité antioxydante « in vitro » des huiles essentielles et des mélanges croisés.

Enfin une conclusion, où nous énumérons les résultats obtenus à travers les études chimiques et biologiques des trois plantes étudiées.

**Le troisième chapitre**, présente une description du matériel utilisé, la démarche expérimentale et les méthodes employées pour l'extraction et l'identification des huiles essentielles.

Une partie expérimentale biologique qui met en évidence l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles des espèces étudiées.

### **III. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

# Chapitre I : Partie bibliographique

## III.1 LES HUILES ESSENTIELLES

### III.1.1 Principaux domaines d'applications et définition

Dans la nouvelle décennie, la société a besoin d'aliments plus sûrs et de haute qualité, sans conservateur, avec une durée de conservation prolongée [1]. La salubrité des aliments a reçu une plus grande attention en raison de l'apparition de nouvelles maladies d'origine alimentaire. Il y a aussi un grand intérêt pour les produits naturels qui remplacent les conservateurs synthétiques. Les huiles essentielles ou également appelées huiles volatiles, sont des liquides huileux aromatiques concentrés et hydrophobes. Ils sont obtenus à partir de matériel végétal (bourgeons, fleurs, feuilles, écorce, brindilles, graines, herbes, bois, fruits et racines) et possèdent des propriétés de piégeage radicalaire [2].

Ils sont divisés en plusieurs familles biochimiques : les acides qui sont des anti-inflammatoires puissants comme l'acide cinnamique, les aldéhydes qui sont des anti-infectieux comme le cinnamaldéhyde, citronnelal....etc. les cétones comme le verbénone, les esters comme l'acétate de linalyle (le plus répandu), et aussi les mono terpènes, les monoterpénols, les diterpènes, les sesquiterpènes, les sesquiterpénols, comme alpha-pinène, bêta-pinène, géranol, linalol, germacrène ... etc [3].

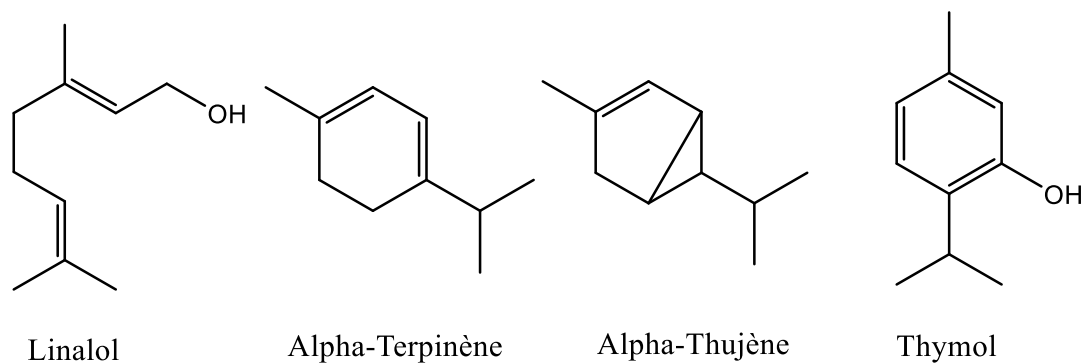


Figure 1. Quelques fameuses molécules dans les HEs.

### III.1.2 Echantillonnage du matériel végétal

De nombreuses recherches ont montré que la composition chimique des huiles essentielles est influencée par une série de facteurs propre à la plante et à son environnement de culture. Ces facteurs peuvent affecter la composition chimique des huiles essentielles en plus de créer de nouvelles molécules. La détermination de la partie de la plante étudiée est un facteur important influençant la composition chimique. Chaque partie de la plante a des caractéristiques spécifiques et elle contient certainement différents composés chimiques, par exemple

## Chapitre I : Partie bibliographique

l'eugénol prédomine dans l'huile issue des feuilles de cannelier de Ceylan, l'aldéhyde cinnamique est majoritaire dans l'écorce alors que la racine est plus riche en camphre [4]. La fleur de la lavande contient beaucoup plus d'essence que sa tige [5].

L'étude de la composition chimique de la même plante dans différentes périodes ne sera pas la même. Par exemple, le pourcentage de menthone et isomenthone présente dans l'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) augmente au moment de la floraison [6] ; la même chose pour le 1,8-cinéole qui est produit par *Lippia citriodora* entre avril et mai [7\_8].

De nombreux facteurs extérieurs à la plante sont susceptibles d'influencer son développement : température, humidité, durée, ensoleillement, vents, nature du sol... Ces facteurs peuvent ainsi faire grandement varier la quantité et la qualité de l'huile essentielle produite [9].

### III.1.3 Préparation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être extraites par deux méthodes clés : la distillation et l'expression à froid. D'autre part, les absolus peuvent être extraits par extraction au solvant ou enfleurage, bien que l'enfleurage soit rarement pratiqué de nos jours. Un autre type de produit aromatique disponible sur le marché sont les extraits de CO<sub>2</sub> [10].

#### III.1.3.1 L'Hydrodistillation

Pendant la distillation, le matériel végétal est placé sur une grille à l'intérieur de l'alambic. Après un chauffage d'eau, les vapeurs montent vers le haut à travers un tuyau de raccordement qui les conduit dans un condenseur. Le condenseur refroidit la vapeur montante en formant un liquide. Le liquide est ensuite recueilli dans un conteneur sous le condenseur. Puisque l'eau et l'huile essentielle ne se mélangent pas, l'huile essentielle se retrouvera à la surface de l'eau où elle est siphonnée. Parfois, une huile essentielle est plus lourde que l'eau et se trouve sur le fond plutôt que sur le dessus, comme avec de l'huile essentielle de clou de girofle [11].

### III.1.4 Analyse des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. La technique qui est la plus couramment employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique généralement la chromatographie en phase gazeuse (CPG), avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM).

## **Chapitre I : Partie bibliographique**

### **III.1.4.1 Chromatographie en phase gazeuse**

En chromatographie en phase gazeuse, les composants d'un échantillon sont dissous dans un solvant et vaporisés afin de séparer les molécules analytes en répartissant l'échantillon entre deux phases : une phase stationnaire et une phase mobile. La phase mobile est un gaz chimiquement inerte qui sert à transporter les molécules de l'analyte à travers la colonne chauffée. La chromatographie en phase gazeuse est l'une des seules formes de chromatographie qui n'utilise pas la phase mobile pour interagir avec l'analyte. La phase stationnaire est soit un adsorbant solide, appelé chromatographie gaz-solide (GSC), soit un liquide sur un support inerte, appelé chromatographie gaz-liquide (GLC).

C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme [12].

### **III.1.4.2 Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)**

La spectrométrie de masse par chromatographie en phase gazeuse (CPG/SM) est une technique instrumentale comprenant un chromatographe en phase gazeuse (CPG) couplé à un spectromètre de masse (SM) permettant de séparer, d'identifier et de quantifier des mélanges complexes de produits chimiques. Ceci le rend idéal pour l'analyse des centaines de composés de poids moléculaire relativement bas trouvés dans les matériaux environnementaux. Pour qu'un composé soit analysé par CPG/SM, il doit être suffisamment volatil et thermiquement stable. De plus, les composés fonctionnalisés peuvent nécessiter une modification chimique avant l'analyse, pour éliminer les effets d'adsorption indésirables qui affecteraient autrement la qualité des données obtenues [12].

## **III.2 ACTIVITE ANTIOXYDANTE**

### **III.2.1 Définition d'un antioxydant**

Les dommages causés aux cellules par les radicaux libres jouent un rôle central dans le processus de vieillissement et dans la progression de nombreuses pathologies chroniques tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire. Les dommages oxydatifs se produisent lorsque les molécules qui manquent d'électrons (radicaux libres) volent les électrons nécessaires à partir des cellules. Pour que ces cellules fonctionnent, elles volent ensuite des électrons à d'autres cellules, et une chaîne de dommage cellulaires est initiée [13].

## Chapitre I : Partie bibliographique

Les antioxydants réparent les dommages en faisant don d'électrons qui seraient autrement volés par les molécules de radicaux libres. Ils arrêtent l'effet domino de la dégradation cellulaire et empêchent ainsi les dommages de la peau et les dommages aux organes internes et aux tissus [14]. La quantité d'antioxydants dans diverses substances est souvent mesurée sur l'échelle ORAC (capacité d'absorption des radicaux oxygène), [15] ce qui signifie qu'ils sont bons pour éliminer les radicaux libres. Alors qu'il est facile d'obtenir de grandes quantités d'antioxydants marquant des ORAC élevés dans les aliments comme les haricots et le brocoli [16], il peut être plus difficile de les obtenir à partir d'herbes et d'épices. C'est pourquoi les huiles essentielles sont une excellente source d'antioxydants. Leurs formulations hautement concentrées donnent l'équivalent d'une plaque complète de leur matériau d'origine.

### III.2.2 L'activité antioxydante des Huiles Essentielles

La recherche d'antioxydants naturels avec la vertu d'être non toxique a donné lieu à un grand nombre d'étude sur le potentiel antioxydant des HEs. Ceci est particulièrement pertinent parce que les antioxydants synthétiques les plus communs (tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA) ou le butylhydroxytoluène (BHT)) sont soupçonnés d'être potentiellement nocifs pour la santé humaine. Les antioxydants sont identifiés comme des molécules capables de réagir avec les radicaux ou de fournir un pouvoir réducteur pour contrer le stress oxydatif causé par les radicaux.

Cette approche est attestée par la chimie de plusieurs tests développés pour doser l'activité antioxydante d'extraits naturels ou de composés phytochimiques isolés, basés sur la réaction de l'antioxydant potentiel avec certains radicaux persistants colorés (exp DPPH<sup>•</sup> ou ABTS<sup>•+</sup>) ou avec certaines espèces non-radicalaires oxydantes telles que les ions Fe<sup>3+</sup> (par exemple, dosage FRAP).

