

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ÉCOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE D'ALGER
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE



PROJET DE FIN D'ÉTUDE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME D'INGÉNIEUR EN GÉNIE CHIMIQUE

ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS ET DES HUILES ESSENTIELLES DE L'INULE VISQUEUSE

Saïda MESSAOUDI

Naïma LAHOUZI

Proposé et dirigé par : Pr. R. DERRICHE

Soutenu le 15 Juin 2015 devant le jury composé de :

M. E. H. BENYOUSSEF	Professeur à l'ENP	Président
M. A. SELATNIA	Professeur à l'ENP	Examineur
Mme Y. TCHOULAK	Maître assistante classe A à l'ENP	Examinatrice
Mme R. DERRICHE	Professeur à l'ENP	Promotrice
Mlle L. LOUCIF SEIAD	Maître de conférences classe B UMBB	Invitée

Promotion 2015

DÉDICACE

À ma chère mère et mon cher père, merci pour tous vos sacrifices. À mes sœurs Hassina, Djamila, Rachida, Hanane et mon frère Mourad, vous étiez toujours un soutien pour moi. À tous mes amis notamment Ikkal et Ouassaa, merci pour toute aide.

Saïda

À la mémoire de Yemma Tamerroucht. À ma famille : à mes parents, à mes frères et à mes sœurs, merci d'être là à tout moment, merci pour votre soutien infini et votre confiance indéfinie, pour tous les moments que nous avons vécu ensemble et ceux qui viendront. À tous mes amis et à tous ceux qui luttent au nom du « Savoir ».

Naïma

REMERCIEMENTS

Nous remercions en premier lieu Mme DERRICHE, notre promotrice dans ce travail, pour toutes les explications que nous avons reçues de sa part, pour le temps qu'elle nous a consacré pour compléter ce travail.

Nous sommes très honorées par la présence de Mr BENYOUSSEF. Nous vous remercions d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions également Mr SELATNIA, Mme TCHOULAK, Mlle LOUCIF SEIAD d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions Mlle AMROUCHE, doctorante au département génie chimique, nous avons reçu une aide précieuse de sa part pour avancer dans notre travail.

A tous ceux qui nous ont aidés, Merci.

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude est d'évaluer, en utilisant le test DPPH, l'activité antioxydante des huiles essentielles, des hydrolats et des extraits de l'inule visqueuse obtenus par différents procédés : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'extraction par solvant. Les teneurs en polyphénols ont été estimées pour les hydrolats et les extraits par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'hydrodiffusion conduit à des activités antioxydantes importantes notamment pour les hydrolats, les extraits avec l'acétate d'éthyle ont aussi montré une activité antioxydante intéressante. Cette dernière varie proportionnellement avec la teneur en polyphénols.

La matière végétale résiduelle de la distillation et de l'extraction par l'hexane a été valorisée par une seconde extraction par l'éthanol et l'acétate d'éthyle. Les activités antioxydantes obtenues sont d'un grand intérêt.

Mots clés : inule visqueuse, activité antioxydante, huile essentielle, hydrolat, extrait, polyphénols.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم، عن طريق اختبار محاصرة الجذور الحرة DPPH، النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية، ماء التقطير ومستخلصات نبتة الاينولا فيزكوزا التي تم الحصول عليها بطرائق مختلفة: التقطير بالبخار، التقطير المائي، الانتشار المائي والاستخلاص بالمذيبات. تم تحديد تركيز المركبات الفينولية في مياه التقطير والمستخلصات بطريقة فولين. أظهرت طريقة الانتشار المائي نشاطا هاما مضادا للأكسدة خاصة بالنسبة لمياه التقطير، المستخلصات بواسطة خلاص الإيثيل أظهرت أيضا نشاطا قويا مضادا للأكسدة. هذا الأخير يتناسب طرذا مع محتوى المركبات الفينولية. في هذه الدراسة قمنا كذلك بتثمين المواد النباتية المتبقية من عملية التقطير والاستخلاص بواسطة الهكسان، وذلك بعملية استخلاص ثانية بواسطة الايثانول و خلاص الإيثيل. النشاطات المضادة للأكسدة التي تم الحصول عليها كانت ذات أهمية كبيرة.

الكلمات المفتاحية: الاينولا فيزكوزا، النشاط المضاد للأكسدة، الزيوت الأساسية، مياه التقطير، المستخلصات، التقطير بالبخار، التقطير المائي، الانتشار المائي، الاستخلاص بالمذيبات، محتوى المركبات الفينولية.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess, using the DPPH assay, the antioxidant activity of *Inula viscosa*'s, essential oils, hydrosols and extracts obtained by several processes: steam distillation, water distillation, hydrodiffusion and solvent extraction. The total phenol contents in the extracts hydrosols were determined using the Folin-Ciocalteu method. The hydrodiffusion led to significant antioxidant activities especially for hydrosols, extracts with ethyl acetate also showed an interesting antioxidant activity. The latter varies proportionally with the polyphenol content.

The residual plant material from distillation and extraction by hexane has been valued by a second extraction with ethanol and ethyl acetate. The antioxidant activities obtained are of great interest

Key words: inula viscosa, antioxidant activity, essential oils, hydrosols, extracts, steam distillation, water distillation, hydrodiffusion, solvent extraction, total phenol content.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	I
REMERCIEMENTS	II
RÉSUMÉ.....	III
ABSTRACT	III
TABLE DES MATIÈRES	IV
LISTE DES TABLEAUX.....	VI
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS.....	IX
LISTE DES ANNEXES	IX
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 MATIÈRE VÉGÉTALE	2
1.1 Description botanique	2
1.2 Milieux et distribution.....	4
1.3 Culture et régénération	5
1.4 Composants et métabolites secondaires	5
1.5 Utilisations de l'inule visqueuse	5
CHAPITRE 2 GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LES EXTRAITS ..	7
2.1 Les huiles essentielles	7
2.2 Les hydrolats	8
2.3 Les extraits végétaux :.....	9
2.4 Les Polyphénols	10
CHAPITRE 3 GÉNÉRALITÉS SUR L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE.....	15
3.1 Stress oxydatif.....	15
3.2 L'oxydation dans les produits alimentaires.....	15

3.3	Mécanismes d'oxydation.....	16
3.4	Définition d'un antioxydant	17
3.5	Histoire des antioxydants	17
3.6	Modes d'action des antioxydants	17
3.7	Classification des antioxydants	17
3.8	Évaluation de l'activité antioxydante	18
CHAPITRE 4 ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES PLANTES AROMATIQUES		20
4.1	Activité antioxydante des huiles essentielles	20
4.2	Activité antioxydante des extraits	23
4.3	Activité antioxydante de l'hydrolat.....	25
CHAPITRE 5 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....		26
5.1	Matière végétale	26
5.2	Techniques d'extraction utilisées	26
5.3	Détermination des polyphénols totaux	29
5.4	Activité antioxydante et DPPH	31
CHAPITRE 6 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....		33
6.1	Huiles essentielles	33
6.2	Hydrolats	40
6.3	Extraits obtenus par extraction dans un Soxhlet	44
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		54
BIBLIOGRAPHIE		56
WEBOGRAPHIE.....		60
ANNEXES		62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Les principales propriétés et utilisations des différentes classes de polyphénols ...	14
Tableau 4.1: Valeurs du test ORAC pour divers aliments et différentes huiles essentielles (traduit)	20
Tableau 4.2: Résultats des derniers travaux effectués sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de la famille des Astéracées.	22
Tableau 4.3: Résultats des derniers travaux effectués sur les extraits de la famille Astéracée EM : extrait méthanolique, EHM : extrait hydrométhanolique, EE : extrait éthanolique, EA : extrait acétonique, EAE : extrait acétonique éthanolique.....	23
Tableau 5.1: Caractéristiques des lots récupérés de l'inule visqueuse.	26
Tableau 5.2: Conditions opératoires et résultats des essais d'extraction des HE de l'inule visqueuse.	27
Tableau 5.3: Conditions opératoires et résultats des essais d'extraction des extraits de l'inule visqueuse.	28
Tableau 6.1: Teneurs en polyphénols des hydrolats de l'inule visqueuse	41
Tableau 6.2: Valeurs de IC ₅₀ obtenus par le test DPPH pour les hydrolats de quelques plantes aromatiques provenant du Portugal	43
Tableau 6.3: Activités antioxydantes représentées par IC ₅₀ (mesurées par le test de DPPH) et teneurs en polyphénols des extraits de l'inule visqueuse.....	47
Tableau 6.3: Valeurs de IC ₅₀ et de TPT trouvées par les travaux antérieurs	48
Tableau 6.5: Activités antioxydantes représentées par IC ₅₀ (mesurées par le test de DPPH) et teneurs en polyphénols (TPT) des extraits obtenus par succession de solvants.....	50
Tableau 6.6: Activités antioxydantes représentées par IC ₅₀ (mesurées par le test de DPPH) et teneurs en polyphénols des extraits obtenus à partir des feuilles récupérées de l'EVE.....	52

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : L'inule visqueuse.....	3
Figure 1.2 : Les feuilles de l'inule visqueuse.....	4
Figure 1.3 : Les fleurs de l'inule visqueuse	4
Figure 2.1 : Principales catégories de polyphénols.....	11
Figure 3.1 : Présentation schématique du processus d'auto-oxydation	16
Figure 3.2 :Diphenylpicrylhydrazyl	30
Figure 3.3 : Diphenylpicrylhydrazyl.....	19
Figure 5.1 : Courbe d'étalonnage, absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon en équivalent d'acide gallique.....	30
Figure 5.2 : Schéma explicatif des expériences effectuées dans la présente étude.....	32
Figure 6.1 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°1)	34
Figure 6.2 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°2)	34
Figure 6.3 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°3)	34
Figure 6.4 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°4)	34
Figure 6.5 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (HD n°5)	35
Figure 6.6 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (HD n°6)	35
Figure 6.7 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (Hdiff n°7)	35
Figure 6.8 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (Hdiff n°)	35
Figure 6.9 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE obtenues par EVE, HD et Hdiff.	36
Figure 6.10 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE	47
Figure 6.11 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE.....	36
Figure 6.12 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE des PF et GF.....	37
Figure 6.13 : R(%) et AA(%) des HE des petites feuilles fraîches (HD n°5).....	50
Figure 6.14 : R(%) et AA(%) des HE des grandes feuilles fraîches (HD n°6).....	39

Figure 6.15 : R(%) et AA(%) des HE des petites feuilles sèches (EVE n°3).....	50
Figure 6.16 : R(%) et AA(%) des HE des grandes feuilles sèches (EVE n°4).....	39
Figure 6.17 : AA (%) de l'hydrolat obtenus par HD n°5 (PF fraîches)	52
Figure 6.18 : AA (%) de l'hydrolat obtenus par HD n°6 (GF fraîches).....	42
Figure 6.19 : AA (%) de l'hydrolat obtenus par EVE HD n°3 (PF sèches).....	52.
Figure 6.20 : AA (%) de l'hydrolat obtenus par EVE HD n°4 (GF sèches).....	42
Figure 6.21 : AA (%) de l'hydrolat obtenus par Hdiff HD n°8 (PF sèches).....	42
Figure 6.22 : AA (%) en fonction de la concentration (méthanol PF).....	45
Figure 6.23 : AA (%) en fonction de la concentration (éthanol PF)	45
Figure 6.24 : AA (%) en fonction de la concentration (acétate d'éthyle PF).....	45
Figure 6.25 : AA (%) en fonction de la concentration (acétone PF).....	45
Figure 6.26 : AA (%) en fonction de la concentration (hexane PF).....	46
Figure 6.27 : AA (%) en fonction de la concentration (acétate d'éthyle GF)	46
Figure 6.28 : AA (%) en fonction de la concentration (acétone GF).....	46
Figure 6.29 : AA (%) en fonction de la concentration (hexane GF).....	46
Figure 6.30 : Valeurs de IC ₅₀ des petites et grandes feuilles.....	49
Figure 6.31 : Teneurs en polyphénols des petites et grandes feuilles.....	49
Figure 6.32 : AA (%) en fonction de la concentration (Hexane suivi d'Éthanol).....	50
Figure 6.33 : AA (%) en fonction de la concentration (Éthanol suivi d'Hexane).....	50
Figure 6.34 : AA (%) en fonction de la concentration (distillation suivie d'extraction par éthanol).....	61
Figure 6.35 : AA (%) en fonction de la concentration (distillation suivie d'extraction par l'acétate d'éthyle.....	51
Figure 6.36 : AA (%) en fonction de la concentration (distillation suivie d'extraction par l'hexane)	51

LISTE DES SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

AA	Activité antiradicalaire
AAPH	2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid
Abs	Absorbance
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFNOR	Association Française de NORmalisation
BHT	butylhydroxytoluène
C	Concentration
Co	Cobalt
Cu	Cuivre
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG	Équivalent d'acide gallique
EC ₅₀	Concentration efficace médiane
EVE	entraînement à la vapeur d'eau
Fe	Fer
GF	Grandes feuilles
HD	hydrodistillation
Hdiff	hydrodiffusion
HE	huile essentielle
IC ₅₀	concentration inhibitrice médiane
ISO	International Standardization Organization
Mn	Manganèse
Ni	Nickel
ORAC	Oxygen radical absorbance capacity
PF	Petites feuilles
Ppm	Partie par million
TE	Trolox équivalent
TPT	Teneur en polyphénols totaux
UV	Ultraviolet

LISTE DES ANNEXES

Annexe A – Distribution des différentes familles de la flore.....	62
---	----

INTRODUCTION

Actuellement les termes « oxydation » et « stress oxydatif » sont devenus très fréquents dans divers domaines. En effet, le stress oxydatif est à l'origine de plusieurs maladies tels que le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires. La détérioration des produits alimentaires engendrée par l'oxydation des lipides est aussi une difficulté à laquelle les industries agroalimentaires font face constamment.

Durant cette dernière décennie, la recherche de nouveaux antioxydants naturels comme alternatifs aux antioxydants synthétiques a suscité un grand intérêt dans les travaux scientifiques. Ces derniers ont montré que les plantes aromatiques sont une source potentielle d'antioxydants naturels dont l'activité peut dépasser celle des antioxydants synthétiques.

Dans cette perspective, nous nous sommes intéressées à l'inule visqueuse, plante utilisée traditionnellement dans divers domaines. Actuellement, des études s'intéressent de plus en plus à ses propriétés biologiques (antifongiques, antibactériennes), cependant la bibliographie rapporte très peu de publications concernant son activité antioxydante, d'où notre intérêt à l'étude de cette propriété.

Le présent travail a pour objectif l'étude du potentiel antioxydant des huiles essentielles (HE), des hydrolats et des extraits de l'inule visqueuse obtenus par différents procédés : l'entraînement à la vapeur d'eau (EVE), l'hydrodistillation (HD), l'hydrodiffusion (Hdiff), l'extraction par solvants polaires et apolaires. Nous avons aussi quantifié les composés phénoliques présents dans ces hydrolats et ces extraits.

Nous proposons deux parties pour mener cette étude, la première est une synthèse bibliographique portant sur la présentation de la matière végétale, des généralités sur les différents extraits des plantes, description du processus d'oxydation et l'activité antioxydante des plantes aromatiques. Dans la deuxième partie nous décrivons les protocoles utilisés pour la détermination de l'activité antioxydante et de la teneur en polyphénols, suivis des résultats des analyses et leurs interprétations.

CHAPITRE 1 MATIÈRE VÉGÉTALE

Introduction

La plante médicinale *Inula viscosa* (L.) a été considérée depuis des milliers d'années comme l'une des plus importantes plantes médicinales en Algérie et dans sa zone d'origine autour du bassin méditerranéen, une plante étonnante de nombreux usages médicinaux.

Avec plus de cent espèces, ce genre est retrouvé en Asie (20 espèces sont distribuées en Chine), en Afrique et en Europe, particulièrement dans la région méditerranéenne [1].

Les inules sont connues, depuis longtemps, pour leurs divers aspects phytothérapeutiques, elles furent utilisées pour soigner la tuberculose, l'asthme, la bronchite, l'hypertension, les douleurs rhumatismales, les maladies de la vessie et plein d'autres malaises. Actuellement, les chinois sont les premiers à utiliser ces plantes suivis des iraniens et des jordaniens. Les israéliens ont créé un institut de recherche dédié rien que pour les espèces du genre inula.

L'étude menée par *SECA et al* [1] a montré que le genre inula est riche en composés sesquiterpénoïques (Près de 400 sesquiterpénoïdes ont été isolés) notamment les lactones eudemanolides, en flavonoïde, en acide quinique, en thymol, et en inulavosin.

L'inule visqueuse [*Dittrichia viscosa* (L.)], connue localement sous le nom de "Amagraman", est l'une des espèces les plus actives appartenant à ce genre, elle fut utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies et malaises.

1.1 Description botanique

❖ Présentation de la plante

L'inule visqueuse est une plante vivace, exhalant une odeur forte, à tiges presque ligneuses dans leur partie inférieure, dressées, raides, très feuillées. Elle peut atteindre 150 cm de hauteur, croît en touffes et forme comme de petits buissons dans les endroits incultes, pierreux ou parmi les bois de pins, dans la région méditerranéenne. [1,2] **Site web**, [2].



Figure 1.1 : L'inule visqueuse

❖ **Classification botanique [1] Site web**

Nom scientifique : *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter [= *Inula viscosa* (L.) Aiton]

Famille : Astéracées

Ordre : Astérales

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-espèces : *Inula viscosa* subsp. *Revoluta* (elle pousse uniquement au Portugal)

Inula viscosa var. *angustifolia* (elle pousse en Méditerranée) [4].

Elle est connue au Maghreb sous les noms vernaculaires : Mersitt, Terhalâ, Mâgrâmân, Bagramane ou encore Amagramane.

❖ **Structure de la plante**

L'inule visqueuse se caractérise par une forme de croissance droite verticale à partir de la terre, ses racines peuvent être assez importantes d'une longueur spécifique de 116 cm/g. Elle a une tige droite, avec des bifurcations qui commencent du bas de la tige. Les branches sont nombreuses et inclinées, et la partie aérienne est très dense [4].

Feuilles

Les feuilles sont d'une forme allongée, pointues au sommet, pouvant atteindre des dimensions de 7 x 1,8 cm, une épaisseur moyenne de 197 µm, et une surface spécifique moyenne

de 502 cm²/g [4]. Elles sont caractérisées par leur contour dentelé et la présence de poils glandulaires qui libèrent une résine odoriférante et collante [1] **Site web**. Les feuilles sont situées généralement à côté ou en dessous des fleurs.



Figure 1.2 : Les feuilles de l'inule visqueuse

Fleurs

Les fleurs de l'inule visqueuse sont d'une couleur jaune et sont rassemblées en grappes composées, elles possèdent une odeur douce et aromatique. Elles sont constituées de nombreux pétales (entre 12 et 18), ce nombre de pétales dépend de la taille de la fleur variant entre 20 à 22 mm en moyenne [1] **Site web**, [4].



Figure 1.3 : Les fleurs de l'inule visqueuse

Fruits et graines

Le fruit, de couleur marron ou beige, est un ensemble d'akènes de structures sphériques attachés à un réceptacle commun. Les grains sont de couleur brun clair et de 2 mm de long, ils varient entre 40 et 50 par fruit [1] **Site web**.

