

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique  
Filière : Science biologie  
Option : Biochimie Appliquée



Réf : .....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Étude de l'activité antioxydante des  
huiles essentielles de *Mentha  
aquatica* et *Origanum vulgare*  
seules et en association**

Présenté par :  
**MEZIANI Henia**

Soutenu le : **11 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

**Mme OUKIL Naima**  
**Mme BEDJOU Fatiha**  
**CHAHER Nassima**

**MCB**  
**Professeur**  
**(MAA)**

**Présidente**  
**Promoteur Melle**  
**Examineur**

Année universitaire : 2014 / 2015

**ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

# **Généralités**

---

# ÉTUDE EXPERIMENTALE

---

## Chapitre II

# Matériel et méthodes

---

## **ÉTUDE EXPERIMENTALE**

---

### **Chapitre III**

# **Résultats et discussion**

---

---

**Conclusion**  
**Et perspectives**

---

---

# **Références Bibliographiques**

---

## Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titre du tableau	Numéro de la page
<b>I</b>	Classification botanique de la <i>Mentha aquatica</i>	<b>06</b>
<b>II</b>	classification d' <i>Origanum vulgare</i>	<b>10</b>
<b>III</b>	Aspect, couleur et odeur de l'huile essentielle étudiée selon les normes.	<b>28</b>
<b>VI</b>	Activité antioxydante des différents échantillons seuls	<b>28</b>
<b>V</b>	Combinaison entre huile essentielle de <i>Mentha aquatica</i> et huile essentielle de <i>Origanum vulgare</i>	<b>36</b>
<b>IV</b>	Combinaison d'huile essentielle de la menthe avec Vit E et le thymol	<b>37</b>
<b>VII</b>	Combinaison d'huile essentielle de menthe avec polyphénol de <i>Pulicaria odora</i> et <i>Hyociamus albus</i>	<b>37</b>
<b>VIII</b>	Combinaison d'huile essentielle d'origan avec polyphénol de <i>Pulicaria odora</i> et <i>Hyociamus albus</i>	<b>38</b>
<b>IX</b>	combinaison d'huile essentielle d'origan avec Vit E et le thymol	<b>38</b>

## Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Numéro de la page
<b>01</b>	Schéma structurale de la morphologie de la menthe	<b>5</b>
<b>02</b>	Shéma détaillé de la plante <i>Origanum vulgare</i> L	<b>10</b>
<b>03</b>	Image d' <i>Origanum vulgare</i>	<b>18</b>
<b>04</b>	Image de <i>Mentha aquatica</i>	<b>18</b>
<b>05</b>	Schéma de protocole d'extraction des composés phénolique par agitation au bain marie ( <b>Tawaha et al; 2007</b> ) et par macération sur plaque d'agitatrice ( <b>Djeridane et al ,2005</b> )	<b>19</b>
<b>06</b>	Méthode de macération	<b>21</b>
<b>07</b>	Méthode de distillation	<b>21</b>
<b>08</b>	Piégeage du radical libre DPPH●	<b>23</b>
<b>09</b>	Préparation des dilutions d'un composé avec des différentes concentrations.	<b>23</b>
<b>10</b>	Illustration d'un isobogramme typique	<b>25</b>
<b>11</b>	Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations	<b>30</b>
<b>12</b>	Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations sans menthe	<b>30</b>
<b>13</b>	Valeurs des IC <sub>50</sub> des différents extraits étudiés	<b>31</b>
<b>14</b>	Isobogramme de l'origan combinée avec la menthe	<b>33</b>
<b>15</b>	Isobogramme de la Vit E combinée avec la menthe	<b>33</b>



<b>16</b>	Isobogramme du thymol combinée avec la menthe	<b>34</b>
<b>17</b>	Isobogramme du polyphénol d' <i>H. albus</i> combinée avec la menthe	<b>34</b>
<b>18</b>	Isobogramme du polyphénol d' <i>P. odora</i> combiné avec la menthe	<b>35</b>
<b>19</b>	Isobogramme du polyphénol de <i>P. odora</i> combiné avec l'origan	<b>35</b>
<b>20</b>	Isobogramme du thymol combiné avec l'origan	<b>36</b>
<b>21</b>	Isobogramme d'origan combiné avec POL <i>H. albus</i>	<b>36</b>

## *Liste des abréviations*

% : pourcentage

µg : micro gramme

° C : Degré Celsius

µl : microlitre

ANOVA: Analysis Of Variance

DPPH : 2,2-Di Phényl-1-Picryl Hydrazyle.

FIC50 : concentration inhibitrice fractionnaire 50%

FIC50I: FIC50 index

HE : Huile essentielle

IC50 : concentration donnant 50%

ml : millilitre

Pol : polyphénol

EOR : espèce réactive de l'oxygène

Vit. E : vitamine E

µg : micro gramme

° C : Degré Celsius

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

## Sommaire

Introduction .....	1
Généralités .....	3
La famille des lamiaceae.....	3
<i>I. Mentha aquatica</i> .....	4
I.1. Etymologie du nom latin.....	4
I.2. Description botanique de la menthe.....	5
I.3. Classification botanique .....	5
I.4. Culture de la plante.....	6
I.5. Composition chimique.....	6
I.6. Utilisation de la menthe .....	7
I.7. Précautions concernant l'huile essentielle de menthe .....	7
<i>I.7.1. Origanum vulgare L.</i> .....	8
ii.1. Distribution géographique.....	8
ii.2. Etymologie du nom latin .....	9
ii.3. Appareil végétatif.....	9
ii.4. L'appareil reproducteur .....	9
ii.5. Classification classique et phylogénétique .....	10
ii.6. Composition chimique .....	11
ii.7. Les propriétés d'origan.....	11
ii.7.1. Utilisation de l'origan.....	12
I.    Activité antioxydante.....	13
III.1. Radicaux libres .....	13
III.2. Antioxydants .....	14

III.2.1 définition .....	14
III.2.2 mécanisme d'action .....	14
III.2.3 classification des antioxydants .....	14
✓ Antioxydants synthétiques: .....	14
✓ Substances synergiques .....	15
✓ Antioxydant d'origine végétale .....	15
III.2.4 Balance oxydants /antioxydants et stress oxydant.....	15
VI. L'activité antioxydante des huiles essentielles .....	16
VI.1. Définition des huiles essentielles .....	16
VI.2. Activité antioxydante des huiles essentielles :.....	16
Matériel et méthodes	
I. Matériel.....	28
II. Méthodes.....	20
II.1. Récolte et séchage .....	20
II.2. Extraction des huiles essentielles.....	20
II.3. Principe de l'hydrodistillation.....	20
II.4. Calcul du rendement.....	22
II.5. Détermination de l'activité antioxydante.....	22
II.5.1 activité scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (dpph).....	22
II.5.1.1 mode opératoire .....	23
II.5.1.2 détermination du pourcentage d'inhibition.....	24
II.5.2 évaluation de l'activité antioxydante des échantillons en associations.....	24
Résultats et discussion .....	28
I. Caractéristiques organoleptiques .....	28
II. Rendement des huiles essentielles .....	28
III. Activité antioxydante .....	28
III.1. Activité antioxydante des différents échantillons seul .....	28
III.2. Activité antioxydante des différentes combinaisons.....	41
Conclusion .....	43

Références bibliographiques .....45

Annexes

Résumé

# *Dédicaces*

Un rêve qui se réalise grâce à Dieu le tout puissant, ce mémoire est enfin achevé, je le dédie aux personnes qui me sont très chères :

- ✓ À mes chers parents qui étaient toujours près de moi je les remercie infiniment pour leur amour, leurs soutiens et sacrifices, je leur serais toujours reconnaissante.
- ✓ A mon adorable frère Abdellah qui était toujours un deuxième papa, et dans une grande partie un binôme que j'en ai pas.
- ✓ À mes sœurs et ma belle sœur ce travail est également leur travail pour leurs encouragements, assistances et disponibilités pour moi à n'importe quel moment.
  - ✓ A mes neveux et nièces ainsi que leurs papas.
- ✓ A ma grande mère, que dieu la protège ; à khalti Saliha et sa petite famille
  - ✓ À toute la famille LALLALI surtout yemma Fatma
  - ✓ À ma chère sœur Nabila SAADI et ces enfants
- ✓ À mes chers : Djamila LARIBI ; Hanane BENSOMA, Dr BOUDEDJA Radia Tata simo, Nawal amrani ;Salia ;Mohamed.
- ✓ A mes collègues de section Biochimie Appliquée et Pharmacologie 2014/2015
  - ✓ À mes collègues de blouse blanche : AMEL ; SIHEM ET NAIMA ;
  - ✓ A toute mes amies
- ✓ A mes ami- sœurs ZANE Sabrina et Lamia ACHOURI pour tous les moments durs et agréables passés ensemble, ainsi qu'à toute leurs famille

LILIA.

# Remerciements

Merci à **M<sup>me</sup> BEDJOU F**, ma promotrice, d'avoir accepté de m'encadrer, de m'avoir prodigué les conseils nécessaires par sa pédagogie fructueuse, ayant permis la concrétisation de l'objectif dévolu, qu'elle trouve ici l'expression de mes profondes gratitudes.

À **M<sup>me</sup> OUKIL N** qui m'a fait l'honneur de présider la commission du jury,

Je tiens aussi à lui exprimer ma gratitude de m'avoir accueilli au sein du laboratoire de microbiologie, pour son assistance et ses idées ;

Qu'elle trouve ici l'expression de mes profondes considérations.

À **M<sup>lle</sup> CHAHER N** qui a accepté d'examiner et juger mon travail, je lui exprime mes sincères remerciements.

Je veux faire part aussi de toute ma gratitude à Monsieur le Docteur **HARFI T** pour avoir identifié les espèces de plantes et Monsieur le Docteur **BEKDOUCHE F** d'avoir contribué à l'analyse statistique de nos résultats.

Mon vif remerciement à **Mr ADRAR N**, pour son aide ; orientations.

Je remercie **M<sup>lle</sup> TOUATI N** et **M<sup>lle</sup> BOURBABA L** pour leurs aides précieuses.

Merci pour tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Que tous, trouvent ici nos parfaites salutations





# Introduction

Depuis toujours, les Hommes ont utilisé leur environnement et en particulier les plantes pour se soigner. On estime que deux tiers des médicaments actuels ont une origine naturelle (**Newmann *et al*, 2007**). Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans les industries : alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques, chimique. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique (**Bahorum, 1997**).

Les métabolites secondaires que contiennent les plantes médicinales sont responsables de leurs effets, il s'agit : des huiles essentielles, des alcaloïdes et des composés phénoliques (**Sacchetti, 2005**). Ces composés peuvent posséder une capacité antioxydante, réductrice très importante (**Lempiäinen, 1992**).

Ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant (**Cole *et al.*, 2005 ; Liu, 2003 ; Riboli et Norat, 2003**).

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes, phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées (thym, origan lavande, menthe). (**BENAYACHE, 2013**)

Dans ce travail nous nous sommes fixés comme objectif l'étude de l'activité antioxydante des associations entre les HE de *Mentha aquatica* et *Origanum vulgare* et d'autres associations entre les huiles précitées et des composés phénoliques extraits à partir d'autres plantes et/ou le thymol et la vitamine E (Vit E) antioxydants de référence



## Généralités

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales. **(BENAYAD, .2008)**

L'être humain utilise des plantes depuis des milliers d'années pour traiter divers maux, le monde végétale est à l'origine d'un grand nombre de médicaments. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les populations à des fins médicinales. **(Delaveau ,. 1974)**

### LA FAMILLE DES LAMIACEAE

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant **(Gherman et al 2000, Hilan et al., 2006 )**.

Cette famille compte 2700 espèces réparties en 31 genres. On y compterait jusqu'à 200 genres et environ 3500 espèces. Près de la moitié (47 %) des *Lamiaceae* sont regroupées dans la sous-famille des *Nepetoideae*. **(Moreau,. 1960)**. Cette famille regroupe des plantes herbacées, répandues dans le monde entier (à l'exception de l'Antarctique), mais particulièrement présentes dans les régions tempérées et surtout méditerranéennes. Elles sont pour la plupart aromatiques (basilic, lavande, marjolaine, mélisse, menthe, origan, romarin, sarriette, sauge, serpolet, thym,...).

Ces plantes sont herbacées (ou plus ou moins ligneuses), à feuilles opposées sans stipule, à tige quadrangulaire et à fleurs irrégulières et gamopétales disposées en grappes.

La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle. Le calice persistant, à 5 divisions (rarement 3 à 12), est soit régulier, soit disposé en 2 lèvres **(CHAKER EL KALAMOUNNI, .2010)**.

La corolle est constituée de pétales soudés entre elles et forma deux lèvres :

- La lèvre supérieure est entière ou échancrée
- La lèvre inférieure comporte 3 lobes (rarement 5).

Les étamines au nombre de 4 (rarement 2), dont les 2 plus grandes sont soudées à la corolle, possèdent des anthères à 2 loges (rarement 1). Celles-ci s'ouvrent dans la largeur (rarement par une fente en arc).

L'ovaire à 2 carpelles divisés en 2 parties, d'où semble sortir le style. Celui-ci se termine par un stigmate divisé en 2 parties.

Le fruit est un tétrakène, se dissociant à maturité en 4 méricarpes indéhiscent renfermant chacun 1 graine sans albumen (ou très peu).

Ces caractères ainsi définis pour la famille des Lamiacées, présentent des variations en fonction des différents genres. Ces genres sont classés suivant des détails anatomiques communs (**Moreau, 1960**).

## I. *MENTHA AQUATICA* L.

Au sein de la sous-famille des *Nepetoideae*, le genre *Mentha* est représenté par 18 espèces et environ 11 hybrides. L'hybridation intra spécifique est relativement aisée et rend la taxonomie particulièrement délicate. Les Menthes, du nom latin *Mentha* sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des labiacées (**JAHANDIEZ E.ET MARIE R., 1934**). Les Menthes conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Elles fortifient tout le système des nerfs, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible. (**Edrissi A. 1982**).

Les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les labiées, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales (**AYAIDIA, 2011**)  
Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de Menthe doivent leur odeur et activité à leurs Huiles Essentielles ou Essences de Menthe; ces essences très odoriférantes ont un intérêt industriel important ; elles sont souvent extraites des plantes de la race cultivée avec de bons rendements. La Menthe se rencontre dans presque toutes les régions soit à l'état spontané ou cultivé. (**Jahandiez E.et Marie R., 1934**).

### SYNONYME

*Mentha aquatica* L. est aussi appelée la menthe aquatique, 03baume d'eau, baume de raviere, menthe d'eau

### I.1. ETYMOLOGIE DU NOM LATIN

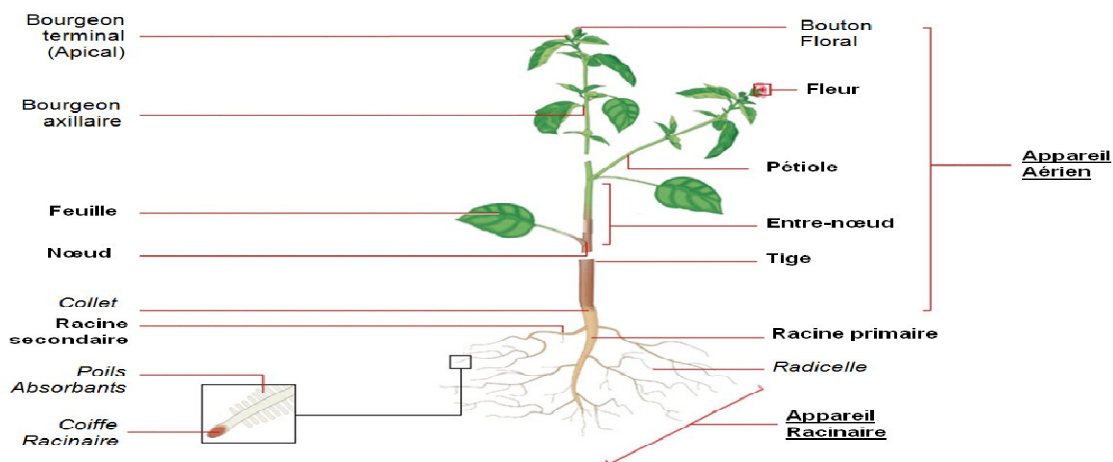
L'étymologie du mot « menthe » a beaucoup été discutée. Certains auteurs disent qu'elle proviendrait du grec « *minuto* » (rendre stérile), d'autres affirment que le nom de la plante proviendrait de « Minthe », une nymphe de la mythologie grecque qui conquiert le cœur de Platon

## I.2. DESCRIPTION BOTANIQUE DE LA MENTHE

La menthe est originaire du Moyen-Orient. Elle pousse sur des sols frais et humides riches en humus jusqu'à 1.800 m d'altitude. Plante commune dans toutes les régions tempérées du monde, et plus particulièrement d'Europe centrale et du sud où elle est également abondamment cultivée (Benayad, 2008)

Il s'agit d'une plante vivace à rhizome long, rampant, traçant, chevelu. La tige, de 50 à 80 centimètres, dressée ou ascendante, se divise en rameaux opposés. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, opposées, courtement pétiolées, lancéolées, aiguës, dentées, sont d'un très beau vert et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre, elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes. (Benayad, .2008)

Les fleurs, violacées, forment des épis très courts, ovoïdes, à l'extrémité des rameaux. Le fruit, divisé en quatre parties, est entouré d'un calice persistant. Son odeur est puissante, sa saveur piquante et rafraîchissante (Nisrin, .2008 ; Jahandiez ; et al, .1934). (figure 01)



Titre : Schéma de la structure d'une plante.

Figure (01) : Schéma structurale de la morphologie de la menthe

## I.3. CLASSIFICATION BOTANIQUE

La classification de la plante *Mentha aquatica*. est présentée dans le Tableau N°01 (Benayad ; 2008 ) (tableau I)

**Tableau I** : classification botanique de la *Mentha aquatica*

<b>Classification classique</b>	<b>Classification phylogénétique</b>
<b>Regne</b> : plantae	<b>Regne</b> : plantae
<b>Embranchement</b> : spermaphyte	<b>Embranchement</b> : spermatophyta
<b>Sous embranchement</b> : angiosperme	<b>Sous embranchement</b> : anthophytina
<b>Classe</b> : magnoliopsida	<b>Syber-classe</b> : triaperturées
<b>Sous classe</b> : gamopétale	<b>classe</b> : triaperturées évoluées
<b>Ordre</b> : lamiales	<b>ordre</b> : Lamiales
<b>Famille</b> : Lamiaceae	<b>Famille</b> : lamiaceae
<b>Genre</b> : <i>Mentha</i>	<b>Genre</b> : <i>Mentha</i>
<b>Espèce</b> : <i>Mentha aquatica</i>	<b>Espèce</b> : <i>Mentha aquatica</i>

#### **I.4. CULTURE DE LA PLANTE**

On cultive la menthe aquatique en Europe, en Asie, en Afrique du Nord et en Amérique du Nord. On plante, en général, la menthe poivrée en mars, avril. On peut la bouturer en mars, juillet et août. On la récolte en mai, juin, juillet, août, septembre et octobre. La menthe généralement prospère à l'ombre et augmente rapidement par les rhizomes souterrains. Si vous choisissez de cultiver la menthe, il est recommandé de la planter dans un récipient, autrement il peut rapidement succéder un jardin entier. Elle a besoin d'un bon approvisionnement en eau, et est idéal pour planter en partie-soleil pour ombrager des secteurs. Elle requiert un pH entre 6 et 7. Les feuilles et les dessus fleurissants sont en générale la partie utilisable. Ils sont rassemblés dès que les fleurs commenceront à s'ouvrir et puis sont soigneusement séchés. La menthe pourrait rarement produire des graines (**Aristide, 1964**).

#### **I.5. COMPOSITION CHIMIQUE**

L'huile essentielle de la menthe riche surtout en -L-carvone (teneur entre 40 à 80 %), l'acétate de dihydrocuminyne (10 à 12%, ces deux constituants majeurs étant responsables de l'odeur de la plante) et le limonène (5 à 15%) ;ils sont accompagnés de dihydrocarvone, de dihydrocarvéol d'acétate de carvyle et de  $\alpha$ -caryophyllène. dans d'autre races chimiques, la

carvone est accompagnée de 1,8 cinéol (jusqu'à 20%), de pulégone ( jusqu'à 50 %) ou de terpinéol-4 ( jusqu'à 18%).(Sidalli,,2010).

## **I.6. UTILISATION DE LA MENTHE**

En thérapeutique, la menthe est utilise contre la fièvre, la faiblesse, la toux, les nausées, les maux de l'estomac, la mélancolie, l'hystérie, les troubles de la vue, elle présente aussi des propriétés médicales, on cite à titre d'exemple : stimulante du système nerveux, tonique, stomachique, antiseptique, analgésique et vermifuge.