L'activité antioxydante des HEs est due à la capacité inhérente de certains de leurs composants, en particulier les phénols (Figure 2), d'arrêter ou de retarder l'oxydation aérobie de la matière organique, bien que la procédure par laquelle l'huile est obtenue à partir de la matière première (distillation) limite la teneur en composés phénoliques dans la matrice finale parce que beaucoup de ces composés sont non volatils. Cependant, il existe des HE non phénoliques qui expriment un comportement antioxydant, ceci est dû à la chimie radicalaire de certains terpénoïdes et autres constituants volatils (par exemple, des composants de l'ail contenant du soufre comme l'allylsulfide) [17].

## Chapitre I : Partie bibliographique

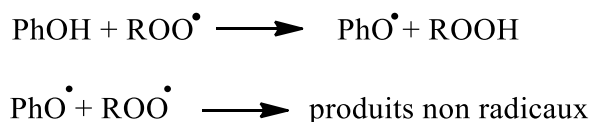


Figure 2. La réaction entre les phénols et les radicaux libres.

### III.3 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE DES DIFFÉRENTES PLANTES ÉTUDIÉES

#### III.3.1 *Thymus fontanesii*



Figure 3. *Thymus fontanesii*

##### III.3.1.1 Introduction

Le thym est le nom général des nombreuses variétés d'herbes de l'espèce *Thymus*, toutes originaires d'Europe et d'Asie. Le *Thymus fontanesii* ou (زعترا) de la famille de lamiacée est considéré comme l'une des plantes les plus répandues en Algérie. C'est un petit sous-arbrisseau vivace, de la famille de lamiacée qui pousse de 10-12 cm de haut. Il est commercialisé comme une épice ajoutée aux plusieurs plats traditionnels ou comme un traitement traditionnel contre les maladies respiratoires (toux, bronchite et asthme), Il est également utilisé pour le traitement des maux de dents, l'infection des voies urinaires ...[18].

##### III.3.1.2 Travaux chimiques antérieurs

###### Activité biologique

Parmi les résultats qui ont été confirmés au cours de ces dernières années, les propriétés biologiques de *Thymus fontanesii* sont les suivantes : Antioxydant, Antimicrobienne, Antifongique, Antibactérienne, Anti-inflammatoires et Anti-adhésion.[19\_23].

###### Composition chimique

Peu de recherches sont effectuées sur la composition chimique de cette plante par rapport aux autres espèces du thym. Les résultats d'une étude sur la composition chimique d'HE de *Thymus fontanesii* dans différentes régions de la wilaya de Tlemcen ont montré que le composé majoritaire dans l'HE est le carvacrol avec un pourcentage qui varie de 66.6%

## Chapitre I : Partie bibliographique

jusqu'à 69.5% [20]. Le même composé majoritaire a été mentionné dans la recherche de N. Nabet [24]. le thymol 67.8 % est le composé majoritaire qui est trouvé dans la willaya de Sétif (Algérie) par Kabouche et al [22], et dans la willaya de Bouira (Algérie) avec un pourcentage de 77.7% [25].

### III.3.2 *Rosmarinus officinalis*

#### III.3.2.1 Introduction

*Rosmarinus officinalis* L. (famille, Lamiaceae), communément appelée romarin, est l'une des herbes culinaires vivaces et la plus populaire cultivée dans le monde entier. Les tiges dressées sont divisées en de nombreuses longues branches minces. Les feuilles fraîches et séchées de romarin ont été utilisées pour leur arôme caractéristique dans la cuisson des aliments ou consommées en petite quantité comme tisane, tandis que les extraits de romarin sont couramment utilisés comme antioxydant naturel pour améliorer la durée de conservation des aliments périssables [26].



Figure 4. *Rosmarinus officinalis* L.

#### III.3.2.2 Travaux chimiques antérieurs

##### Activité biologique

Le romarin est un antibactérien, anticancéreux, antidiabétique, anti-inflammatoire, antioxydant, anti-thrombotique, anti-ulcérogène, antidiurétique et hépato protecteur [27\_26].

##### Composition chimique

La Figure 5 représente la composition chimique des principaux composés d'huile essentielle du romarin dans huit pays différents au cours des années 1998 à 2014.

Les principaux constituants et ceux qui dépassent 10% sont le 1,8-cinéole, alpha pinène, le camphre, bronéol, le verbénone, l'acétate de bornyle, l'alpha-thujène et le camphène.

## Chapitre I : Partie bibliographique

Le 1,8-cinéole est le composé principal dans quatre pays, la Chine, Brésil, Tunisie et l'Algérie. Alors que l'alpha pinène est le principal composé en Corse et Sardaigne (France).

Pour l'Italie et l'Espagne, l'huile essentielle du romarin est caractérisée par la présence d'alpha-thujène et le camphre.

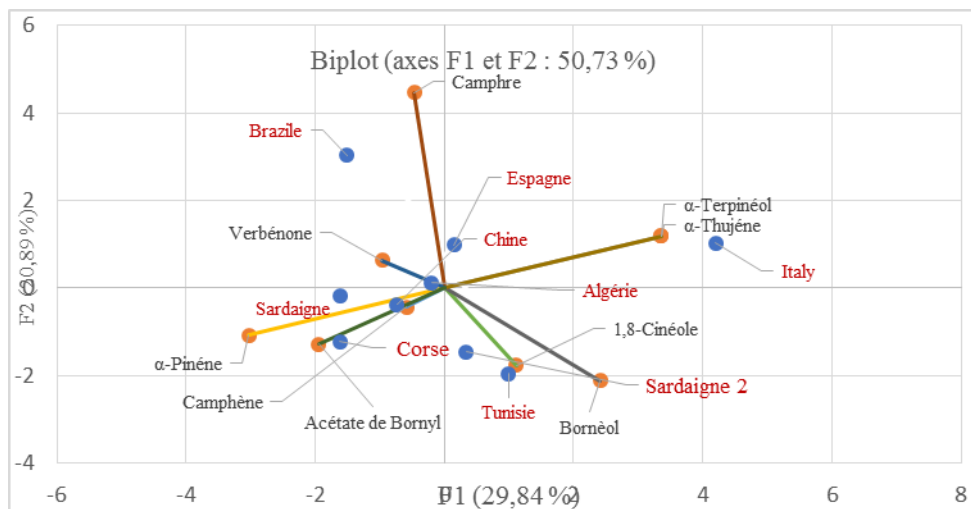


Figure 5. Analyse en composante principale des composés majoritaires d'HE *Rosmarinus officinalis* [28\_35].

### III.3.3 *Artemisia herba-alba*

#### III.3.3.1 Introduction

L'armoise blanche ou *Artemisia herba-alba* est une plante steppique vivace verdâtre-argentée qui pousse de 20 à 40 cm de hauteur, et qui joue un rôle fondamental dans la structure et le fonctionnement de l'écosystème steppique. Elle a été aussi connue pour ses propriétés thérapeutiques et médicinales, et largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies tel que la douleur, spécialement les douleurs menstruelles [36\_37].



Figure 6. *Artemisia herba-alba* Asso.

#### III.3.3.2 Travaux chimiques antérieurs

##### Activité biologique

## Chapitre I : Partie bibliographique

Au cours des deux dernières décennies, l'importance de cette plante dans la médecine traditionnelle a été vérifiée et confirmée d'après de nombreuses enquêtes ethnopharmacologique ainsi que des études phytopharmacologiques menées dans différentes régions.

*A. Herba-alba* a des effets :Antidiabétiques, Antihypertenseurs, Antioxydants, Antifongiques, Antipaludiques, Antispasmodiques [38].

### Travaux chimique antérieurs

La Figure 7 montre les résultats de l'analyse en composante principale des composés majoritaires d'HEs d'armoise blanche dans onze pays entre 1986 et 2010.

Le camphre est le composé principal dans six pays y compris l'Algérie et la Tunisie. La composition de l'huile essentielle d'*A. herba alba* dominée par le  $\beta$ -thujone a été trouvée en Jordanie et en Tunisie. Le chrysanthénone a été décrite comme un composant important dans l'huile essentielle hydrodistillée de l'Algérie, la Tunisie et le sud de l'Espagne mais c'est le composant majoritaire qui se trouve dans HE d'*A. herba alba* Marocaine.

La variabilité chimique d'*A. herba-alba*, observée en Algérie (Biskra) a montré diverses compositions dominées par un seul composant qui est l'acétate cis-chrysantényl.

Alors que le 1,8-cinéol domine dans la composition chimique de l'huile essentielle extraite du sud de l'Espagne.

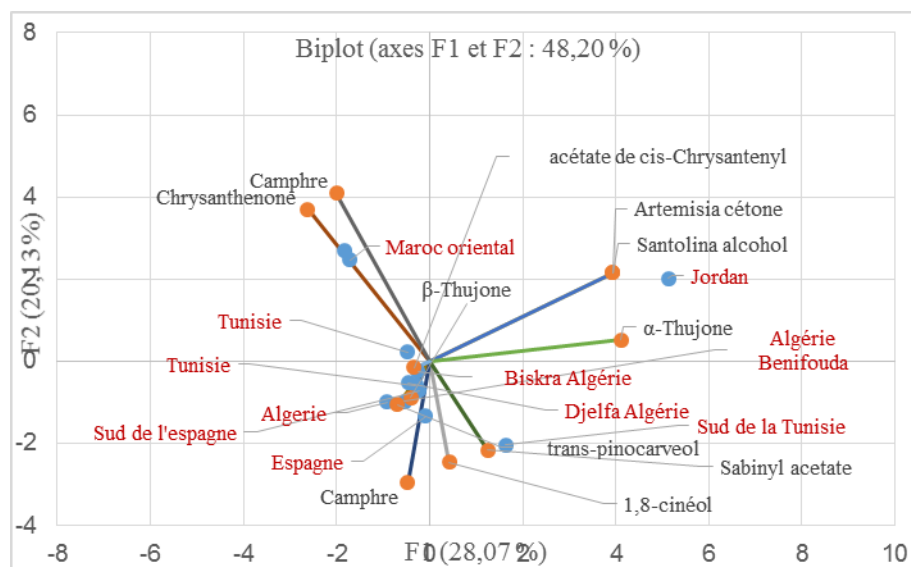


Figure 7. Analyse en composante principale des composés majoritaires d'HE *Artemisia herba alba* [39\_49].