1.2 Milieux et distribution

L'inule visqueuse se rencontre dans les lieux incultes surtout à l'est de l'Asie et en région méditerranéenne : bords de chemins, décombres, terrains abandonnés, jachères, arrière dunes ou

garrigues bien ouvertes. C'est une plante hémicryptophyte¹ qui peut s'adapter aux climats secs et chauds de l'été [5].

En Algérie, l'espèce est localisée en général dans les régions de moyenne altitude du tell, dans les terres garrigues et rocailleuses ainsi que dans les terrains argileux humides [6].

1.3 Culture et régénération

La reproduction se fait via les graines qui sont dispersées par le vent, l'eau ou au cours du mouvement du sol [7].

L'inule visqueuse est connue pour être une plante sauvage, cependant, un intérêt est porté dernièrement à la culture de cette plante. L'inule visqueuse demande un sol argileux, frais et ombragé, la meilleure période pour la planter est le début de l'automne, avant l'arrivée des pluies. Les pluies automnales suffisent alors à l'arrosage, et il n'y a pas besoin de suivi d'irrigation [8].

1.4 Composants et métabolites secondaires

L'inule visqueuse produit des sucres solubles, de l'amidon, des lipides, et de l'azote. Les trois premiers sont fortement produits au printemps et en été, quant à l'azote, les concentrations les plus élevées sont enregistrées en hiver [9, 10].

L'inule visqueuse est aussi riche en métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les sesquiterpènes et les huiles essentielles, plus de 80 huiles ont été identifiées dans les fleurs et les feuilles. Les composants majeurs trouvés sont Bornéol, Cadinene, Eudesmol, Cadinol, Fokienol, Oxyde de Caryophylène et Acide isocostique [11].

1.5 Utilisations de l'inule visqueuse

❖ Aspect pharmacologique

L'inule est une plante très anciennement connue, elle a été utilisée du moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées. Elle a un effet antiseptique au niveau des appareils respiratoires et génito-urinaire et utilisée dans le traitement des leucorrhées. En Algérie, elle est utilisée dans la médecine populaire pour traiter les blessures et comme antipyrétique en tisanes ou en bains dans la lutte contre le paludisme. Au Maroc, elle est utilisée pour traiter l'hypertension et la bronchite. Au Moyen Orient, elle est utilisée dans le traitement de l'anémie et du cancer. En

¹ Plantes vivaces dont les bourgeons persistant durant la mauvaise saison sont situés au niveau du sol. En d'autres mots, leurs parties aériennes meurent entièrement durant la mauvaise saison [3] **Site web.**

Italie, l'inule visqueuse est appliquée principalement pour soigner les irritations de la peau d'origine allergique et du psoriasis [1,12].

Les extraits de l'inule visqueuse possèdent également :

- Une activité anti-inflammatoire due à la présence des sesquiterpénoïdes et permettant de guérir les maladies liées à la peau ;
- Une activité antiradicalaire, les extraits protègent contre la peroxydation des lipides et neutralisent les radicaux superoxydes, ils ont aussi des effets antiulcero-géniques et abortifs ;
- Une activité antifongique, antidiabétique, antipyrétique, antiphlogistique, antiviral et antiseptique [13]. *Akkawi et al* ont montré récemment que l'extrait de l'inule visqueuse possède une forte activité anti-paludisme [14].

❖ **Application dans la parfumerie**

Le bornéol, l'acétate de bornyle et l'acétate d'isobornyle sont des ingrédients utilisés dans les parfums qui peuvent être isolés à partir des huiles essentielles et des oléorésines de l'inule visqueuse [15].

❖ **Lutte contre la pollution des sols**

Les résultats de l'étude effectuée par *Conesa et al* dans les marais méditerranéens pollués par les déchets miniers, ont montré la grande capacité de cette plante à absorber les métaux lourds et l'arsenic. Parmi 21 espèces analysées, l'inule visqueuse enregistre les concentrations les plus élevées (~270 mg/kg Pb, ~640 mg/kg Zn, ~23 mg/kg As) [16]. Ces auteurs proposent alors à l'utiliser comme plante décontaminante des sols pollués.

❖ **Lutte biologique**

L'inule visqueuse peut être utilisée comme plante accompagnante car elle améliore la défense chimique des autres plantes cultivées grâce à ses caractéristiques allélopathiques [9], elle peut aussi être utilisée comme plante d'insectarium car elle attire et retient des populations d'ennemis naturels et de ravageurs grâce à sa longue période de floraison et sa forte odeur [17].

❖ **Inhibiteur de corrosion**

Nawafleh et al ont montré que l'extrait de l'inule visqueuse inhibe la corrosion du cuivre, l'efficacité de l'inhibition a atteint 86,49% avec 7 mL de l'extrait, ces auteurs ont constaté que le taux d'inhibition augmente avec la concentration de l'extrait et la température [18].

CHAPITRE 2 GÉNÉRALITÉS SUR LES HUILES ESSENTIELLES ET LES EXTRAITS

2.1 Les huiles essentielles

Cette section a été développée dans une précédente étude [19], nous nous contentons ici de quelques rappels sur les HE.

L'HE est définie par la norme AFNOR/ISO comme étant un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche.

Très volatiles et entraînés à la vapeur d'eau, les HE ne rancissent pas, sont solubles dans l'huile végétale, dans l'alcool et dans les solvants organiques, mais peu solubles dans l'eau. Elles sont très sensibles à la lumière et à l'oxygène de l'air, elles doivent ainsi être conservées à basse température entre 8 °C et 25 °C, dans l'obscurité et dans un récipient opaque bien bouché.

Elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques : le bois, les branches, les fleurs et/ou sommités fleuries, le rhizome, l'écorce, les graines, les fruits, les feuilles, les tiges, les racines... Cependant, le degré de concentration en HE est en général de l'ordre de 1 à 3 % à l'exception de quelques plantes qui atteignent de 10 à 20%.

Les HE sont composées de deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenylpropane.

Les terpènes de la formule générale $(C_5H_8)_n$, issus d'une voie métabolique secondaire, sont des hydrocarbures de structures très diverses : acycliques, monocycliques, bicycliques..., portant parfois différentes fonctions. On distingue plusieurs classes de terpènes selon le nombre d'unités isoprènes : les monoterpènes en C10 ($n=2$), les sesquiterpènes en C15 ($n=3$), les diterpènes en C20 ($n=4$), les sesterpènes en C25 ($n=5$), les triterpènes en C30 ($n=6$), les tetraterpènes en C40 ($n=8$) et les polyterpènes ($n>50$).

Compte tenu de leur mode d'extraction, les HE peuvent aussi renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés à la vapeur d'eau, de chaîne linéaire ou ramifiée, saturés ou non et portant différentes fonctions. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés.

La composition chimique des HE varie en fonction de :

- L'espèce productrice.

- L'organe producteur chez une même espèce.
- Le stade de développement botanique de la plante et les saisons.
- Les conditions de croissance : la situation géographique, la nature du sol, le climat, la lumière et la température.
- Le mode d'extraction.

Elles présentent plusieurs activités biologiques et thérapeutiques : des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiseptiques, antiparasitaires, antivirales, anti-inflammatoires, antispasmodiques, antioxydantes, cicatrisantes, circulatoires, antiarythmiques, digestives, régulation métabolique, désodorisant et purifiant, calmant et facilitant le sommeil.

On constate de nos jours une augmentation significative de l'utilisation des HE dans divers domaines : les industries agro-alimentaires, les industries chimiques, l'industrie pharmaceutique, cosmétique...

- **En parfumerie**, les HE à l'état dilué, sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes.
- **En pharmacie**, les HE sont utilisées en thérapeutique possèdent des propriétés pharmacologiques. La tendance actuelle serait l'utilisation bénéfique de l'activité antiseptique, notamment, pour purifier l'air atmosphérique dans les centres de soins par diffusion d'HE dans l'air. Souvent, elles sont aussi rajoutées dans la formulation des spécialités pharmaceutiques, pour masquer le mauvais goût des médicaments et pour donner un caractère plus agréable à leur consommation.
- **En agroalimentaire**, les HE sont utilisées comme rehausseurs de goût et pour améliorer la saveur des produits alimentaires élaborés (jus de fruits, pâtisserie) ou comme conservateurs.
- **Dans l'industrie chimique**, il est possible d'isoler des molécules d'intérêt des HE, soit pour un usage ultérieur en tant que produit naturel, soit pour la réalisation d'hémisynthèses avec l'obtention finale de nouvelles molécules, économiquement plus rentables.

2.2 Les hydrolats

Traités au départ comme un déchet de la distillation des HE, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus présents sur le marché des produits naturels. En effet, un hydrolat est un distillat aqueux récupéré après l'extraction des HE par EVE. Il peut se conserver pendant un an dans des flacons à l'abri de la lumière, à une température ambiante ne dépassant pas 15 °C.

Les hydrolats contiennent les mêmes composés chimiques (les principes actifs hydrophiles, une très faible quantité d'HE, des oligo-éléments et les mucilages) que les HE avec

des teneurs différentes [20]. Tous les composés contenus dans l'hydrolat se trouvent forcément dans son HE [21].

Malgré leur faible proportion en principes actifs, ils présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes : activités antibactérienne [22] et antifongique [23]. Certains hydrolats ont montré une activité bactériostatique très intéressante due à la présence de carvacrol et de thymol, qui sont deux phénols monoterpéniques connus pour leur activité antibactérienne. Certaines plantes sont distillées uniquement pour leur hydrolat comme par exemple *Hamamelis virginiano* L. dont le distillât de feuilles et de rameaux floraux est un composant fréquent de produits dermatologiques grâce à ses propriétés désinfectantes et astringentes. Ils sont fréquemment utilisés dans la composition de certains produits cosmétiques, comme arômes alimentaires ou comme ingrédients dans les recettes de cuisines et dans la composition de boissons.

2.3 Les extraits végétaux :

Cette section a été développée dans une précédente étude [24], nous nous contentons ici de quelques rappels sur les extraits.

Les extraits végétaux sont des préparations obtenues par l'action extractive d'un solvant approprié sur une plante ou une partie de plante, le plus souvent sèche et broyée. Ils contiennent les composés de la plante solubilisés par le solvant utilisé [3] **Site web**.

2.3.1. Les oléorésines : concrètes et résinoïdes

Les extraits obtenus à l'aide de solvants organiques volatils sont plus complets que les huiles essentielles car ils contiennent non seulement les composés volatils mais aussi d'autres constituants qui n'étaient pas entraînés par la vapeur d'eau (triglycérides, cires, colorants de nature lipidique et composés sapides). Les oléorésines regroupent deux types de produits selon l'état de la matière végétale utilisée :

Les concrètes : Extraits à odeur caractéristique, obtenus à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par des procédés physiques.

Les résinoïdes : Extraits à odeur caractéristique, obtenus à partir d'une matière première sèche d'origine naturelle, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux.

Le terme "oléorésine" désigne indifféremment l'un ou l'autre de ces deux extraits [25], [4] **Site web**.

2.3.1 Composition chimique et utilisations

Les extraits végétaux sont riches en métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les polyphénols et les terpènes et leurs dérivés. Ils contiennent aussi d'autres composés du métabolite primaire comme les glucides (oligosides, monosides et dioses), les peptides, les acides aminés.

Les extraits de plantes rassemblent tous les composés actifs dans un volume réduit, ils sont utilisés, en premier lieu, dans la pharmacologie pour préparer les médicaments ou simplement comme compléments alimentaires [13]. L'agroalimentaire est le deuxième secteur utilisant les extraits végétaux : ils sont utilisés comme agents aromatisants, colorants, conservateurs grâce à leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires [26], [10] **Site web**. Le secteur cosmétique vient en 3^{ème} position dans l'utilisation des extraits végétaux, ils sont employés dans presque toute la gamme de produits de soin pour le corps (des crèmes aux shampooings). Les extraits végétaux sont aussi utilisés dans d'autres secteurs comme la nutrition (compléments alimentaires), la chimie verte, les biomatériaux et inhibiteurs de corrosion [11, 12] **Site web**.

2.4 Les Polyphénols

2.4.1 Introduction

Le terme « *polyphénol* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. La désignation générale « *composés phénoliques* » concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols.

Les polyphénols sont des métabolites secondaires, des molécules indirectement essentielles dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel [26] : ils participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes.

Ils sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles aromatiques portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Leur structure varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) dont la masse moléculaire peut atteindre 9000 [27]. En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques isolés et identifiés [29].

2.4.2 Classification des polyphénols

Les polyphénols possèdent plusieurs groupement phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (alcoolique OH, carboxylique COOH...)

Ils sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature et présentent une grande diversité de structures, divisées en plusieurs classes :

- Les flavonoïdes :
 - * Les flavones
 - * Les flavonols
 - * Les flavanones
 - * Les flavanols
 - * Les anthocyanes
- Les non flavonoïdes :
 - * Les acides phénoliques
 - * Les tanins
 - * Les stilbènes
 - * Les lignanes et les lignines
 - * Les coumarines.

Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles sur le squelette de base [28].

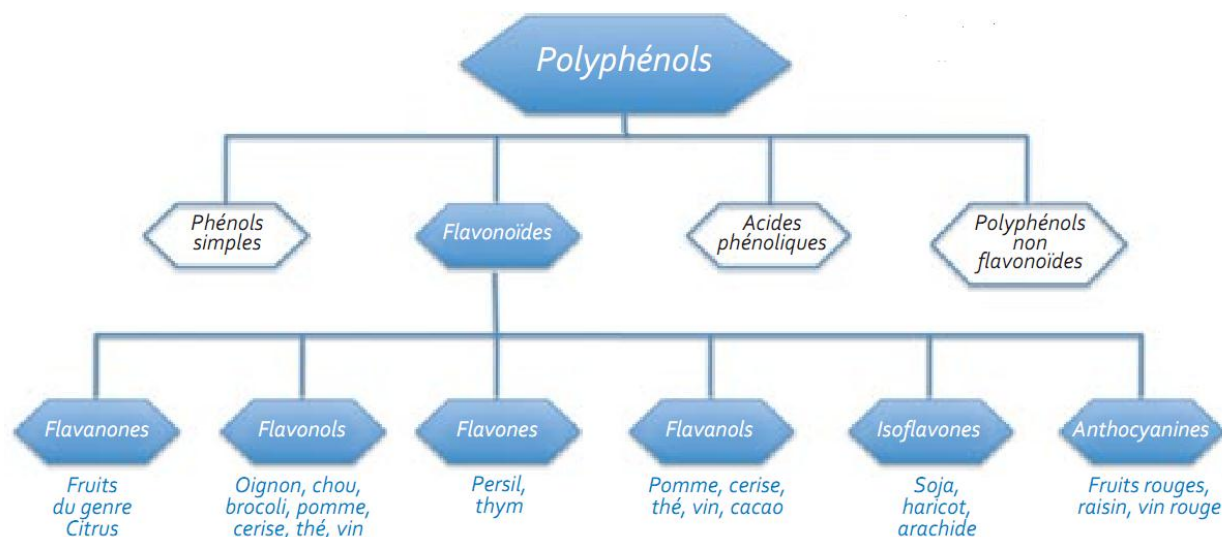


Figure 2.1: Principales catégories de polyphénols

2.4.2.1 Les flavonoïdes

Pour certains auteurs, le nom « flavonoïde » provient du terme « flavedo », qui signifie la couche externe des écorces d'orange, pour d'autres il vient du terme « flavus » qui veut dire jaune [30]. En effet, Ces molécules sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [31], assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets.

Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus [28]. Ayant une origine biosynthétique commune, ces composés phénoliques ont ainsi la même structure chimique de base : un squelette carboné de 15 atomes de carbones constitué de 2 cycles aromatiques qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3. Des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule.

Ils se répartissent en quinze familles de composés, dont les plus importantes sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, isoflavones, isoflavanones, chalcones, aurones et anthocyanes qui sont présents dans toutes les parties des végétaux : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens [31, 32].

2.4.2.2 Les acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acides phénoliques :

- Les dérivés de l'acide benzoïque : ils ont une structure de base de type (C6-C1) et existent sous forme libre ou combinés à l'état d'ester ou de glycoside [8] **Site web**. Les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique.
- Les dérivés de l'acide cinnamique : ils ont une structure de base de type (C6-C3) et existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules [8] **Site web**. Les plus répandus sont l'acide caféique et l'acide férulique.

2.4.2.3 Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxy-cinnamiques (C6-C3) par cyclisation interne de la chaîne latérale. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin [28]. Ils ont fréquemment un rôle écologique ou biologique.

2.4.2.4 Les stilbènes

Ce sont des phytoalexines qui possèdent la structure C6-C2-C6. Ces composés sont produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux [28]. Ils se trouvent en petites quantités dans les aliments humains, parmi ces composés on trouve le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales,

2.4.2.5 Les lignanes et les lignines

Les monolignols sont les dérivés de l'acide cinnamique, ils servent de précurseurs pour les composés de types phénylpropanoïdes tels que les lignanes et les lignines.

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C6-C3). Leur distribution botanique est large, plusieurs centaines de composés ont été isolés dans environ soixante-dix familles, ils se trouvent essentiellement dans les graines d'oléagineux [28].

Les lignines sont des composés de haut poids molécules contribuant à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation de trois alcools phénylpropéniques [27].

2.4.2.6 Les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires phénoliques polymériques hydrosolubles de masse moléculaire variant de 500 à 3000, caractérisés par la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, les glucides, les enzymes digestives, les métaux lourds et d'autres protéines [28].

On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques :

- **Tanins condensés** : Leur structure est voisine de celle des flavonoïdes et caractérisée par l'absence de sucre, en effet, ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone [28]. En s'hydrolysant dans des conditions fortement acides, ils donnent des anthocyanidines.
- **Tanins hydrolysables** : Ce sont des polyesters de glucides et d'acides phénoliques [29] qui sont l'acide gallique (tanins galliques) et l'acide élлагique (tanins élлагiques). Leurs polymères sont appelés des tannoïdes. Ils sont facilement hydrolysables par voie chimique (hydrolyse acide et basique) et sous l'action enzymatique et de l'eau chaude.

2.4.3 Rôle et intérêt des composés phénoliques

2.4.3.1 Chez les végétaux

Les polyphénols sont impliqués dans plusieurs fonctions. En effet, ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines permettant d'attirer les insectes et oiseaux pollinisateurs et les disperseurs de graine. De plus, ils représentent un système de défense contre les micro-organismes pathogènes et protègent les plantes des radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées [28]. Ils interviennent aussi dans la fertilité des plantes, la germination du pollen et le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance.

2.4.3.2 Chez les êtres humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies, le tableau montre les principales propriétés et utilisations des différentes classes de polyphénols.

Tableau 2.1: Les principales propriétés et utilisations des différentes classes de polyphénols [28].