On l'utilise aussi contre les parasites, les tiges et les fleurs de la menthe sont brûlés pour chasser les puces des matelas et des animaux domestiques, on peut aussi placer les sachets de menthe auprès des sacs de grains et de fromage pour chasser les rongeurs (Fournier,,1948).

Dans le domaine alimentaire, on peut citer les besoins d'agrément, les crèmes, les chocolats, les bonbons, les pâtes à mâcher, les desserts, etc (Aristide, 1964).

La menthe peut également être trouvée dans quelques shampooings et savons, qui donnent aux cheveux un parfum de menthe et produisent une sensation de refroidissement sur la peau. (Benayad ; 2008).

## **I.7. PRÉCAUTIONS CONCERNANT L'HUILE ESSENTIELLE DE MENTHE**

Malgré toutes les propriétés bienfaitantes de l'huile essentielle de menthe, qui rendent son utilisation très tentante, on se doit d'être très prudent lors de son utilisation. La monographie élaborée par l'Agence européenne du médicament précise que son usage n'est pas recommandé chez les enfants de moins de huit ans ni chez les femmes enceintes et/ou allaitantes. Son utilisation est réservée aux adultes.

Si la menthe est trop souvent absorbée par voie interne, la menthone de cette huile peut la rendre toxique (prise orale). De plus, la menthone génère un effet cardiotonique et hypertensif léger. Chez les jeunes enfants, la menthe peut provoquer des troubles respiratoires si elle est appliquée sur les narines ou si elle est prise oralement. Il y a aussi un risque de détresse respiratoire.

L'huile essentielle de menthe peut causer, à l'occasion, des brûlures d'estomac (lorsque prise oralement) chez les personnes souffrant de reflux gastro-oesophagien.

Il faut éviter de l'utiliser le soir car elle peut, chez certaines personnes, empêcher le sommeil. (Blumenthal, .1998).

## **II. ORIGANUM VULGARE L**

Le genre *Origanum* est un des 200 genres les plus diversifiés de la famille des labiées, avec pour centre de diversité la partie occidentale du bassin méditerranéen (Morales ; 2002). Comme beaucoup de labiées, les plantes sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques. L'espèce la plus connue est sans conteste *Origanum vulgare* L. localement connu sous le nom de (*zaatar*). En français et anglais par exemple, on emploie fréquemment le nom du genre origan pour désigner l'espèce *Origanum vulgare* (Amiot J ; 2005)

Cette plante spontanée pousse abondamment dans les lieux arides, caillouteux et ensoleillés des bords de la mer à la montagne (Poletti A. 1988).

### **SYNONYME**

L'origan ou l'origan commun (*l'origanum vulgare*), également appelé marjolaine sauvage ou marjolaine vivace, notamment ses vertus médicinales et aromatiques, thé rouge et plus rarement origan vulgaire (Wikipedia).

### **II.1. DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE**

L'*Origanum vulgare* L se présente toujours dans un état sauvage en plaines et collines, comme la lavande, le romarin, la sauge et beaucoup d'autres plantes sauvages (Kaloustian ;et al 2003) .

#### **➤ Dans le monde**

Le genre *Origanum* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Naghibi et al., 2005). Selon Dob et al., 2006 il existe près de 350 espèces d'origan réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (Mebarki 2010). On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar et al., 2005, environ 110 espèces différentes du genre *Origanum* se concentrent dans le bassin méditerranéen.



### ➤ *En Algérie*

L'origan comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (**Mebarki, 2010**). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement.

## II.2. ETYMOLOGIE DU NOM LATIN

« Origanum vulgare » : du Grec

« oros », montagne

« ganos », joie donc joie de la montagne. (**Pariente L. (2001)**)

## II.3. APPAREIL VÉGÉTATIF

Plante : c'est une plante herbacée, souvent velue. Il s'agit d'un petit sous arbrisseau vivace, touffu dont les rameaux sont très aromatiques, de 7 à 30 cm de hauteur qui ont un aspect grisâtre ou vert grisâtre (**Bruneton J ; 1999**).

- **Tige** : elle est dressée, donc orthotrope. La tige mesure entre 50 et 80 centimètres en moyenne. La tige est à quatre angles, possède une pubescence régulière ou plus dense sur deux cotés opposés. Cette tige porte de courts rameaux qui se développent à l'aisselle des feuilles opposées. Les verticilles peu fournis en fleurs sont regroupés en épis et forment une panicule. A son sommet, la tige se ramifie en inflorescences : cyme composée et inflorescence définie. (**Iserin P ;2001**)
- **Feuilles** : la feuille est de couleur vert foncé, elles possèdent un goût piquant. Ces feuilles sont simples, opposées, leur pétiole est court, elles sont de formes ovales à lancéolées larges. Longueur de 1 à 4 cm. Elles sont entières ou faiblement dentées. Elles sont presque glabres. Leur nervation est courante : pennée. Les bractées sessiles ressemblent aux feuilles, les supérieures sont souvent parcourues de violet/pourpre. (**Iserin P ;2001**)
- **les racines** : Son rhizome (tige souterraine) est ligneux avec des rejets filamenteux traçant obliquement en terre, ceci lui configurant une bonne accroche (d'où son abondance dans les zones de hautes altitudes). (**Iserin P ;2001**)

## II.4. L'APPAREIL REPRODUCTEUR

Les fleurs : zygomorphes à 5 pétales de couleurs roses. Elles sont hétéroclamides, le calice persistant, campanulé, tubuleux, sillonné de 13 nervures, barbu à la gorge, est formée de 5 gamosépales soudés à leur base, tandis que la corolle possède aussi 5 gamopétales avec

un tube d'environ la moitié de la taille d'un pétale, les deux pétales supérieurs sont soudés entièrement entre eux, formant une lèvre supérieure, et les 3 autres pétales forment la lèvre inférieure trilobée (donc ces deux lèvres donnent le nom à la famille). 5 pétales donc symétrie zygomorphe. Les 4 étamines sont droites, divergentes, de longueurs différentes : deux longues et deux courtes. Avec le style (doté d'un stigmate divisé), les étamines dépassent du tube de la corolle et des 2 lèvres. L'ovaire est divisé extérieurement en 4 parties (regarder au fond du calice des fleurs passées). Fleurs regroupées en inflorescences formant des panicules denses supérieures.



Figure (02) : schéma détaillé de la plante *Origanum vulgare* L (wikipedia)

## II.5. CLASSIFICATION CLASSIQUE ET PHYLOGÉNÉTIQUE

(Morales, R. 2002) (tableau II)

Tableau III : classification d'*Origanum vulgare*

Classification classique :	Classification phylogénétique
Règne : Plantae	Règne : Plantae
Sous règne : Tracheobionta	Embranchement : Spermatophyte
Division : Magnoliophyta	Sous-embranchement : Magnoliophyta (Angiosperme)
Classe : Magnoliopsida	Classe : Magnoliopsida (Dicotylédone)
Sous classe : Astériidae	/
Ordre : Lamiales	Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae	Famille : Lamiaceae
Genre : <i>Origanum</i>	Genre : <i>Origan</i>

Espèce : <i>Origanum vulgare</i>	Espèce : <i>origan vulgaire</i>
----------------------------------	---------------------------------

## II.6. COMPOSITION CHIMIQUE

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

**Thymol** : terpénoïde utilisé comme antiseptique locale et antihelminthique. Également utilisé en association dans des spécialités à visée antiseptique bronchopulmonaire.

**Carvacol** : C'est tout simplement le plus puissant des phénols. Il a donc comme vertu d'être très réactif et il accentuera les effets du Thymol, les deux phénols agissant ensemble. Il possède également des vertus anti-oxydantes, luttant contre le vieillissement cellulaire. Malgré le fait que ces produits soit d'origine végétale, il reste néanmoins que l'huile essentielle d'origan doit être prise selon les indications d'un aromathérapeute. En effet à forte concentration, ou à prise prolongée, les phénols peuvent altérer les hépatocytes.

## II.7. LES PROPRIÉTÉS D'ORIGAN

L'origan est utilisé :

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- comme antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Les principaux constituants d'origan montrent des propriétés vermifuges et vermicides (**Bazylo et Strzelecka 2007**)
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes d'origan inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (**Jimenez-Arellanes et al, 2006**)
- Propriétés antioxydantes (**Takeuchi et al, 2004 ; Golmakani et Rezaei, 2008**) en raison de ces propriétés, l'origan est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage (**Selmi et Sadok, 2008**).

## II.7. UTILISATION DE L'Origan

*Origanum vulgare* est une des plus populaires plantes aromatiques utilisées dans le monde entier. Ses applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan ., 2009). De plus son huile essentielle est utilisée dans les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Jordán; et al., 2006)

L'épice origan est intensivement cultivé en Europe et aux Etats-Unis pour l'usage culinaire dans l'assaisonnement des poissons, volailles, des potages et des légumes (Özcan., 2004)

La feuille et la sommité fleurie d'origan sont traditionnellement utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite (Bruneton .,1999). Sa feuille est énumérée dans la pharmacopée de fines herbes allemande et britannique a été employée en tant que bronchospasmodique, expectorant et antibactérien. (Kitajima ; et al ., 2004),

L'infusion de la plante entière est utilisée contre les maux de l'appareil respiratoire (toux, bronchite, asthme) et son huile essentielle possède aussi une forte activité bactéricide mise à profit dans certains produits pharmaceutiques (Debuigne ., 1982). En usage local, elles sont traditionnellement utilisées en cas de nez bouché, de rhume, pour le traitement des petites plaies après lavage abondant, pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, en bain de bouche pour l'hygiène buccale (Poletti .,1988) .

L'huile essentielle de cette plante entre dans les formulations de diverses spécialités : pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour traitement des affections des voies respiratoires (Bruneton ., 1999) .

*Origanum vulgare* à carvacrol est connue pour son activité antiseptique majoritaire alors que l'H.E.C.T. d'*origan* à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures (Franchomme ; 2001).

Un anti-oxydant très efficace ; grâce à son acide rosmarinique et à ses composés phénoliques, l'origan est une arme anti-radicaux libres redoutable. Et les radicaux libres, ce sont des molécules suspectées, lorsqu'elles sont nombreuses, non seulement d'accélérer le vieillissement des cellules, mais aussi d'augmenter les risques de cancers et de maladies cardiovasculaires. (Lacoste, .mai2010)

### III. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

De nos jours, Il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (**Guinebert et al., 2005**).

#### III.1. RADICAUX LIBRES

##### DÉFINITION

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy  $\text{ROO}\cdot$ , radical alkoxy  $\text{RO}\cdot$ ), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Novelli, 1997**).

##### ORIGINE DES RADICAUX LIBRES

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose.

Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions superoxydes se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. (**Bouhadjra K ,.2011**).

Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome. Les rayonnements UV sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres. (**Mohammedi Z ,.2005**)

## III.2. ANTIOXYDANTS

### III.2.1 DÉFINITION

Les antioxydants sont des composés chimiques 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

En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistante aux processus technologiques, il est stable dans le produit fin. (Hellal Z .,2011).

### III.2.2 MÉCANISME D'ACTION

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. 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. **Hellal Z . (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 puissent 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 K .,2011**)

### III.2.3 CLASSIFICATION DES ANTIOXYDANTS

Les antioxygènes sont classés dans trois catégories différentes ( **Bouhadjra K .,2011**) :

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

#### ✓ ANTIOXYDANTS SYNTHÉTIQUES

Parmi les antioxydants phénoliques de synthèse qui sont autorisés dans certains aliments : le BHT 321 (3,5-ditertiobutyl-4-hydroxytoluène), BHA 320 (3-tertiobutyl-4-hydroxyanisole),

sont l'un et l'autre soluble dans les lipides et résistent bien à la chaleur. Ils ont une action synergique, ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et s'évaporent rapidement. Le TBHQ (tertiobutyl-hydroxyquinone) est moins soluble dans les graisses et le PG (gallate de propyle) à l'avantage d'être relativement soluble dans l'eau, mais l'inconvénient d'être peu soluble dans les lipides, peu résistant à la chaleur et de donner avec le fer des sels de couleur foncée. Le nitrite présente des propriétés anti-oxydantes, il peut aussi former des nitrosamines cancérigènes. Les chélateurs de métaux utilisés et plus efficaces sont les polyphosphates et les dérivés d'acide citrique. (Bouhadjra K., 2011)

#### ✓ SUBSTANCES SYNERGIQUES

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants. Ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection, parmi eux se trouvent : Les acides lactique, tartrique et ortho phosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication, car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélateurs. (Hellal Z., 2011).

#### ✓ ANTIOXYDANT D'ORIGINE VÉGÉTALE

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols. (Hellal Z., 2011).

### III.2.4 BALANCE OXYDANTS /ANTIOXYDANTS ET STRESS OXYDANT

Les **ERO** ont des rôles physiologiques très importants en agissant, à faibles concentrations, sur la régulation des réponses biologiques, la transduction du signal et autres voies de signalisation (Favier, 2003).

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution, ...) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatique) un déséquilibre entre

la production des radicaux libres et le système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif (**Sohal et al., 2002**).

Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (**Kohen et Nyska, 2002**).

## **VI. L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES**

### **VI.1. DEFINITION DES HUILES ESSENTIELLES**

Les huiles essentielles ou les essences sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des végétaux. Elles sont concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur.

La plus part des végétaux renferment des HE, mais habituellement en quantité infime, seules les plantes dites <aromatiques>en produisent en quantité suffisante (**BELHADI, 2010**).

ces plantes appartiennent, le plus souvent, aux familles des labiées (lavande, thym, sauge, menthe,...) des ombellifères (cumin, carvi, anis, fenouil, ...), des myrtacées(eucalyptus, cajput, niaouli,...)des conifères (pin, cédre, cyprès, genévrier,...)des rutacées ou hespéridées (citron orange bergamote,...) et des lauracées (cannelle, camphrier,...) (**Koroch A,et al., 2007**).

### **VI.2. ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES :**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation (**Dacosta Y.,2003**).

En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (**Madhavi et al., 1996**).



Des études ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007**).

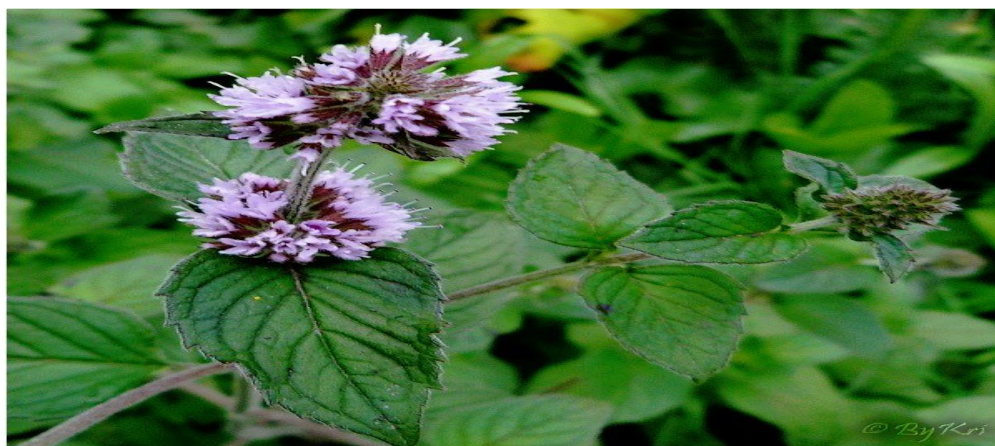
Cette étude rentre dans le cadre de la valorisation de l'activité antioxydante de la famille des lamiaceae à travers la détermination du potentiel et l'étude de l'effet des associations de ces huiles avec d'autres composés sur l'activité antioxydante

## I. MATÉRIEL

L'organe végétal choisi dans la présente étude est représenté par la partie aérienne des deux plantes aromatique *Origanium vulgare* (figure 04) et *Mentha aquatica* ( figure 05).

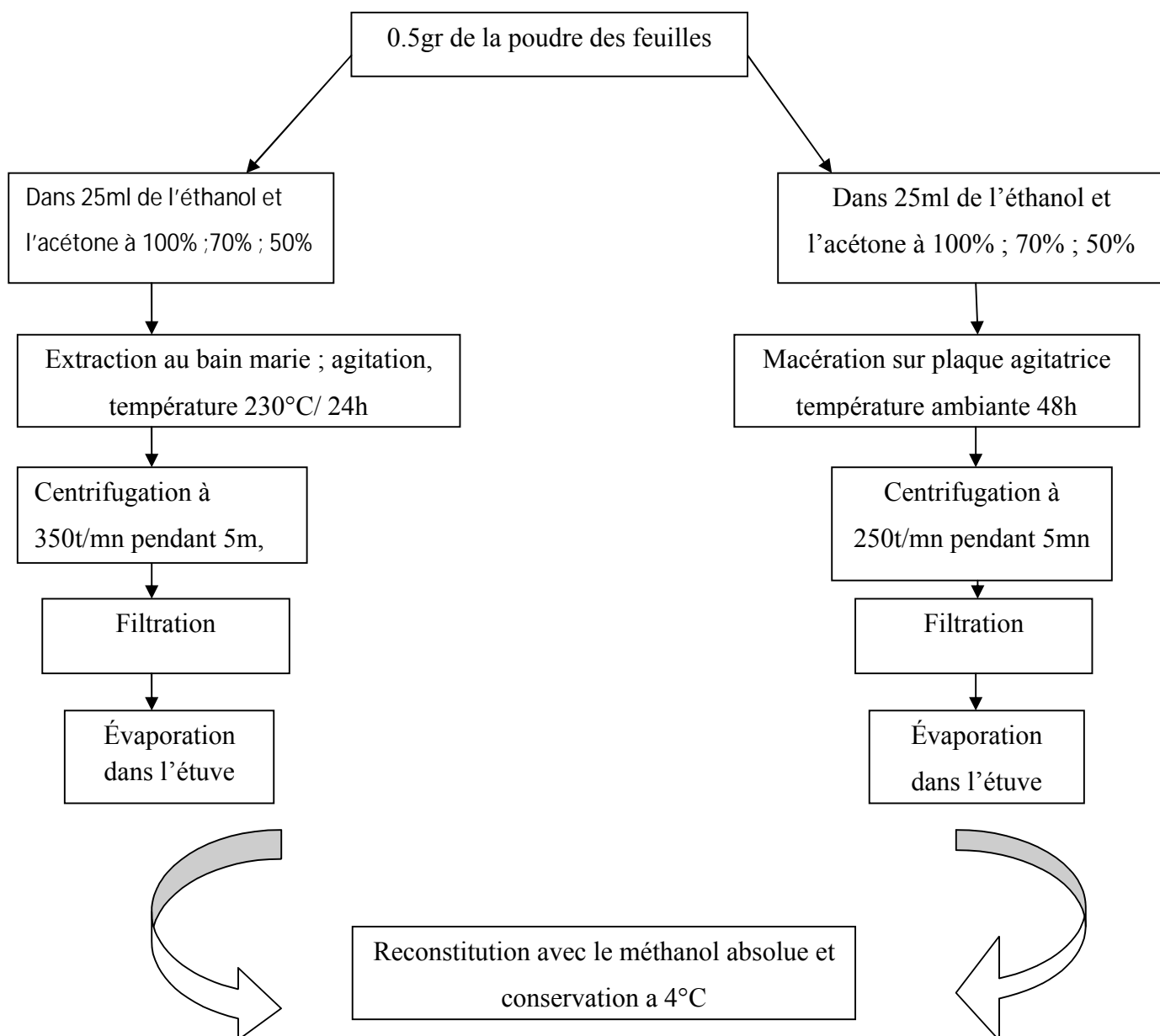


**Figure (03) :** Image d'*Origanium vulgare*



**Figure (04) :** Image de *Mentha aquatica*

L'extrait brute des feuilles de *Hyoscyamus albus* L et celle de *Pulicaria odora* est préparé selon les deux méthode de(Tawaha et al; 2007)et (Djeridane et al ,2005)  
Une quantité de 10 g de poudre végétale à été introduite dans un erlenmeyer contenant 100 ml d'éthanol. L'ensemble a subit des differentes étapes schématisée dans la figure (06)



**Figure (05)** :Schéma de protocole d' extraction des composés phénoliques par agitation au bain marie (Tawaha et al; 2007) et par macération sur plaque d'agitatrice (Djeridane et al ,2005)

Les composés chimiques utilisés ; le thymol (Riedel-de Haën®, Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Allemagne) et le DL- $\alpha$ -tocophérol (BASF Personal Care and

*Nutrition GmbH, Illertissen, Allemagne*) ont été également utilisés, comme molécule de référence en association avec ces huiles essentielles.

## **II. MÉTHODES**

### **II.1. RÉCOLTE ET SÉCHAGE**

Les parties aériennes (tiges, feuilles, et fleurs) de *Origanum vulgare* ont été récolté en mai 2014 sur les montagnes de la commune de Boukhlifa (Béjaïa) . Les parties aériennes de flou ont été récolé en Aout 2014 dans la commune de Bordj-waman (Béjaïa). Les deux plantes ont été séchées dans un endroit aéré, à l'ombre.