**IV. RESULTATS ET DISCUSSION**

---

## Chapitre II : Résultats et discussion

### IV.1 LE RENDEMENT DES HUILES ESSENTIELLES

Les rendements (en %) des différentes plantes étudiées (armoise blanche, thym, romarin) sont présentés dans le Tableau 1.

**Tableau 1: le rendement (%) des trois plantes.**

	<b>La masse de la matière sèche</b>	<b>La masse des HEs</b>	<b>Le rendement</b>
<i>Thymus fontanesii</i>	300 g	11 g	3.66%
<i>Artemisia Herba alba</i>	325g	2.34 g	0.72%
<i>Rosmarinus officinalis</i>	447g	1.55g	0.35%

Le rendement en huile essentielle, extraite de la partie aérienne du Thym est de 3.66 % c'est le rendement le plus élevé par rapport aux autres plantes. Ce rendement est supérieur à celui cité par Dob et al [50] du *Thymus fontanesii* cultivé en Bouira (Algérie). La même chose pour l'armoise qui a donné un rendement élevé par rapport à celui qui est cité par I. Feuerstein et H. Mohsen [39], [47] d' *Artemisia Herba alba* cultivé en Espagne et en Tunisie, mais un rendement faible par rapport à *Artemisia Herba alba* cultivé en Algérie et en Espagne [40], [41], [43], [45]. Le romarin a donné un rendement de 0.35% qui est le rendement le plus faible dans les trois plantes étudiées et qui est aussi un rendement faible par rapport aux résultats du *Rosmarinus officinalis* cultivé en Espagne et en Sardaigne (France) [31\_32].

### IV.2 PROPRIETES ORGANOLEPTIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

Les trois huiles ont montré de nombreuses différences et similitudes liées à leurs propriétés organoleptiques qui sont présentées dans le tableau 2.

**Tableau 2 : Propriété organoleptiques des HEs**

<b>Plantes</b>	<b>Odeur</b>	<b>Couleur</b>	<b>Aspect</b>
<i>Thymus fontanesii</i>	Forte et fraîche	Jaune foncé	Fluide
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Camphrée Fraiche	Jaune pâle	Fluide
<i>Artemisia Herba alba</i>	Forte	Jaune vif	Fluide

## Chapitre II : Résultats et discussion



Figure 8. HE de *Thymus fontanesii*.

### IV.3 COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

La composition chimique des constituants volatils des huiles essentielles de *Thymus fanté-nezii* et *Artemisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis* est présentée au tableau 3.

Dans cette partie, nous présentons les résultats de notre étude sur les huiles essentielles des trois plantes préparées à partir des végétaux récoltés dans l'ouest Algérien. Les matériels végétaux ont été récoltés durant la période d'hiver 2018. Ils ont été hydrodistillés durant 6 heures dans un appareillage du type Clevenger.

#### IV.3.1 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Thymus fanté-nezii*

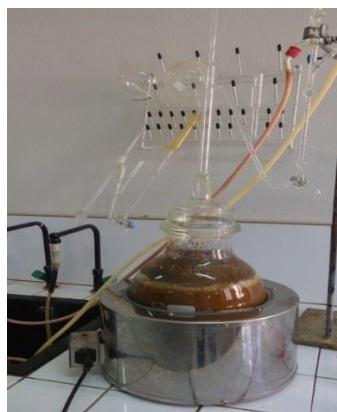


Figure 9. Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

L'huile essentielle des trois plantes est analysée par CPG-Ir et CPG/SM-IE. 34 composés, représentant 99.3% de l'huile essentielle totale de *Thymus fanté-nezii*, ont été identifiés par leurs indices de rétention et leurs données spectrales de masse. L'huile essentielle de *Thymus fanté-nezii* que nous avons étudié, est caractérisée par une prédominance des monoterpènes oxygénés (80.7%) et des monoterpènes hydrocarbonés (17.9%).

Les sesquiterpénoïdes ne représentent que 2% de la composition totale (Tableau 3). La composition chimique de l'huile essentielle est dominée par le thymol (76.6 %). Par contre, la teneur

## Chapitre II : Résultats et discussion

en carvacrole est de 0,6 %. L'autre principal constituant est le p-cymène (7.4%). Cependant, Le groupe des monoterpènes irréguliers représente seulement deux composés ; le oct-1-én-3-ol (0.5%) et le cis de l'acétate de carvyl (0.1%) (Tableau 3).

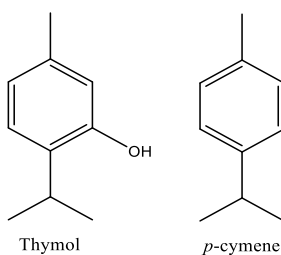


Figure 10. Thymol, p-cymène.

Nos résultats sont en accord avec d'autres études [22], [25] qui ont montré que le thymol et le composé majoritaire avec un pourcentage de (67.8%, 77.72%) respectivement. Une autre étude a montré que les principaux composés étaient le carvacrole (67,6%) et le  $\gamma$ -terpinene (13%) avec une faible concentration de thymol (0.9%) [24]. Cette grande variabilité dans la composition chimique de l'huile essentielle de *T. fontanesii* pourrait être due à plusieurs facteurs, dont le climat local et l'environnement (température, soleil, pluie, etc.) de la saison, l'emplacement et les nutriments [51]. Le même composé majoritaire a été rapporté dans la composition en huile de nombreux échantillons d'espèces de thymus dans différents contextes climatiques, tels que *T. vulgaris* [52], *T. piperella* [51] et *T. capitatus* [53].

### IV.3.2 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *A. herba-alba*

20 composés, représentant environ 82% de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* ont été identifiés, représentant 82% de la composition totale. L'analyse de la composition chimique de l'huile étudiée a indiqué la présence d'une teneur plus élevée en monoterpènes oxygénés (73.8%). Les quantités d'hydrocarbures monoterpéniques (5.8%), d'hydrocarbures sesquiterpéniques (1.3%), de sesquiterpènes oxygénés (1.1%) sont relativement faibles. Le principal composant de l'huile était le camphre (30.2%) suivie par le chrysanthénone (24.3%), le 1,8-cinéole (5.4%), et le camphène (5.3%).

D'après les données de la littérature la même composition a été observée pour plusieurs huiles essentielles d'*A. herba-alba* algérienne [40], [45]. Par contre, le camphre constituait le principal composant d'autres huiles d'*A. herba-alba* du Maroc [49] avec un pourcentage variant entre 15 et 68,2%.

Comme on a déjà mentionné dans le premier chapitre, l'armoise a plusieurs chémotypes qui changent selon le climat, le stade végétatif, la qualité du sol et autres facteurs importants [49].

## Chapitre II : Résultats et discussion

**Tableau 3: Composition chimique des H.Es des trois plantes**

No	Composés	IR <sub>apol litt</sub>	IR <sub>apol</sub>	IR <sub>pol</sub>	T.F*	A.A*	R.O*	Identification
1	$\alpha$ -Thujene	932	924	1028	0,2	-	-	RI, MS
2	<b><math>\alpha</math>-Pinène</b>	936	931	1028	0,9	0,3	<b>11.0</b>	RI, MS
3	Camphene	950	945	1071	0,2	5,3	0.2	RI, MS
4	Oct-1-en-3-ol	962	962	1441	0,5	-	-	RI, MS
5	$\beta$ -Pinène	978	972	1113	0,1	-	0.2	RI, MS
6	Myrcènes	987	982	1160	2,1	-	0.1	RI, MS
7	3-Octanol	981	982	1366	tr	-	-	RI, MS
8	$\alpha$ -Phellandrène	1002	999	1161	0,2	-	0.2	RI, MS
9	3-Carene	1005	1006	1149	0,1	-	-	RI, MS
10	$\alpha$ -Terpinène	1008	1011	1270	1,7	-	-	RI, MS
11	<i>p</i> -Cymène	1015	1015	1270	7,4	-	0.5	RI, MS
12	<b>1,8-Cineole</b>	1024	1021	1211	-	5,4	<b>15.4</b>	RI, MS
13	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Ocimène	1029	1022	1234	0,6	-	-	RI, MS
14	limonène	1039	1031	1967	-	-	4.0	RI, MS
15	$\gamma$ -Terpinène	1051	1050	1245	2,3	0,2	3.8	RI, MS
16	trans-Sabinène hydrate	1051	1054	1445	0,1	0,1	-	RI, MS
17	Terpinolène	1082	1079	1281	0,2	-	-	RI, MS
18	Linalool	1083	1085	1538	1,7	0,5	-	RI, MS
19	<b>Chrysanthénone</b>	1110	1106	1504	-	<b>24,3</b>	-	RI, MS
20	Phenyl acetaldehyde	1112	1108	1591	-	-	-	RI, MS
21	<b>Camphre</b>	1123	1124	1506	0,1	<b>30,2</b>	<b>15.0</b>	RI, MS
22	$\alpha$ -pinocarvone	1135	1139	1632	-	-	1.4	RI, MS
23	Isobornéol	1143	1144	1670	-	-	-	RI, MS
24	Bornéol	1148	1150	1688	0,3	4,5	12.7	RI, MS
25	Terpinen-4-ol	1164	1162	1591	1,1	3,2	1.2	RI, MS
26	$\alpha$ -Terpinéol	1176	1176	1690	0,1	2,1	0.6	RI, MS
27	trans-dihydro Carvone	1180	1182	1607	tr	-	-	RI, MS
28	<b>Verbénone</b>	1183	1184	1723	-	-	<b>10.7</b>	RI, MS
29	Carvone	1214	1215	1278	-	3,5	-	RI, MS
30	trans-Myrtanol	1241	1242	1859	tr	-	-	RI, MS
31	Thymol	1266	1263	2181	<b>76,6</b>	-	-	RI, MS
32	<b>Carvacrol</b>	1278	1286	2193	<b>0,6</b>	-	-	RI, MS
33	Acetate de bornyl	1285	1280	1600	-	-	2.6	RI, MS
34	Eugénol	1330	1329	2164	0,1	-	-	RI, MS
35	cis-Carvyl acétate	1343	1345	1858	0,1	-	-	RI, MS
36	( <i>E</i> )- $\beta$ -Caryophyllène	1421	1416	1591	1,6	-	0.2	RI, MS
37	( <i>E</i> )- $\alpha$ -Bergamotène	1434	1435	1573	tr	0,1	-	RI, MS
38	$\alpha$ -Humulène	1455	1448	1668	0,1	0,1	0.6	RI, MS
39	$\gamma$ -Humulène	1483	1480	1702	tr	0,1	-	RI, MS
40	$\beta$ -Bisabolène	1503	1499	1721	0,1	0,2	-	RI, MS
41	$\delta$ -Cadinène	1520	1511	1760	tr	0,5	-	RI, MS
42	( <i>E</i> )- $\alpha$ -Bisabolne	1530	1531	1755	0,1	0,3	-	RI, MS
43	Spathuléol	1572	1560	2120	-	0,5	-	RI, MS
44	Globulol	1589	1578	2067	-	0,6	-	RI, MS
45	Caryophyllène oxide	1578	1567	1969	0,1	-	1.4	RI, MS
46	Humulène epoxide II	1602	1599	2044	-	-	-	RI, MS
<b>Total identification %</b>					<b>99,3</b>	<b>82,0</b>	<b>81,5</b>	
% composés hydrocarbonés					<b>17,9</b>	<b>7,1</b>	<b>22,2</b>	
% Monoterpène hydrocarbonés					<b>16</b>	<b>5,8</b>	<b>19,0</b>	
% Sesquiterpènes hydrocarbonés					<b>1,9</b>	<b>1,3</b>	<b>2,2</b>	
% Composés oxygénés					<b>81,4</b>	<b>74,9</b>	<b>59,30</b>	
% Monoterpènes oxygénés					<b>80,7</b>	<b>73,8</b>	<b>56,70</b>	