Composé phénolique	Rôle
Acides phénoliques	Antibactérien, antiulcéreux, antiparasite, antifongique, antioxydant, antipyrétique
Coumarines	Anti-inflammatoire, antiparasite, analgésique, antiœdémateux, vasculoprotecteur, neurosédatif, diurétique
Flavonoïdes	Anti-tumoral, antiparasite, antibactérien, anti-carcinogène, anti-inflammatoire, analgésique, antiviral, diurétique, antioxydant, antiallergique, neurosédatif, antispasmodique, lutte contre la sénescence cérébrale
Anthocyanes	Antioxydant, trouble de fragilité capillaire, amélioration de la vision nocturne, diurétique
Stilbènes	Lutte contre le cancer de prostate
Tanins	Pouvoir astringent, vasculoprotecteur, cicatrisant, anti-diarrhéique

CHAPITRE 3 GÉNÉRALITÉS SUR L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

Introduction

L'oxygène est essentiel au fonctionnement normal de tout le système aérobie, cependant, au milieu des années 50, Gerschman a montré qu'il présente également une toxicité pour l'organisme. En effet, il peut générer des éléments réactifs instables [33], qui sont responsable d'un nombre de processus d'oxydation suivi de mauvaises conséquences, ce qui a poussé les scientifiques à chercher des substances pouvant diminuer éliminer cette action.

3.1 Stress oxydatif

Selon la théorie du vieillissement de Harman « le stress oxydatif est un processus selon lequel des molécules très réactives liées à l'oxygène, en abîmant à chaque instant nos molécules les plus vitales, finissent par nous rendre malades ou nous faire mourir à petit feu » [9] **site web**. Il cause d'innombrables maladies (cancer, cataracte, vieillissement accéléré...) et est déterminant dans l'apparition de maladies plurifactorielles (Alzheimer, Parkinson, diabète...) [34, 35].

3.1.1 Les radicaux libres

Ce sont des atomes, ou un groupe d'atomes, avec un nombre impair d'électrons, et ils peuvent se former quand l'oxygène interagit avec certaines molécules. Les radicaux libres réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité [36].

3.1.2 Formation des radicaux libres

La production des radicaux libres nocifs au cours du métabolisme normal augmente lors de l'exposition à des agressions de l'environnement (infection, fumée de cigarette, pollution, rayonnement). Lorsqu'ils ne sont pas neutralisés par le système de défense antioxydant de l'organisme, ils engendrent le stress oxydatif : déséquilibre entre la production et la neutralisation des radicaux libres [36].

3.2 L'oxydation dans les produits alimentaires

Les radicaux libres peuvent entraîner la détérioration des aliments par oxydation ou par réaction avec les vitamines (vitamine E) (modification de goût, d'odeur, de couleur et de stabilité en stockage, la qualité nutritionnelle) [36].

3.3 Mécanismes d'oxydation

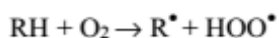
La phase de déclenchement : où se forme un premier radical libre. Cette étape est lente et la concentration du radical libre est faible au début [Figure 3.2]. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur que par les rayonnements ou les catalyseurs [37]. Des traces de métal dans l'aliment (< 0,5 ppm) suffisent pour déclencher l'oxydation.

La phase de propagation : où l'oxygène fixé donne facilement un radical peroxyde, cette réaction est rapide et la concentration en radicaux peroxydés augmente très rapidement. Selon le degré de saturation du lipide, le radical peroxydé (ROO·) peut être dissocié en hydroxyle radicalaire (HO·) et alkoxy (RO·) ; cette phase s'appelle liaison (Branching) [38]. L'hydroxyle radicalaire, extrêmement réactif, attaque toute espèce dans son entourage et conduit à des milliers de radicaux libres et accélère le processus d'oxydation.

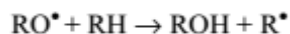
La décomposition des hydroperoxydes donne lieu à la formation de produits volatils capable de donner une odeur inacceptable pour l'aliment [39]. Les produits d'oxydation secondaires participent à plusieurs réactions (oxydation, décomposition, polymérisation) et affectent négativement la couleur, la texture, et la qualité de l'aliment et produisent une désactivation des enzymes [40].

La phase de terminaison : où se recombinent différents radicaux formés.

Réaction d'initiation : Formation des radicaux peroxy (ROO[•]), alkoxy (RO[•]) ou alkyl (R[•]).



Réaction de propagation



Réaction de Liaison



Réaction de Terminaison

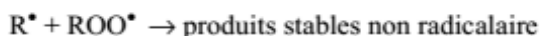


Figure 3.1 : Présentation schématique du processus d'auto-oxydation [40].

3.4 Définition d'un antioxydant

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques [41]. L'antioxydant idéal, est facilement incorporable et efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et stable dans le produit fini.

3.5 Histoire des antioxydants

À la fin du XIXe siècle, leurs propriétés des antioxydants ont été largement étudiées pour leur utilisation dans les procédés industriels afin de réduire la corrosion des métaux, la vulcanisation du caoutchouc et la polymérisation des carburants dans les moteurs à explosion.

En biologie, les premières recherches sur les antioxydants concernèrent la réduction de l'oxydation des acides gras insaturés. Cependant, ce n'est qu'avec l'identification des vitamines A, C et E qu'est apparue leur importance dans la biochimie des organismes vivants [10] **Site web**. En 1969, McCord et Fridovich ont isolé à partir de globules rouges humains un système enzymatique pouvant éliminer un radical libre présent dans les organismes vivants (anion superoxyde) [42] et les mécanismes possibles des antioxydants ont été étudiés à partir du moment où l'on a compris qu'une substance antioxydante devait être elle-même facilement oxydable [11] **Site web**.

3.6 Modes d'action des antioxydants

Action préventive qui empêche l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou en déviant de l'aliment des effets de lumière ou des rayonnements.

Action en tant qu'agent de terminaison (piégeage de radicaux), les antioxydants transforment les radicaux en composés plus stables et bloquent la phase de propagation. [37].

3.7 Classification des antioxydants

3.7.1 Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques (BHT, BHA, TBHQ...) sont utilisés depuis longtemps, mais beaucoup d'études récentes ont porté sur leur toxicité élevée [36,43]. Le besoin de réduire leur utilisation impose d'orienter le marché vers des antioxydants naturels et stimule la recherche [41].

3.7.2 Antioxydants naturels

L'organisme dispose d'un vaste réseau d'antioxydants : un certain nombre d'enzymes sont synthétisées pour réparer les éventuels dommages oxydatifs au niveau des protéines ou de l'ADN, d'autres sont obtenus à partir de l'alimentation [36]. Les antioxydants issus des plantes

sont efficaces dans l'industrie agroalimentaire et pour la santé humaine (les composés phénoliques, les composés azotés, les caroténoïdes et l'acide ascorbique) [44]. D'autres antioxydants sont présents dans presque tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux.

3.8 Évaluation de l'activité antioxydante

Les propriétés antioxydantes peuvent être évaluées par plusieurs méthodes : les méthodes évaluant la peroxydation des lipides nécessitant des conditions d'oxydation accélérées, et celles mesurant l'activité antiradicalaire regroupées selon la réaction chimique ayant lieu : transfert d'électron singulet ou d'atome d'hydrogène [45].

3.8.1 Les méthodes se basant sur le transfert d'atome d'hydrogène

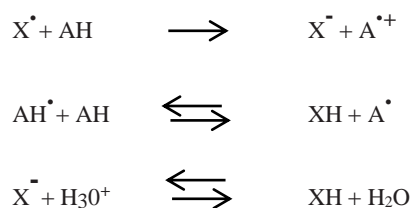
L'antioxydant réduit le radical libre en lui donnant un atome d'hydrogène selon la réaction suivante : $X^\bullet + AH \rightarrow XH + A^\bullet$, cette réaction est très rapide (quelques secondes). Ces méthodes incluent : total radical trapping antioxidant parameter (TRAP) ; crocin-bleaching assay (CBA) et oxygen radical absorbance capacity (ORAC) plus récente et applicable sur toutes les matrices [45].

❖ Test ORAC

Ce test a été développé en 1994 et mesure le taux d'inhibition du radical libre peroxyde d'hydrogène. Il est basé sur la décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en présence d'un oxydant chimique l'AAPH (un radical peroxy libre stable). Le produit à tester peut être capable de protéger la fluorescéine et réduire la vitesse de dégradation de la fluorescence. Il possède alors un pouvoir antioxydant. C'est la seule qui combine à la fois le pourcentage d'inhibition de la réaction d'oxydation et la longueur dans le temps de cette inhibition en une seule mesure. Son avantage majeur est de proposer une mesure standardisée et largement acceptée [46].

3.8.2 Les méthodes se basant sur le transfert d'électron singulet

Ces méthodes détectent l'habilité d'un antioxydant à céder un électron pour réduire n'importe quel composé en causant un changement de couleur. Ces réactions sont généralement lentes, le calcul se base sur le pourcentage d'inhibition de l'agent d'oxydation.



Ces méthodes incluent : Potentiel antioxydant total en utilisant le Cu(II) comme oxydant, Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP), Trolox equivalence antioxidant capacity (TEAC) et 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui sont couramment utilisées pour analyser les extraits de plantes et de fruits [45].

❖ Test TEAC

Il est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical ABTS^{•+} de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La capacité antioxydante, exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond à la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une concentration. Le résultat est donné en μM ou mM d'équivalent Trolox par g de produit ou par mL s'il s'agit d'un liquide [46].

❖ Test DPPH

Il est basé sur la réduction du radical libre 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) ; DPPH [Figure 3.2]. Le radical libre DPPH est stable grâce à la délocalisation de son électron autour de la molécule, qui donne une couleur violette caractérisée par une absorption dans l'éthanol ou méthanol dans une bande comprise entre 515 nm et 520 nm. Un antioxydant aura la capacité de donner un atome d'hydrogène au radical libre DPPH et le transformer à un état réduit [Figure 3.3] avec la perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune.

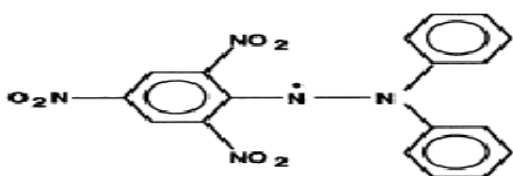


Figure 3.2 : Diphenylpicrylhydrazyl
(radical libre)

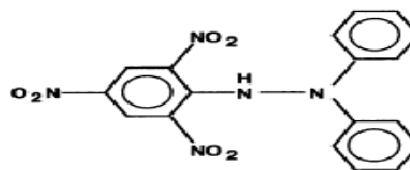


Figure 3.3 : Diphenylpicrylhydrazyl
(réduit)

On associe généralement au test DPPH la valeur EC_{50} ou IC_{50} qui représente la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH. Plus la valeur de IC_{50} est faible, plus l'activité antioxydante est importante [45].

Cette méthode est très utilisée actuellement pour étudier les extraits végétaux et alimentaires pour mesurer la capacité antioxydante totale et permet de faire une comparaison des activités antioxydantes. Son avantage majeur par rapport aux autres méthodes est la solubilité du DPPH dans les solvants aqueux et organique (polaire et non polaire).

CHAPITRE 4 ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES PLANTES AROMATIQUES

Depuis l'antiquité, les plantes aromatiques furent utilisées le plus souvent par les parfumeries. Cependant, durant ces dernières décennies, d'innombrables travaux sont dédiés à l'étude de ces matrices complexes et ont montré qu'elles possèdent plusieurs activités biologiques parmi lesquelles figure l'activité antioxydante. Les plantes contiennent de nombreux antioxydants tels que : les caroténoïdes, tocophérols, tocotrienols, glutathione, acide ascorbique, les polyphénols. Ces derniers constituent le groupe le plus important présent dans les plantes aromatiques et de nombreuses études ont rapporté leurs le potentiel antioxydant [47, 48]

4.1 Activité antioxydante des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent des composés volatils aromatiques qui sont des mixtures complexes de composés appartenant à divers familles chimiques (terpènes, alcool, aldéhydes, composés phénoliques, esters, éthers, cétones), ce qui leur confie des propriétés antioxydantes importantes, Ces dernières diffèrent d'une huile à une autre selon la composition chimique de cette dernière et sa méthode d'évaluation [46].

Afin d'explicitier l'importante activité antioxydante que possèdent les huiles essentielles, nous avons rapporté les premières colonnes des tableaux établis par les laboratoires Brunswick des États-Unis contenant les valeurs de test ORAC effectués sur les aliments et les huiles essentielles (Tableau 4.1).

Tableau 4.1: Valeurs du test ORAC pour divers aliments et différentes huiles essentielles (traduit [14] Site web.

Aliments	Capacité antioxydante, ORAC (μmol TE/100 g)	Huile essentielles	Capacité antioxydante, ORAC (μmol TE/100 g)
Baie de goji ¹	30 300	Clous de girofle	1 078 700
Myrtilles	2 400	myrrhe	379 800
Kale (chou frisé)	1 770	Citronnelle	312 000
Jus de noni ²	1 712	Coriandre	298 300

¹ Nom commercial de la baie du lyciet de Chine (*Lycium chinense*). Il se présente sous la forme d'une petite baie orange, allongée, de saveur légèrement sucrée. On lui accorde en Asie des vertus médicinales exceptionnelles. [12] Site web

² Appellation commerciale courante du jus extrait du fruit de l'arbre *Morinda citrifolia*. [13] Site web

Fraises	1 540	sauge sclarée	221 000
Épinards	1260	Camomille allemande	218 600
Framboise	1 220	Cèdre	169 000
Choux de Bruxelles	980	Rose	160 400
Prunes	949	Muscade	158 100
Fleurons de brocoli	890	Marjolaine	151 100
Betteraves	840	Mélisse	139 905

La comparaison de ces valeurs révèle rapidement la puissance de l'activité antioxydante des huiles essentielles par rapport aux aliments, environ 40 huiles essentielles ont des valeurs ORAC supérieures à celle de Baie de goji, l'aliment qui a montré la valeur ORAC la plus élevée.

La capacité antioxydante de l'huile essentielle des clous de girofle (huile riche en eugénol) est 35 fois supérieure à celle de Bai de goji et 449 fois supérieur à celle des myrtilles.

4.1.1 Activité antioxydantes des huiles essentielles de la famille des astéracées

Astéracée est la famille la plus large des plantes à fleurs, connues, traditionnellement, pour leurs propriétés thérapeutiques [49]. Mais aussi la famille la plus large disponible en Algérie, classée première avec 648 espèces représentant un taux de 15,72% du total des espèces de la flore algérienne [16] Site web, [Annexe A].

L'inule visqueuse, la plante sur laquelle porte ce travail appartient à cette famille, à cet effet, nous avons rassemblé les principaux résultats des études récentes faites sur les espèces de la famille des astéracées dans le tableau 4.3, dans un ordre décroissant selon leurs activités antiradicalaires.

La première colonne contient les noms des plantes. Dans la deuxième figurent les composés chimiques les plus abondants dans l'HE, la troisième contient les valeurs de IC₅₀ en µg/mL, la dernière colonne regroupe quelques conclusions auxquelles ont abouties les études correspondantes.

Tableau 4.2: Résultats des derniers travaux effectués sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de la famille des Astéracées.

Plante	Composés abondants	IC ₅₀ (µg/ml)	Conclusions
<i>Millefolium Afan</i> (L.) [50]	Eucalyptol Camphre α- terpinéol β-pinène bornéol	1.56	
<i>Artemisia absinthium</i> (L.) (absinthe) [51]	chamazulène (30.41%) β- thuyone (25.75%), bornan-2-one (17.33%) Acétate de bornyle (10.12%) 1-terpinèn-4-ol (4.75%).	28.2 ± 1.94	- Extraction par HD - L'HE de A.absinthium présente une AA inférieur à celle de son extrait méthanolique -Le chamazulène contribue fortement à l'activité antioxydante des HE de genre Artemisia
<i>Artemisia chamaemelifolia</i> (L.) (Armoise à feuille de camomille) [52]	40 monoterpènes (8.6-69.7%), 19 sesquiterpènes (14.9-72.0%)	310.1±11.9	- Extraction par HD -L'AA de cette espèce est faible
<i>Achillea pannonica</i> (L.) (Achillée de Hongrie) [53]	1,8-cineole (40.40%) camphre (11.10%)	520	Extraction par HD
<i>Achillea collina</i> (L.) (Achillée des collines) [53]	β-pinène (22.52%) chamazulène (19.42%) Caryophyllène (14.92%)	620	-Extraction par HD -Chamuzalène est le composé le plus responsable de AA de cette HE
<i>Artemisia campestris</i> (L.) (armoise des champs) [54]	Plus de 50% de l'HE est constituée de : β-pinène, sabinène α-pinène	996 ± 18	-Eextraction par HD -l'HE de A.campestris présente une AA très faible par rapport à son extrait méthanolique
<i>Artemisia dracunculus</i> (L.) (estragon) [55]	(Z)-anéthol (51.72%) (Z)-β-ocimène (8.32%) méthyleugénol (8.06%) limonène (4.94%) linalol (4.41%)	3.19±0.13 mg/ml	-Les composés chimiques sont les mêmes pour les HES issues de l'Iran et de la Turquie -L'application de cette HE à l'huile de soja avait le même effet antioxydant que celui du BHT. -Cette HE peut être ajoutée à des concentrations élevées sans effet négatif.
<i>Matricaria chamomilla</i> (L.) (Camomille sauvage) [56]	Guaiazulène (10,57%) α-bisabolol oxide A (10,21%) α-farnésène (8,70%)	5.63±0.20 mg/ml	- Le IC ₅₀ de BHT est évalué à 0.038±0.001 mg/ml - L'application de cette HE à l'huile de soja avait le même effet antioxydant que celui du BHT .

L'Iran et la Turquie sont les deux pays les plus avancés dans la recherche et l'étude de l'extraction et l'aspect phytothérapeutique des plantes de la famille des astéracées.

L'hydrodistillation est la technique la plus utilisée pour l'extraction des huiles essentielles.

Les huiles essentielles des plantes astéracées sont très riches en monoterpènes et sesquiterpènes (pinène, cymène, sabinène), les genres artemisia et achillea ont montré des activités antioxydantes intéressantes. Le genre inula demeure très peu étudié.

4.2 Activité antioxydante des extraits

Les extraits obtenus par extraction par solvant sont très riches, particulièrement, en polyphénols et en flavonoïdes qui ont la capacité de neutraliser les radicaux libres, les radicaux superoxydes et hydroxyles par un transfert d'électron singulet. Cela leur permet d'exhiber une activité antioxydante importante et de remplacer les antioxydants synthétiques.

4.2.1 Activité antioxydante des extraits de la famille des astéracées

Comme il a été fait pour les huiles essentielles, les principaux résultats obtenus par des études récentes sur l'activité antioxydante des extraits des plantes astéracées sont présentés dans le tableau 4.3.