### **II.2. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES**

Les huiles essentielles (HEs) ont été obtenues par hydrodistillation en utilisant un montage inspiré de celui de Clevenger (Clevenger, 1928) Il comporte :

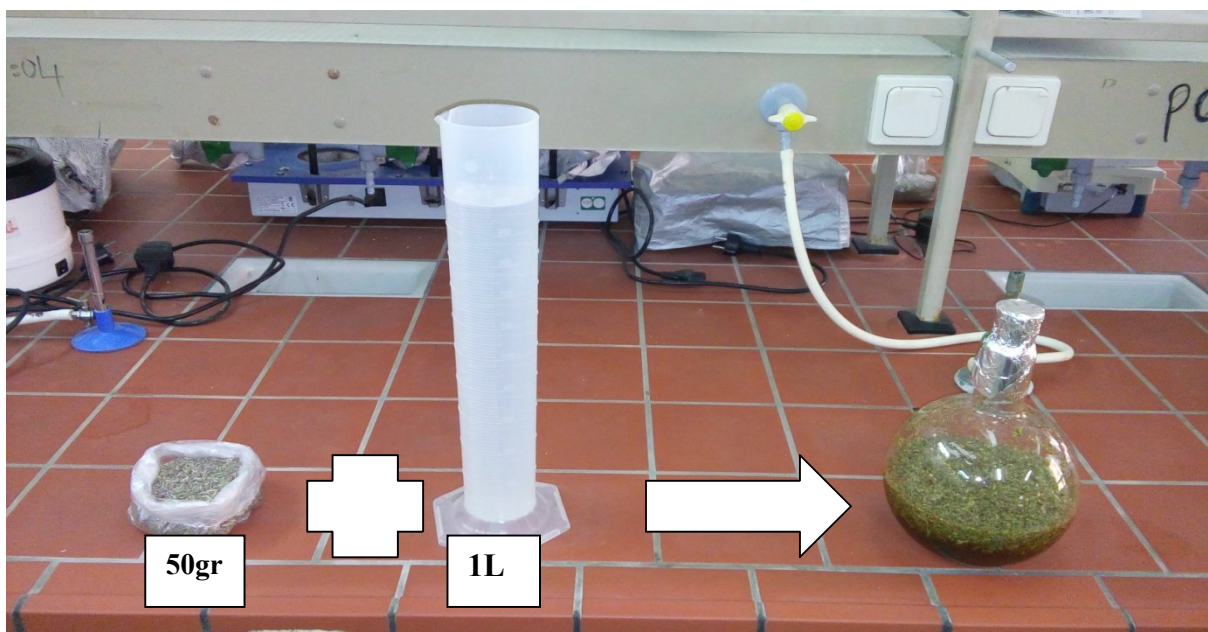
- 1) Un support élévateur, un chauffe-ballon, un ballon de 2 litres.
- 2) Un système de refroidissement (un réfrigérant, de type Liebig, relié à une pompe qui fait circuler une eau froide, en continu, à travers ce dernier).
- 3) Une ampoule à décanter.
- 4) Deux coudes dont l'un mâle-mâle reliant le ballon au réfrigérant et l'autre femelle-mâle (avec une sortie sous vide pour éviter l'explosion du système par augmentation de la pression ; dans le Clevenger ce problème est réglé par le système de cohobage).

### **II.3. PRINCIPE DE L'HYDRODISTILLATION**

La chaleur provoque d'une part l'évaporation de l'eau et d'autre part la libération de l'HE, cette dernière est entraînée par la vapeur d'eau et condensée avec elle au niveau du condenseur (réfrigérant) puis séparée de la phase aqueuse par différence de solubilité au niveau de l'ampoule à décanter (**Clevenger,1928**).

## **LE PROTOCOLE**

50 grammes de matériel végétal sont macérés dans 1 litre d'eau de source pendant toute une nuit (20 heures). (**Hilan et al., 2006**) Figure (07)



**Figure (06) : Méthode de macération**

Puis l'eau dans le ballon est portée à ébullition (mais surveillé de tel sorte à ne pas trop dépasser les 100°C) pendant 2 heures. Une série de 10 extractions a été effectuée pour les deux plantes. Figure (08)



**Figure (07) : méthode de distillation**

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (**Burt, 2004**). C'est pour cela, Après décantation des distillats nous avons déshydraté l'huile essentielle des deux extraits à l'aide du sulfate de sodium anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) (**Bajpai et al., 2008**) l'huile est ensuite conservé à une température voisine de 4°C, dans un flacon en

verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (**Şahin et al., 2004**).

#### **II.4. CALCUL DU RENDEMENT**

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (PA) et la masse de la matière végétale utilisée (PB).

Il est donné par la formule suivante (**Mohamdi Zohra ,. 2006**) :

$$\mathbf{R = [PA / PB] \times 100}$$

**R** : Rendement de l'huile en %.

**PA** : poids de l'huile en g.

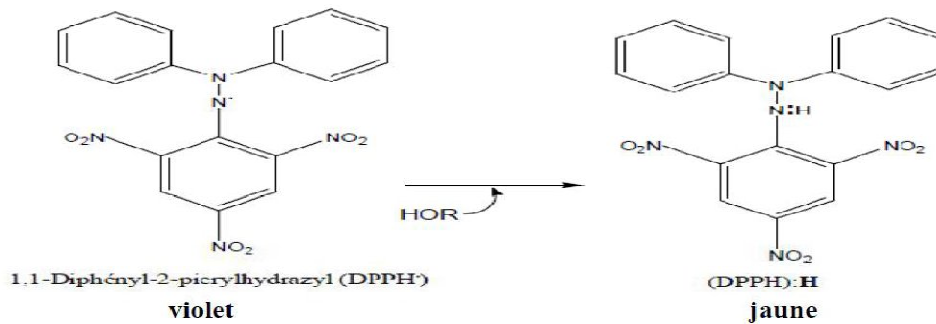
**PB** : poids de la plante en g

#### **II.5. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE**

##### **II.5.1 ACTIVITÉ SCAVENGER DU RADICAL 2,2-DIPHÉNYL-1-PICRYLHYDRAZYLE (DPPH)**

###### **PRI NCIP E**

Le DPPH est un radical libre stable et accepteur d'électron ou d'hydrogène (**Yang et al., 2008**). C'est une technique basée sur la décoloration d'une solution alcoolique de DPPH• (méthanol ou éthanol), la transformation de ce dernier, après l'addition d'un agent antioxydant et l'évaluation de la décroissance de l'absorbance à 515-528 nm (**Sánchez- Moreno, 2002**) qui est proportionnelle à la concentration et au pouvoir antioxydant de cet agent, et au temps de réaction (**Villano, 2007 ; Deng, 2011**). La solution alcoolique du radical libre DPPH• présente une couleur mauve-foncée avec une absorbance maximale (pic d'absorption) à 517 nm. Le DPPH s'oxyde en présence d'un capteur de radicaux dans le système réactionnel et quand l'électron impair de l'azote du DPPH• est apparié (**Deng, 2011**). Le DPPH•, ainsi réduit par un donneur d'hydrogène donne l'hydrazine (**Sánchez-Moreno, 2002**) : un composé d'une couleur jaune-pâle (**Molyneux, 2004**).(figure 09 )



**Figure(08):** Piégeage du radical libre DPPH●

## II.5.1 MODE OPÉRATOIRE

### PRÉPARATION DES DILUTIONS DES DIFFERENTS STANDARDS

Les dilutions ont été préparées selon (Nikhat *et al.* 2009) (figure 10)

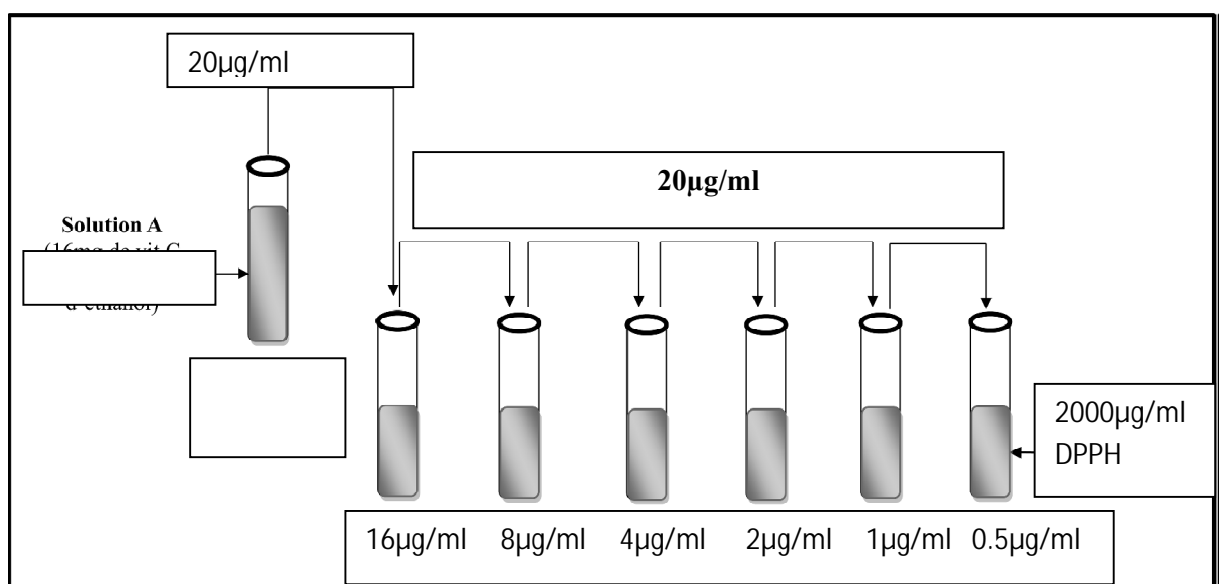
On pèse une quantité de standard (vit E=3.1828 $\mu$ g/ml ; thymol=87.471 8 $\mu$ g/ml ; polyphénol de *Pulicaria* =30.793 8 $\mu$ g/ml ; polyphénol d'*Hyociamus albus* = 4.6848 $\mu$ g/ml) par une balance analytique (précision de 0.0001g) ; puis on

- Introduit les quantités pesées dans des tubes à essai contenant 10ml de méthanol.

-on prépare par ailleurs 20 $\mu$ l de la solution (standard) dans un tube contenant 2 $\mu$ ml de méthanol (solution A)

-On introduit ensuite 2000  $\mu$ l de la solution A dans un tube contenant 20  $\mu$ l de méthanol

- on procède de la même manière pour tous les tubes puis on ajoute 2000 $\mu$ l de solution de DPPH. Figure (10)



**Figure (09) :** Préparation des dilutions d'un composé avec des différentes concentrations

La capacité scavenger du radical DPPH, des huiles essentielles, est mesurée selon le protocole rapporté par **Sreenivasan et al. (2007)**. Un volume de 50 µl d'extrait (20-100 mg/ml) est ajouté à un volume de 5 ml d'une solution DPPH à 0,04%. Ce mélange réactionnel est agité vigoureusement et laissé au repos dans des tubes à essai.

La décoloration, par rapport à un contrôle, est mesurée au spectrophotomètre UV-Visible. À 517 nm après incubation à température ambiante, à l'obscurité, pendant 30 minutes

### II.5.2 DÉTERMINATION DU POURCENTAGE D'INHIBITION

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(Ac - Ae) / Ac]. 100$$

Où

**Ac: Absorbance du contrôle ;**

**Ae: Absorbance de l'échantillon.**

La concentration inhibitrice à 50% (IC50) est définie comme la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical DPPH initial de 50% (**Ismail et Hong, 2002**). Les concentrations des échantillons donnant 50% d'inhibition (IC50) ont été calculées à partir des graphes présentant les pourcentages d'inhibition (I%) en fonction des concentrations. Le logiciel « *Origin® Pro 9* » a été utilisé. .

### II.5.2 ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES ÉCHANTILLONS EN ASSOCIATIONS

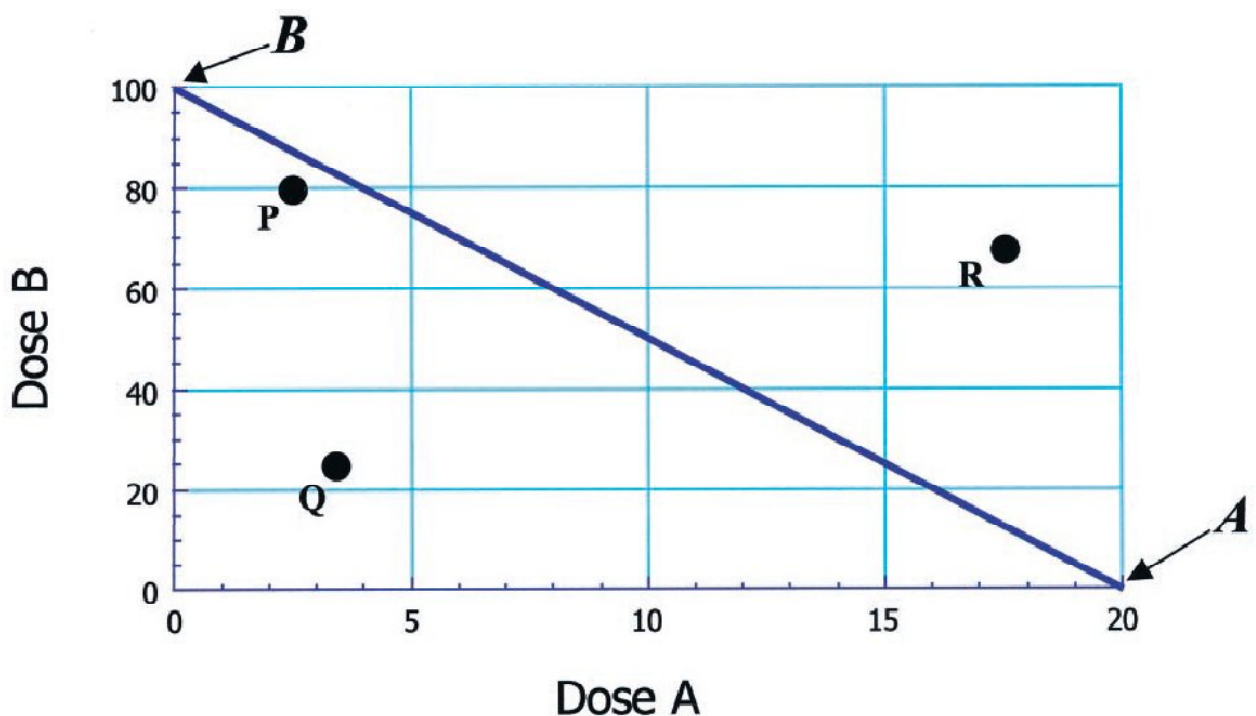
Neuf (09) différentes combinaisons ont été réalisées :

- ❖ HE d'origan/HE de la menthe aquatique,
- ❖ thymol/ HE de l' origan
- ❖ thymol/ HE de la menthe aquatique
- ❖ vitamine E/HE de la menthe aquatique
- ❖ vitamine E/HE de l'origan
- ❖ Polyphénole des *feuilles Pulicaria odora*/HE de la menthe aquatique
- ❖ polyphénole des *feuilles Hyociamus albus*/HE de la menthe aquatique
- ❖ Polyphénole des *feuilles Pulicaria odora*/ HE de l'origan
- ❖ polyphénole des *feuilles Hyociamus albus*/HE de l'origan



La méthode utilisée pour évaluer l'interaction entre les différents échantillons était celle de Tallarida (2001) : Un isobologramme est un graphique qui présente des paires de concentrations (une combinaison de deux échantillons) qui donnent la même efficacité qu'un échantillon seul, d'où leurs nom « *isoboles* », par exemple, l'efficacité 50% d'un maximum est prise comme effet (l'IC50 dans notre cas). La figure représente un exemple type d'un isobologramme dont la concentration de l'échantillon A seul donnant l'effet recherché égale à 20 (unité) et celle de B égale à 100 (unité). La ligne droite qui relie ces deux points doit théoriquement représenter toutes les combinaisons de concentrations des deux échantillons donnant le même effet dans le cas d'une indifférence.

Cette droite est tracée dans chaque isobologramme, elle est la référence pour détecter s'il y a une synergie (le point Q) ou un antagonisme (le point R). Le point P est probablement un effet indifférent. Plusieurs points (plusieurs combinaisons de doses) plus une analyse statistique appropriée sont nécessaires pour conclure sur le type d'interaction.



**Figure (10) :** illustration d'un isobologramme typique (Tallarida, 2001)

## LE PROTOCOLE

Le protocole est le même que pour les échantillons seuls (décrit par Wu et Ng, 2008), sauf que l'échantillon à analyser se compose d'une des combinaisons précédentes.

Pour confirmer la conclusion portant sur l'effet des différentes combinaisons (tirée à partir des isobogrammes), des résultats chiffrés sont exprimés en calculant les FIC50 index (FIC50I) :

$$\mathbf{FIC50I = FIC50 (A) + FIC50 (B)} \quad \text{avec:}$$

$$\mathbf{FIC50 (A) = \underline{IC50 (A \text{ en présence de B})}}$$

$$\mathbf{IC50 (A \text{ seule})}$$

$$\mathbf{FIC50 (B) = \underline{IC50 (B \text{ en présence de A})}}$$

$$\mathbf{IC50 (B \text{ seule})}$$

Une combinaison est considérée synergique si elle présente une  $FIC50I < 0,9$  ; indifférente si  $0,9 < FIC50I < 1,1$  et antagoniste si la  $FIC50I > 1,1$  (**Santiesteban-López et al., 2007, in : Romano et al., 2009**).

Les résultats ont été analysés statistiquement en réalisant, pour chaque combinaison, un test de conformité unilatéral à gauche pour comparer la moyenne des FIC50I d'une combinaison avec la moyenne théorique 0,9 et à droite pour la comparer avec 1,1. Le logiciel *XLSTAT* 2009.1.02 a été utilisé.



## I. CARACTÉRISTIQUES ORGANOLEPTIQUES

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR. (AFNOR ,1999)

**Tableau III** : l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle étudiée selon les normes.

	Aspect	couleur	Odeur
<b>Norme AFNOR</b>	<b>Liquide mobile ; limpide</b>	<b>Presque incolore à jaune pale</b>	<b>caractéristique fraîche, plus ou moins mentholée selon l'origine</b>
<i>Menthe aquatique</i>	Liquide mobile	Presque incolore ; jaunâtre très claire	Fraîche mentholé
<i>Origanum vulgare</i>	Liquide mobile	Jaune pale	Camphrée

## II. RENDEMENT DES HUILES ESSENTIELLES

Le rendement en huile essentielle extraite à partir d'*Origanum vulgare* est de 0,93%.  
Celui de l'HE extraite à partir de *Mentha aquatica* est de 0,81%.

Ces différences dans le rendement doivent être essentiellement dues à la différence de morphologie des plantes et la nature du sol. Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HE dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction.

Pour notre étude le rendement en huile essentielle est acceptable selon les normes AFNOR; et celui de la région de Hdjira est le meilleur.

## III. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

### III.1. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES DIFFÉRENTS ÉCHANTILLONS SEULS

Les résultats obtenus avec le test de DPPH (représentés dans le tableau N°VI) révèlent que les deux huiles essentielles ont des activités antioxydantes.