## Chapitre II : Résultats et discussion

% Sesquiterpènes oxygénés	0,1	1,1	0
% Composés oxygénés non terpeniques	0,6	0	2,6
% Terpènes aromatiques	77,3	0	0

*T.F: Thymus fantézezii*, *A.A : Artemisia herba-alba*, *R.O: Rosmarinus officinalis*.

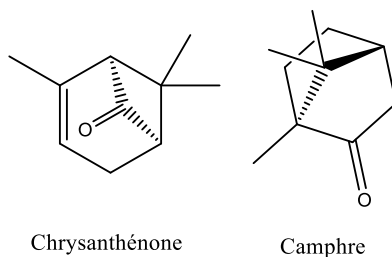


Figure 11. Chrysanthénone, camphre.

### IV.3.3 Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *R. officinalis*

Les résultats obtenus par l'analyse chromatographique (CPG/SM) du *R. officinalis* procuré de la région de Tlemcen au niveau de laboratoire COSNA, indiquent que l'huile essentielle contient 19 composants chimiques, les monoterpènes oxygénés représentent 56.7% de la composition totale et les monoterpènes hydrocarbonés représentent 17.9%, tandis que les sesquiterpènes hydrocarbonés ne représentent que 2.2 % de la composition d'HE. Les constituants majoritaires d'HE *R. officinalis* sont le 1,8-cinéole (15.4%), le camphre (15%), le bornéol (12.7%), l' $\alpha$ -pinène (11%), et le verbénone (10.7 %) (Tableau 3). Ces résultats sont similaires qualitativement, par rapport aux résultats obtenus de l'analyse chimique d'HE de *R. officinalis* cultivé dans la région de Tlemcen (Honaine) [54], il y a quelques différences d'un point de vue quantitatif pour la plupart des composés.

Dans la région de Bibans (Alger), le composé majoritaire est le 1,8-cinéole (52.4%), suivi du camphre (12.6%) [55], alors qu'un autre échantillon montre une grande variabilité quantitative en fonction de l'état de la plante (1,8-cinéole = 41.7-16.0%, camphre = 26.0-9.3%,  $\alpha$ -pinène = 16.9-2.5%) [56]. Comparativement, le romarin de Tunisie est également riche en cinéole (46.4%) et contient aussi les monoterpènes habituels [34]. Par contre, en Egypte, on trouve deux compositions, l'une dominée classiquement par le camphre, l' $\alpha$ -pinène et le 1,8-cinéole, l'autre riche en verbénone et en camphre [57]. Enfin, le romarin de Corse et de Sardaigne contient une huile essentielle riche en verbénone, acétate de bornyle et  $\alpha$ -pinène [29].

Les variations rencontrées dans la composition chimique du point de vue qualitatif et quantitatif de nos échantillons comparés à certains travaux antérieurs, peuvent être dues à des facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

## Chapitre II : Résultats et discussion

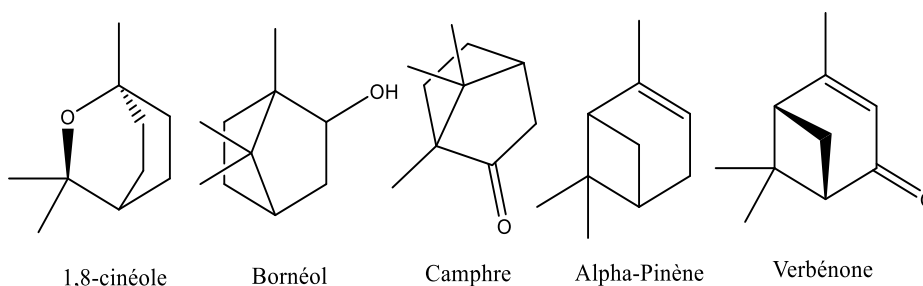


Figure 12. Camphre, bornéol, camphre,  $\alpha$ -pinène, verbénone.

### IV.4 ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES

#### IV.4.1 Introduction

Les huiles essentielles ont été utilisées pendant des millénaires pour leurs bienfaits pour la santé [58]. Certaines des propriétés bénéfiques supposées, par exemple, antiseptique, antioxydante et anti-inflammatoire, ont été soutenues par des recherches scientifiques récentes [59], [60]. D'autre part, plusieurs huiles essentielles possèdent de bonnes propriétés antioxydantes, qui peuvent être exploitées pour protéger d'autres matériaux, tels que les aliments et leur rancissement [61]. Ces attributs sont dus à la capacité inhérente de certains de leurs composants, en particulier les phénols. Cependant, il existe des huiles essentielles non phénoliques qui expriment un comportement antioxydant, ceci est dû à la chimie radicalaire de certains terpénoïdes et d'autres constituants volatils. La recherche d'antioxydants naturels avec la vertu d'être non toxique a donné lieu à un grand nombre d'études sur le potentiel antioxydant des huiles essentielles. Ceci est particulièrement pertinent car la plupart des antioxydants synthétiques courants (tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA) ou le butylhydroxytoluène (BHT)) sont soupçonnés d'être potentiellement dangereux pour la santé humaine [17]. Les objectifs de cette étude étaient d'étudier les propriétés antioxydantes des huiles essentielles de *Thymus fontanesii*, *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba*. Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles des trois (03) plantes ont été évaluées en utilisant deux méthodes différentes : l'activité de piégeage radicalaire (DPPH) et le pouvoir réducteur (FRAP), en utilisant le BHT et l'acide ascorbique comme témoins positifs.

#### IV.4.2 Méthode de réduction du radical libre DPPH

##### IV.4.2.1 Matrice individuelle des trois huiles essentielles par la méthode DPPH

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des antioxydants standards vis-à-vis du radical DPPH a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515 nm. Ce pouvoir réducteur est dû aux substances antiradicalaires et qui entraîne

## Chapitre II : Résultats et discussion

une diminution de l'absorbance. Toutes les huiles essentielles examinées montrent que le pourcentage d'inhibition de l'huile de *T. fontanesii* est supérieur à 70% à des faibles concentrations (de l'ordre de 20 mg/mL). A des concentrations plus élevées de l'ordre de 30 et 90 mg/L, l'étude de l'activité antioxydante de *R. officinalis* et *A. herba alba* montre que les pourcentages d'inhibition sont de 62,4 et 50,4%, respectivement.

L'activité de l'huile essentielle est proportionnelle à sa concentration et la valeur la plus faible de la  $CI_{50}$  reflète une meilleure action protectrice. Les valeurs des  $CI_{50}$  en mg/mL exprimant la concentration inhibitrice des huiles essentielles nécessaires pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH en dissolution dans le méthanol sont représentées sur la Figure 13.

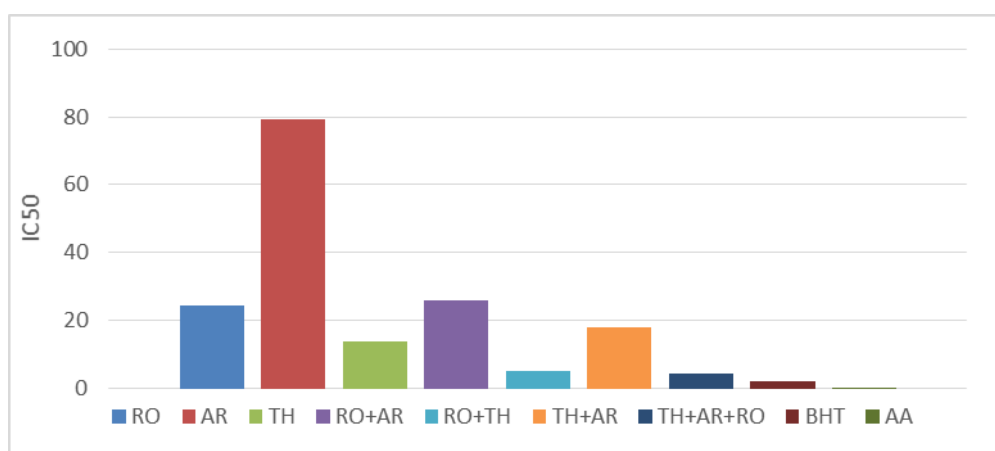


Figure 13.  $CI_{50}$  des huiles essentielles déterminées par la méthode DPPH.