Tableau 4.3: Résultats des derniers travaux effectués sur les extraits de la famille Astéracée EM : extrait méthanolique, EHM : extrait hydrométhanolique, EE : extrait éthanolique, EA : extrait acétonique, EAE : extrait acétonique éthanolique

Plante	Composés abondants	TPT mgEAG/g d'extrait	IC ₅₀ µg/ml	Conclusion
<i>Inula graveolens</i> (L.) [57]			6.20±0.13 EM	-extraction par contact avec le méthanol
<i>Artemisia absinthium</i> (L.) (absinthe) [51]		278.5±2.1	11.65±0.95 EM	-l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de l'absinthe est plus élevée que celle de son HE.
<i>Tagetes patula</i> (L.) (L'œillet d'Inde) [58]	Quercetine		15.74±1.09 EA	- l'acétone pure et le mélange acétone éthanol ont donné les meilleur AA et TPT
			17.77±2.06 EAE	

<i>Inula britannica</i> [54]	-Ergolide -Népétine -quercitrin		20,7 EHM	L'extrait hydrométhanolique a donné la meilleur AA par rapport aux autres solvants
<i>Arctium minus Schkuhr (L.)</i> (Petite bardane) [59]	-acide rosmarinique (6.563 mg/g)	227.937 ± 0.696	29 ± 0.002 EE	la teneur en composés phénolique et l'activité antioxydante sont plus élevés dans L'extrait éthanolique que l'extraction par l'eau
<i>Echinacea purpurea (L.)</i> [60]		60.2±0.1	34.16±0. 65 EE	-extraction par contact avec l'éthanol
		46.8±0.3	65.48±1. 12	-extraction par ultrason -la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante de l'extrait classique sont plus élevées que celles de l'extrait avec ultrason -la faible AA de l'extrait ultrasonique est dû à la formation des radicaux hydroxyles pendant la sonication
<i>Tanacetum vulgare (L.)</i> (tanaisie commune) [56, 61]	-Acide 3,5-O-dicaféylquinique -axillarine -lutéoline	142.30 ± 8.55	37 ± 1,2 EM 133± 8 Eau pure	L'extrait méthanolique donne une AA élevée
<i>Cirsium arvense (L.)</i> (cirse des champs) [59]	-Acide chlorogénique (37.443 mg/g) -acide caféique (6.439 mg/g)	140.369 ± 0.093	46 ± 0.002 EE	
<i>Cirsium vulgar (L.)</i> [59]	-Acide chlorogénique (23.006 mg/g)	117.898 ± 0.502	50 ± 0.003 EE	
<i>Centaurea nigra (L.)</i> (Centaurée noire) [59]	-Acide chlorogénique -acide caféique	173.231 ± 0.066	58 ± 0.001 EE	
<i>Bidens pilosa (L.)</i> [62]		76,1	76.25 EM	-l'extrait méthanolique a donné la meilleur AA et TPT - la participation des caroténoïdes et des flavonoïdes à l'AA de cette plante est faible par rapport celle des polyphénols
<i>Taraxacum officinale (L.)</i> [59]	-Acide chlorogénique (11.674 mg/g)	73.135 ± 0.302	92 ± 0.002 EE	

Les extraits des plantes astéracées possèdent des propriétés antioxydantes intéressantes, leurs teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont variables et élevées notamment pour les polyphénols. En effet, les compositions chimiques montrent qu'ils sont riches en acides phénoliques (acide chlorogénique, acide caféique, acide rosmarinique), mais ils ne sont pas les seuls composés contribuant à l'activité antioxydante.

L'*inula graveolens* possède une AA importante

Les extraits méthanoliques et éthanoliques ont montré les meilleures activités antioxydantes qui ont corrélé positivement avec les teneurs en polyphénols.

4.3 Activité antioxydante de l'hydrolat

L'activité antioxydante des hydrolats est très peu étudiée, néanmoins, les rares travaux effectués ont révélé que les mêmes composés majoritaires sont présents à la fois dans l'hydrolat et dans l'huile essentielle avec des teneurs différentes [63].

Une étude menée au Portugal portant sur l'activité antioxydante des hydrolats de huit plantes aromatiques (*inula viscosa*, *Foeniculum vulgare*, *Origanum vulgare*, *Salvia officinalis*, *Thymbra capitata*, *Thymus camphoratus*, *Thymus carnosus*, *Thymus mastichina*) [tableau 4.4], a montré la puissance du pouvoir antioxydant de l'hydrolat par rapport aux huiles essentielles, les huit plantes étudiées ont un IC_{50} inférieur à celui du BHT [64].

CHAPITRE 5 MATÉRIELS ET MÉTHODES

5.1 Matière végétale

L'inule visqueuse a été cueillie en plusieurs lots en Avril 2015 dans un champ de la cité universitaire Bouraoui Amar, El-Harrach à 12 km à l'Est d'Alger (Latitude : 36°43'0.48" ; Longitude : 3°9'15.12"). Elle se présente sous forme de parties aériennes (feuilles et tiges). Les feuilles ont été séparées des tiges, séchées à l'ombre à l'abri de la lumière, à température ambiante quasi-constante, égale à 18 ± 1 °C, et utilisées sans subir aucun traitement préliminaire.

L'identification de l'espèce végétale a été réalisée en se référant à la littérature et à l'expérience de notre équipe. Les caractéristiques des lots récupérés sont regroupées dans le tableau 5.1.

Tableau 5.1: Caractéristiques des lots récupérés de l'inule visqueuse.

Lot N°	Date de cueillette	Spécifications	Procédés d'extraction appliqués
1	04/04/2015	<ul style="list-style-type: none"> Petites feuilles de 7,4 cm de longueur et 1,8 cm de largeur 	<ul style="list-style-type: none"> – EVE – HD
2	11/04/2015	<ul style="list-style-type: none"> Petites feuilles de 7,4 cm de longueur et 1,8 cm de largeur 	<ul style="list-style-type: none"> – EVE – HD – Hdiff
3	18/04/2015	<ul style="list-style-type: none"> Grandes feuilles de 12,8 cm de longueur et 3,9 cm de largeur 	<ul style="list-style-type: none"> – Extraction par solvant

5.2 Techniques d'extraction utilisées

Les techniques d'extraction utilisées dans ce travail sont décrites en détails dans les masters [19,24]. Ici, nous donnons simplement les conditions opératoires et les résultats obtenus. Pour des

raisons de comparaison nous avons rapporté uniquement les expériences ayant en moyenne des conditions opératoires comparables.

Tableau 5.2: Conditions opératoires et résultats des essais d'extraction des HE de l'inule visqueuse.

Procédé	N° d'essai	Lot N°	État de la plante	Durée de séchage (jours)	M (g)	H %	Débit moyen (mL/mn)	Durée d'extraction (mn)	M _{HE} (g)	R %
EVE	1	1	Sèche, Petites feuilles	8	13,00	8,0	8,7	330	0,0944	0,789
	2	2	Fraîche, Grandes feuilles	4	25,08	74,0	13	310	0,1399	2,146
	3	2	Sèche, Petites feuilles	11	8,34	21,7	18,4	300	0,0436	0,668
	4	2	Sèche, Grandes feuilles	12	9,93	19,5	4,5	300	0,0354	0,443
HD	5	2	Fraîche, Petites feuilles	2	31,7	70,0	12	305	0,0251	0,264
	6	2	Fraîche, Grandes feuilles	3	36,7	74,0	13,7	330	0,0588	0,617
Hdiff	7	2	Sèche, Petites feuilles	8	10,305	21,7	6	160	0,0268	0,934
	8	2	Sèche, Petites feuilles	9	10,390	21,7	10,2	300	0,0231	0,284

Tableau 5.3: Conditions opératoires et résultats des essais d'extraction des extraits de l'inule visqueuse.

N° d'essai	Matière végétale	Masse (g)	Taux d'humidité H (%)	Solvant	Volume (mL)	Duré d'extraction (h)	Rendement (%/ MS)
1	PF	8	17	Hexane	400	8	8,99
2	PF	8	15,3	Méthanol	400	8	32,20
3	PF	8	15,3	Acétone	400	8	18,87
4	GF	8	14,8	Acétone	400	8	18,87
5	GF	8	14,8	Hexane	400	8	8,43
6	PF	8	13	Acétate d'éthyle	400	8	22,54
7	PF	8	13	Éthanol	400	8	25,13
8	GF	8	14	Acétate d'éthyle	400	8	34,74
9	PF épuisées par l'éthanol	8	11,5	Hexane	400	8	0,38
10	PF épuisées par l'hexane	7,4	11,5	Éthanol	370	8	18,81
11	PF issues de l'EVE	8	11,33	Éthanol	400	8	18,36
12	PF issues de l'EVE	8	11,33	Acétate d'éthyle	400	8	25,41
13	PF issues de l'EVE	8	11,33	hHexane	400	8	7,35

5.3 Détermination des polyphénols totaux

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal. Néanmoins, une estimation rapide (souvent surévaluée) de la teneur en phénols totaux peut être obtenue par différentes méthodes en particulier par utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et de phosphotungstate commercialisé sous la dénomination de réactif de Folin-Ciocalteu. Le caractère réducteur des composés phénoliques et leur complexation possible avec les métaux lourds conduisent dans ce cas à la formation de complexes colorés bleus que l'on peut alors doser par colorimétrie vers 720 nm, cette méthode est très sensible et peu spécifique car beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer. La teneur en polyphénols totaux est exprimée par rapport à un composé de référence (par exemple en équivalents d'acide gallique) [65].

Dans notre étude, la teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode de Folin–Ciocalteu [66] :

- 0,2 mL de l'échantillon dilué sont ajoutés à 1 mL du réactif de Folin–Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau.
- après 4 min, 0,8 mL d'une solution saturée de carbonate de sodium Na_2CO_3 (75 g/L) sont ajoutés.
- après 2 h d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance à 765 nm est mesurée.
- L'acide gallique (0–500 mg/L) est utilisé pour la courbe d'étalonnage.
- Les résultats sont déduits à partir de la courbe d'étalonnage et sont exprimés en équivalent d'acide gallique (EAG)/g matière végétale sèche, et calculés à $\pm 0,01$ près.

5.3.1 Courbe d'étalonnage

❖ Hydrolats

Étant donné que les polyphénols des hydrolats se retrouvent dans l'eau et que les dilutions sont également effectuées dans l'eau, nous avons utilisé la courbe d'étalonnage déjà déterminée

par une doctorante travaillant au sein de notre laboratoire [travail en cours], la courbe est déterminée par rapport à l'acide gallique dilué dans l'eau.

L'équation de la courbe est la suivante :

$$Abs = 0,00935 * C$$

Abs = Absorbance de l'échantillon dilué dans l'eau.

C : la concentration de l'échantillon en μg équivalent d'acide gallique par mL d'échantillon.

❖ Extraits

Les extraits sont dilués dans le méthanol car ils ne sont pas solubles dans l'eau, par conséquent nous avons déterminé une courbe d'étalonnage par rapport à l'acide gallique dilué dans le méthanol.

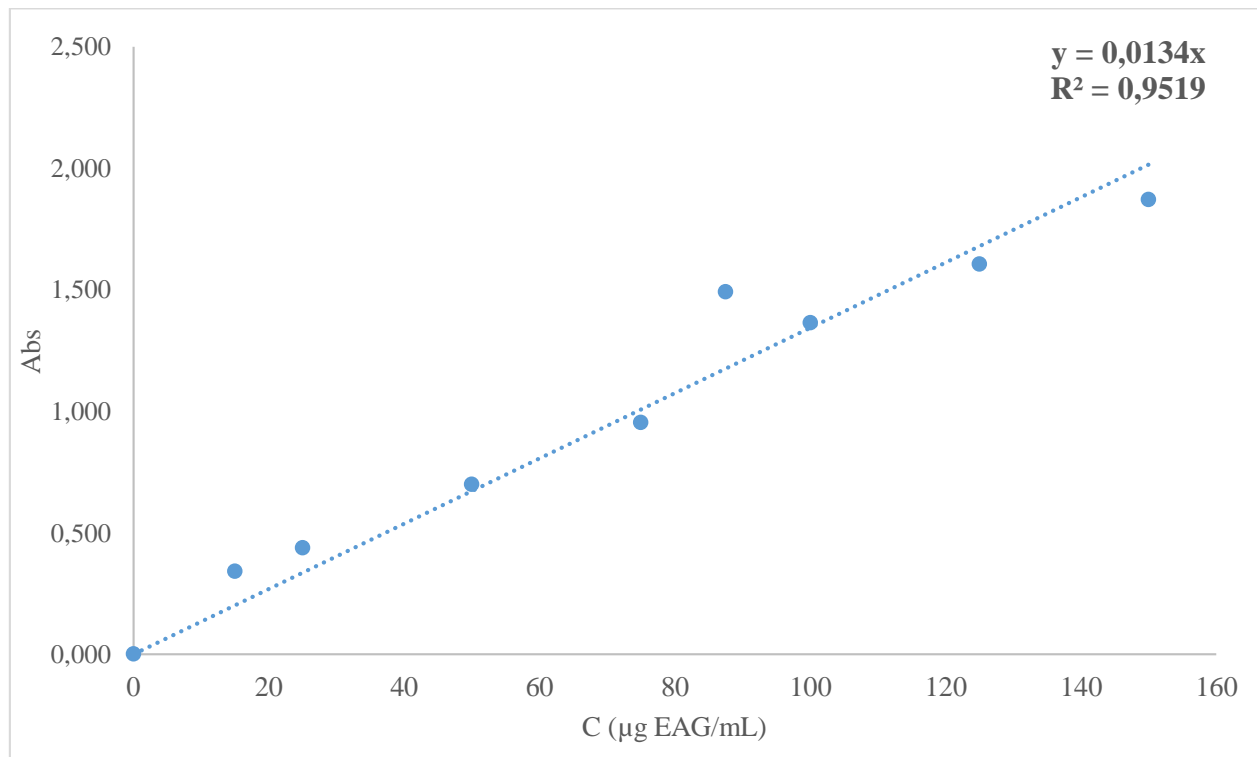


Figure 5.1 : Courbe d'étalonnage, absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon en équivalent d'acide gallique.

L'équation de la courbe obtenue est la suivante :

$$Abs = 0,0134 * C$$

Abs = Absorbance de l'échantillon dilué dans le méthanol.

C : la concentration de l'échantillon en μg équivalent d'acide gallique par mL d'échantillon.

5.4 Activité antioxydante et DPPH

Les propriétés antioxydantes de l'inule visqueuse ont été étudiées par *AOUCHER* et al. [67], et *SALHI* et al. [68] ; ces auteurs ont montré que l'inule visqueuse possède une activité antiradicalaire importante. Au vue de ces résultats, nous avons alors entrepris l'étude des propriétés antioxydantes des différents extraits de l'inule visqueuse en utilisant le test DPPH [69] :

- La solution DPPH doit être préparée 2 heures avant d'effectuer les analyses : 0,0098 g de DPPH sont dissout dans 250 mL de méthanol pour obtenir une solution de 0,1 mmol/L. Cette solution ne peut être conservée plus de 4 jours.
- 2 mL des extraits dilués à différentes concentrations sont ajoutés à 2 mL de la solution DPPH préparée précédemment.
- Après 30 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance du blanc (DPPH + méthanol) servant de calibre a été mesurée dans un spectromètre à 517 nm.
- L'absorbance de l'échantillon est ensuite mesurée à la même longueur d'onde.
- L'activité antiradicalaire est calculée à partir de la formule suivante :

$$AA (\%) = \frac{Abs (blanc) - Abs (échantillon)}{Abs (blanc)}$$

AA : activité antiradicalaire, en %.

Abs (blanc) : absorbance du DPPH dissout dans le méthanol.

Abs (échantillon) : absorbance de l'échantillon (huile essentielle, hydrolat ou extrait).

Nous présentons dans la figure 5.2, le schéma suivi dans notre étude pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles, hydrolats et extraits par solvants et la teneur en polyphénols de ces deux derniers.

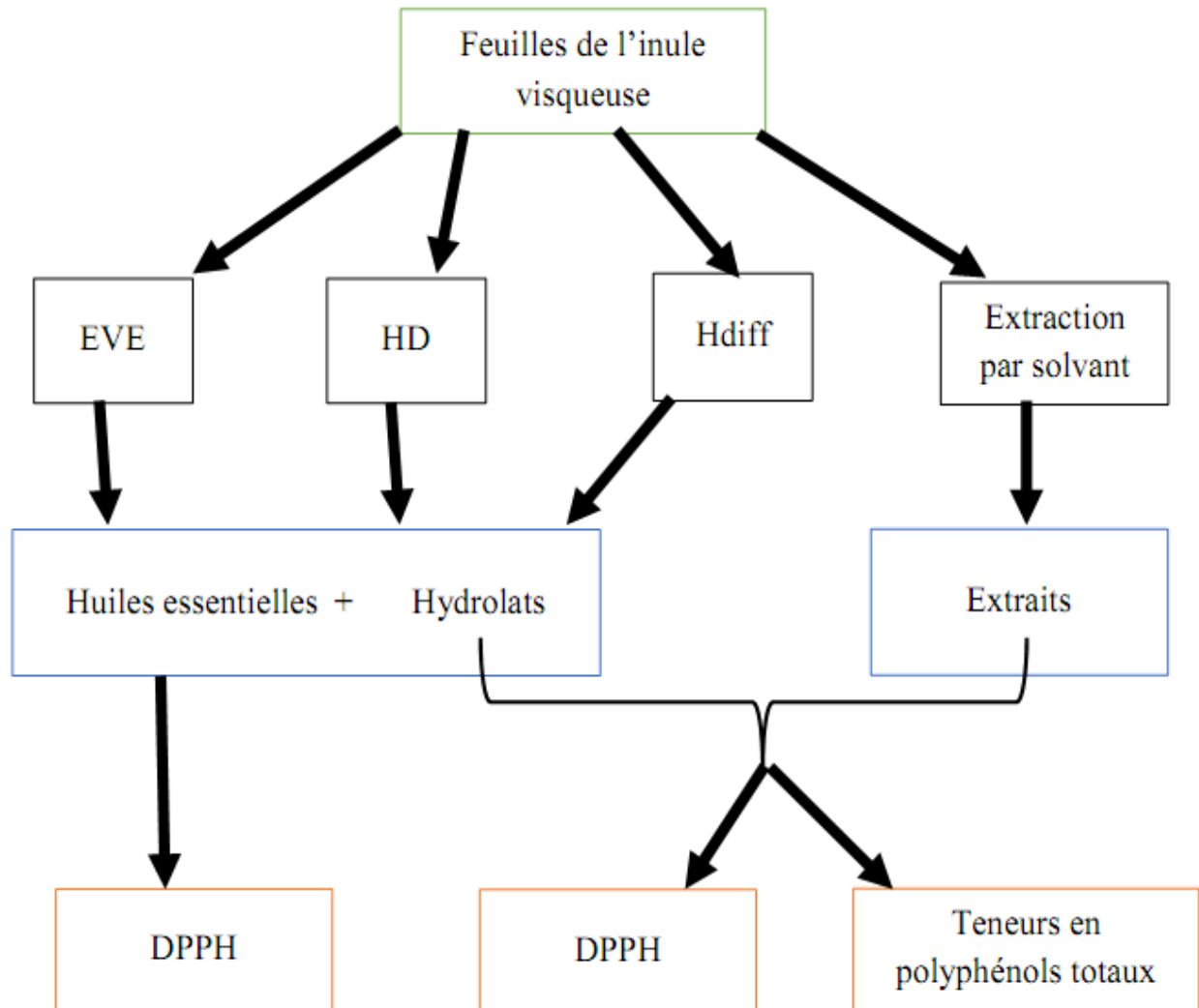


Figure 5.2 : Schéma explicatif des expériences effectuées dans la présente étude.