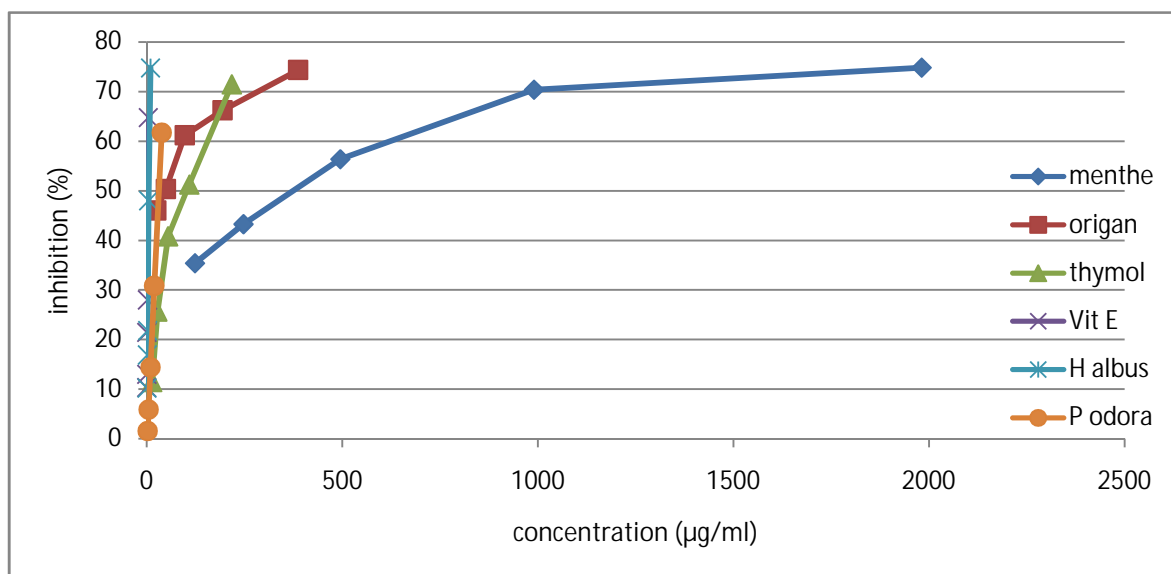
**Tableau VI** : Activité antioxydante des différents échantillons seuls

échantillons	Concentrations (µg/ml)	Inhibition (%)	IC50 (µg/ml)
	1981	74.81	
	990.5	70.36	

<i>Menthe aquatica</i>	495.25	56.34	<b>366.426</b>
	247.625	43.24	
	123.8125	35.38	
<i>Origanum vulgare</i>	386.8	74.32	<b>41.9973</b>
	193.496.7	66.21	
	96.7	61.17	
	48.35	50.36	
	24.175	46.06	
<b>Thymol</b>	217.7	71.43	<b>87.4715</b>
	108.85	51.23	
	54.425	40.8	
	27.212	25.66	
	13.606	11.03	
<b>Vit E</b>	3.8	64.72	<b>3.182</b>
	1.9	27.98	
	0.475	21.42	
	0.2375	12.97	
	0.11875	10.34	
<b>Polyphénol de <i>Pulicaria odora</i></b>	38.5	61.72	<b>30.793</b>
	19.25	30.86	
	9.625	14.44	
	4.8125	5.92	
	2.4	1.6	
<b>Polyphénol de <i>Hyociamus albus</i></b>	9.53	74.73	<b>4.6842</b>
	4.76	48.01	
	2.38	21.81	
	1.19	16.92	
	0.59	10.25	

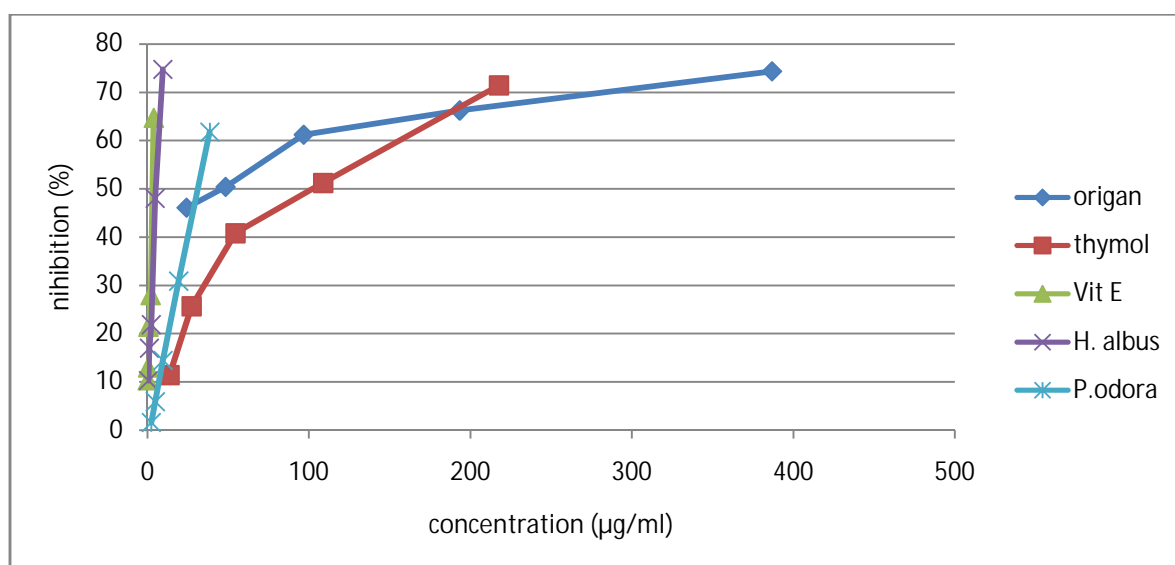
D'après les résultats obtenus, les pourcentages d'inhibition du radical DPPH augmentent avec l'augmentation des concentrations des huiles essentielles et les standards. D'après les IC50 la vitamine E a la meilleure activité suivie des extraits brutes (polyphénols)

à partir d'*Hyociamus albus*, puis ceux extraits à partir de *Pulicaria odora*. les huiles essentielle d'*Origanum vilgare* s'est apparait plus efficace que celle de *Mentha aquatica*. Figure (12)



**Figure (11)** : Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations

Vu que les résultats de la menthe sont très éloignés de ceux des autres échantillons, la différence entre ces derniers est masquée sur le graph de la figure d'où la nécessité du graphique de la figure (sans la menthe). Figure (13)

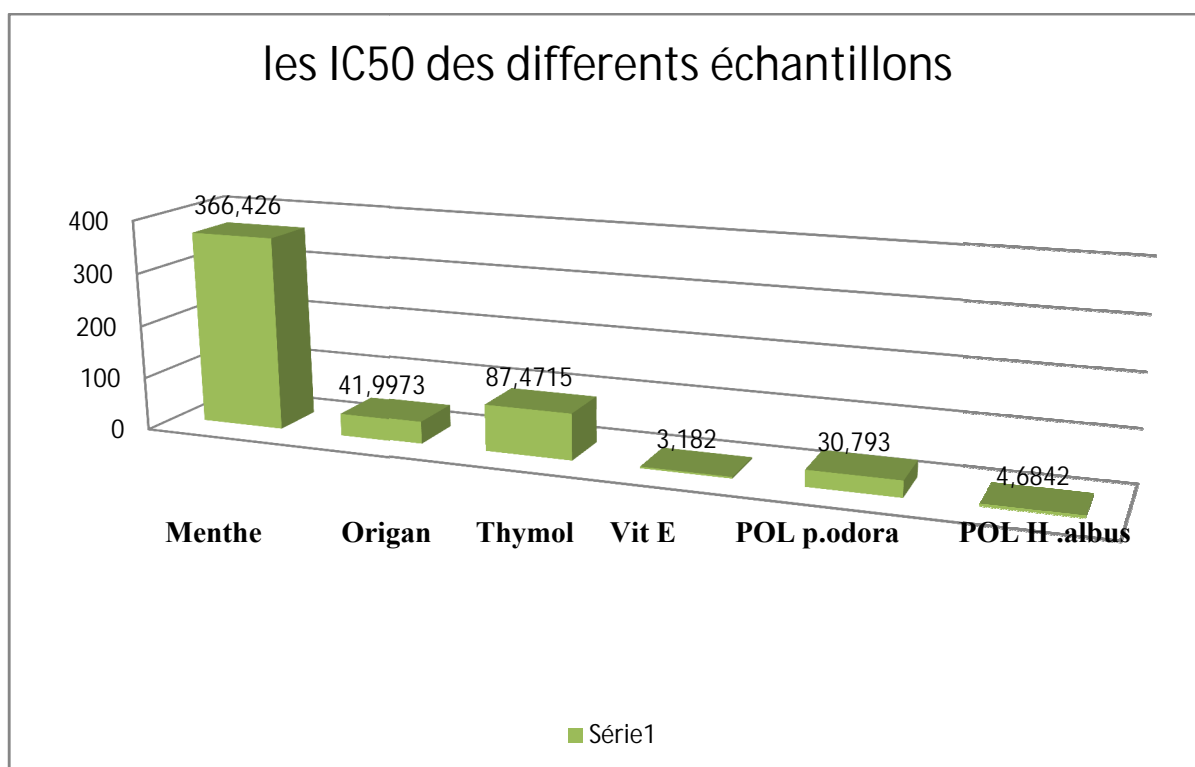


**Figure (12)** : Graphique représentant les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations sans menthe

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH· en sa forme non radicalaire. A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur IC50 pour chaque extrait. Plus la valeur de l'IC50 est petite, plus l'extrait a une forte activité antioxydante (**Khoudali et al., 2014**).

Ces activités pourraient être liées à la richesse des extraits en polyphénols. Car selon **Turkmen et al, (2007)**, les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, par ce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération dans l'activité biologique (**Bourgou et al., 2008**). Figure (14).



**Figure (13):** Valeurs des IC<sub>50</sub> des différents extraits étudiés

L'activité antioxydante d'une HE est attribuée aux composés actifs présents dans cette dernière. Ceci peut être dû à un/des composés majoritaires, mais aussi à de nombreux composés présents en petites quantités ou à la présence d'une synergie entre ces derniers (**Politeo et al. 2006**).

L'extrait brute méthanolique de la plante *Hyoscyamus albus* est plus riche en polyphénols et sa capacité de piéger les radicaux DPPH est plus élevée. **Falleh et al, (2008)** ont montré qu'il existe une corrélation très significative entre la teneur en polyphénols (polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés) et l'activité scavenger des radicaux DPPH. **Ranilla et al, (2010)** ont rapporté aussi que les polyphénols contribuent significativement à l'activité antioxydante des extraits de certaines plantes.

Viuda-Martos et al., (2010) l'ont démontré pour les composées phénoliques contenus dans les HEs. Une HE à chémotype phénolique possède une activité antioxydante meilleure qu'une HE à chémotype non phénolique (**Jukié et Milos, 2005**).

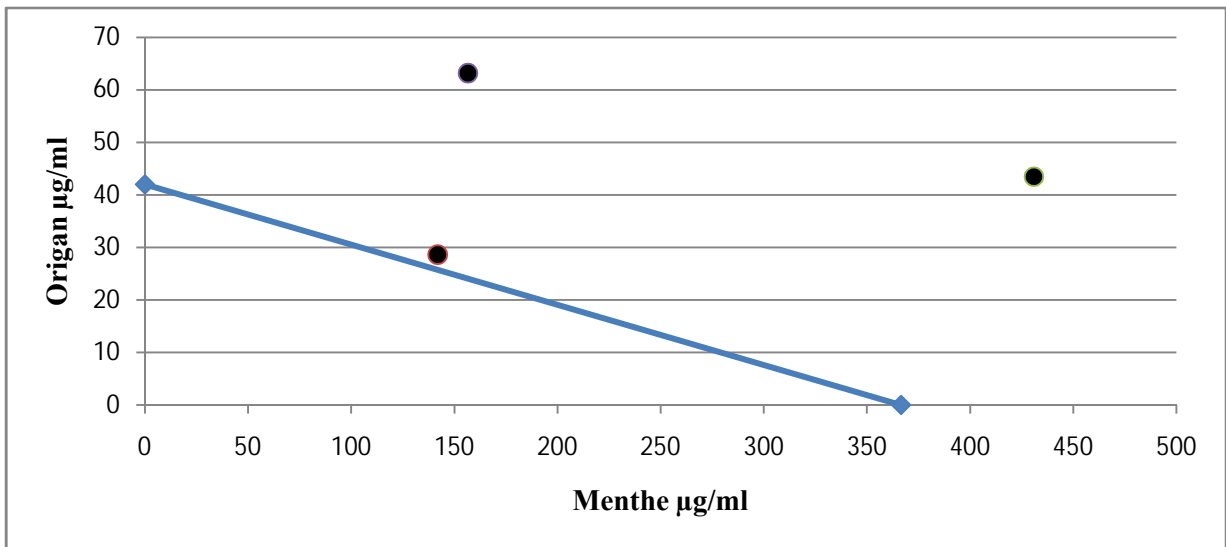
En revanche, l'HE d'*O. vulgare* montre une bonne activité antiradicalaire. Néanmoins, elle demeure moins efficace que la vitamine E. Cette activité est probablement due à la richesse d'origan en carvacrol qui possède une importante activité antiradicalaire (**Ozkan et Erdogan, 2011**). En effet, Les travaux de Sokmen et al., (2004) ont montré des résultats comparables aux notre ; L'IC50 de l'HE de *Origanum acutidens* sur le DPPH était de 133,7 µg/ml, une HE contenant 72% de carvacrol. Ce qui implique d'avantage la présence de ce dernier, en tant que composé important, dans l'HE d'*Origanum.vulgare*.

L'HE de la menthe c'est avéré moins actif vis-à-vis du radical synthétique DPPH ceci pouvait être dû à sa pauvreté en phénol et sa richesse en composés cétonique. En effet, il a été démontré que ces derniers composés ont des activités érologiques moins importantes que les phénols (**Bassole et Juliani, 2012**)

### III.2. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES DIFFÉRENTES COMBINAISONS

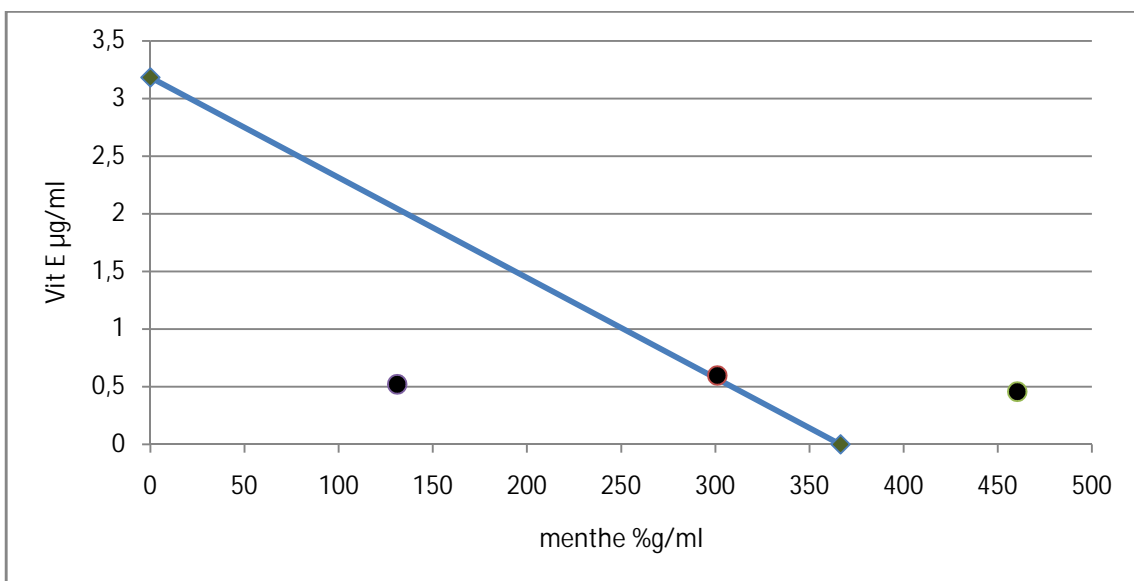
Les figures, représentent respectivement les isobologrammes des combinaisons : me,the/origan, menthe /Vit E, Menthe/thymol, POL *P.odora*/menthe, POL *H.albus*/menthe, origan/Vit E, origan/thymol, POL *P.odora*/origan et POL *H.albus*/origan





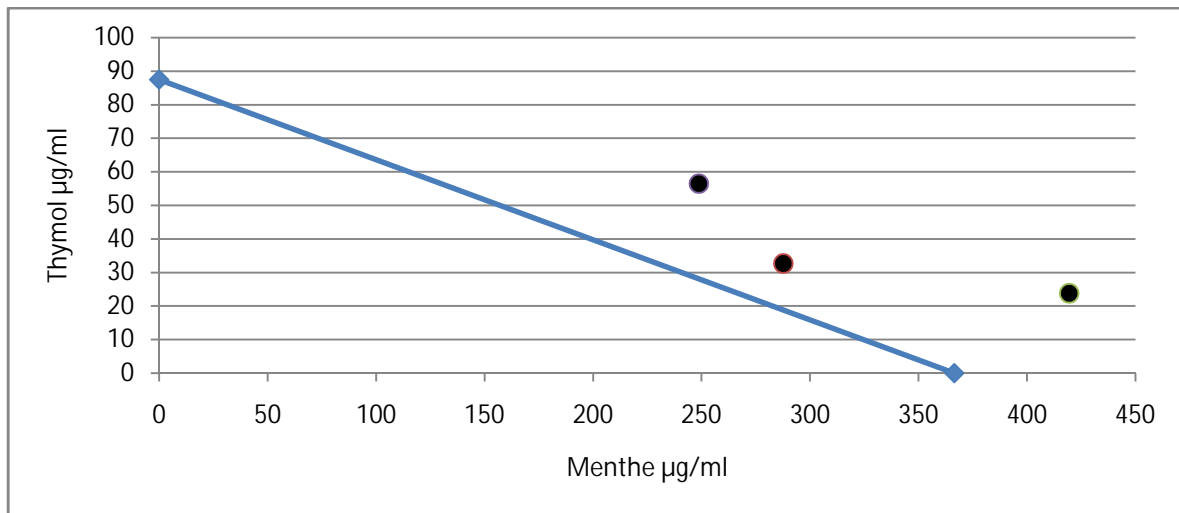
**Figure (14) :** Isobologramme de l'origan combinée avec la menthe

Les trois points sont au-dessus de la droite, mais ce n'est pas un antagoniste car les résultats affichent une grande variance (grande différence entre les 3 valeurs d'une même association) à partir de ça on déduit une indifférence.



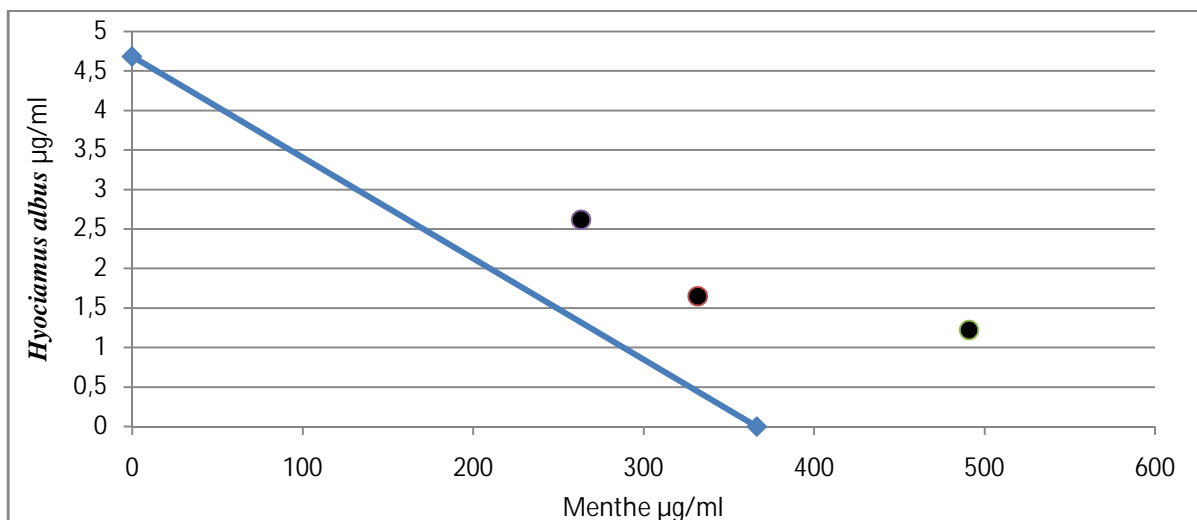
**Figure (15) :** Isobologramme de la Vit E combinée avec la menthe

On constate la presence d'un point sur la droite et d'un point sur la gauche et un autre sur la droite dont ils sont très loin il s'agit donc d'effet indifférent.



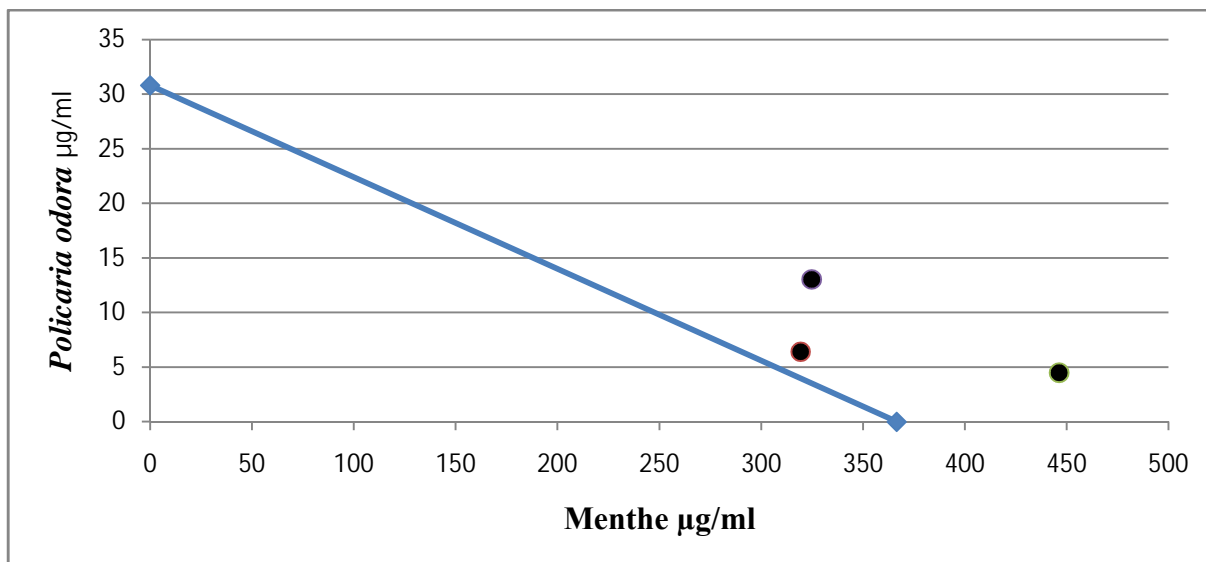
**Figure (16) :** Isobogramme du thymol combinée avec la menthe

Les trois points sont en haut de la droite, mais ils sont proches, il s'agit donc d'un effet antagoniste (Tallarida, 2001).