### IV.4.2.2 Évaluation de l'activité antioxydante et de l'effet synergique des mélanges d'huiles essentielles par la métho de DPPH

La comparaison de l'activité de balayage du DPPH• du mélange des trois huiles essentielles de *T. fontanesii*, *R. officinalis* et *A. herba alba* avec celle exprimé par le BHT a montré que le mélange des deux huiles présente de très bonne activité antioxydante (Tableau 4).

Tableau 4: % d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des mélanges des huiles essentielles de *T. fontanesii*, *R. officinalis* et *A. herba alba* et du BHT à différentes concentrations.

Mélanges croisés	Activité antioxydante						
	Concentration (mg/mL)	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	10
Thym/romarin	Concentration (mg/mL)	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	10
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	3,02	5,81	19,75	37,17	54,59	72,01
	Concentration (mg/mL)	5,0	10	15	20	25	30
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	5,94	17,24	28,54	39,84	51,14	62,44

## Chapitre II : Résultats et discussion

Armoise/romarin	Concentration (mg/mL)	<b>5,0</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>40</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	10,10	15,85	21,60	38,85	44,60	50,35
Thym/armoise/romarin	Concentration (mg/mL)	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>	<b>3,0</b>	<b>5,0</b>	<b>7,0</b>	<b>10</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	20,46	24,50	39,90	55,30	70,70	93,70
BHT	Concentration (mg/mL)	<b>0,2</b>	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>	<b>2,0</b>	<b>3,0</b>	<b>4,0</b>
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	28,40	35,60	47,90	71,90	85,10	86,35

Il est à noter que le mélange des trois huiles essentielles est 18 fois plus actif que l'huile de l'armoise, 6 fois plus actif que l'huile du romarin et 3 fois plus actif que l'huile du thym.

En terme de comparaison avec le témoin, le mélange des trois huiles essentielles a la capacité d'inhiber 50% des radicaux libres à une concentration de 4,3 mg/mL, ce qui est proche que le BHT (2,3 mg/mL).

La même chose pour le mélange entre les huiles essentielles du romarin et du thym, le mélange des deux huiles a donné une  $CI_{50}$  de 5,03 mg/ml qui est 4 et 5 fois plus fort que l'huile du romarin. Le mélange entre les huiles essentielles du romarin et l'armoise a un effet antagonique par rapport à l'huile du romarin qui a perdu un petit pourcentage d'inhibition et un effet synergique par rapport à l'huile de l'armoise qui a devenu 3 fois plus fort, la même chose pour le mélange entre les huiles essentielles du thym et d'armoise, la  $CI_{50}$  du mélange est plus élevée de celle de l'huile du thym et plus faible par rapport à la  $CI_{50}$  de l'huile de l'armoise (Figure 13).

### IV.4.3 Méthode de réduction des ions ferreux FRAP

Dans le teste essai du pouvoir réducteur la présence d'antioxydant dans l'échantillon aurait pour résultats la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  en donnant un électron la quantité du complexe  $Fe^{2+}$  peut ensuite être contrôlée par la mesure de la formation du bleu de Perl à 700 nm, l'augmentation de l'absorbance (DO) indique une augmentation de la capacité réductrice.

#### IV.4.3.1 Matrice individuelle des trois huiles essentielles

Dans cette partie, nous avons testé, par la méthode de FRAP la matrice individuel, l'huile essentielle de *T. fontanesii*, *R. officinalis* et *A. herba alba*, et les résultats obtenus nous ont permis de tracer des courbes pour chaque huile essentielle. Comme le montre les résultats obtenus, nous pouvons déduire que toutes les huiles essentielles des 03 plantes ont la capacité à réduire le fer.

D'autre part, la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. Les résultats obtenus montrent que la capacité de réduction de

## Chapitre II : Résultats et discussion

l'huile de *T. fontanesii* est nettement supérieure à celle de *R. officinalis* et *A. herba alba*, mais inférieure à la référence (BHT).

Si nous classons nos extraits selon la puissance de réduction de fer par rapport au BHT, nous obtiendrons l'ordre suivant : BHT > *T. fontanesii* > *A. herba alba* > *R. officinalis* (Figure 14).

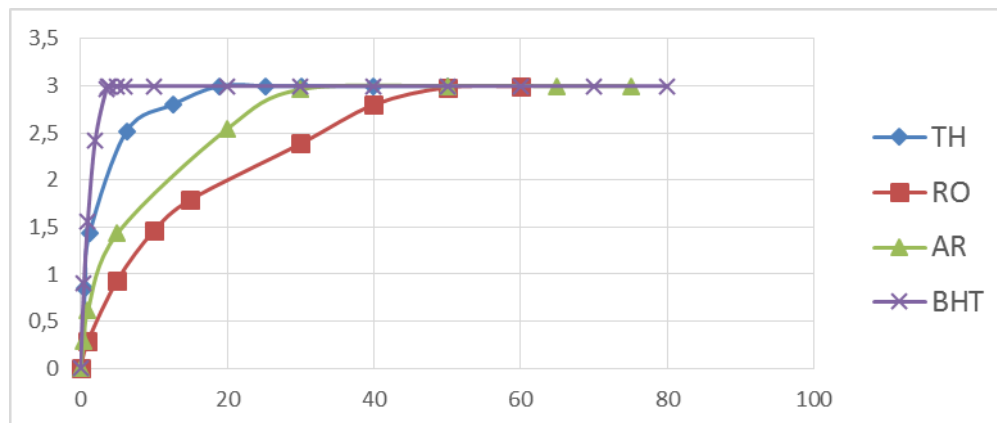


Figure 14. Pouvoir réducteur des trois huiles essentielles et du contrôle positif (BHT).

### IV.4.3.2 Évaluation de l'activité antioxydante et de l'effet synergique des mélanges d'huiles essentielles par la méthode FRAP.

Le pouvoir réducteur (FRAP) des huiles essentielles des mélanges (Figure 15) augmente avec la concentration et atteint un plateau à partir de 20 mg/l pour le mélange thym /armoise.

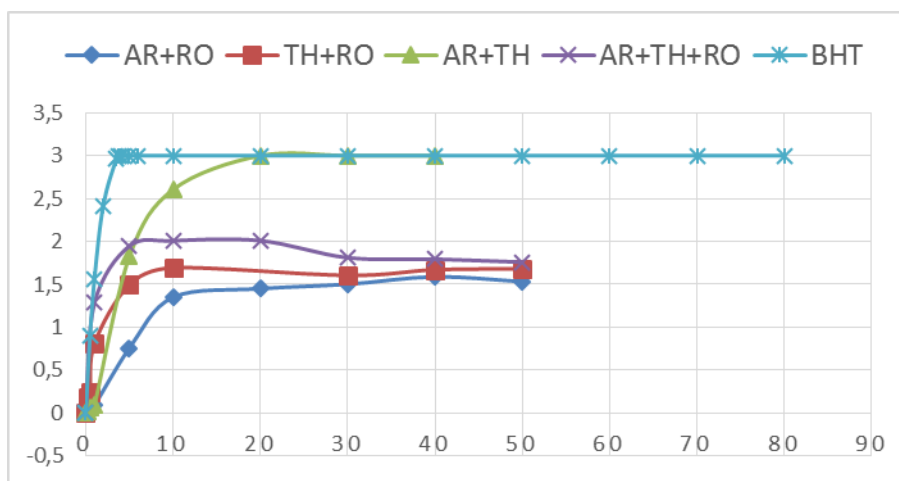


Figure 15. Pouvoir réducteur des trois mélanges et du contrôle positif (BHT).

Le mélange d'armoise et du thym est le mélange le plus actif par rapport aux autres mélanges et à l'huile d'armoise. Le mélange du romarin et du thym a un pouvoir similaire de celle d'HE du romarin seule jusqu'à la concentration de 5mg/ml, et se stabilise à une absorbance de 1.7nm. Le mélange d'armoise et du romarin est le mélange le plus faible par rapport à tous les autres échantillons (Figure 15). Si nous classons nos mélanges selon la puissance de réduction de

## Chapitre II : Résultats et discussion

fer par rapport au BHT, nous obtiendrons l'ordre suivant : BHT > *A. herba alba*/*R. officinalis* > *T. fontanesii*/*R. officinalis*/*A. herba alba* > *T. fontanesii*/*R. officinalis* > *R. officinalis*/*A. herba alba*.

### IV.4.4 . Conclusion

Dans la présente étude, toutes les huiles essentielles étudiées ont montré une activité antioxydante en piégeant le radical DPPH•. L'huile essentielle de *T. fontanesii* a montré une bonne activité antioxydante avec une CI<sub>50</sub> de 13,7 mg/mL qui est nettement supérieure à celle du témoin le BHT. L'huile essentielle de *R. officinalis* présente une activité antioxydante modérée et l'activité la plus faible a été observée pour l'huile essentielle d'*A. herba alba*.

N. Nabet et al [24] ont rapporté que l'huile du *thymus fontanesii* extrait par hydrodistillation de la région de Tiaret possède une activité de piégeage contre le radical libre DPPH, avec une valeur CI<sub>50</sub> de 51.6 mg / mL. Cette dernière est 3,7 fois plus faible que l'activité obtenue dans notre étude. Cette différence pourrait s'expliquer par la composition chimique différente de ces huiles essentielles. L'activité antioxydante des huiles essentielles provenant des genres *Thymus* pourrait être due à la présence des phénols comme le thymol et le carvacrol [62] et à l'effet synergique des constituants majeurs et mineurs de ces huiles essentielles.