CHAPITRE 6 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Toutes les mesures sont effectuées trois fois, les valeurs de l'activité antioxydante (IC_{50} , AA%) et des teneurs en polyphénols sont exprimées sous la forme : valeur moyenne \pm déviation standard.

6.1 Huiles essentielles

❖ Comparaison entre les procédés

Nous avons suivi le taux d'inhibition des huiles essentielles en fonction de la concentration, pour chaque procédé. Les graphes obtenus sont représentés dans les figures 6.1 à 6.8.

Les figures 6.1 à 6.8 montrent que l'activité antioxydante des huiles essentielles varie de 35% à 87% pour l'entraînement à la vapeur d'eau, de 20% à 30% pour l'hydrodistillation et atteint 90% pour l'hydrodiffusion lorsqu'on dilue l'HE dans 5mL de méthanol.

Étant donné que les quantités des HE récupérées varient d'une manipulation à une autre, la comparaison est difficile à réaliser, nous avons alors comparé les AA pour les HE ayant la même concentration (260 $\mu\text{g/mL}$).

Afin de comparer les procédés, nous avons rapporté, dans la figure 6.9, le taux d'inhibition à une concentration de 260 $\mu\text{g/mL}$ en fonction du procédé. Dans les figures 6.10 et 6.11, nous avons sélectionné les procédés ayant des conditions opératoires comparables.

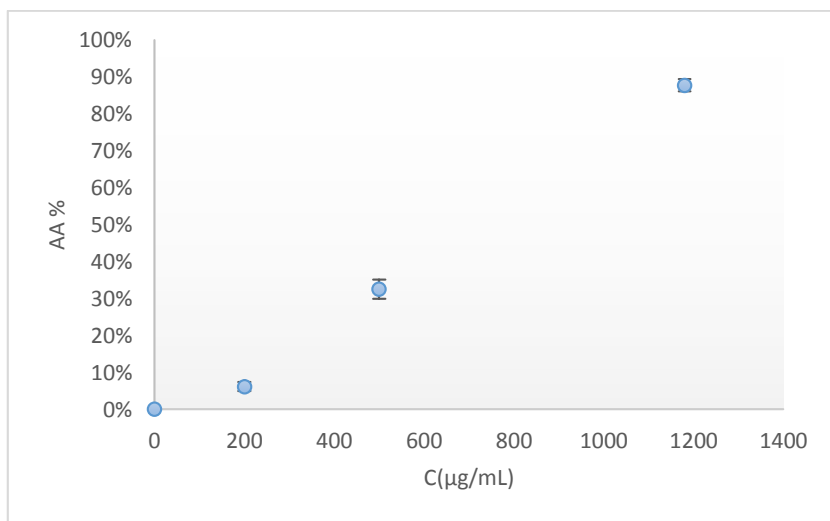


Figure 6.1 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°1)

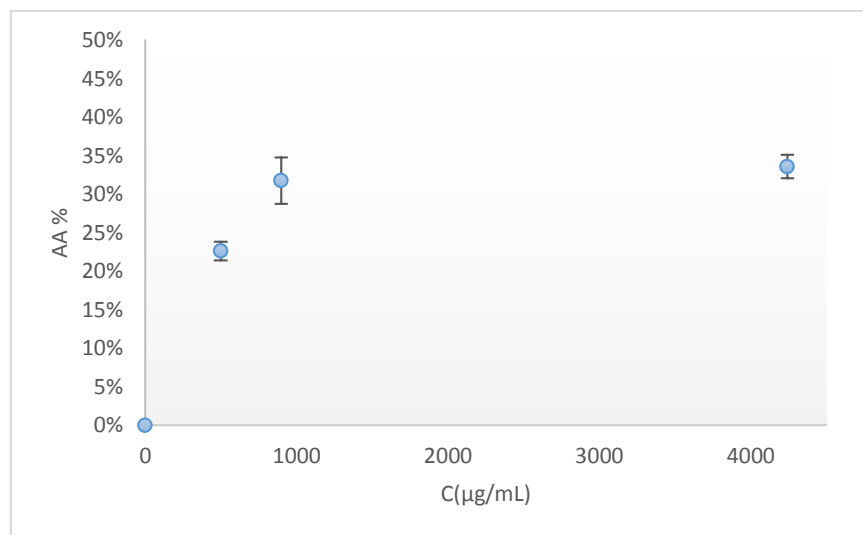


Figure 6.2 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°2)

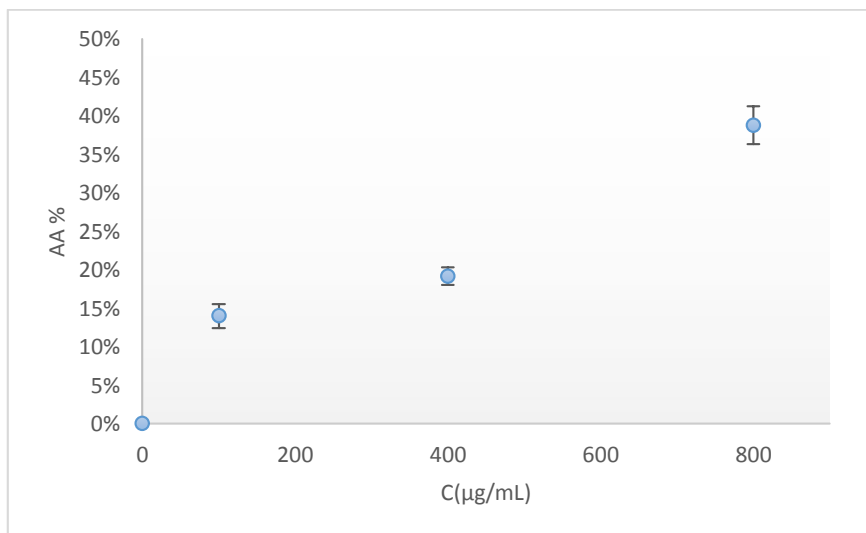


Figure 6.3 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°3)

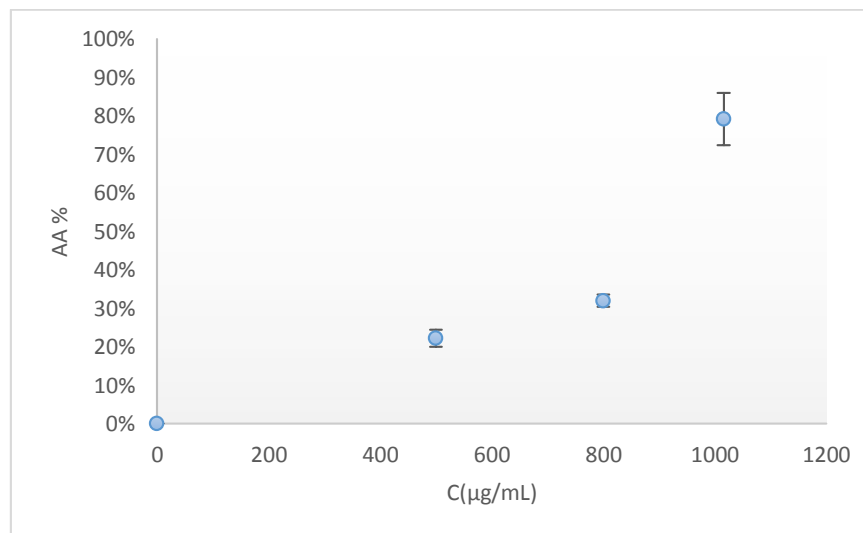


Figure 6.4 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (EVE n°4)

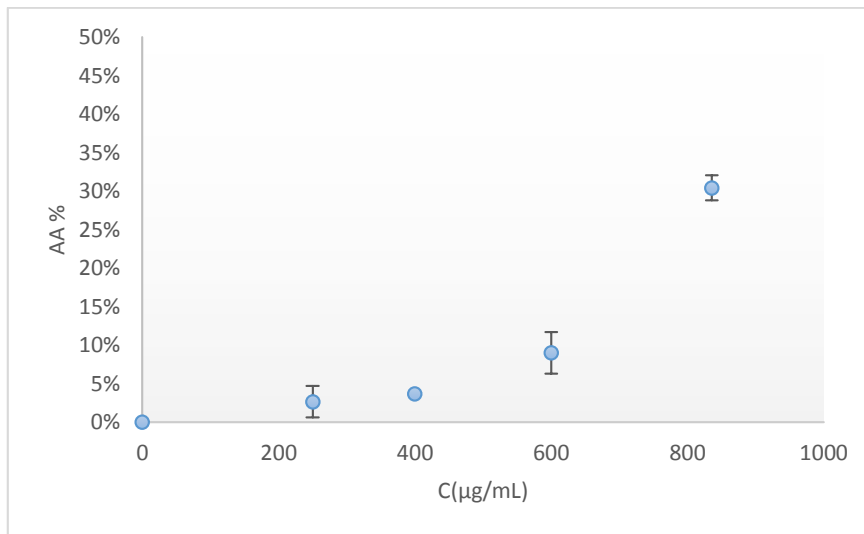


Figure 6.5 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (HD n°5)

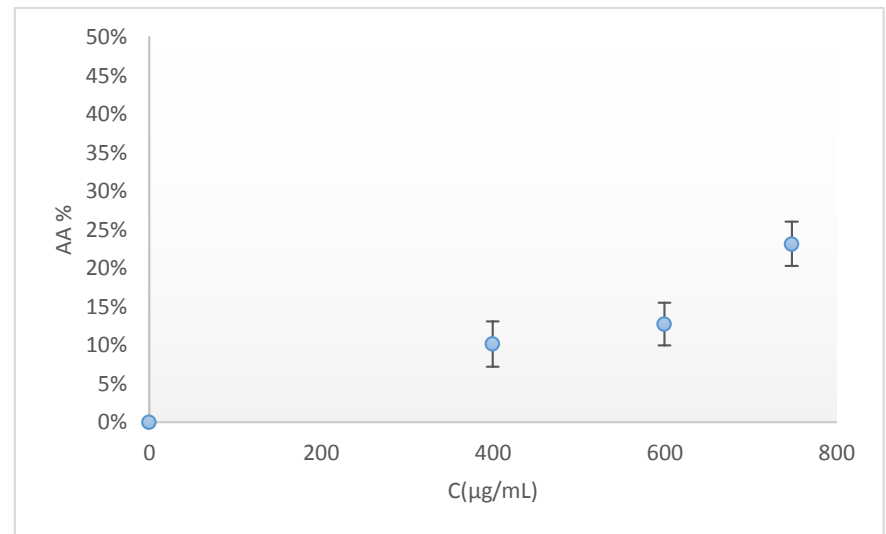


Figure 6.6 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (HD n°6)

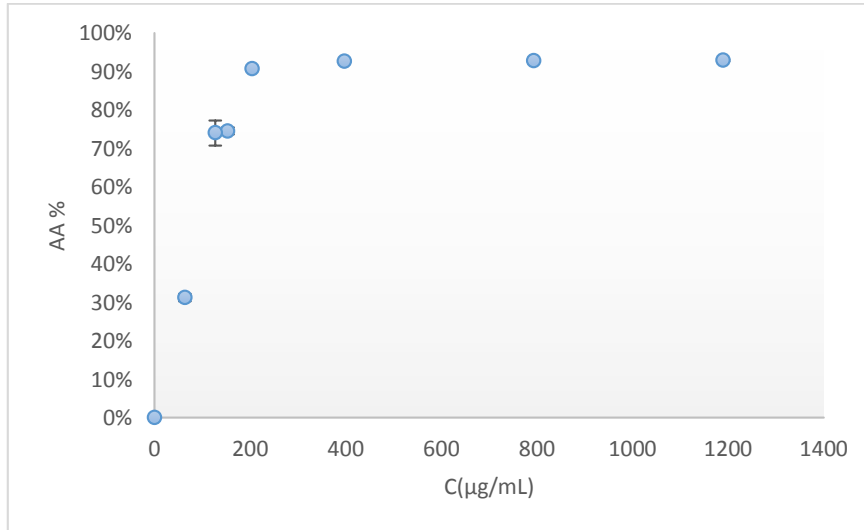


Figure 6.7 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (Hdiff n°7)

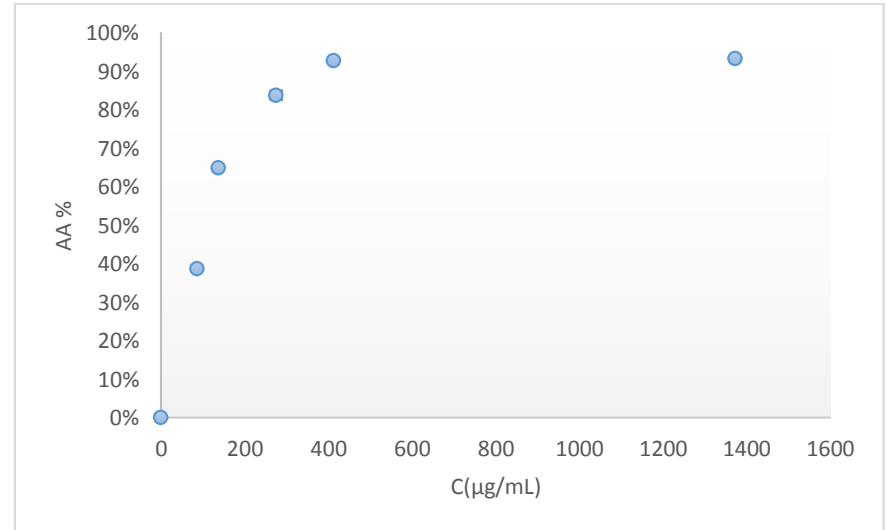


Figure 6.8 : AA(%) des HE en fonction de la concentration (Hdiff n°8)

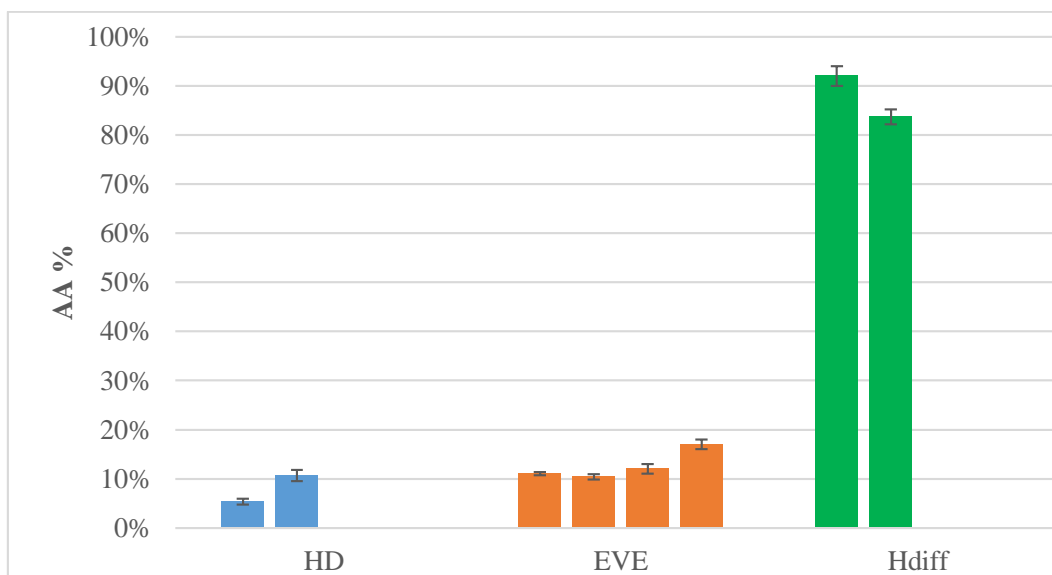


Figure 6.9 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE obtenues par EVE, HD et Hdiff.

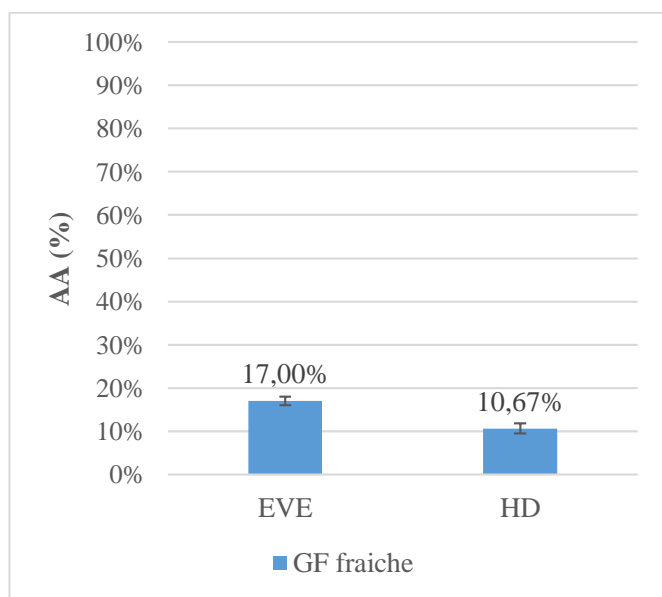


Figure 6.10 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE des GF fraîches obtenues par EVE (n°2) et HD (n°6)

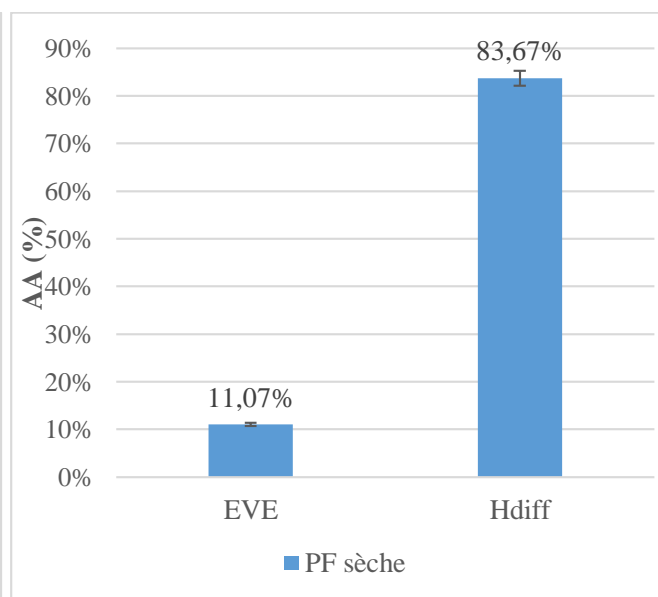


Figure 6.11 : AA (%) pour C=260 µg/mL des HE des PF sèches obtenues par EVE (n°3) et Hdiff (n°8)

L'analyse de ces figures montre que les huiles essentielles de l'inule visqueuse exercent une activité antioxydante contre le radical DPPH.

La figure 6.9 montre que l'activité antioxydante des HE obtenues par hydrodiffusion est nettement supérieure à celle de l'hydrodistillation et de l'entraînement à la vapeur d'eau. Tandis que ces deux derniers procédés amènent à des taux d'inhibition voisins avec une légère élévation

pour l'EVE. En effet, pour une concentration de 260 $\mu\text{g/mL}$, le taux d'inhibition varie de 5 à 10% pour l'hydrodistillation, de 10 à 17% pour l'entraînement à la vapeur d'eau et atteint 90% pour l'hydrodiffusion. Ces résultats sont confirmés par les figures 6.10 et 6.11.