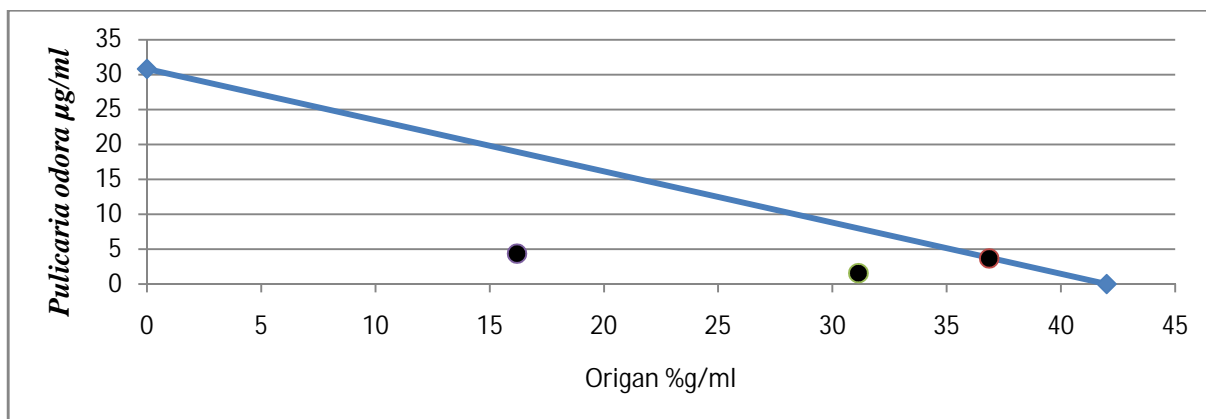
**Figure (17) :** Isobogramme du polyphénol d'*H. albus* combinée avec la menthe

Les trois points sont en haut de la droite, mais ils sont proches, c'est un effet antagoniste (Tallarida, 2001).



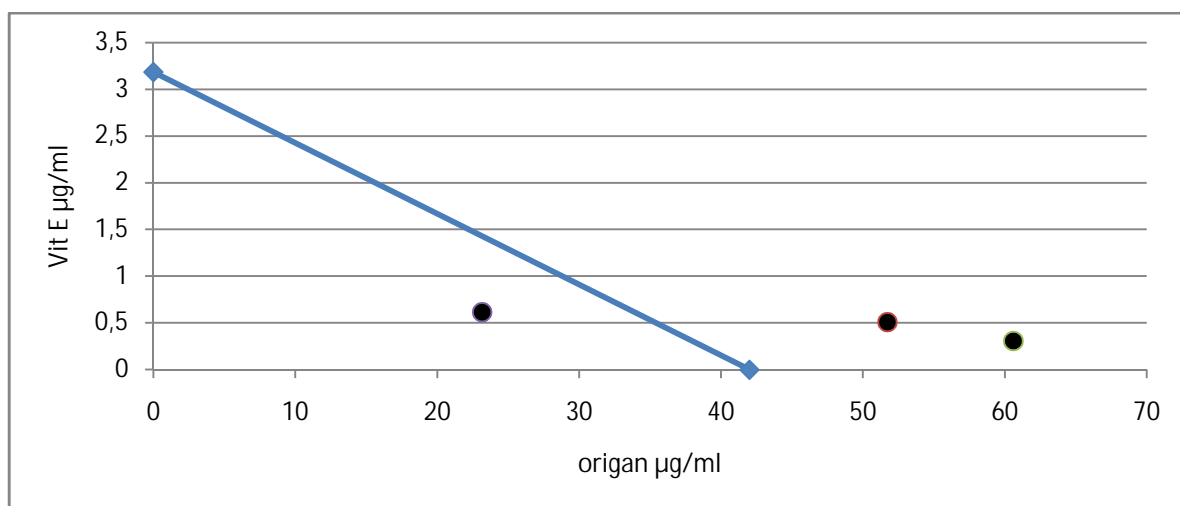
**Figure (18) :** Isobogramme du polyphénol de *P. odora* combiné avec la menthe

Les trois points sont en haut de la droite, mais ils sont loin, c'est un effet indifférent (Tallarida, 2001).

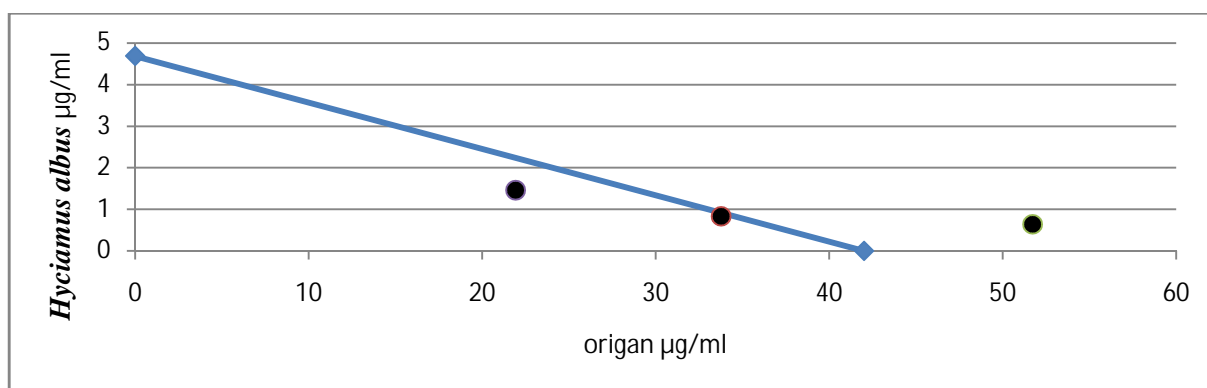


**Figure (19) :** Isobogramme du polyphénol de *P. odora* combiné avec l'origan

L'un des trois points touche la droite d'où la nécessité des résultats de l'étude statistique pour trancher entre une indifférence et une synergie (Tallarida, 2001). Selon le test de conformité il s'agit d'un effet synergique.



**Figure (20) :** Isobologramme du thymol combiné avec l'origan



**Figure (21) :** Isobologramme d'origan combiné avec POL *H. albus*

Pour les figure (20), (21), (22) ; Un point sur la droite et un point sur la gauche et un autre sur la droite dont ils sont très loin , c'est un effet indifférent.

Les résultats chiffrés des différentes associations sont présentés dans les tableaux (V), (IV), (VII), (VII) et (XI) avec l'effet donné.

**Tableau V :** Combinaison entre huile essentielle de *Mentha aquatica* et huile essentielle de *Origanum vulgare*

Combinaison	IC50 (µg/ml)	IC50c (µg/ml)	FIC50	FIC50c	FIC50 moyenne	effet
Menthe	366.4264	141.932	0.421	1.102	1.747	indifférent
Origan	41.997	28.623	0.681			
Menthe	366.4264	430.91	1.175	2.209		

<b>Origan</b>	41.997	43.450	1.034			
<b>Menthe</b>	366.4264	156.636	0.427	1.931		
<b>origan</b>	41.997	63.177	1.505			

**Tableau IV:** Combinaison d'huile essentielle de la menthe avec Vit E et le thymol

Combinaison	IC50 (µg/ml)	IC50c (µg/ml)	FIC50	FIC50c	FIC50 moyenne	effet
<b>Menthe</b>	366.4264	301.126	0.812	<b>1.008</b>	<b>0.975</b>	<b>indifférent</b>
<b>Vit E</b>	3.182	0.5966	0.187			
<b>Menthe</b>	366.4264	460.32	1.256	<b>1.399</b>		
<b>Vit e</b>	3.182	0.456	0.143			
<b>Menthe</b>	366.4264	131.0633	0.357	<b>0.5206</b>		
<b>Vit E</b>	3.182	0.5193	0.163			
<b>Menthe</b>	366.4264	287.7	0.785	<b>1.158</b>	<b>1.299</b>	<b>antagonist</b>
<b>Thymol</b>	87.4715	32.659	0.373			
<b>Menthe</b>	366.4264	419.402	1.144	<b>1.416</b>		
<b>Thymol</b>	87.4715	23.801	0.272			
<b>Menthe</b>	366.4264	248.700	0.678	<b>1.323</b>		
<b>thymol</b>	87.4715	56.456	0.645			

**Tableau VII :** Combinaison d'huile essentielle de menthe avec polyphénol de *Pulicaria odora* et *Hyociamus albus*

Combinaison	IC50 (µg/ml)	IC50c (µg/ml)	FIC50	FIC50c	FIC50 moyenne	Effet
<b>Menthe</b>	366.4264	319.347	0.871	<b>1.079</b>	<b>1.250</b>	<b>indifférent</b>
<b>Pol. <i>P odora</i></b>	30.793	6.410	0.208			
<b>Menthe</b>	366.4264	446.254	1.217	<b>1.362</b>		
<b>Pol. <i>P odora</i></b>	30.793	4.478	0.145			
<b>Menthe</b>	366.4264	324.781	0.886	<b>1.309</b>		
<b>Pol. <i>P odora</i></b>	30.793	13.03	0.423			
<b>Menthe</b>	366.4264	331.814	0.905	<b>2.578</b>		<b>antagonist</b>
<b>Pol. <i>H albus</i></b>	4.6842	1.648	0.3551			

<b>Menthe</b>	366.4264	491.008	1.34	<b>1.6</b>	<b>1.818</b>	
<b>Pol. <i>H albus</i></b>	4.6842	1.2198	0.26			
<b>Menthe</b>	366.4264	263.405	0.718	<b>1.276</b>		
<b>Pol. <i>H albus</i></b>	4.6842	2.617	0.558			

**Tableau VIII** : Combinaison d'huile essentielle d'origan avec polyphénol de *Pulicaria odora* et *Hyociamus albus*

<b>Combinaison</b>	<b>IC50 (µg/ml)</b>	<b>IC50c (µg/ml)</b>	<b>FIC50</b>	<b>FIC50c</b>	<b>FIC50 moyenne</b>	<b>Effet</b>
<b>Origan</b>	41.9973	36.863	0.877	<b>0.996</b>	<b>0.761</b>	<b>synergique</b>
<b>Pol. <i>P odora</i></b>	30.793	3.67	0.119			
<b>Origan</b>	41.9973	31.136	0.741	<b>0.791</b>		
<b>Pol. <i>P odora</i></b>	30.793	1.552	0.050			
<b>Origan</b>	41.9973	16.20	0.385	<b>0.526</b>		
<b>Pol. <i>P odora</i></b>	30.793	4.36	0.145			
<b>Origan</b>	41.9973	33.77	0.804	<b>0.981</b>	<b>1.060</b>	<b>indifférent.</b>
<b>Pol. <i>H albus</i></b>	4.6842	0.833	0.177			
<b>Origan</b>	41.9973	51.723	1.231	<b>1.367</b>		
<b>Pol. <i>H albus</i></b>	4.6842	0.638	0.136			
<b>Origan</b>	41.9973	21.925	0.522	<b>0.833</b>		
<b>Pol. <i>H albus</i></b>	4.6842	1.461	0.311			

**Tableau IX**: combinaison d'huile essentielle d'origan avec Vit E et le thymol

<b>Combinaison</b>	<b>IC50 (µg/ml)</b>	<b>IC50c (µg/ml)</b>	<b>FIC50</b>	<b>FIC50c</b>	<b>FIC50 moyenne</b>	<b>Effet</b>
<b>Origan</b>	41.9973	51.72	1.231	<b>1.391</b>	<b>1.307</b>	<b>indifférent.</b>
<b>Vit E</b>	3.182	0.509	0.160			
<b>Origan</b>	41.9973	60.602	1.443	<b>1.539</b>		
<b>Vit e</b>	3.182	0.307	0.096			
<b>Origan</b>	41.9973	23.165	0.551	<b>0.993</b>		
<b>Vit E</b>	3.182	0.615	0.193			
<b>Origan</b>	41.9973	36.28	0.863	<b>0.981</b>		<b>-.</b>

<b>Thymol</b>	87.4715	20.463	0.233		<b>1.211</b>	
<b>Origan</b>	41.9973	47.86	1.139	<b>1.284</b>		
<b>Thymol</b>	87.4715	13.497	0.154			
<b>Origan</b>	41.9973	24.11	0.574	<b>1.37</b>		
<b>thymol</b>	87.4715	36.71	0.419			

Les résultats obtenus montrent que les associations étudiées ont donné soit des effets indifférents soit des antagonistes et un seul effet synergique a été observé avec l'association : HE d'*Origanum vulgare* avec les polyphénols de *Pulicaria odora*.

Les polyphénols de *pulicaria odora* associés aux phénols contenus de l'HE de l'origan (carvacrol) qui eux même ont une bonne activité antioxydante ont permis de potentialiser l'activité antioxydante.

Plusieurs travaux ont montré l'efficacité des phénols dans l'effet scavenger du radical DPPH (Salin et al.,2004)

Les HE riches en carvacrol et thymol sont en général les principaux antioxydants (Barrate et al.,1998 ;Miloseral.,2000 ) ; alors se n'est pas surprenant d'aboutir à une potentialisée lorsque les deux extraits associés sont tous les deux riches en composés phénoliques.





## CONCLUSION

Cette étude a été consacrée à l'étude de l'activité antioxydante de deux huiles essentielles utilisées seules ou en associations.

Nous avons constaté au terme de notre travail que l'HE d'origan a une meilleure activité antioxydante que celle d'huile essentielle de la menthe. Ceci est probablement en rapport avec la composition chimique de l'huile d'origan qui d'après la bibliographie est riche en carvacrol et thymol ; les composés qui présentent les meilleures activités antiradicalaires. En association avec d'autres composés ces deux huiles ont donné différents effets : antagoniste indifférent synergique.

En thérapeutique les effets synergiques sont recherchés pour potentialiser l'activité des molécules associées, il serait intéressant de tester d'autres associations entre l'HE d'origan et d'autres composés phénoliques purs ou des extraits méthanoliques de plantes riches en phénols pour sélectionner les associations synergiques.

Il serait également profitable de tester ces associations avec d'autres radicaux tels que l'ABTS et, de rechercher leurs effets sur d'autres activités biologiques telles que l'activité antidiabétique, anticancéreuse ce qui permettrait d'utiliser moins de substances chimiques et de réduire ainsi leur toxicité.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A

**Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F (2009).** Antibacterial effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* Turk. *J. Biol.* 30 : 239-242.

**Anonyme, (1999).** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6<sup>ième</sup> édition. AFNOR, Paris.

**Amiot J. (2005)** *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaire. *Thèse de doctorat-Ecole nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier*

**Aristide Q (1964)** Encyclopédie du monde végétale histoire de la botanique : la botanique dans l'antiquité, Tome I, Boulevard Saunt-Germain Paris VIe, , Edition Lidis. 102, Champs-elysées, Paris ; d'après l'édition originale *Natura viva* par Vallardi Edizioni Periodich, 132-138.

### B

**Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin J C, Pinkas M, Luycky M and Gazin M (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46, 1086-1089.

**Barrantre M.D.S, Dorman H.J.D, Deans S., Figueiredo A.C,Barroso J.G, et Ruberto G(1998)** .chemical composition antimicrobial and antioxydantive activity of laurel, sage,rosemary;oregano, and of coriandel essential oils. *Journal of essential oil research*.10,618-627

**Bassole I.H.N et Juliani H.R (2012).**essential oils in complination and their antimicrobial propenties molecules 17,3989-4006.

. **Bazylko A. et Strzelecka H. (2007).** *Fitotherapia.*, 78 : 391-395.

**Belhadi B Nour Elyakin et Ben Guegua H (2010).** , L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla.

**Benayad N (2008)** . Thèse sur: les huiles essentielles extraite par plantes médicinales marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, Université Mohammed V– Agdal de Rabat, 13-30.

**Bouhadjra K (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.

**Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. 2008.** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C. R. Biologies*, 331: 48–55.

**Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed Tec&Doc. Paris.

**Burt S (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223– 253.

## C

**Clevenger J. F (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 17: (4) 345-349.

## D

**Dacosta Y(2003).** Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317.

**Debuigne G (1982).** *Dictionnaire des plantes qui guérissent*. Paris : Larousse.

**Deng J., Cheng W. & Yang G (2011).** A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*. 125: 1430–1435.

**Djeridane A, Yous M, Nadjemi B, Boutassouna D, stocker P and Vidal N. (2006).** Antioxydant activity of some medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97, 654-660.

## F

**Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M and Abdelly C (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.

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

**Fournier P (1948).** Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France : 15000 espèces. Tome III, Paris, 803-810.

**FRANCHOMME, P., JOLLOIS, R., PENOEL, D(2001).** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles Editions Jollois.

#### G

**Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. et Bernigault R (2005).** Mesure de la résistance aux radicaux libres. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole*; 554-558.

#### H

**Hellal Z . (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.

**Hilan C., Sfeir R., Jawish D. & Aitour S (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. *Lebanese Science Journal*. 7 (2): 13-22.

#### I

**Il Idrissi A (1982)** Thèse de troisième cycle, Faculté des Sciences de Rabat (Etude des huiles essentielles de quelques Espèces *Salvia*, *Lavandula* et *Mentha* du Maroc).

**Iserin P. (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226

**Ismail A. and Hong S.T. (2002).** Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal Journal of Nutrition*, 8 (2): 167-177.

#### J

**Jahandiez E, et Marie R. (1934),** Catalogues des plantes du Maroc, spermatophytes et ptérydophytes. Tome III ; P., Lechevalier, librairie 12, rue de Tournon VIe, Alger-Paris.

**Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna-Herrera J., Molina-Salinas G. et Said-Fernández S. (2006).** *Pharmacologyonline.*, 3 : 569-574.

**Jordán M.J. , Martínez R.M. , K.L. Goodner , Baldwin E.A. , Stomayor J.A. (2006)** Seasonal Variation of *Origanum vulgare* L. essential oils composition. *Industrial Crops and products* 24: 253-263.)

**Jukic M. & Milos M (2005).** Catalytic oxidation and antioxidant properties of Thyme essential oils (*Thymus vulgaris* L.). *Croatica Chemica Acta.* 78 (1): 105-110.

## K

**Kaloustian J., El-Moselhy T. F., Portugal H (2003).** Chemical and thermal analysis of the biopolymers in thyme (*Thymus vulgaris*). *Therm. Ochimica. Acta.* 401 : 7786.

**Khoudali. S, D. Benmessaoud left. D, Essaqui. A, Zertoubi. M, Azzi. M, Benaissa. M. (2014).** Study of antioxidant activity and anticorrosion action of the methanol extract of dwarf palm leaves (*Chamaerops humilis* L.) from Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (3) : 887-898.

**Kitajima J., Ishikawa T., Urabe A., Satoh M. (2004)** Monoterpenoids and their glycosides from the leaf of thyme. *Phytochemistry.* 65 : 3279-3287.

**Kohen R. and Nyska A (2002).** Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path.* 2002; 30: 620-650.

**Koroch A., Juliani H.R., Zygodlo J.A (2007).** *Bioactivity of Essential Oils and Their Components*, in *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, B. R.G., Editor. Springer Verlag: Berlin, Germany. p. 87-115.

## M

**Mebarki N (2010).** Thèse de magistère. de chimie, Université –M'Hamed Bougara-Boumerdes.

**Milos M, Mastelic T ,et Jevercovic I (2000).** Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L.ssp.hirtum). *food chemistry*, 71,79-83.

**Mohammedi Z (2005),** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxidant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région du Tlemcen , Thèse de magistère , Université-Abou Bakr Belkaid-Telemcen .

**Molyneux P (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.

**Morales, R. (2002)** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus. Ed. Taylor & Francis, London.* pp. 1-43.)

**Moreau F(1960).** Botanique : Procaryotes (cyanophytes et bactéries). Eucaryotes (algues, champignons et végétaux supérieurs) La plante dans ses rapports avec le milieu, Ed.Paris, Gallimard,102.

## N

**Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A (2005).***Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2): 63-79.

**Newmann D. et Cragg G.M (2007).** *Journal of Natural Products*; 70: 461-477.

**Nikhat F., Satynarayana D. and Subhramanyam E.V.S., 2009.** Isolation, characterization and screening of antioxidant activity of the roots of *Syzygiumcumini* (L) Skeel. *Asian J. Research Chem.* 2(2): pp. 218-221.