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de différents région de la Tunisie [34] possède une activité antioxydante avec des CI<sub>50</sub> qui varient de 6 µl/ml jusqu'à 28.5 µl/ml. Les huiles qui ont des pourcentages similaires au 1,8-cinéol et au camphre ont montré une grande efficacité de piégeage de DPPH, alors que les huiles contenant un pourcentage élevé de 1,8- cinéol ont montré une faible activité antioxydante. L'HE du *Rosmarinus officinalis* extrait du Bosnie Herzégovine [63] possède un pourcentage d'inhibition de 33.7% à une concentration de 50 mg/ml qui est 3 fois plus faible que les résultats obtenus dans notre travail. Bien que la composition chimique soit proche dans les deux travaux, la présence du camphre de notre huile de *Rosmarinus officinalis* exploité à Tlemcen fait la différence. Le thymol est un monoterpène oxygéné avec une structure phénolique et des propriétés antioxydantes prouvées [62]. Le camphre, le chrysanthénone, le 1,8-cinéole, l'α-pinène, le bornéol, et le verbénone sont des monoterpènes naturels obtenus à partir de l'huile essentielle de diverses plantes telles que l'*Artemisia annua*, *Blumea balsamifera* et *Kaempferia galanga*, et qui ont des propriétés antioxydantes [62]. A noter que la combinaison des huiles essentielles de *T. fontanesii*/*R. officinalis*/*A. herba alba* a montré la plus forte activité, ce résultat peut être s'expliquer par l'association de thymol (76.6 %), de camphre (30.2%) de chrysanthénone (24.3%), de 1,8-cinéole (15.4%), de camphre (15%), de bornéol (12.7%), d'α-pinène (11%), et de

## **Chapitre II : Résultats et discussion**

verbénone (10.7 %), ou par l'association des composés mineurs ou même l'effet du composé majoritaire qui est le thymol.

## **V. CONCLUSION GENERALE**

---

## Conclusion générale

La richesse de la flore d'Algérie n'est plus à démontrer. A l'instar d'autres zones, l'Ouest algérien et en particulier la région de Tlemcen qui est caractérisée par une flore particulièrement riche en plantes médicinales. La préservation de cette biomasse végétale constitue un enjeu crucial à l'échelle du pays.

Notre travail de mémoire de master visait à produire des connaissances scientifiques relatives aux ressources naturelles végétales de l'ouest algérien et à rechercher des voies de valorisation de ces dernières. Ainsi nous nous sommes intéressés à la caractérisation chimique et biologique des huiles essentielles de trois plantes de la région de Tlemcen *Thymus fanténezi*, *Artemisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis*. Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude de la composition chimique et de l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois plantes et a permis d'identifier, respectivement 34, 20 et 19 composés pour *Thymus fanténezi*, *Artemisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis*.

De plus, l'objectif étant d'identifier et proposer des principes actifs susceptibles d'être utilisés comme des alternatives aux antioxydants conventionnels afin de limiter les effets néfastes de ces derniers sur l'environnement et la santé humaine.

Le volet chimique de notre travail a montré que les huiles essentielles des trois plantes étudiées présentent des molécules intéressantes. L'huile essentielle de *Thymus fanténezi* est riche en thymol (76.6 %) et le p-cymène (7.4%), alors que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* est riche en camphre (30.2%), en chrysanthène (24.3%), 1,8-cinéole (5.4%), et en camphène (5.3%). L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est caractérisée par la présence de 1,8-cinéole (15.4%), l' $\alpha$ -pinène (11%), le bornéol (12.7%), le camphre (15%), et le verbénone (10.7 %). Les trois huiles essentielles ont présenté des activités antioxydante très prometteuses mais qui reste moins efficaces par rapport au BHT et l'acide ascorbique dans les deux méthodes étudiées (DPPH, FRAP). Alors qu'une très intéressante activité antioxydante a été observée avec le mélange des trois (3) huiles essentielles qui a montré une capacité proche des deux antioxydants synthétiques par la méthode DPPH.

Cependant, il est souhaitable de procéder à une analyse de la composition chimique des mélanges et une recherche plus avancée sur leur synergie par l'étude de l'activité antioxydante des composés majoritaires seuls et en mélange. Il est souhaitable aussi d'étudier l'activité antioxydante avec d'autres méthodes comme le test de blanchiment au  $\beta$ -carotène et d'étudier d'autres activités biologiques de ces métabolites tels que l'activité antifongique.

## Conclusion générale

En fin, L'activité antioxydante des huiles essentielles peut ouvrir la voie à donner plus d'attention à leur utilisation dans le contrôle des maladies et comme conservateurs alimentaires pour contrôler la peroxydation lipidique et la détérioration des aliments, pour vaincre les maladies humaines causées par les radicaux libres.

## **VI. MATERIELLES ET METHODES**

---

## Chapitre III : Matérielles et méthodes

### VI.1 MATERIEL VEGETALE.

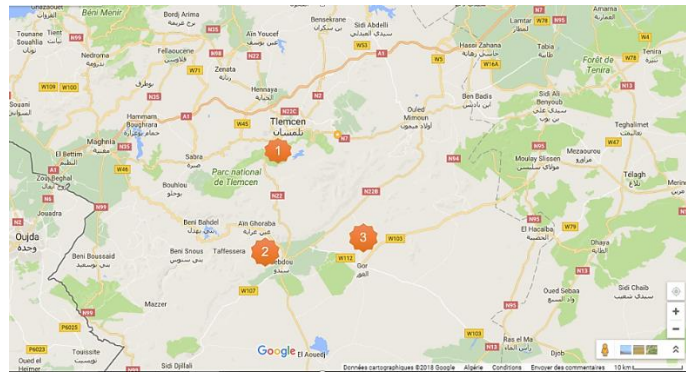


Figure 16. Lieux de récoltes, des huiles essentielles de *Thymus fontanesii*, *Rosmarinus officinale*, *Artemisia Herba alba* dans la wilaya de Tlemcen.

Les feuilles (sèches) de *Thymus fontanesii* a été achetée au marché local de Tlemcen en janvier 2018, la plante a été récoltée au mai 2017 au niveau de la communauté de Sebdou . Les deux autres espèces ont été collectées au niveau du parc national de Tlemcen au plateau Lala Seti (34°38'00.0"N 1°33'00.0"W) (*Rosmarinus officinale*) et au Niveau de la pépinière de Sebdou (Gor) (34°42'01.7"N 1°04'44.5"W) (*Artemisia Herba alba*) au mois de janvier 2018. L'identification botanique des trois plantes a été réalisée par le professeur Noury BENABADJI du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'Université de Tlemcen. Les parties aériennes d'*Artemisia arba alba* et du *Rosmarinus officinalis* ont été séchées à l'ombre et ensuite récupérées dans des sacs propres.

### VI.2 L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

La partie aérienne de chaque échantillon a été soumise à une hydrodistillation pendant 6 h grâce à un appareillage de type Clevenger. L'huile essentielle obtenue est mise dans des flacons sombres. Le rendement d'extraction est calculé par rapport au poids du matériel végétal séché avant extraction par la formule suivante :

$$R = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \times 100$$

R : Rendement de l'extraction en %

M HE : masse de l'huile essentielle extraite en (g)

M MV : masse de matière végétale séchée en (g)

### VI.3 ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE ET COUPLAGE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE – SPECTROMETRIE DE MASSE

#### VI.3.1 Chromatographie en phase gazeuse.

L'analyse chimique des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un chromatogramme de marque 6500 Autosystem GC équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur, et d'une colonne capillaire en silice fondu apolaire de type TRB-5 (longueur 30 m, diamètre interne 0,32 mm, épaisseur du film : 0.1  $\mu\text{m}$ ).

L'hydrogène l'azote et l'aire sont utilisés comme gaz vecteurs avec un débit de 1 ml/mn avec une pression de colonne de 7psi. La température de l'injecteur est de 300 °C ; le détecteur est réglé à 280 °C. Le four est programmé de 60 °C à 280 °C avec un gradient de température de 10 °C.min<sup>-1</sup> et ensuite maintenue à 250°C pendant 64 mn. Les échantillons ont été injectés via le mode split (1/20), le volume d'injection est de 0.2  $\mu\text{l}$ . Pour chacun des composants, les indices de rétention apolaires et polaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalons d'alcanes.



Figure 17. Appareil CPG.

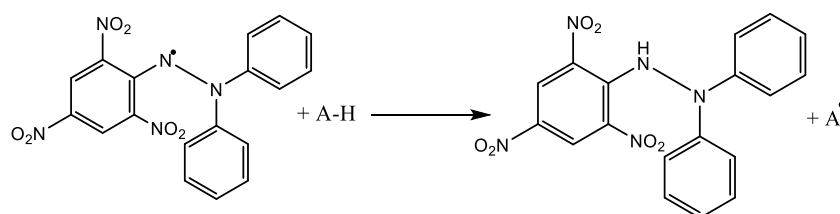
#### VI.3.2 Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse.

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL (Walton, MA, Etats Unis), doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25  $\mu\text{m}$ ) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplées à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. La quantité injectée est de 0,2  $\mu\text{L}$ . Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da. La température de la source est de 150°C. Les conditions chromatographiques (programmation de température, gaz vecteur, etc.) sont identiques à celles décrites précédemment (Cf. IV.5.1).

## VI.4 METHODE DE REDUCTION DU RADICAL LIBRE DPPH

### VI.4.1 Principe

Le 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre, stable à température ambiante, qui produit une solution violette dans l'éthanol. Il est réduit en présence d'une molécule antioxydante, donnant lieu à des solutions d'éthanol jaune dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. L'utilisation de DPPH fournit un moyen facile et rapide d'évaluer les antioxydants.



**Figure 18. Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.**

### VI.4.2 Mode opératoire

La méthode décrite par (Ammar et al., 2009) [64] a été employée. Des solutions mères d'échantillon (10-50 mg/ml) ont été diluées à des concentrations finales de (0.31-90.7 mg/mL) dans de l'éthanol. 1 mL d'une solution d'éthanol DPPH 0.03 mg/ml a été ajouté à 1 mL de solutions d'échantillon de différentes concentrations, et laissé réagir à température ambiante à l'abri de la lumière. Après 30 minutes, les valeurs d'absorbance ont été mesurées à 517 nm et converties en pourcentage d'activité antioxydante (I%) en utilisant la formule suivante :

$$I\% = \frac{AC-AT}{AC} \times 100 \quad [37].$$

Où :

AC : Absorbance du contrôle ;

AT : Absorbance du test effectué ;

I% : %d'inhibition.

L'éthanol pur a été utilisé comme blanc. 1ml d'éthanol a été utilisé avec 1 ml de la solution éthanolique de DPPH comme témoin négatif. Les contrôles positifs étaient effectués en utilisant le BHT. Les valeurs IC<sub>50</sub> ont été calculées par régression linéaire des parcelles où les abscisses représentaient la concentration des HES des plantes testés et en ordonnée le pourcentage d'inhibition.