Lors de la séparation des HE, nous avons remarqué la coloration jaune de l'HE issue de l'Hdiff, ce qui n'est pas le cas pour l'HD et l'EVE. À notre avis, ceci indique que les composés volatils extraits par l'Hdiff ont des activités antioxydantes plus élevées. Par manque de matériel nous n'avons pas pu faire l'analyse chromatographique pour confirmer cette hypothèse.

L'hydrodiffusion paraît intéressante en termes d'activité antioxydante et de rendement (Tableau 5.2) d'autant plus que ce dernier peut être amélioré car le débit est un peu faible par rapport aux deux autres procédés, et on avait des pertes lors de la séparation de l'HE.

❖ Comparaison entre les petites et grandes feuilles

La figure 6.12 présente l'activité antioxydante estimée par le taux d'inhibition à une concentration de 260 $\mu\text{g/mL}$ des petites et grandes feuilles.

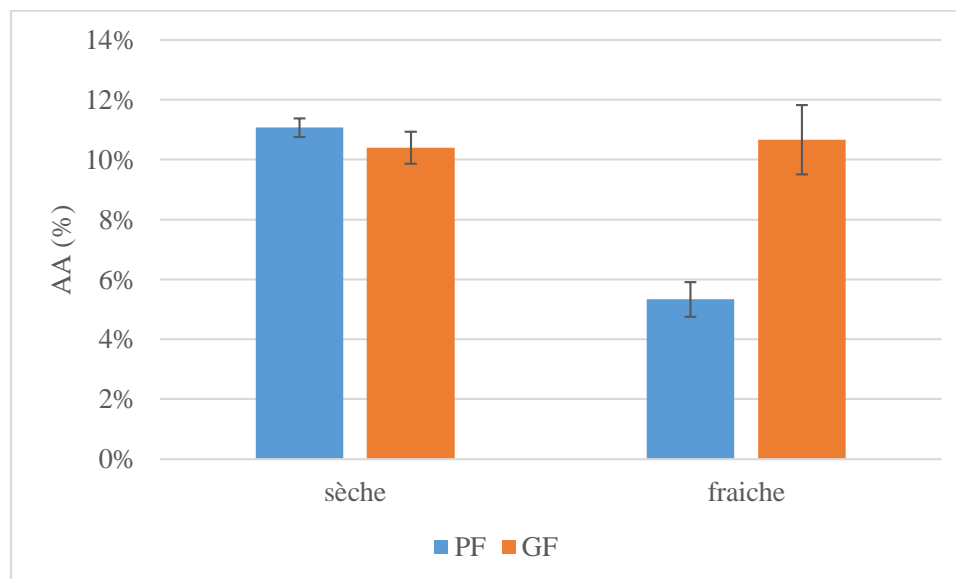


Figure 6.12 : AA (%) pour C=260 $\mu\text{g/mL}$ des HE des PF et GF.

Ces résultats indiquent que l'activité antioxydante change avec le stage de croissance et l'humidité des feuilles, en effet les grandes feuilles donnent une meilleure AA pour la plante fraîche, par contre, les petites feuilles donnent une meilleure AA pour la plante sèche. Cette

différence peut être due au fait que les grandes feuilles perdent plus de composés antioxydants au cours du séchage.

Cette remarque est aussi vérifiée pour les rendements des extractions des petites et grandes feuilles, où l'on a constaté que le rendement des grandes feuilles était élevé quand ces dernières sont fraîches, puis il diminue pour les feuilles séchées [14].

❖ **Faut-il fractionner pour avoir des HE de bonnes activités antioxydantes ?**

Afin de déterminer les fractions qui donnent les meilleures activités antioxydantes, nous avons procédé au fractionnement des HE obtenues par l'EVE et l'HD. Les huiles essentielles récupérées dans des intervalles de temps ont été ramenées à une même concentration (260 µg/mL) et soumises au test DPPH. Les résultats obtenus sont rassemblées dans les figures 6.13 à 6.16.

Rendement et AA % pour une concentration de 260 µg/mL des HE en fonction du temps d'extraction

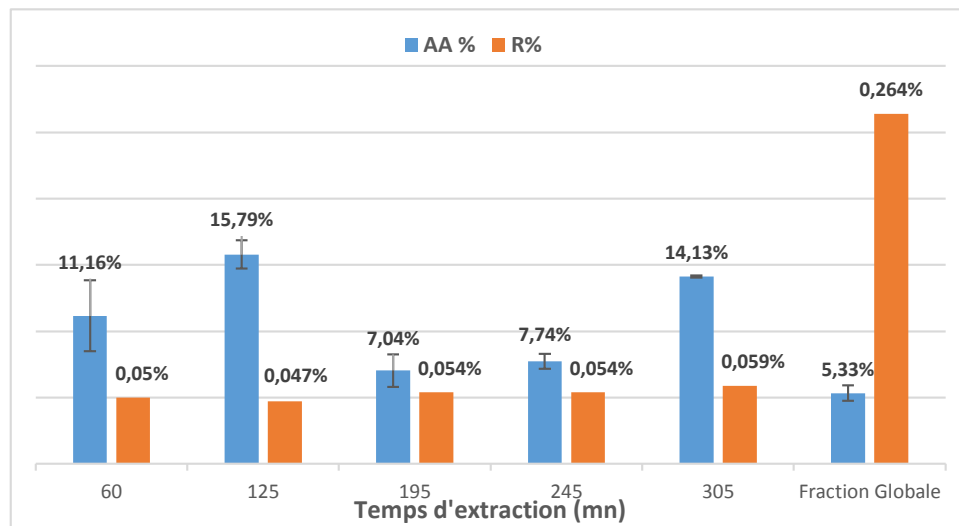


Figure 6.13 : R(%) et AA(%) des HE des petites feuilles fraîches (HD n°5)

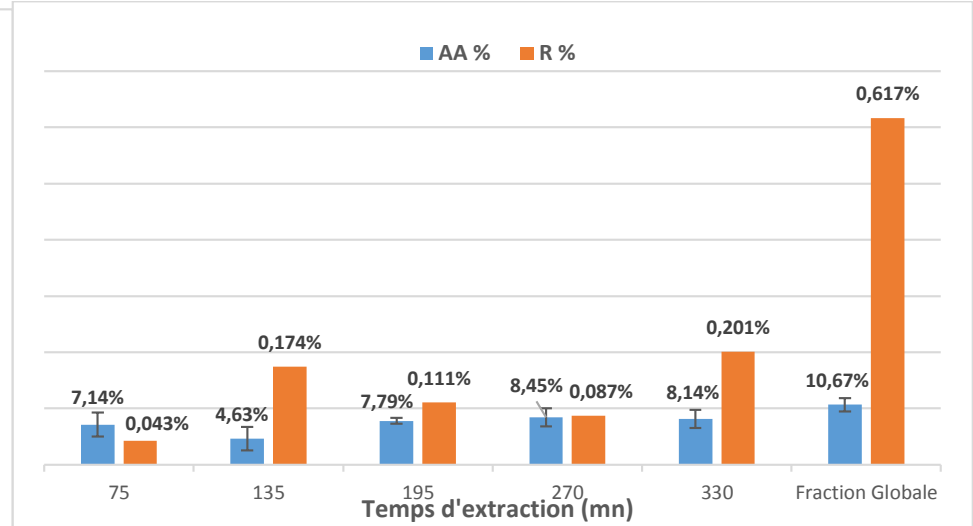


Figure 6.14 : R(%) et AA(%) des HE des grandes feuilles fraîches (HD n°6)

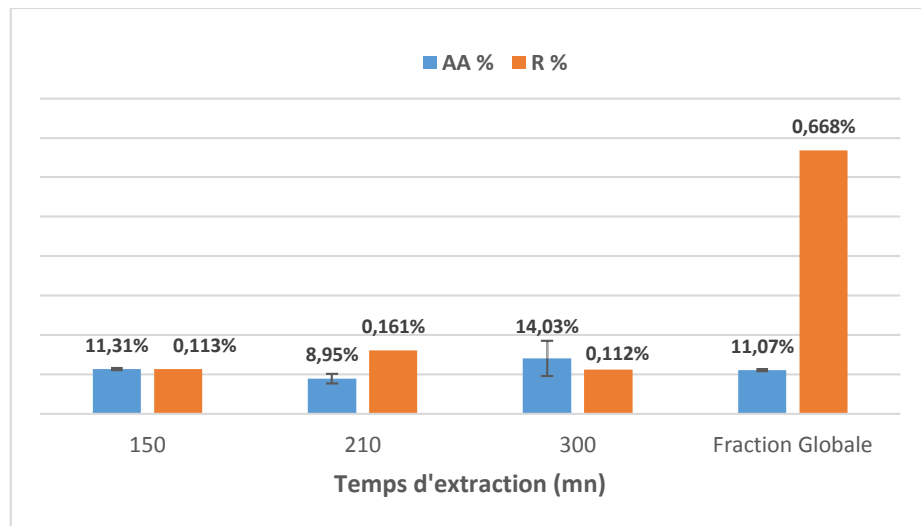


Figure 6.15 : R(%) et AA(%) des HE des petites feuilles sèches (EVE n°3)

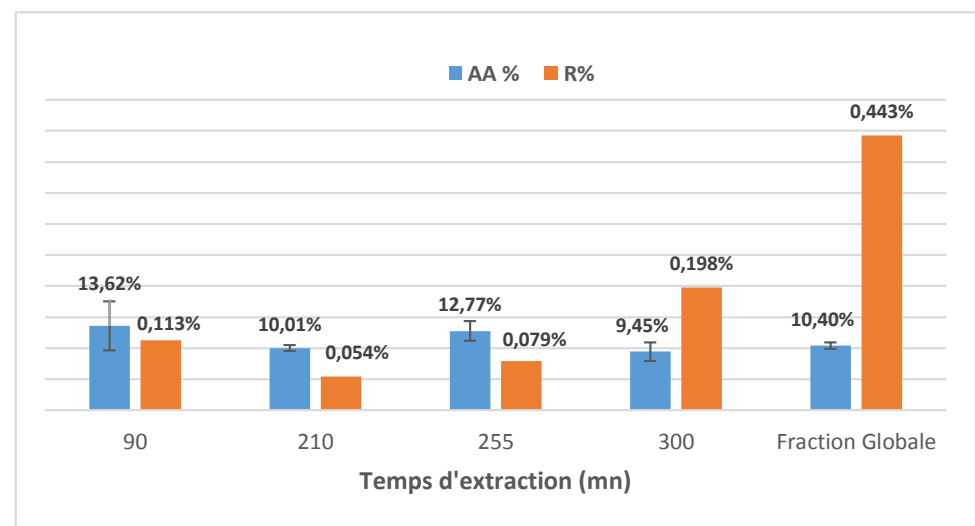


Figure 6.16 : R(%) et AA(%) des HE des grandes feuilles sèches (EVE n°4)

Nous remarquons que la variation des valeurs de l'activité antioxydante en fonction du temps n'est pas significative et tournent autour de la valeur de la fraction globale. Nous déduisons que le fractionnement ne conduit pas à de meilleures activités antioxydantes, par conséquent, il est recommandé de récupérer la fraction globale aussi bien en termes d'activité antioxydante qu'en termes de rendement.

❖ Conclusion

- L'activité antioxydante des huiles essentielles varie de 35% à 87% pour l'entraînement à la vapeur d'eau, de 20% à 30% pour l'hydrodistillation et atteint 90% pour l'hydrodiffusion.
- La comparaison entre toutes les HE obtenues par les 3 procédés a été difficile vu que les quantités des HE récupérées sont variables d'une manipulation à une autre, nous avons alors comparé les AA pour les HE ayant la même concentration (260 µg/mL).
- L'hydrodiffusion donne des huiles essentielles ayant un pouvoir antioxydant plus fort que celui de l'EVE et de l'HD. En effet, pour une concentration de 260 µg/mL, le taux d'inhibition varie de 5 à 10% pour l'hydrodistillation, de 10 à 17% pour l'entraînement à la vapeur d'eau et atteint 90% pour l'hydrodiffusion.
- Pour la plante fraîche, les grandes feuilles donnent les meilleures AA, tandis que pour la plante sèche, ce sont les petites feuilles qui donnent les meilleures AA.
- L'huile essentielle globale donne une AA similaire à celles des fractions récupérées en différents intervalles de temps.

6.2 Hydrolats

Dans cette partie, nous nous sommes proposées d'étudier la propriété antioxydante des hydrolats récupérés lors des extractions des huiles essentielles, cinq types d'hydrolats ont été analysés : deux sont issus de l'hydrodistillation, deux autres sont issus de l'entraînement à la vapeur d'eau et un hydrolat récupéré de l'hydrodiffusion. Pour chacun, nous avons d'abord déterminé les teneurs en polyphénols, ensuite nous avons suivi l'activité antioxydante en fonction de la concentration en polyphénols (figures 6.9 à 6.13).

Le tableau 6.1 regroupe les résultats des teneurs en polyphénols exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/gMS) et en mg équivalent d'acide

gallique par millilitre d'extrait (mg EAG/mL) et les valeurs de IC₅₀ exprimées en µg équivalent d'acide gallique par millilitre d'extrait (µg EAG/mL).

Tableau 6.1: Teneurs en polyphénols des hydrolats de l'inule visqueuse

procédé	TPT (mg EAG/gMS)	TPT (mg EAG/mL)	IC ₅₀ (µg EAG/mL)
HD PF (n°3)	388,00 ± 40,56	1,64 ± 0,17	4,50 ± 0,50
HD GF (n°4)	682,24 ± 57,86	2,99 ± 0,28	5,90 ± 0,36
EVE PF (n°5)	291,02 ± 33,42	0,84 ± 0,10	0,33 ± 0,11
EVE GF (n°6)	150,25 ± 17,89	0,43 ± 0,01	0,69 ± 0,04
Hdiff PF (n°8)	314,71 ± 92,29	1,55 ± 0,46	0,90 ± 0,10

L'analyse des résultats du tableau 6.1 montre que les hydrolats de l'inule visqueuse sont riches en polyphénols, les teneurs obtenues varient de 1,64 à 2,99 mg EAG mg/mL pour l'HD, de 0,43 à 0,84 mg EAG mg/mL pour l'EVE et atteint 1,55 mg EAG mg/mL pour l'Hdiff. Cette constatation est vérifiée pour l'hydrolat de l'inule visqueuse du Portugal rapportée par *SILVA et al* [64] qui ont trouvé une teneur en polyphénols de 14,3 ± 0,6 mg EAG mg/mL d'extrait. Cette valeur est supérieure à celles obtenues dans cette étude.

Nous constatons que l'hydrodistillation donne des teneurs en polyphénols plus élevées que les deux autres procédés, ceci peut être expliqué par le fait que les feuilles sont en contact direct avec l'eau ce qui permet une bonne solubilisation des polyphénols.

Les figures 6.17 à 6.21 représentent la variation de l'activité antioxydante des hydrolats en fonction de la concentration en polyphénols.

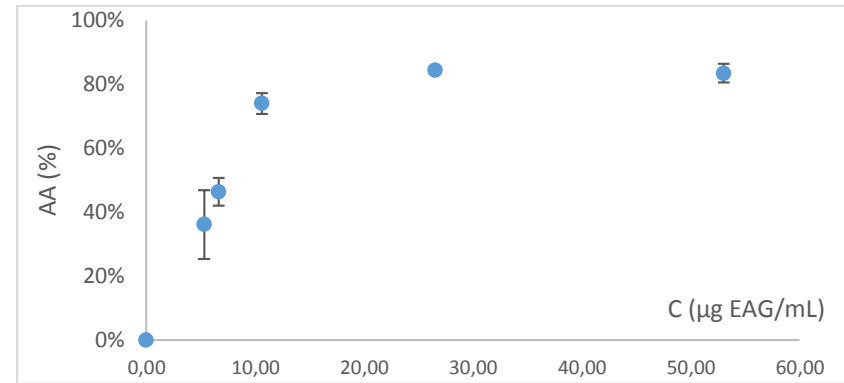
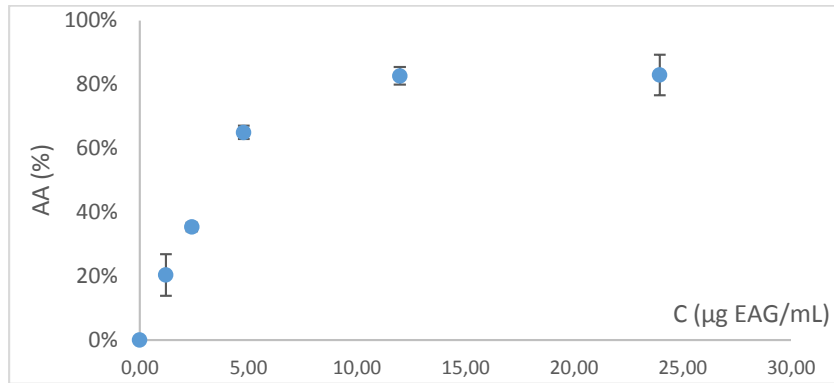


Figure 6.17 : AA (%) de l’hydrolat obtenu par HD n°5 (PF fraîches) en fonction de la concentration en polyphénols

Figure 6.18 : AA (%) de l’hydrolat obtenu par HD n°6 (GF fraîches) en fonction de la concentration en polyphénols

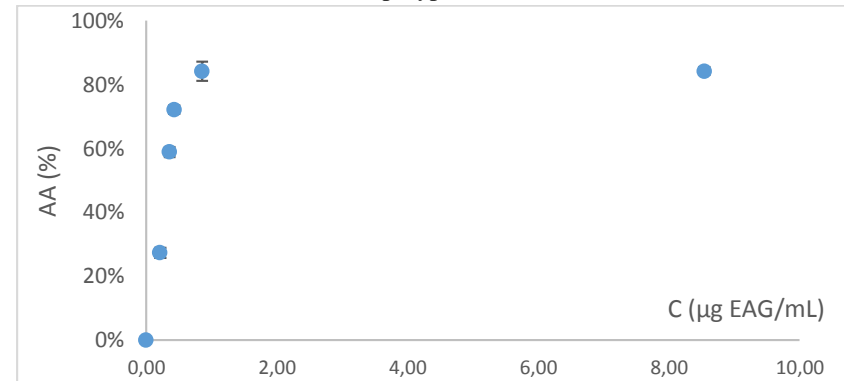
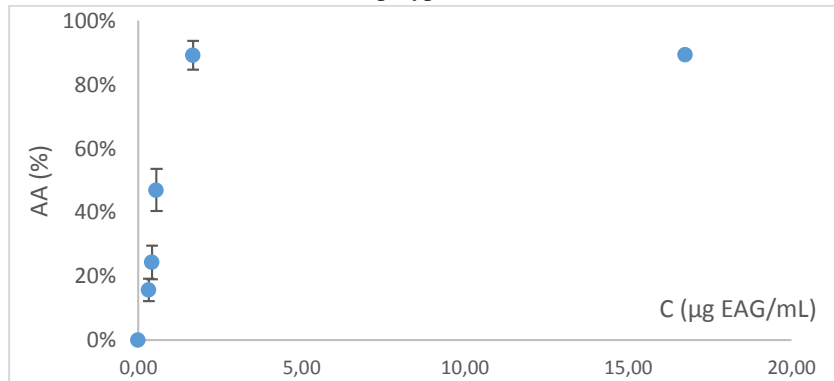


Figure 6.19 : AA (%) de l’hydrolat obtenu par EVE n°3 (PF sèches) en fonction de la concentration en polyphénols

Figure 6.20 : AA (%) de l’hydrolat obtenu par EVE n°4 (GF sèches) en fonction de la concentration en polyphénols

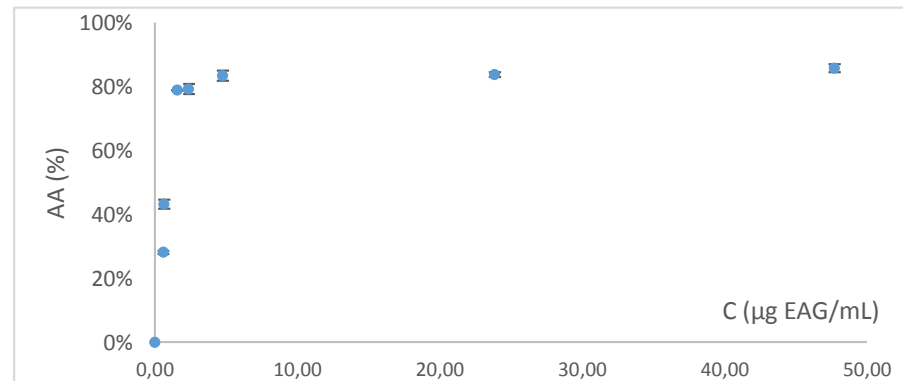


Figure 6.21 : AA (%) de l’hydrolat obtenu par Hdifff n°8 (PF sèches) en fonction de la concentration en polyphénols

Les figures 6.17 – 6.21 montrent que l'activité antioxydante des hydrolats augmente en fonction de la teneur en polyphénols, elle peut atteindre 80% pour l'HD pour une concentration > 20 µg EAG/mL, 85% pour l'EVE pour une concentration > 1 µg EAG/mL et 80% pour l'Hdiff pour une concentration > 2 µg EAG/mL. Ceci indique le fort pouvoir antioxydant des hydrolats que nous pouvons associer aux teneurs élevées en polyphénols.