## O

**Özcan M., J.-C. Chalchat (2004)** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. Growing Wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30 (4): 68-73.

## P

**Pariante L. (2001)** Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique. 2ème Ed. *Académie nationale de pharmacie. Paris* 1643 p.).

**Poletti A. (1988)** Fleurs et plantes médicinales. 2ème Ed. *Delachaux & Nistlé S. A. Suisse.* Pp : 103 et 131.

## Q

**Quezel P. et Santa S. (1962)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales *Ed C.N.R.S. Tome I.* 565 p.).

## R

**Ranilla L G, Kwon Y I, Apostolidis E et Shetty K (2010).** Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and

hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*, **101**, 4676-4689

**Romano C. S., Abadi K., Repetto V., Vojnov A. A. & Moreno S., 2009.** Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chemistry*. **115**: 456–461.

## S

**Şahin F., Güllüce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G. & Özer H., (2004).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare ssp. vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. **15**: 549–557.

**Sánchez-Moreno C ( 2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*. **8 (3)**: 121–137.

**Sidali B (2010).** Journal national d'ergonomie.ecole superieur d'El harach –Alger.

**Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med.* 2002; **33**: 575-586.

**Sokmen M., Serkedjieva J., Daferera D., Gulluce M., Polissiou M., Tepe B., Akpulat H. A., Sahin F. & Sokmen A ( 2004).** In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52**: 3309-3312.

**Sreenivasan S., Ibrahim D. and Kassim M.J.N.M. (2007).** Free radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of *Gracilaria Changii*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, **1 (3)**: 115-117.

## T

**Tallarida R. J ( 2001).** Drug Synergism: Its Detection and Applications. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **298**: 865–872.

**Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. (2004)..** *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, **68(5)**: 1113- 1134.

**Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, **12**: 484-496.

## V

**Viuda-Martos M., Navajas Y. R., Zapata E. S., Fernández-López J. & Pérez-Álvarez J. A (2010).** Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance Journal*. 25: 13–19.

**Villano D., Fernandez-Pachon M. S., Moya M. L., Troncoso A. M. & Garcia-Parrilla M. C., (2007).** Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. 71: 230–235.

## W

**Wu S.J. & Ng L.T.,( 2008).** Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. Var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *Swiss Society of Food Science and Technology*. 41: 323-330.

## Y

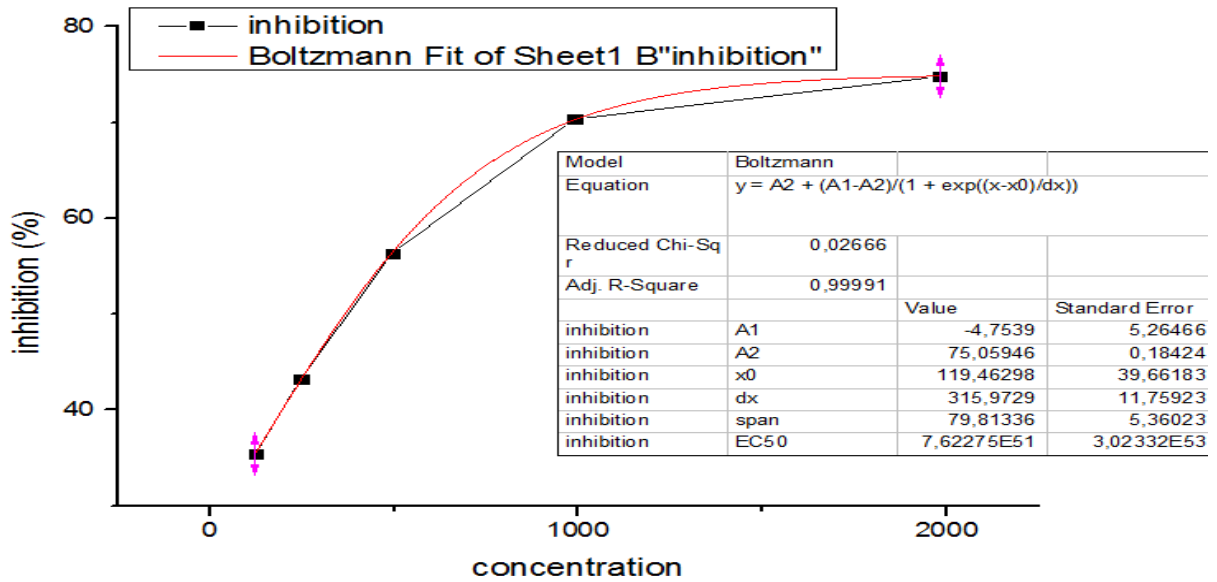
**Yang J., Guo J. and Yuan J. (2008).** In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT*, 41: 1060-1066.



Annexe : Détermination des IC50 avec le logiciel *Origin*

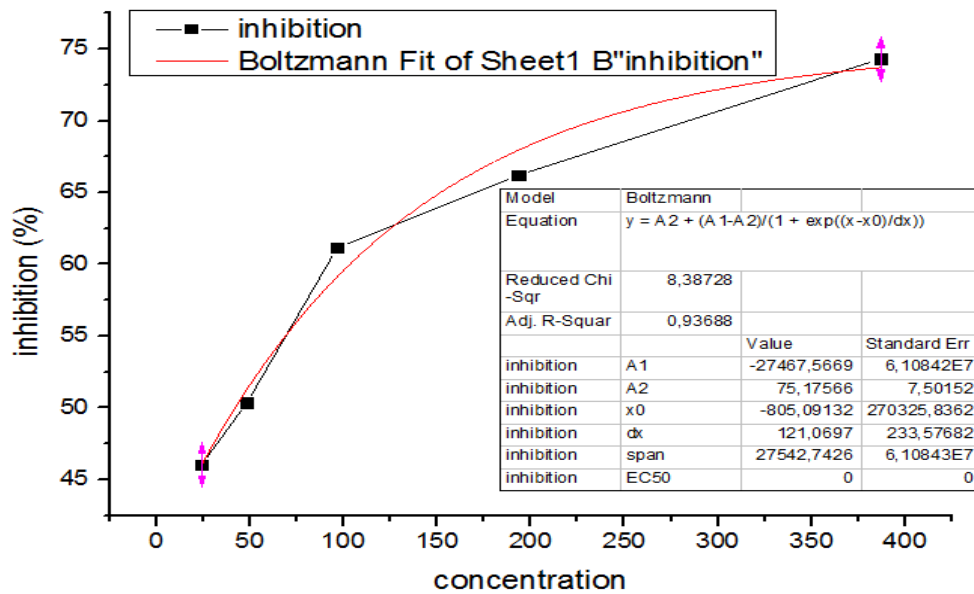
I. Échantillons seuls

*Mentha aquatica*



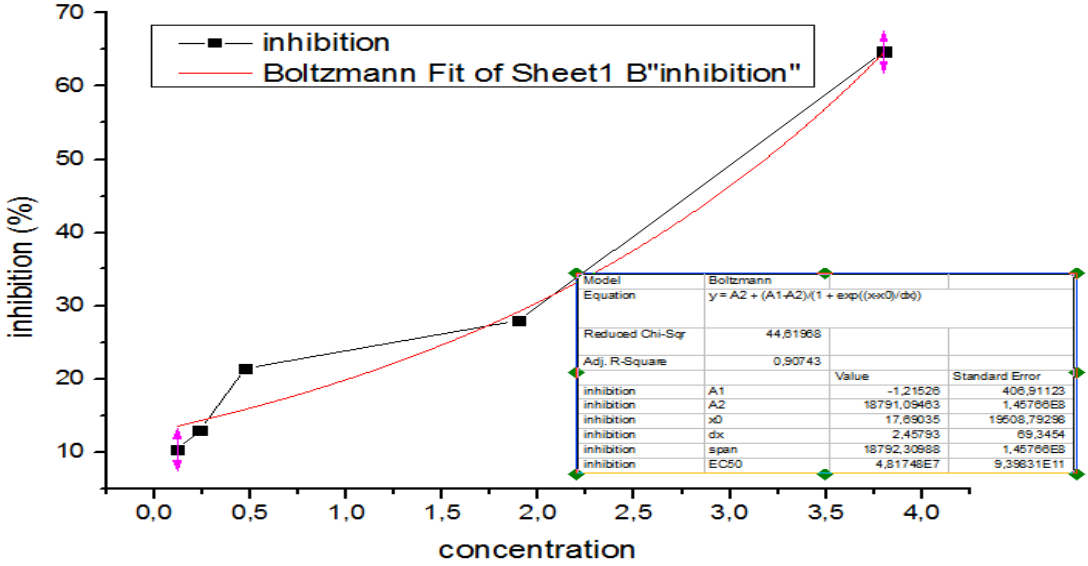
IC50= 366.426µg/ml

*Origanum vulgare*



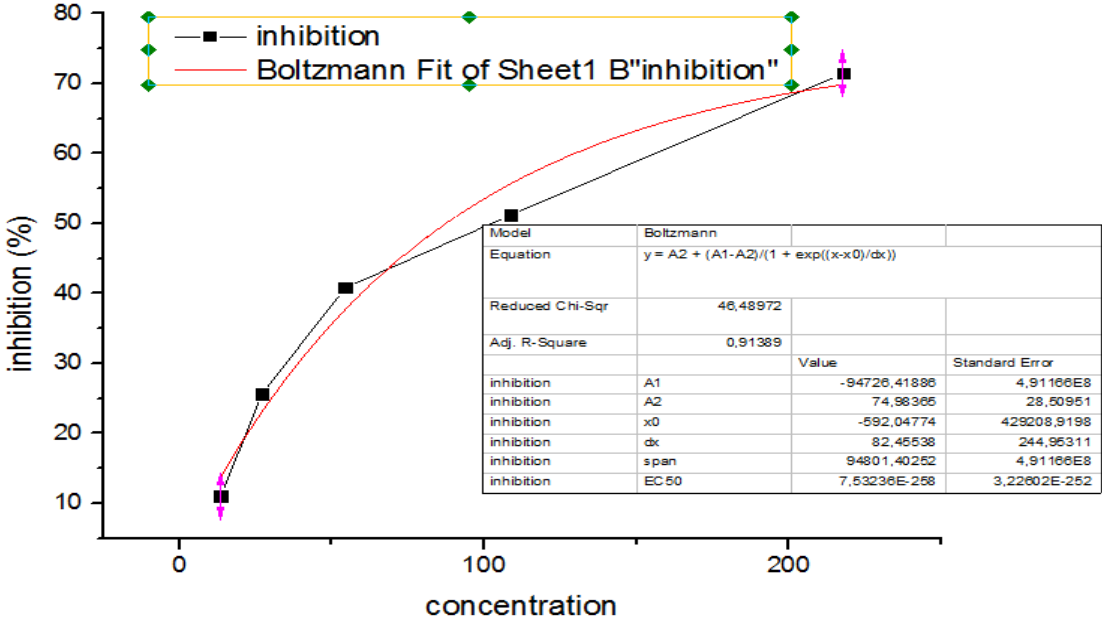
IC50= 41.997 µg/ml

**Vitamine E**



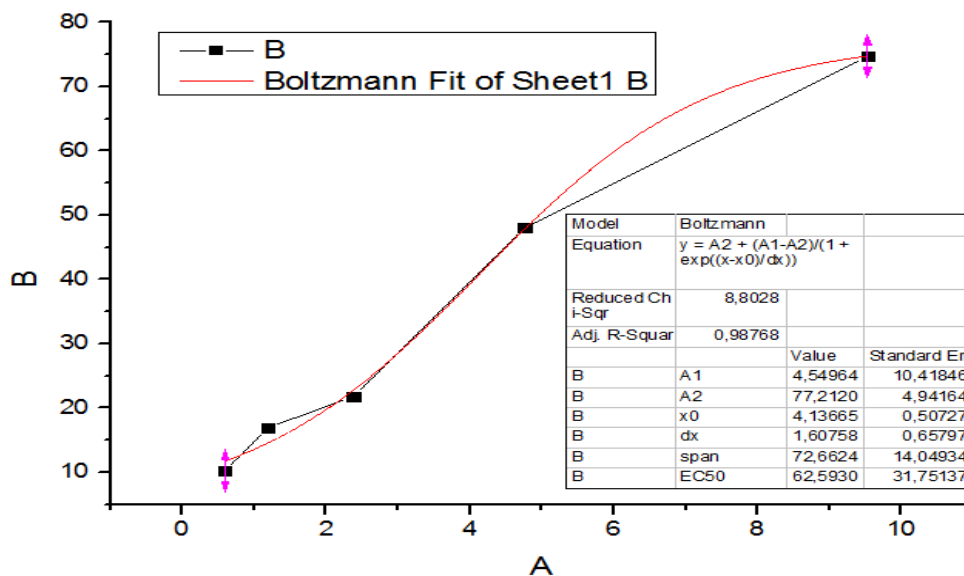
**IC50=3.182µg/ml**

**Thymol**



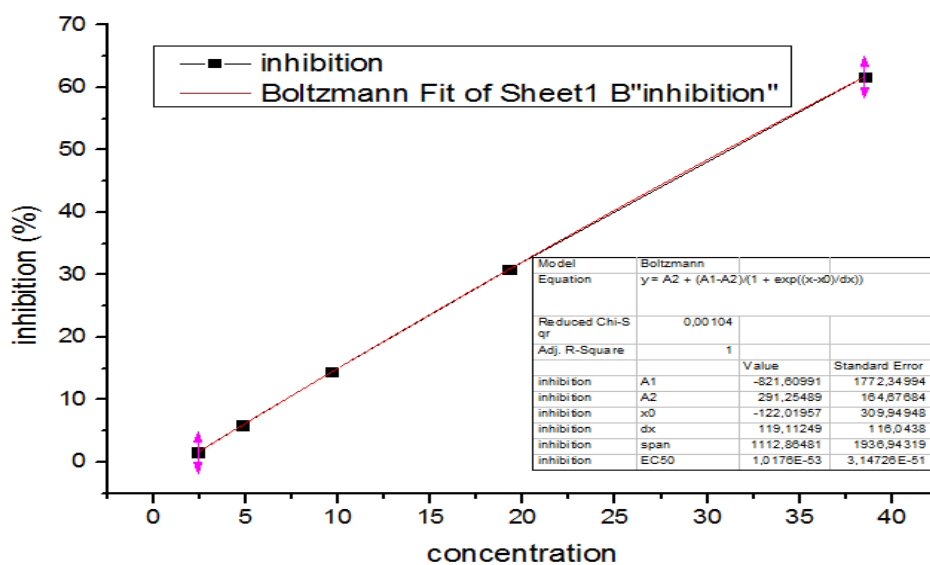
**IC50=87.451 µg/ml**

## Polyphénol d'*Hyociamus albus*



IC50=4.684 µg/ml

## Polyphénol de *Policaria odora*

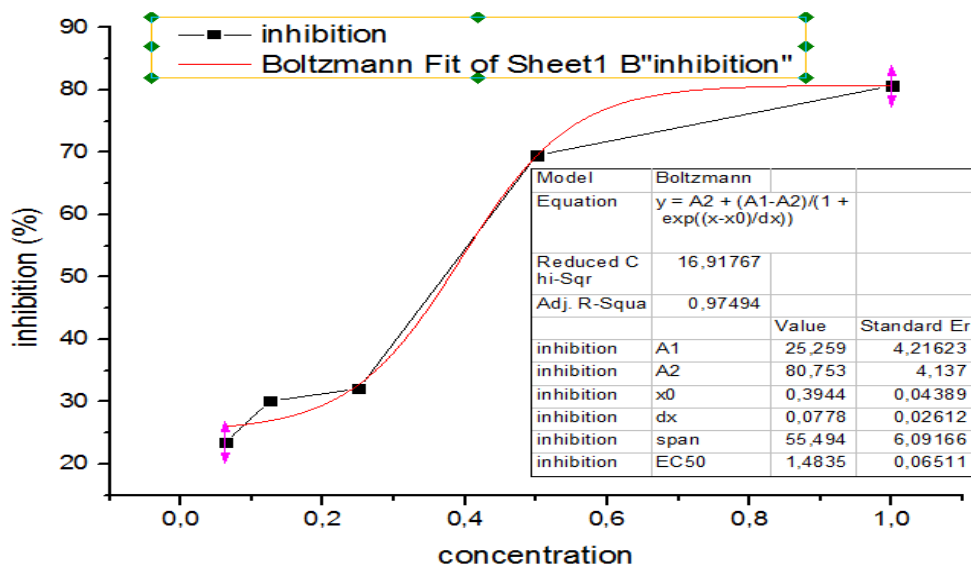
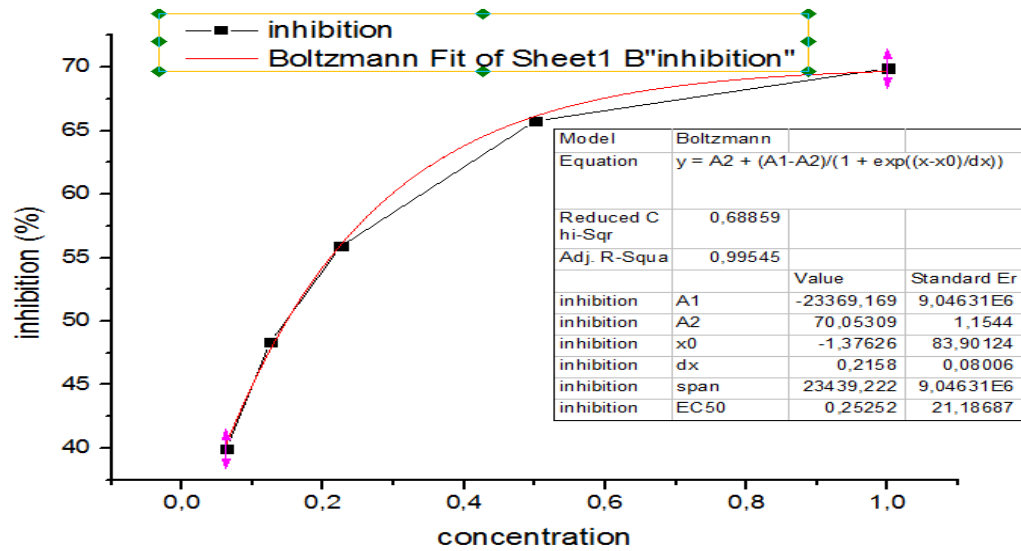


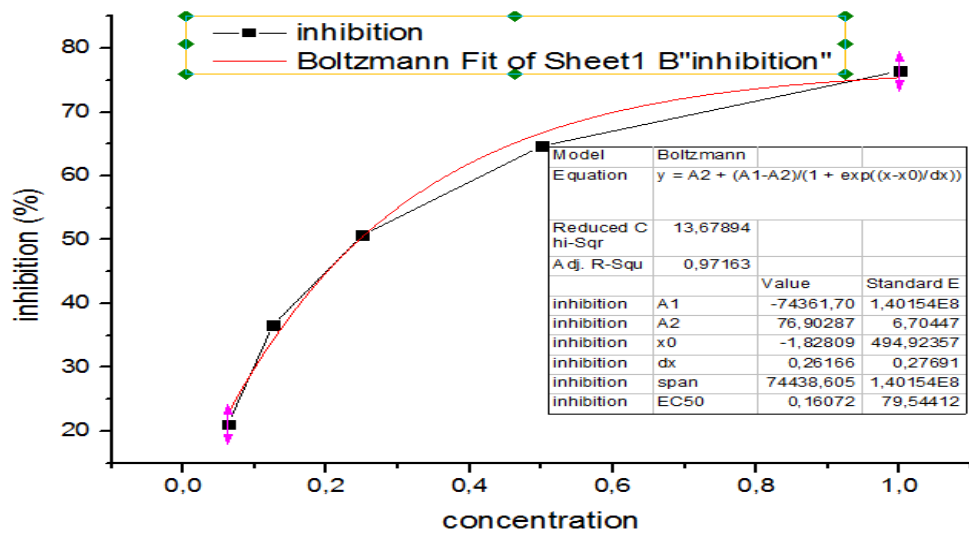
IC50=30.793 µg/ml

## II. ÉCHANTILLONS EN ASSOCIATIONS

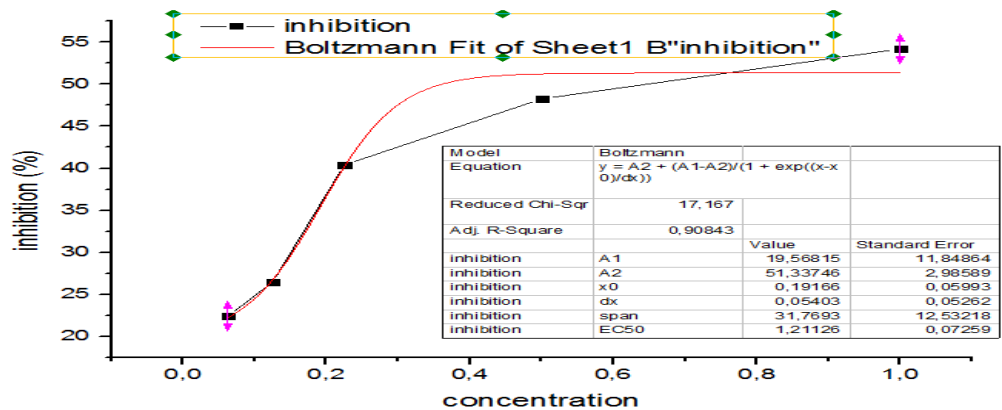
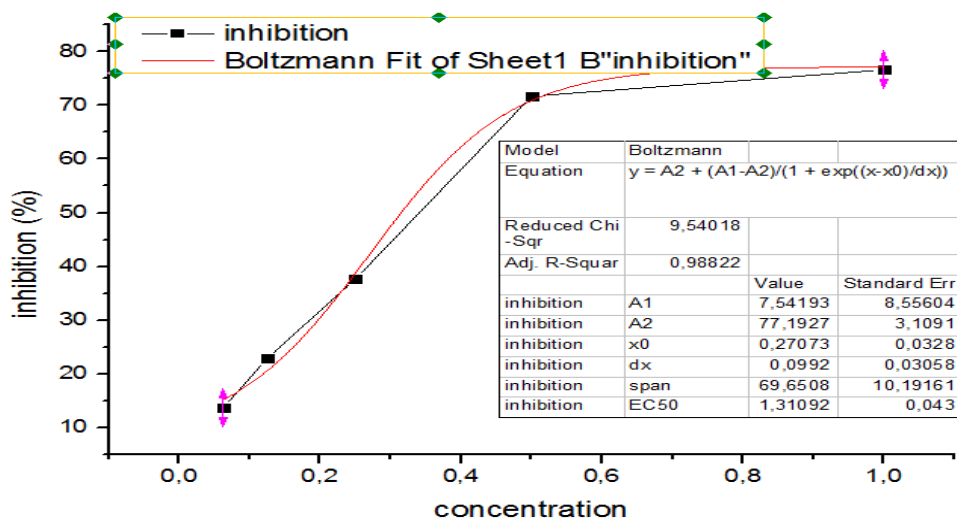
### II.1. LES ASSOCIATION DE LA MENTHE