### Chapitre III : Matérielles et méthodes

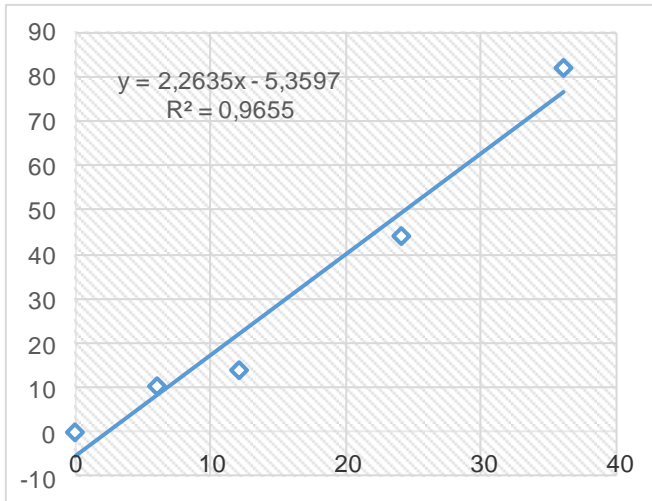


Figure 19. Capacité antioxydante de H.E de *Rosmarinus officinalis*.

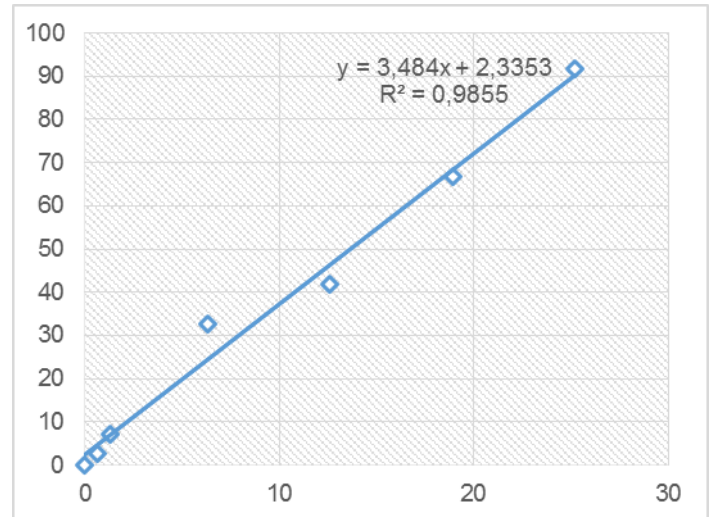


Figure 20. Capacité antioxydante de H.E d' *Artemisia Herba alba*.

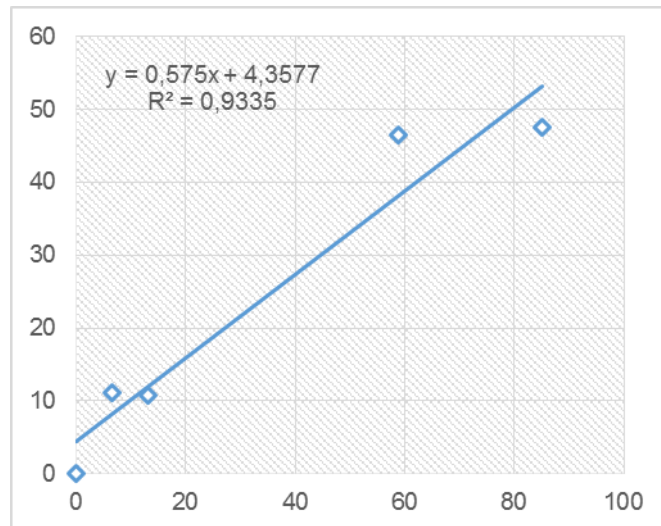


Figure 21. Capacité antioxydante de H.E de de *Thymus fontanesii*.



**Figure 22. Méthode DPPH.**

### **VI.5 METHODE DE REDUCTION DU FER**

#### **VI.5.1 Principe**

Le test FRAP (capacité réductrice ferrique du plasma), un test simple de la puissance antioxydante qui a été choisis pour évaluer l'activité anti-radicalaire de certains types de thé et de plantes médicinales. Cette méthode est basée sur le principe d'augmentation de l'absorbance des mélanges réactionnels, lorsque l'absorbance augmente l'activité antioxydante augmente. Le composé antioxydant présent dans les échantillons forme un complexe coloré avec du ferricyanure de potassium, de l'acide trichloroacétique et du chlorure ferrique.

L'évaluation est basée sur la réaction de réduction du ( $\text{Fe}^{+3}$ ) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en ( $\text{Fe}^{+2}$ ), la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ), qui est mesuré à 700 nm par un spectrophotomètre UV [65].

#### **VI.5.2 Mode opératoire**

Le pouvoir réducteur du fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dans les HEs est déterminé selon la méthode décrite par [65]. 0.5 ml des HEs à différentes concentrations (de 0.2 à 80mg/ml) est mélangé avec 0.5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 0.5ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$  à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 0.5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2 ml) de surnageant est combinée avec 2 ml d'eau distillée et 0,4 ml d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant les HEs par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ;

### Chapitre III : Matérielles et méthodes

l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des HEs testés.

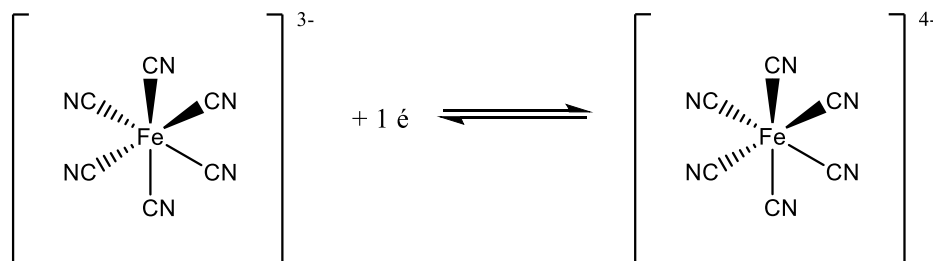


Figure 23. Réaction de réduction de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$  en  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  par un antioxydant.

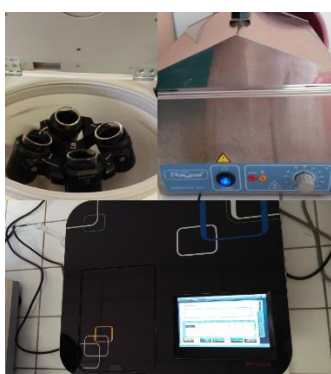


Figure 24. Appareils utilisés dans la méthode de FRAP.

#### VI.6 ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES MELANGES

Pour étudier l'activité antioxydante des mélanges des trois HEs, des concentrations identiques des HEs de même volume de 1ml sont mélangés de façon croisé (armoise, romarin ; armoise, thym ; thym, romarin ; romarin, armoise, thym) pour avoir des concentrations filles variant de 0.2 à 80 mg/ml, la même étape des solutions filles des HEs seules dans chaque méthode s'applique à les solutions filles des mélanges.

#### VI.7 MESURES SPECTROPHOTOMETRIES

Toutes les données spectrophotométriques ont été réalisées en utilisant un spectrophotomètre Optizen Pop à 517 nm pour la méthode du DPPH et 700 nm pour la méthode du FRAP. Des cuvettes jetables (1 cm 3 1 cm 3 4,5 cm) ont été utilisées pour des mesures d'absorbance visible.

## Références bibliographiques

- [1] S. Brul et P. Coote, « Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 50, n° 1-2, p. 1-17, 1999.
- [2] M. Florence, « Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite », Thèse de doctorat : Pharmacie. Lorraine : faculté de pharmacie, 2012, 107 p.
- [3] R. Tisserand et R. Young, « Essential oil constituents », in *Essential Oil Safety - E-Book: A Guide for Health Care Professionals*, Elsevier Health Sciences, 2013, p. 15-21.
- [4] Kaul Pran N, Bhattacharya Arun K, Rajeswara Rao Bhaskaruni R, Syamasundar Kodakandla V, et Ramesh Srinivasaiyer, « Volatile constituents of essential oils isolated from different parts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 83, no 1, p. 53-55, 2002.
- [5] F. Gaspar et G. Leeke, « Essential Oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* (Hoffm. et Link) letsvaart: Content, Composition and Distribution Within the Bracts », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 16, no 2, p. 82-84, 2004.
- [6] M. Faucon, *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale*. Paris: Ed: Sang de la Terre, 2012.
- [7] G. Figueredo, « Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne », PhD Thesis, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2007.
- [8] C. Argyropoulou, D. Daferera, P. A. Tarantilis, C. Fasseas, et M. Polissiou, « Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* HBK (Verbenaceae) at two developmental stages », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 35, no 12, p. 831–837, 2007.
- [9] Fernandez X., Chemat F. *La chimie des huiles essentielles*. Editions Vuibert 2012. 288p.
- [10] S. Burt, « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 94, n° 3, p. 223-253, 2004.
- [11] H. H. Rassem, A. H. Nour, et M. Yunus, « Techniques for extraction of essential oils from plants: a review », *Aus J Basic Appl. Sci.*, vol. 10, n° 16, p. 117–127, 2016.
- [12] P. J. Marriott, R. Shellie, et C. Cornwell, « Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils », *J. Chromatogr. A*, vol. 936, n° 1-2, p. 1–22, 2001.
- [13] A. Yadav, R. Kumari, A. Yadav, J. P. Mishra, D. S. Srivastava, et S. Prabha, « Antioxidants and its functions in human body - A Review », *Res. Environ. Life Sci.*, vol. 9, p. 1328-1331, 2016.
- [14] L. A. Pham-Huy, H. He, et C. Pham-Huy, « Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health », *Int. J. Biomed. Sci. IJBS*, vol. 4, n° 2, p. 89-96, 2008.