À partir des figures 6.17 à 6.21, nous avons déterminé les IC₅₀ des hydrolats [tableau 6.1], ces valeurs qui varient de 0,33 à 5,9 µg/mL, confirment bien que les hydrolats possèdent des activités antioxydantes élevées. Comparée à l'inule visqueuse du Portugal, notre plante est meilleure en termes d'activité antioxydante, en effet l'IC₅₀ obtenu dans l'étude de *SILVA et al* [64] est de 4.0±0.0 µg/mL. Les propriétés antioxydantes de l'inule visqueuse algérienne l'emportent aussi sur toutes les autres plantes étudiées dans la même étude [tableau 6.2].

Tableau 6.2: Valeurs de IC₅₀ obtenus par le test DPPH pour les hydrolats de quelques plantes aromatiques provenant du Portugal [69].

	DPPH : IC ₅₀ (µg/ml)
Inula viscosa (inule visqueuse)	4.0±0.0
Foeniculum vulgare (fenouil commun)	3.7±0.0
Origanum vulgare (origan)	2.8±0.0
Salvia officinalis (sauge)	3.8±0.0
Thymbra capitata (thym à têtes)	4.4±0.0
Thymus camphoratus	3.5±0.0
Thymus carnosus (thym de mer)	2.9±0.0
Thymus mastichina (marjolaine sylvestre)	4.2±0.0
BHT	13.0±1.0

❖ Conclusion :

- Les hydrolats de l'inule visqueuse sont riches en polyphénols, les teneurs obtenues varient de 1,64 à 2,99 mg EAG mg/mL pour l'HD, de 0,43 à 0,84 mg EAG mg/mL pour l'EVE et atteint 1,55 mg EAG mg/mL pour l'Hdiff.
- L'activité antioxydante des hydrolats augmente en fonction de la teneur en polyphénols, elle peut atteindre 80% pour l'HD pour une concentration > 20 µg EAG/mL, 85% pour l'EVE pour une concentration > 1 µg EAG/ML et 80% pour l'Hdiff pour une concentration > 2 µg EAG/mL. Ce fort pouvoir est aussi indiqué par leurs IC₅₀ qui varient de 0,33 à 5,9 µg /mL.

6.3 Extraits obtenus par extraction dans un Soxhlet

Les différents extraits obtenus dans l'étude [24] ont été analysés par le test DPPH et par la méthode de Folin Ciocalteu pour la détermination de l'activité antioxydante et des polyphénols respectivement.

Dans les figures 6.22 à 6.29, nous avons rapporté les graphes présentant l'évolution du taux d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait.

Nous remarquons à partir de ces graphes que tous les extraits de l'inule visqueuse ont exhibé une activité antiradicalaire contre le radical DPPH, le taux d'inhibition atteint un palier de 90% pour tous les extraits sauf pour celui avec l'hexane.

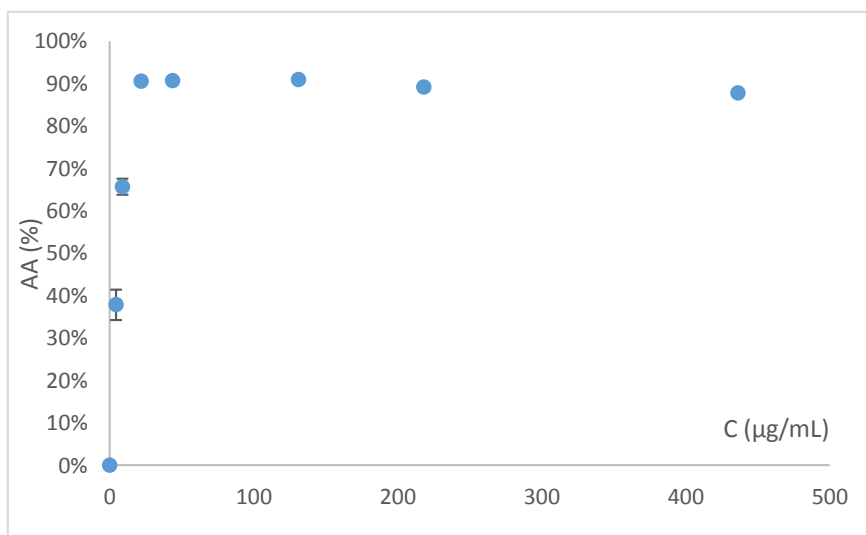


Figure 6.22 : AA (%) en fonction de la concentration (méthanol PF)

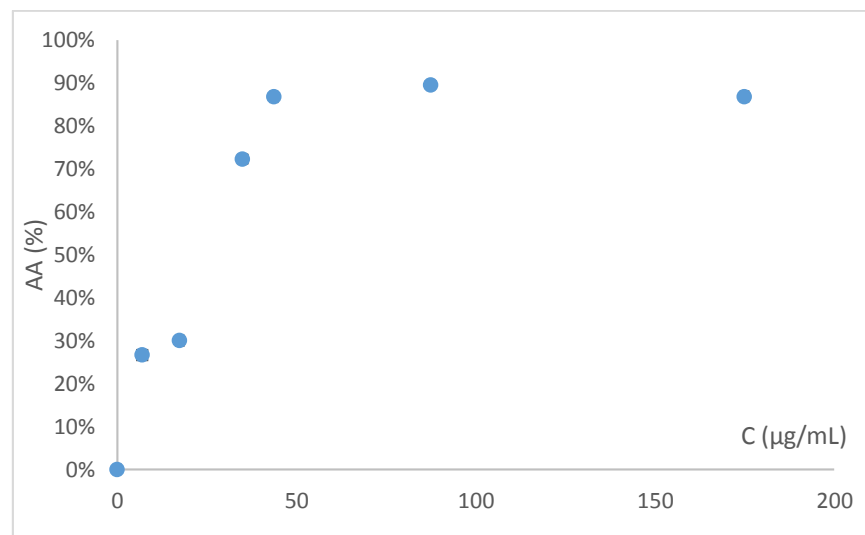


Figure 6.23 : AA (%) en fonction de la concentration (éthanol PF)

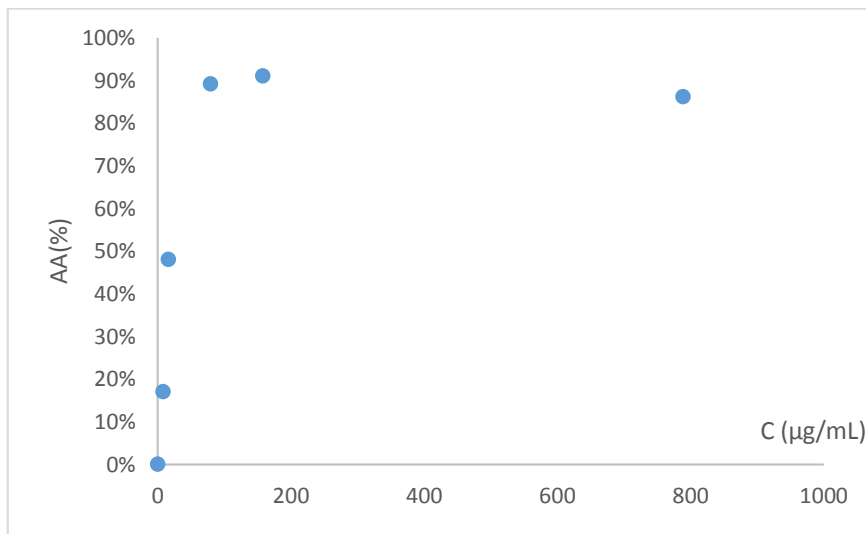


Figure 6.24 : AA (%) en fonction de la concentration (acétate d'éthyle PF)

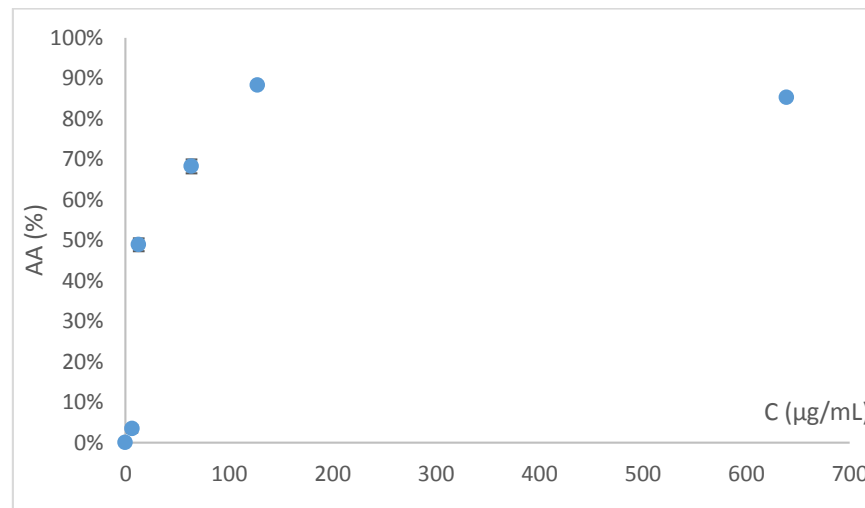


Figure 6.25 : AA (%) en fonction de la concentration (acétone PF)

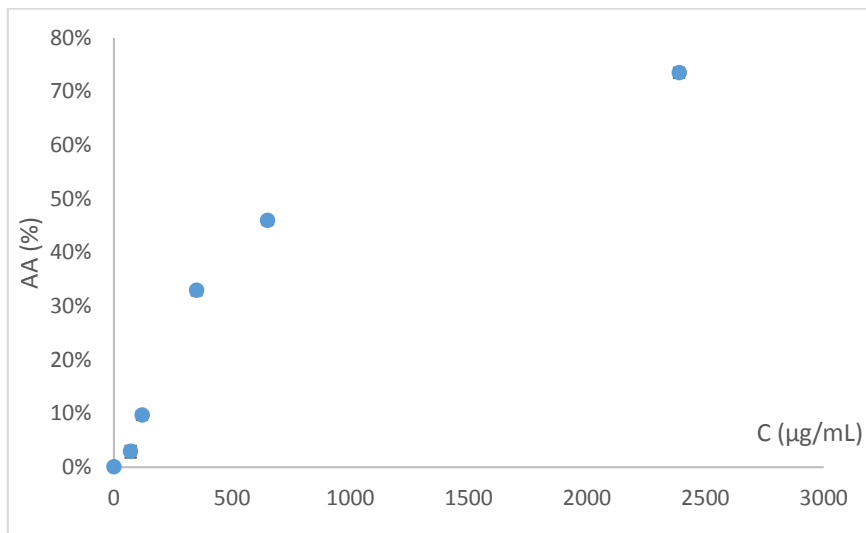


Figure 6.26 : AA (%) en fonction de la concentration (hexane PF)

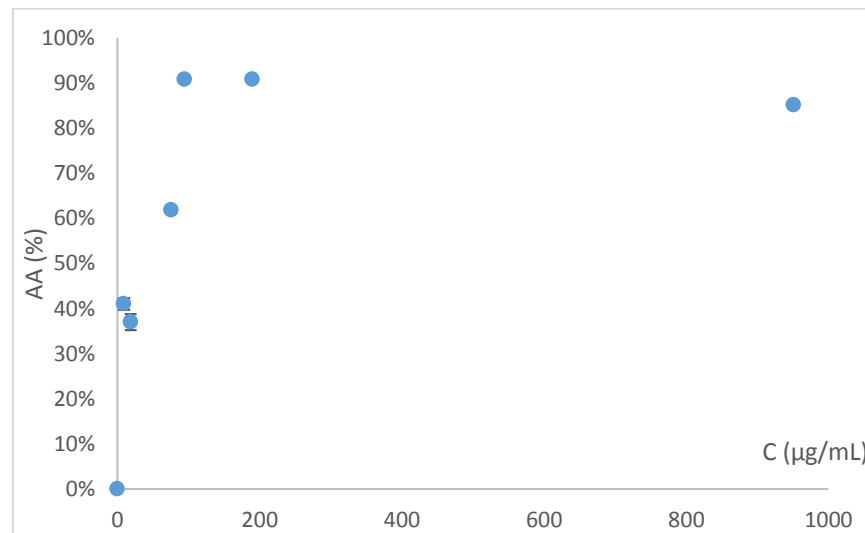


Figure 6.27 : AA (%) en fonction de la concentration (acétate d'éthyle GF)

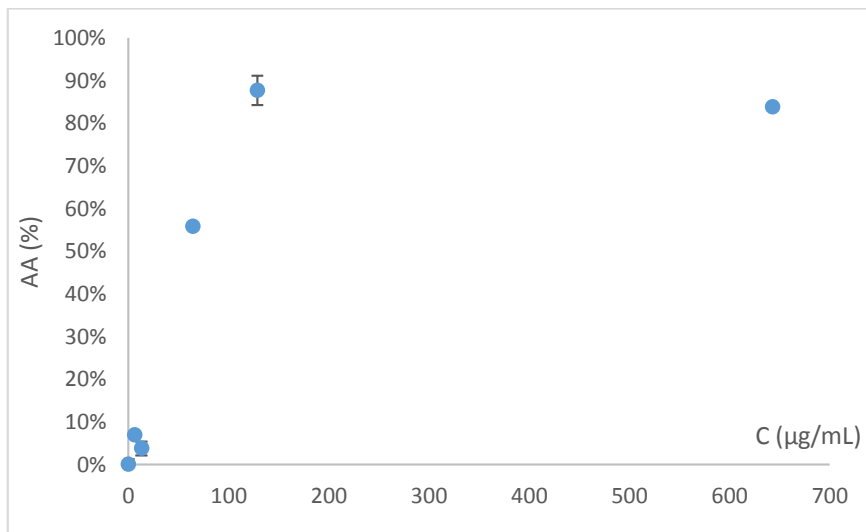


Figure 6.28 : AA (%) en fonction de la concentration (acétone GF)

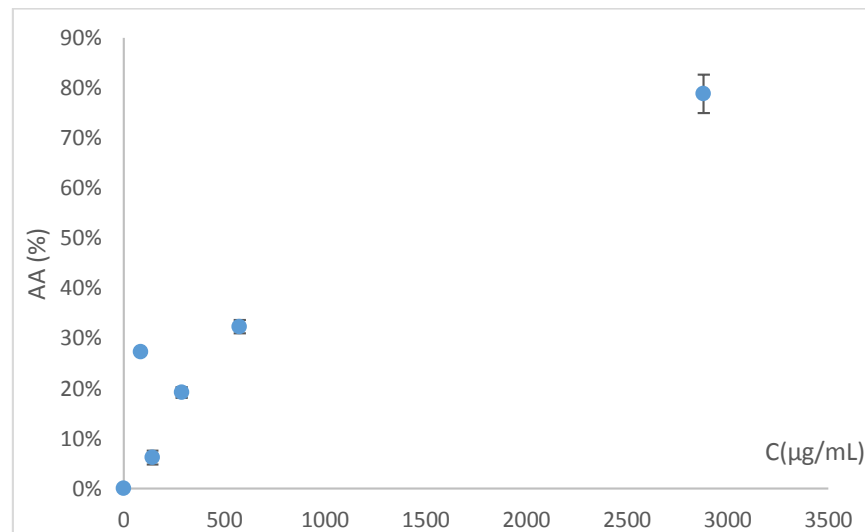


Figure 6.29 : AA (%) en fonction de la concentration (hexane GF)

A partir des graphes 6.22 à 6.29, nous avons déterminé le IC_{50} pour chaque extrait afin de pouvoir les comparer. Les résultats (IC_{50} et TPT) sont regroupés dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3: Activités antioxydantes représentées par IC_{50} (mesurées par le test de DPPH) et teneurs en polyphénols des extraits de l'inule visqueuse.

Extrait	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Polyphénols totaux (mg AGE/ g MS)
Méthanol (PF)	$5,33 \pm 0,58$	$106,34 \pm 1,49$
Éthanol (PF)	$17,67 \pm 2,08$	$70,79 \pm 1,20$
Acétate d'éthyle (PF)	$22,00 \pm 2,00$	$64,32 \pm 1,28$
Acétone (PF)	$30,00 \pm 5,00$	$51,25 \pm 0,71$
Hexane (PF)	$790,00 \pm 10,00$	$17,03 \pm 0,43$
Acétate d'éthyle (GF)	$25,67 \pm 0,58$	$66,24 \pm 0,74$
Acétone (GF)	$51,25 \pm 0,71$	$51,25 \pm 0,71$
Hexane (GF)	$52,33 \pm 2,52$	$9,39 \pm 0,23$

Les résultats du test DPPH montrent que l'extrait méthanolique possède l'activité antioxydante la plus élevée ($IC_{50} = 5,33 \pm 0,58 \mu\text{g}/\text{mL}$), suivi de l'extrait éthanolique ($17,67 \pm 2,08 \mu\text{g}/\text{mL}$) et l'extrait avec l'acétate d'éthyle ($22,00 \pm 2,00 \mu\text{g}/\text{mL}$). Nous remarquons pour ces deux derniers que les IC_{50} sont proches malgré la différence des polarités. L'extrait acétonique enregistre une AA plus faible que celle de l'acétate d'éthyle ($IC_{50} = 51,25 \pm 0,71 \mu\text{g}/\text{mL}$); l'hexane a montré la plus faible AA ($IC_{50} = 17,03 \pm 0,43 \mu\text{g}/\text{mL}$).