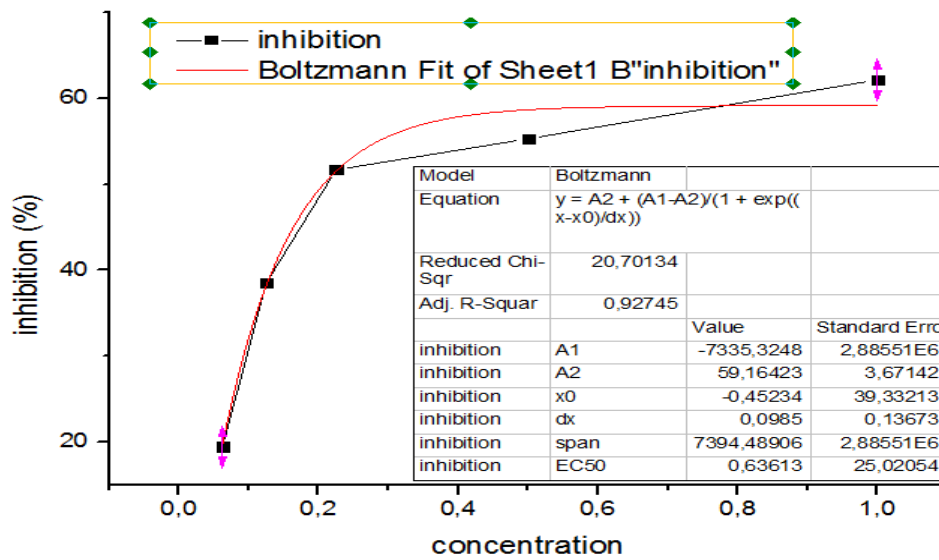
#### Menthe /origan (1, 2, 3)



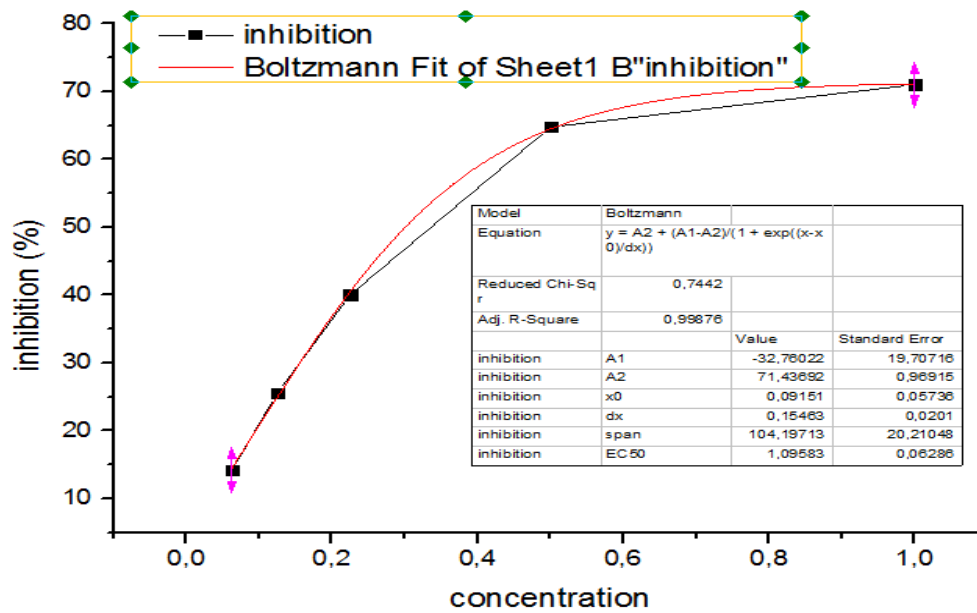


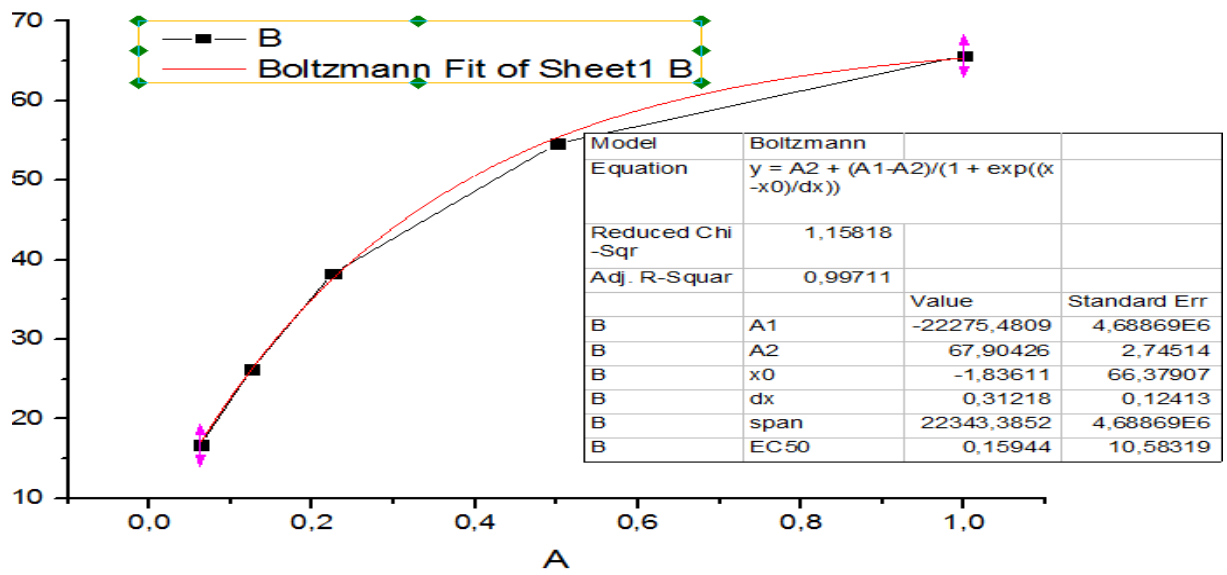
## Menthe/vitamine E





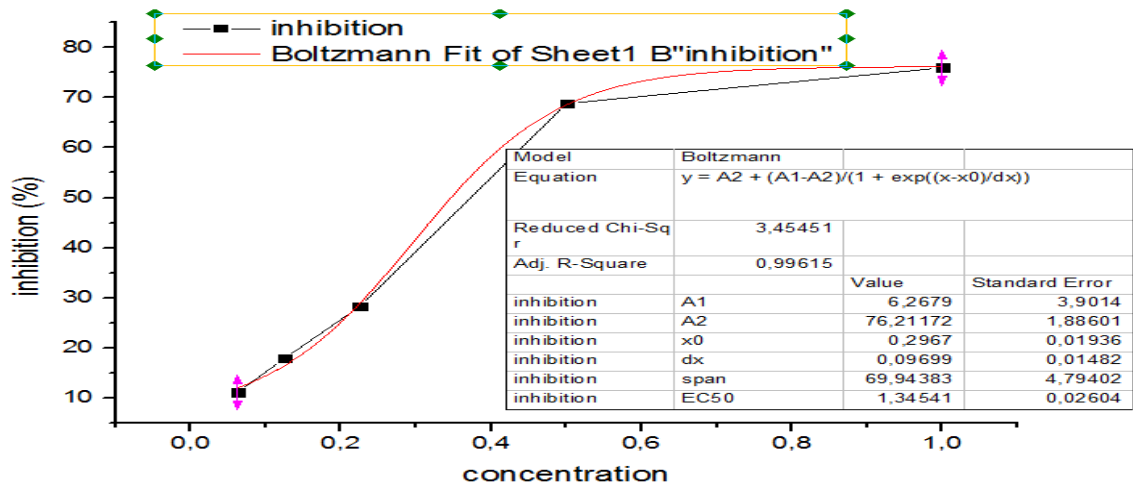
## HE Menthe/thymol

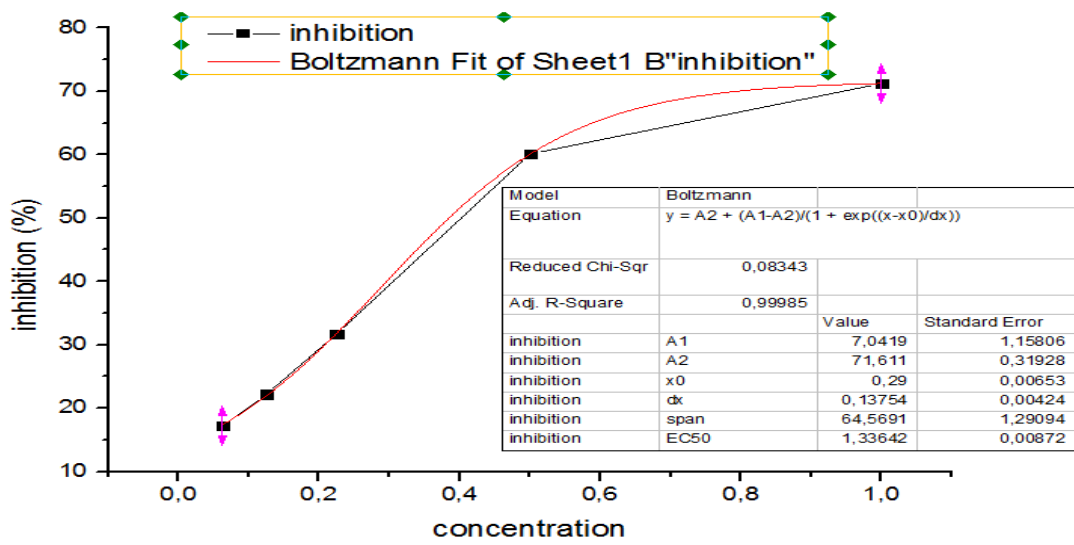




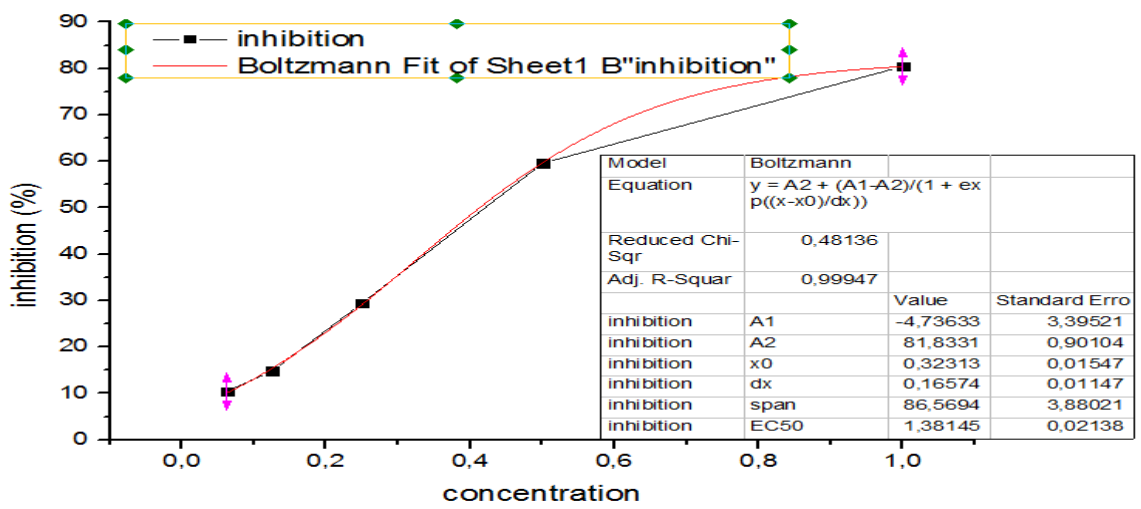
(3)

HE menthe/ *H.albus* :





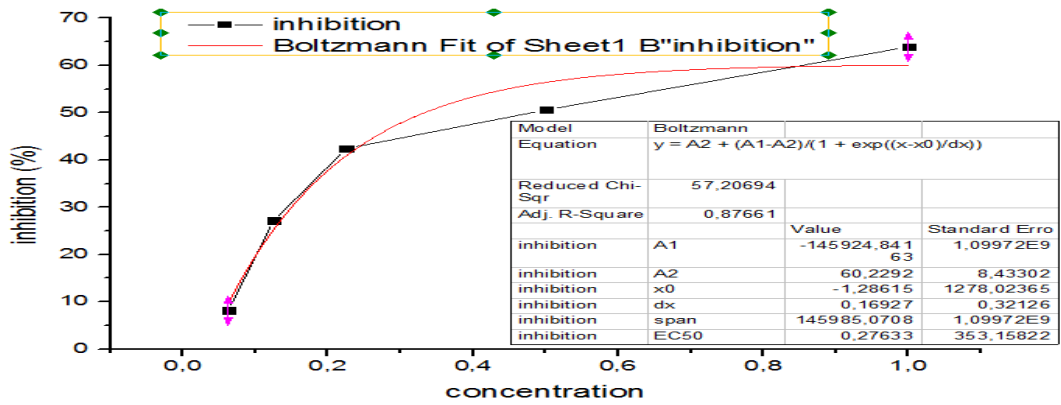
(2)



(3)

HE menthe/*P. odora*

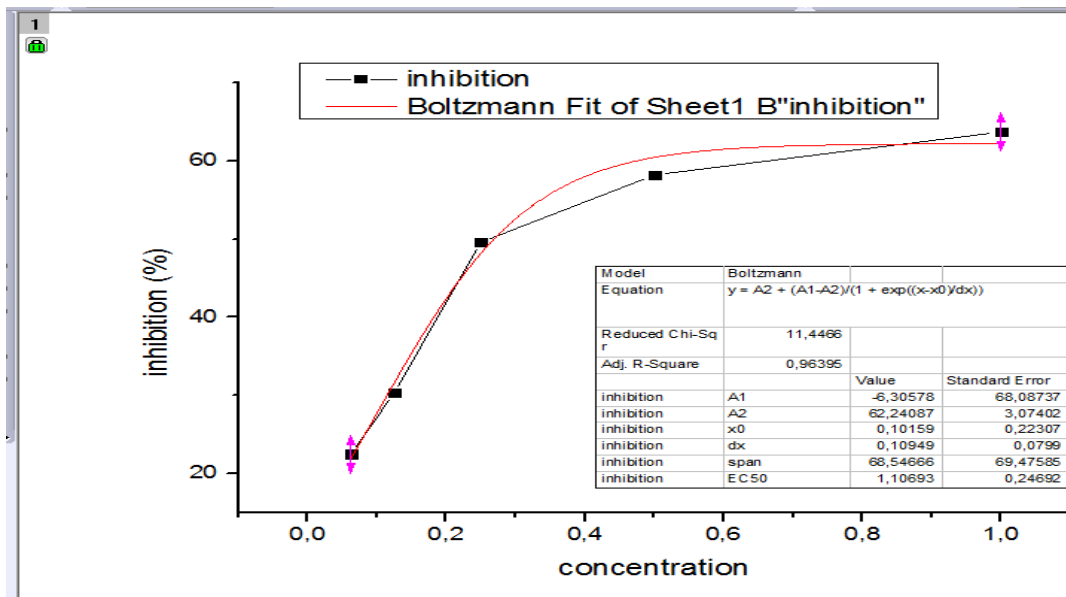


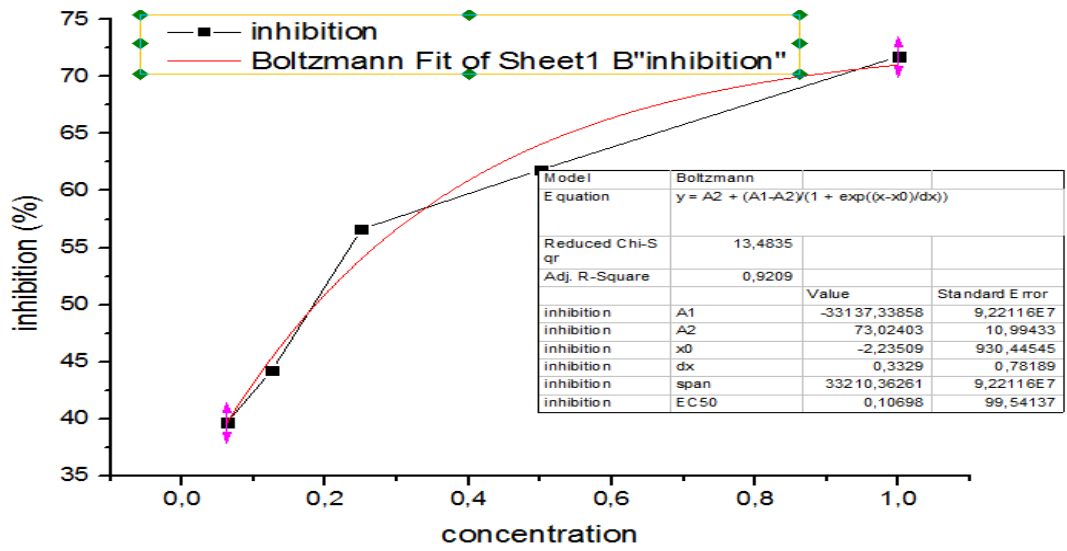
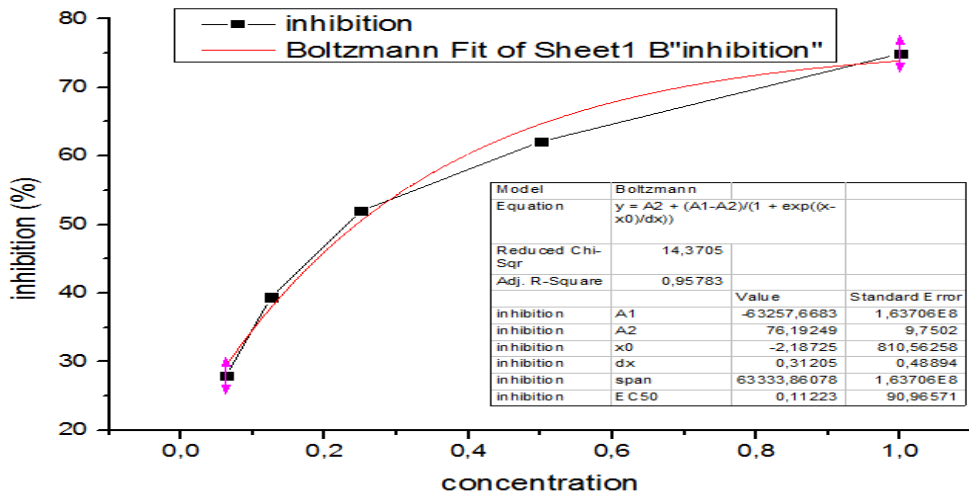