- [15] G. Cao, H. M. Alessio, et R. G. Cutler, « Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants », *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 14, n° 3, p. 303-311, 1993.
- [16] A. C. Kurilich, E. H. Jeffery, J. A. Juvik, M. A. Wallig, et B. P. Klein, « Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, no 18, p. 5053–5057, 2002.
- [17] R. Amorati, M. C. Foti, et L. Valgimigli, « Antioxidant Activity of Essential Oils », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 61, n° 46, p. 10835-10847, 2013.
- [18] P. Quézel et S. Santa, « Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales (Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, i 962) », i, vol. 6, p. 12.
- [19] A. KABOUCHE, « Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae », Thèse de doctorat : chimie. Constantine : université mentouri-constantine, 2005, 389 p.
- [20] C. Bekhechi, F. A. Bekkara, D. E. Abdelouahid, F. Tomi, et J. Casanova, « Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. from Algeria. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, n° 6, p. 594-596, 2007.
- [21] Z. Kabouche, N. Boutaghane, S. Laggoune, A. Kabouche, Z. Ait-Kaki, et K. Benlabeled, « Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria », *Int. J. Aromather.*, vol. 15, n° 3, p. 129-133, 2005.
- [22] A. Ghannadi, S. E. Sajjadi, A. Kabouche, et Z. Kabouche, « *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. - A Potential Source of Thymol-Rich Essential Oil in North Africa », *Z. Naturforschung C*, vol. 59c, p. 187-189, 2004.
- [23] Mouhi Lilia, Moghrani Houria, Nasrallah Noureddine, Amrane Abdeltif, et Maachi Rachida, « Anti-inflammatory activity of essential oil of an endemic *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. with chemotype carvacrol, and its healing capacity on gastric lesions », *J. Food Biochem.*, vol. 41, n° 3, p. e12359, 2017.
- [24] N. Nabet, H. Boudries, S. Loupassaki, S. Souagui, K. Madani, et A. Carbonell-Barrachina, « Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. and *Origanum glandulosum* Desf. essential oils », *Int. Food Res. J.*, vol. 24, p. 2518-2525, déc. 2017.
- [25] N. Mebarki, « Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse antimicrobienne », Mémoire de Magister : Génie

des procédés chimiques et Pharmaceutiques. Boumerdès : Génie des procédés chimiques et pharmaceutique, 2010, 185 p.

[26] S. Habtemariam, « The therapeutic potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes for Alzheimer's disease », *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, vol. 2016, 2016.

[27] M. R. al-Sereiti, K. M. Abu-Amer, et P. Sen, « Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials », *Indian J. Exp. Biol.*, vol. 37, n° 2, p. 124-130, 1999.

[28] M. T. Baratta, H. J. D. Dorman, S. G. Deans, D. M. Biondi, et G. Ruberto, « Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidative Activity of Laurel, Sage, Rosemary, Oregano and Coriander Essential Oils », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 10, n° 6, p. 618-627, 1998.

[29] G. Pintore *et al.*, « Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica », *Flavour Fragr. J.*, vol. 17, n° 1, p. 15-19, 2002.

[30] Y. Jiang *et al.*, « Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary », *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 32, n° 1, p. 63-68, 2011.

[31] A. Angioni *et al.*, « chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, n° 11, p. 3530-3535, 2004.

[32] S. Santoyo, S. Cavero, L. Jaime, E. Ibañez, F. J. Señoráns, et G. Reglero, « Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction », *J. Food Prot.*, vol. 68, n° 4, p. 790-795, 2005.

[33] S. Zoubiri et A. Baaliouamer, « Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria », *Food Chem.*, vol. 129, n° 1, p. 179-182, 2011.

[34] Y. Zaouali, T. Bouzaine, et M. Boussaid, « Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities », *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.*, vol. 48, n° 11, p. 3144-3152, 2010.

[35] C. Takayama *et al.*, « Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat », *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 6, n° 8, p. 677-681, 2016.

[36] A. E.-H. H. Mohamed, M. A. El-Sayed, M. E. Hegazy, S. E. Helaly, A. M. Esmail, et N. S. Mohamed, « Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba* », *Rec. Nat. Prod.*, vol. 4, no 1, p. 1, 2010.

- [37] S. Abdelmoumen et M. Zoheir, « Evaluation of Plant Diversity in the Steppes of White Wormwood of the Region of Saida (Western Algeria) », *Open J. Ecol.*, vol. 5, n° 10, p. 491, 2015.
- [38] A. Moufid et M. Eddouks, « Artemisia herba alba: a popular plant with potential medicinal properties », *Pak. J. Biol. Sci. PJBS*, vol. 15, n° 24, p. 1152-1159, 2012.
- [39] I. Feuerstein, A. Danin, et R. Segal, « Constitution of the essential oil from an Artemisia herba-alba population of Spain », *Phytochemistry*, vol. 27, n° 2, p. 433-434, 1988.
- [40] G. Vernin, O. Merad, G. M. F. Vernin, R. M. Zamkotsian, et C. Párkányi, « GC-MS analysis of Artemisia herba alba Asso essential oils from Algeria », in *Developments in Food Science*, vol. 37, Supplement C vol., G. Charalambous, Éd. Elsevier, 1995, p. 147-205.
- [41] S. Salido, L. R. Valenzuela, J. Altarejos, M. Nogueras, A. Sánchez, et E. Cano, « Composition and infraspecific variability of Artemisia herba-alba from southern Spain », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 32, n° 3, p. 265-277, 2004.
- [42] M. M. Hudaib et T. A. Aburjai, « Composition of the Essential Oil from Artemisia herba-alba Grown in Jordan », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 18, n° 3, p. 301-304, 2006.
- [43] T. Dob et T. Benabdelkader, « Chemical Composition of the Essential Oil of Artemisia herba-alba Asso Grown in Algeria », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 18, n° 6, p. 685-690, 2006.
- [44] H. Mighri, H. Hajlaoui, A. Akrouf, H. Najjaa, et M. Neffati, « Antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia herba-alba essential oil cultivated in Tunisian arid zone », *Comptes Rendus Chim.*, vol. 13, n° 3, p. 380-386, 2010.
- [45] R. Belhattab, L. Amor, J. G. Barroso, L. G. Pedro, et A. Cristina Figueiredo, « Essential oil from Artemisia herba-alba Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey », *Arab. J. Chem.*, vol. 7, n° 2, p. 243-251, 2014.
- [46] S. Zouari, N. Zouari, N. Fakhfakh, A. Bougatef, et M. A. Ayadi, « Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian Artemisia herba alba Asso », *J. Med. Plants Res.*, vol. 4, 2010.
- [47] H. Mohsen et F. Ali, « Essential Oil Composition of Artemisia herba-alba from Southern Tunisia », *Molecules*, vol. 14, n° 4, p. 1585-1594, 2009.
- [48] L. Bezza *et al.* « Composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba provenant de la région de Biskra (Algérie) », *Phytothérapie*, vol. 8, n° 5, p. 277-281, 2010.
- [49] M. Ghanmi *et al.*, « Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche Artemisia herba-alba de la région de Guerçif (Maroc oriental) », *Phytothérapie*, vol. 8, n° 5, p. 295-301, 2010.

- [50] T. Dob, D. Dahmane, T. Benabdelkader, et C. Chelghoum, « Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. », *Pharm. Biol.*, vol. 44, n° 8, p. 607-612, 2006.
- [51] H. Boira et A. Blanquer, « Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 26, n° 8, p. 811–822, 1998.
- [52] M. C. Rota, A. Herrera, R. M. Martínez, J. A. Sotomayor, et M. J. Jordán, « Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hymnalis* essential oils », *Food Control*, vol. 19, n° 7, p. 681–687, 2008.
- [53] M. G. Mkaddem *et al.*, « Essential oil of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. from Matmata, Tunisia: gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial and antioxidant activities », *J. Med. Food*, vol. 13, n° 6, p. 1500–1504, 2010.
- [54] F. Atik Bekkara, L. Bousmaha, S. A. Taleb Bendiab, J. B. Boti, et J. Casanova, « Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen », *Biol. Santé*, vol. 7, no 1, p. 6–11, 2007.
- [55] C. Boutekedjiret, F. Bentahar, R. Belabbes, et J.-M. Bessière, « The Essential Oil from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria », *J. Essent. Oil Res. - J ESSENT OIL RES*, vol. 10, p. 680-682, 1998.
- [56] C. Boutekedjiret, R. Belabbes, F. Bentahar, et J.-M. Bessière, « Study of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Yield and Composition as a Function of the Plant Life Cycle », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 11, p. 238-240, 1999.
- [57] F. M. Soliman, E. A. El-Kashoury, M. M. Fathy, et M. Gonaid, « Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt », *Flavour Fragr. J.*, vol. 9, p. 29-33, 1994.
- [58] editor Luca Valgimigli, *Essential oils as natural food additives: composition, applications, antioxidant and antimicrobial properties*. New York: Nova Science Publishers, 2012.
- [59] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, et M. Idaomar, « Biological effects of essential oils--a review », *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.*, vol. 46, n° 2, p. 446-475, 2008.
- [60] B. Adorjan et G. Buchbauer, « Biological properties of essential oils: an updated review », *Flavour Fragr. J.*, vol. 25, n° 6, p. 407-426, 2010.
- [61] Amorati Riccardo, « Oxidative stability and antioxidant properties of essential oils », in *Essential Oils as Natural Food Additives*, Nova Science Publisher, 2012, p. 75– 95.
- [62] G. Ruberto et M. T Baratta, « Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems », *Food Chem.*, vol. 69, p. 167-174, 2000.

- [63] I. Odak, S. Talić, et A. Martinović Bevanda, « Chemical composition and antioxidant activity of three Lamiaceae species from Bosnia and Herzegovina », *Bull. Chem. Technol. Bosnia Herzeg.*, p. 23-30, 2015.
- [64] B. Tepe, M. Sökmen, H. A. Akpulat, et A. Sokmen, « Screening of the antioxidant potentials of six Salvia species from Turkey », *Food Chem.*, vol. 95, p. 200-204, 2006.
- [65] M. Oyaizu, « Studies on products of browning reaction--antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine », *Eiyogaku Zasshi Jpn. J. Nutr.*, 1986.