(1)

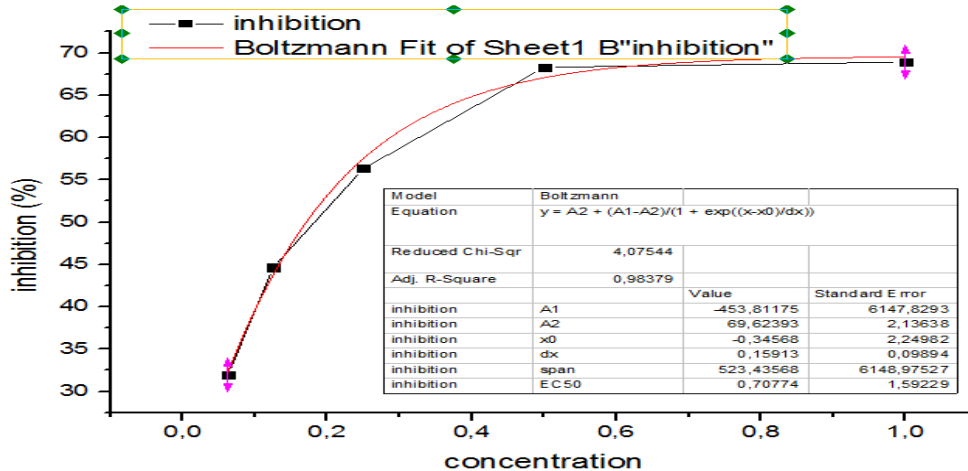
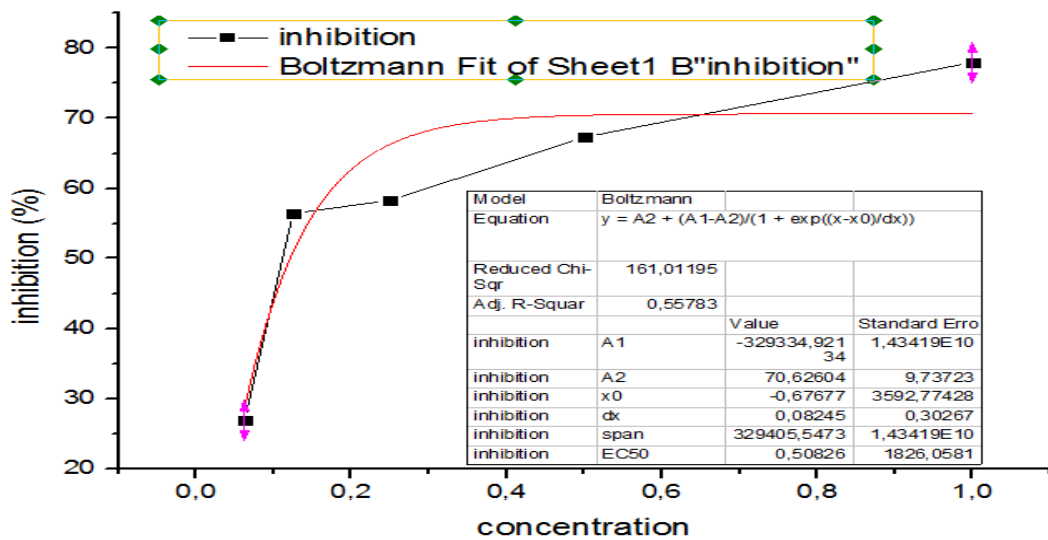
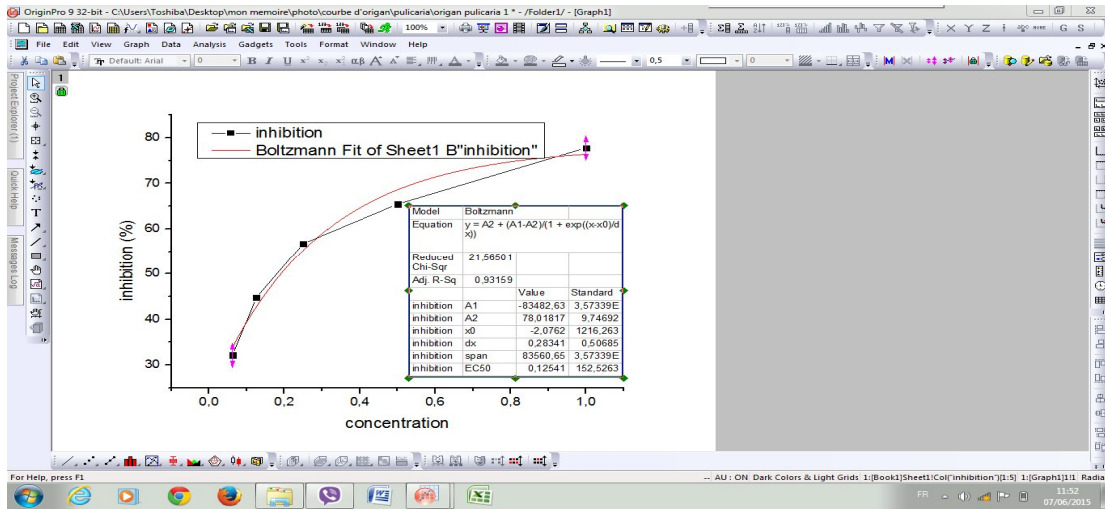
*Origanum vulgare*

*Origan/Vit E*

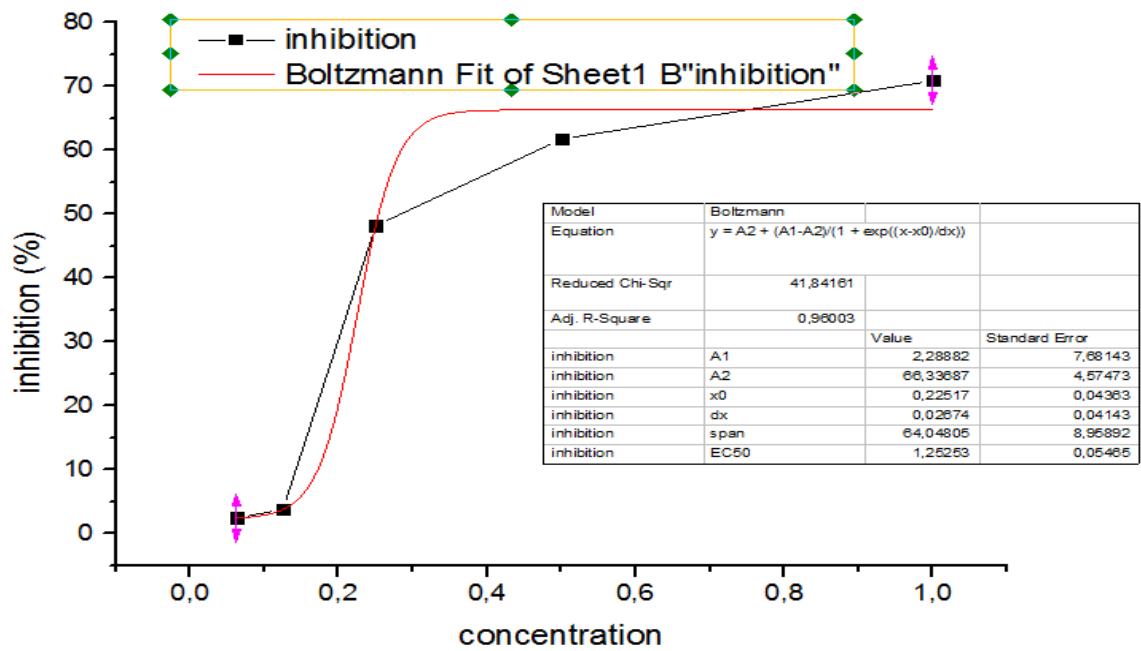
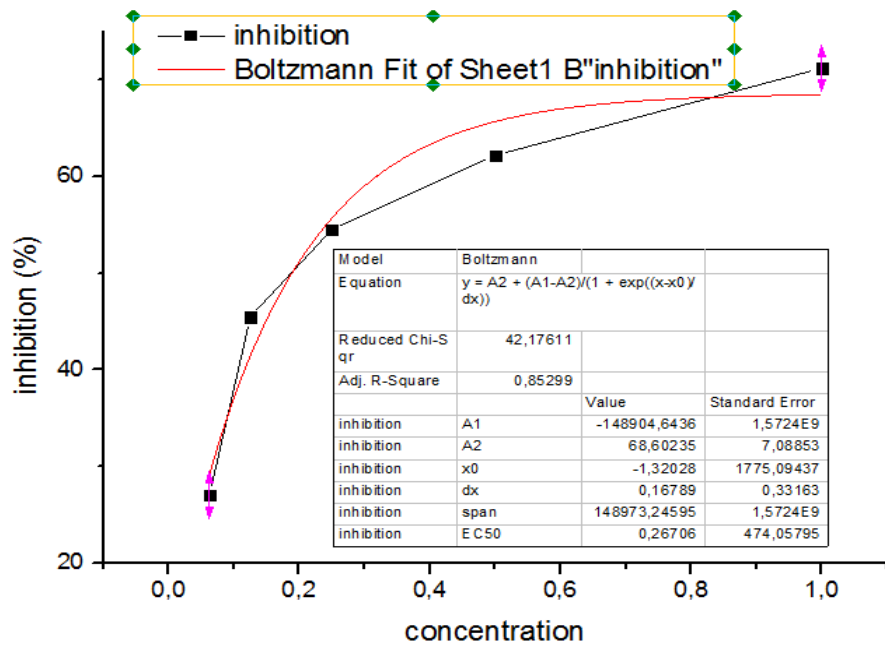


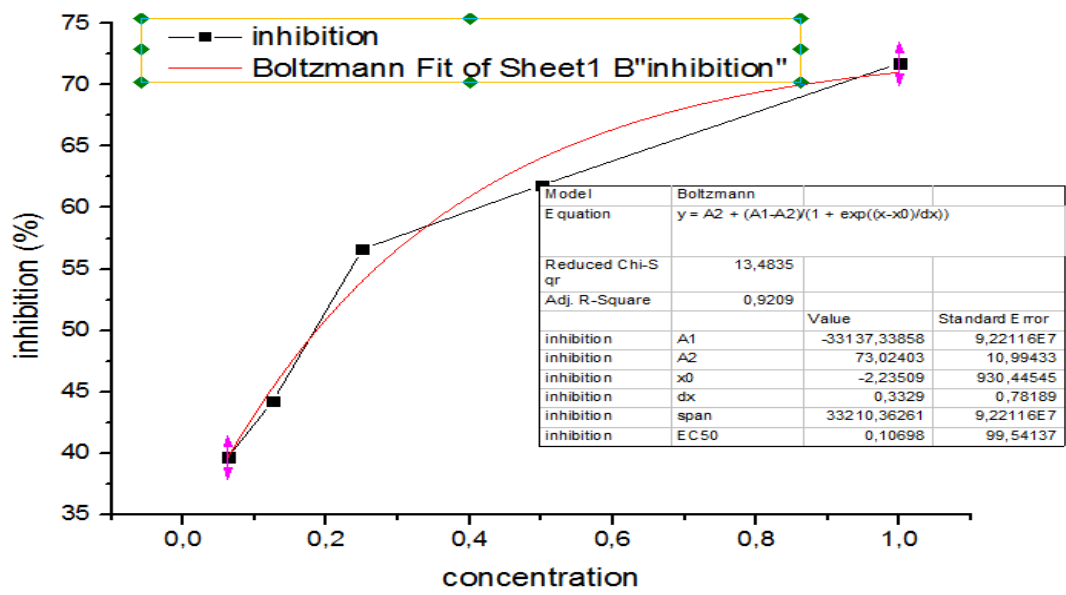


# HE origan/ POL *P.odora*

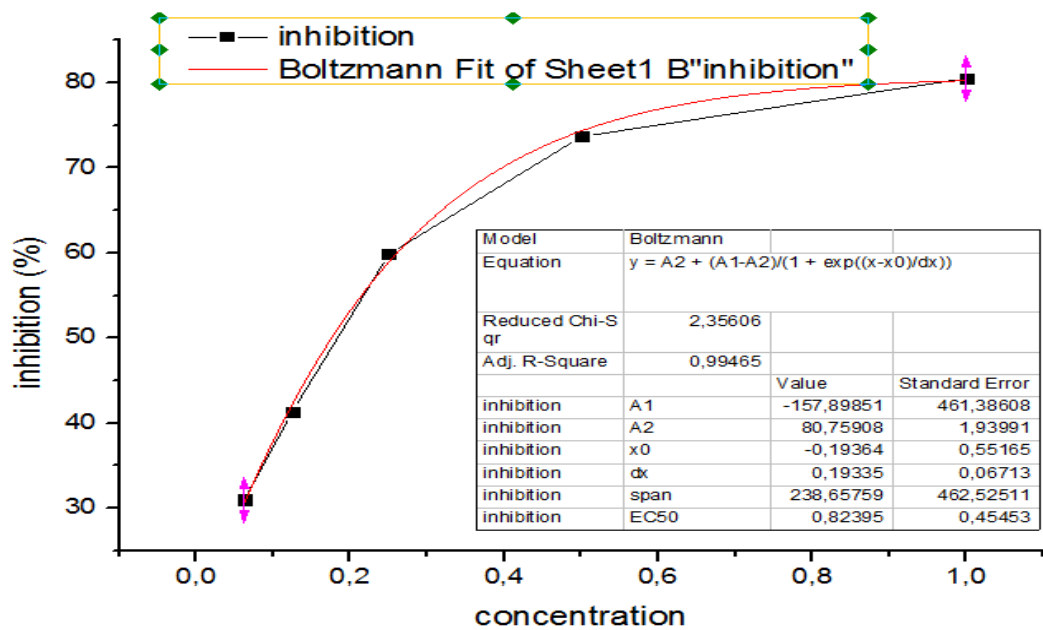


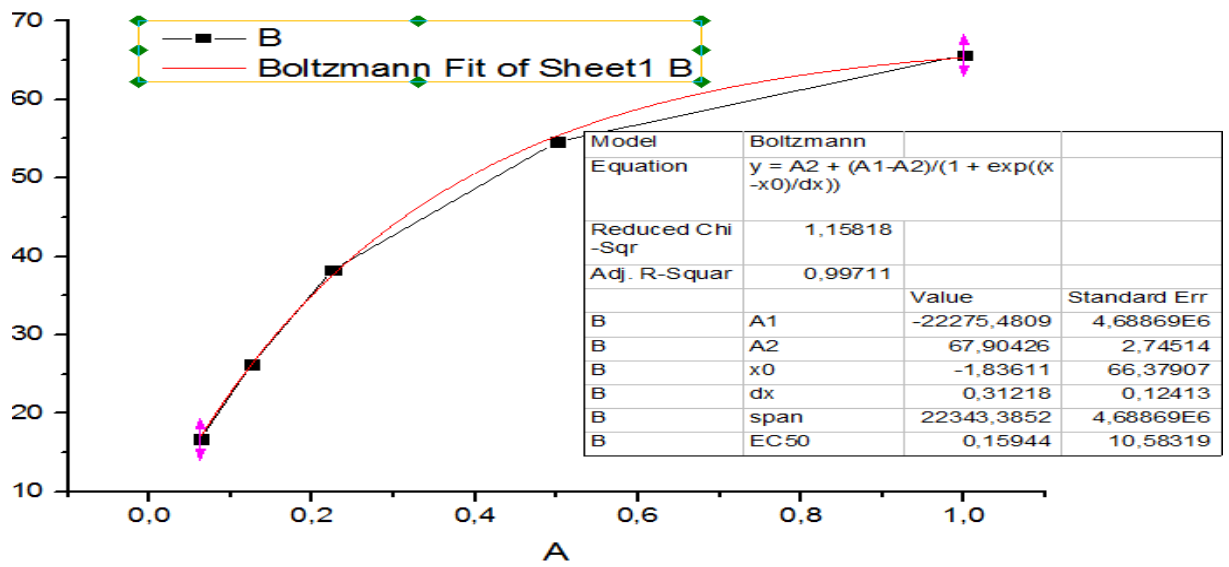
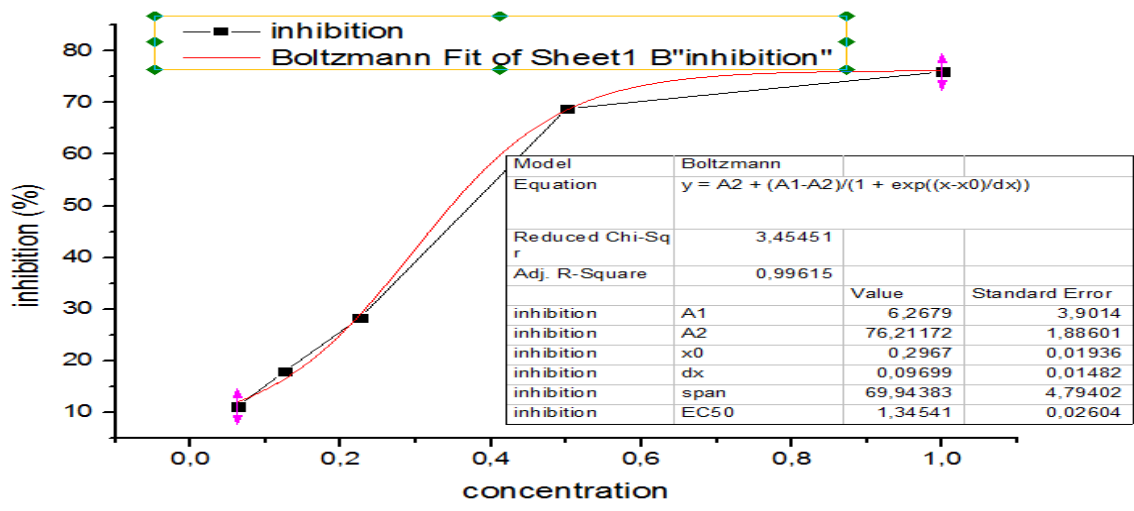
# HE organ/ thymol





HE origan/ *H. albus*





**Résumé :** La résolution du problème de la résistance aux antibiotiques, qui est en expansion, reste un grand défi pour traiter les maladies infectieuses. La synergie entre les molécules antioxydantes a aussi un grand intérêt surtout pour l'industrie alimentaire. Le but de ce travail est d'étudier l'activité antioxydante des deux huiles essentielles (HE) *Mentha aquatica* et *Origanum vulgare* et d'autres associations entre les huiles précitées et des composés phénoliques extraits à partir d'autres plantes et/ou le thymol et DL- $\alpha$ -tocophérol (Vit E) antioxydants de référence. L'activité antioxydante a été évaluée par la capacité de piégeage (réduction) du radical libre DPPH. HE de la menthe a montré une faible activité antioxydante ( $IC_{50} = 366.426\mu\text{g/ml}$ ). En revanche, l'HE d'origan a montré une très bonne activité antioxydante ( $IC_{50}=41.997\mu\text{g/ml}$ ) mais moins bonne que celle de POL *P. odora* ( $IC_{50}=30.793\mu\text{g/ml}$ ) et celle de Pol *H. albus* ( $IC_{50}=4.684$ ) et celle de vit E ( $IC_{50}=3.182\mu\text{g/ml}$ ). Une synergie a été observée entre HE d'origan et POL *P. odora* sur le piégeage du DPPH mais des effets antagonistes et indifférences sont obtenus avec d'autres associations.

**Mots Clés :** *Origanum vulgare*, *Mentha aquatica*, huile essentielle, antioxydant, DPPH, synergie.

---

**Abstract:** Solving the problem of antibiotic resistance, which is expanding, remains a great challenge to treat infectious diseases. The synergy between the antioxidant molecules also has a great interest especially for the food industry. The purpose of this work is to 'Designed antioxidant activity of both essential oils (EO) *Mentha aquatica* and *Origanum vulgare* and other associations between the aforementioned oils and phenolic compounds extracted from other plants and / or thymol and DL- $\alpha$ -tocopherol (Vit E) antioxidants reference. L'activité antioxydante was evaluated by the scavenging capacity (reduction) of the free radical DPPH. HE mint showed low antioxidant activity ( $IC_{50} = 366.426\mu\text{g} / \text{ml}$ ). In contrast, the oregano HE showed a very good antioxidant activity ( $IC_{50} = 41.997\mu\text{g} / \text{ml}$ ) but worse than that of P. POL odora ( $IC_{50} = 30\ 793\ \text{g} / \text{ml}$ ) and that of Pol H. albus ( $IC_{50} = 4.684\ \mu\text{g} / \text{ml}$ ) and that of vit E ( $IC_{50} = 3.182\ \mu\text{g} / \text{ml}$ ). A synergy was observed between ET and oregano POL *P. odora* trapping DPPH but antagonistic effects and indifference are obtained with other associations.

Keywords: *Origanum vulgare*, *Mentha aquatica*, Essential oil, antioxidant, DPPH, synergy.