Nous remarquons que les teneurs en polyphénols suivent la même variation que celle des activités antioxydantes, l'extrait méthanolique est très riche en polyphénols ($106,34 \pm 1,49 \text{ mg AGE/ g MS}$).

Il a été rapporté que la majorité des polyphénols sont classés comme antioxydants hydrophiles [70,71]. Le méthanol, l'éthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone sont classés comme solvants polaires. Ceci peut expliquer les résultats obtenus, où le méthanol était le solvant le plus efficace pour l'extraction des composés antioxydants notamment des polyphénols ($106,34$

$\pm 1,49$ mg AGE/ g MS). Cela peut être dû à la meilleure solvatisation des antioxydants suite aux interactions (liaisons hydrogènes) entre les sites polaires des antioxydants et le méthanol.

L'éthanol est moins efficace que le méthanol dans l'extraction des antioxydants bien que leurs polarités sont voisines. Ceci peut être dû à une solvatisation plus faible probablement à cause du radical éthyle qui est plus long que le méthyl présent dans le méthanol.

Nous constatons que l'acétate d'éthyle donne des teneurs en polyphénols et des AA comparables à celles de l'éthanol et supérieures à celles de l'acétone, On déduit donc que les polyphénols de l'inule visqueuse sont très solubles dans l'acétate d'éthyle, ce qui confie à ses extraits une AA importante.

L'acétone enregistre une AA et une TPT relativement faibles ceci indique que le pouvoir solvant de l'acétone est moins efficace, cela peut être expliqué par le fait que l'acétone est un récepteur de protons tandis que les autres solvants sont aussi des donneurs.

L'hexane, étant un solvant apolaire, il a extrait une faible quantité de polyphénols, par conséquent, l'activité antiradicalaire de son extrait est la plus faible.

Nous déduisons à partir de ces résultats que l'activité antioxydante corrèle positivement avec la teneur en polyphénols et même les rendements [24].

Les valeurs de IC_{50} que nous avons trouvées sont comparables à celle rapportées dans le tableau 6.3. La TPT de notre extrait méthanolique est supérieure à celle obtenue par *SALHI et al* [68] et la TPT de notre extrait avec l'acétate est inférieure à celle rapportée par *CHAHMI et al* [72].

Tableau 6.4: Valeurs de IC_{50} et de TPT trouvées par les travaux antérieurs

	Solvant	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	TPT (mg EAG/ gMS)	référence
Algérie	Méthanol	4,27	62,61	[68]
Maroc	Éthanol	18	84.85 \pm 1.38	[72]
	Acétate d'éthyle	28	103.71 \pm 2.78	

❖ Comparaison des petites et grandes feuilles

Les figures 6.30 et 6.31 représentent les valeurs de IC_{50} et des teneurs en polyphénols des petites et grandes feuilles.

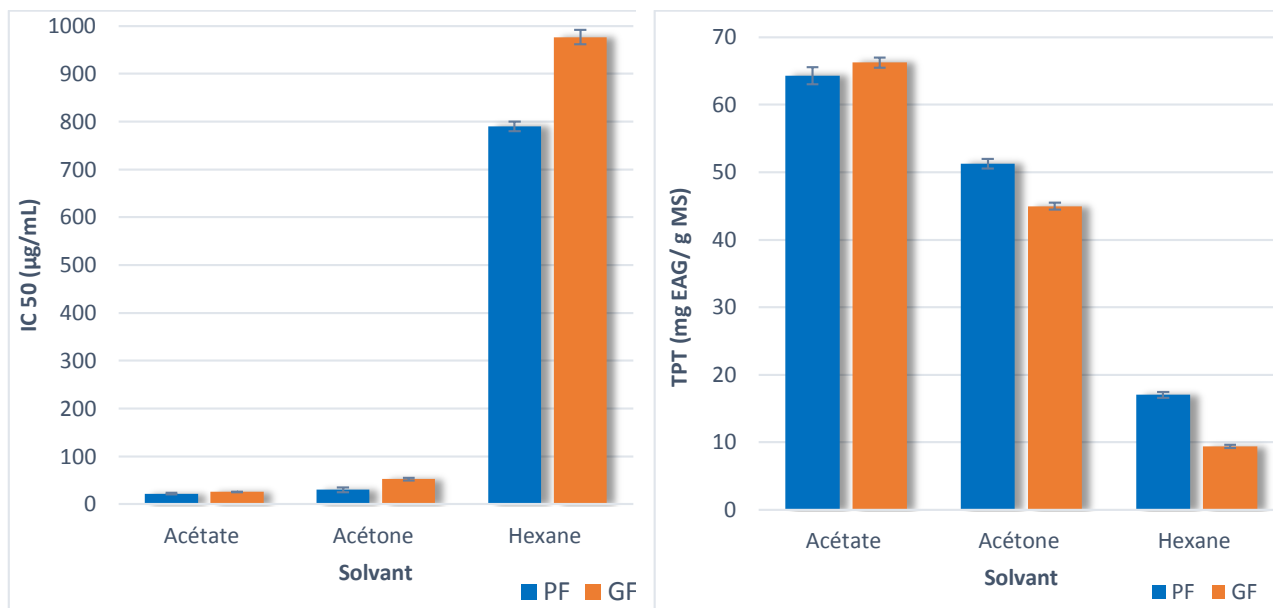


Figure 6.30 : Valeurs de IC_{50} des petites et grandes feuilles.

Figure 6.31 : Teneurs en polyphénols des petites et grandes feuilles.

Nous remarquons que l'activité antioxydante des petites feuilles est supérieure à celle des grandes feuilles, cela peut être expliqué par le fait que les PF ont des TPT plus importantes et que les GF perdent plus de composés lors du séchage.

Dans le cas de l'acétate d'éthyle, la TPT des GF est supérieure à celle des PF. Cela peut être dû au rendement élevé obtenu pour les GF par rapport aux PF.

Nous déduisons de cette comparaison, qu'il est préférable d'utiliser les petites feuilles (en début de maturité) pour avoir des activités antioxydantes plus importantes.

❖ Extraction par succession de deux solvants différents

Dans cette partie de travail, nous avons valorisé les feuilles épuisées par l'éthanol et l'hexane en les soumettant à une deuxième extraction par un solvant de polarité opposée, les

feuilles épuisées par l'éthanol ont subi une deuxième extraction par l'hexane et les feuilles épuisées par l'hexane ont subi une deuxième extraction par l'éthanol.

Les résultats du test DPPH sont représenté sur les figures 6.32 et 6.33. Le tableau 6.5 rassemble les IC₅₀ qu'on a tirés à partir des figures 6.32 et 6.33 ainsi que les teneurs en polyphénols.

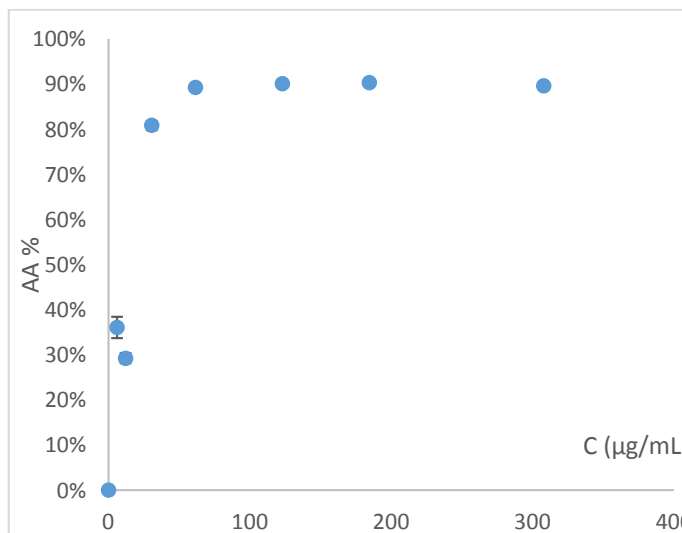


Figure 6.32 : AA (%) en fonction de la concentration (Hexane suivi d'Éthanol), 2^{ème} extraction.

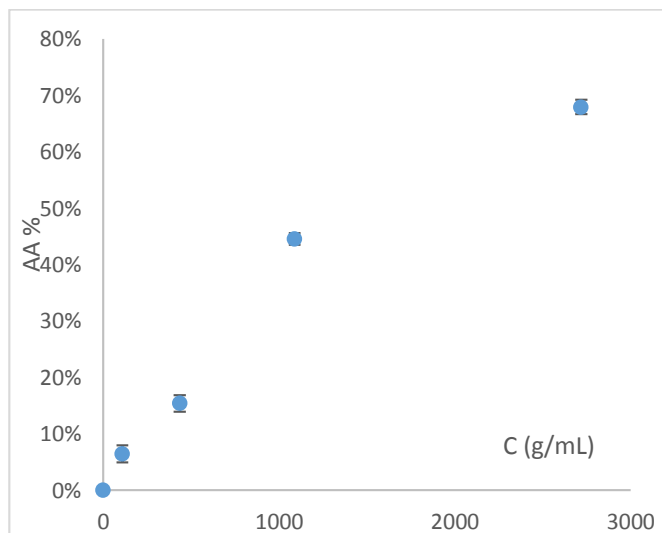


Figure 6.33 : AA (%) en fonction de la concentration (Éthanol suivi d'Hexane), 2^{ème} extraction.

Tableau 6.5: Activités antioxydantes représentées par IC₅₀ (mesurées par le test de DPPH) et teneurs en polyphénols (TPT) des extraits obtenus par succession de solvants.

1 ^{ère} extraction			2 ^{ème} extraction		
Solvant	IC ₅₀ (µg/ mL)	TPT (mg EAG/ g MS)	solvant	IC ₅₀ (µg/ mL)	TPT (mg EAG/ g MS)
Hexane	790,00 ± 10,00	17,03 ± 0,43	Éthanol	12,33 ± 1,53	27,18 ± 0,64
Éthanol	17,67 ± 2,08	70,79 ± 1,20	Hexane	1253,33 ± 15,28	0,84 ± 0,02

Les résultats obtenus révèlent que l'extraction par l'éthanol des feuilles ayant déjà été épuisées par l'hexane donne une activité antioxydante importante et une teneur en polyphénol moyenne mais cette dernière peut être améliorée. Cependant, une 2^{ème} extraction par l'hexane des

feuilles traitées par l'éthanol ne paraît pas intéressante car l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols sont très faibles. Ces résultats peuvent être expliqués par l'efficacité de l'éthanol dans l'extraction des composés polaires, notamment les polyphénols, ce qui conduit à des AA élevées.

❖ Procédés de distillation (EVE, HD, Hdiff) suivis de l'extraction par solvant

Dans cette partie, nous avons valorisé les feuilles récupérées des procédés de distillation (EVE, HD, Hdiff) en les soumettant à une deuxième extraction par différents solvants. L'activité antiradicalaire des extraits obtenus est représentée en fonction de la concentration dans les figures 6.34 à 6.36.

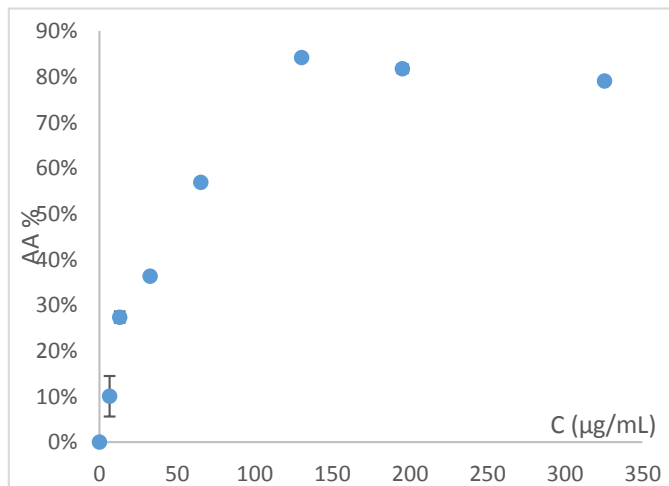


Figure 6.34 : AA (%) en fonction de la concentration (distillation suivie d'extraction par l'éthanol)

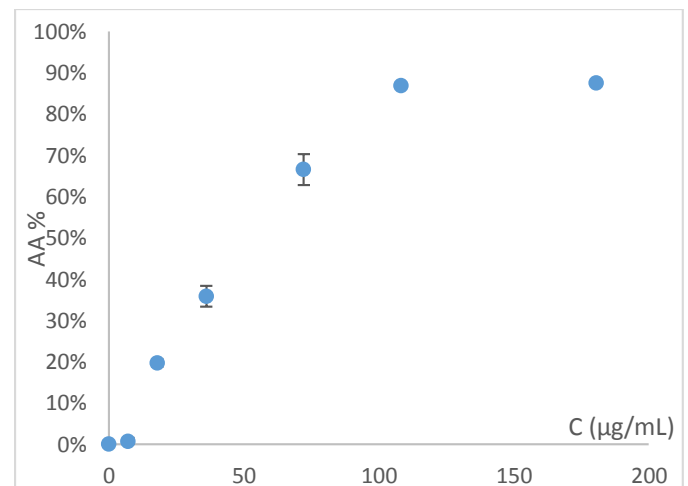


Figure 6.35 : AA (%) en fonction de la concentration (distillation suivie d'extraction par l'acétate d'éthyle)

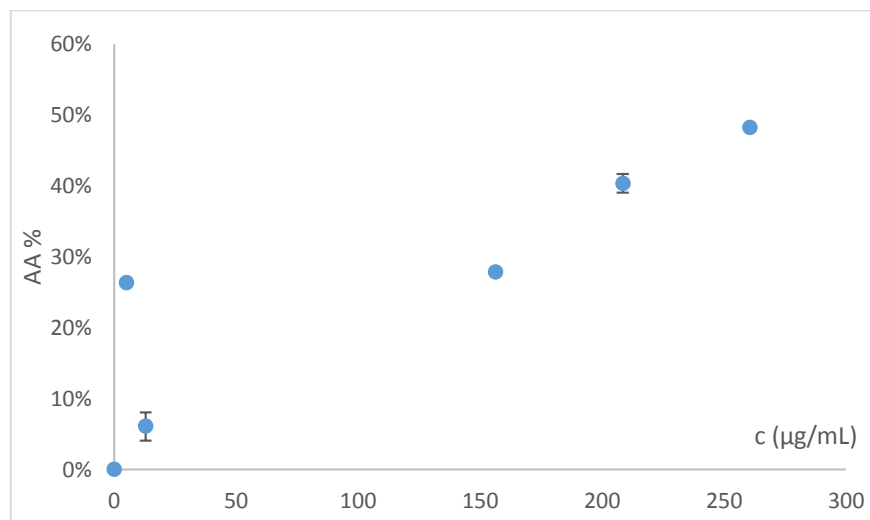


Figure 6.36 : AA (%) en fonction de la concentration (distillation suivie d'extraction par hexane)

Les graphes obtenus indiquent que tous les extraits ont un pouvoir antioxydant. Bien que la matière végétale ne soit qu'un résidu qu'on a réutilisé, nous remarquons que le taux d'inhibition atteint un palier qui dépasse 80% pour l'éthanol et l'acétate d'éthyle.

Les IC₅₀ tirés des graphes précédents et les teneurs en polyphénols sont rassemblés dans le tableau 6.6.

Tableau 6.6: Activités antioxydantes représentées par IC₅₀ (mesurées par le test de DPPH) et teneurs en polyphénols des extraits obtenus à partir des feuilles récupérées de l'EVE.

Extrait	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Polyphénols totaux (mg EAG/ g MS)
Éthanol (feuilles récupérées après distillation)	51,00 \pm 1,00	19,03 \pm 0,17
Acétate d'éthyle (feuilles récupérées après distillation)	50,33 \pm 2,31	58,00 \pm 1,16
Hexane (feuilles récupérées après distillation)	260,67 \pm 1,53	14,92 \pm 0,30

Les résultats rapportés dans le tableau 6.5 montrent que :

- Les AA et TPT de ces extraits sont importantes mais un peu plus faibles par rapport à celles obtenues dans le tableau 6.3. cette diminution peut être expliquée par le fait que l'eau a déjà extrait une partie des polyphénols et des composés actifs présents dans les feuilles.
- l'éthanol et l'acétate d'éthyle donnent des AA voisines relativement importantes ; la teneur en polyphénols pour l'extrait avec l'acétate est supérieure à celle de l'extrait éthanolique, ce qui indique que l'acétate est efficace pour l'extraction des polyphénols et que l'éthanol extrait d'autres composés que les polyphénols qui ont contribué à l'AA. Par conséquent, la valorisation des feuilles résiduelles de la distillation par ces deux solvants paraît intéressante.
- L'hexane enregistre une faible AA ainsi que la TPT.

❖ Conclusion

- L'activité antioxydante varie positivement avec la teneur en polyphénols.
- Les extraits méthanoliques, éthanoliques et avec l'acétate d'éthyle exercent une forte activité antioxydante.
- Les grandes feuilles donnent une meilleure AA pour la plante fraîche et les petites feuilles donnent la meilleure AA pour la plante sèche.
- La succession d'une extraction par solvant apolaire (Hexane) par une deuxième extraction par solvant polaires (éthanol et acétate) conduit à des extraits dotés d'un fort pouvoir antioxydant.
- L'utilisation des feuilles résiduelles des procédés de distillation dans l'extraction par solvants polaires amène à des extraits ayant des AA relativement moyennes.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Cette étude dans laquelle nous avons valorisé les différents extraits (les huiles essentielles, les hydrolats et les extraits par solvant) de l'inule visqueuse d'Alger, est une suite des travaux [19,24]. Nous avons déterminé les teneurs en polyphénols par la méthode de Folin- Ciocalteu et évalué ensuite l'activité antioxydante par le test DPPH.

L'activité antioxydante des huiles essentielles obtenues par 3 procédés, varie de (35% à 87%) pour l'entraînement à la vapeur d'eau, de (20% à 30%) pour l'hydrodistillation et atteint 90% pour l'hydrodiffusion. Étant donné que les quantités des HE récupérées varient d'une manipulation à une autre, la comparaison a été difficile à réaliser, nous avons alors comparé les AA pour les HE ayant la même concentration (260 µg/mL).

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau ont montré des activités antioxydantes moyennes comparées aux autres plantes des astéracées [Tableau 4.3]. Les huiles obtenues par hydrodiffusion ont montré des activités antioxydantes plus élevées qui ont atteint des taux d'inhibition de 90% pour une concentration de 260 µg/mL, tandis que ceux de l'hydrodistillation varient de (5 à 10%) et de (10 à 17%) pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

Les résultats obtenus ont aussi révélé l'influence du stade de croissance et du taux d'humidité de la plante sur l'activité antioxydante et les teneurs en polyphénols, en effet, la plante fraîche qui semble avoir gagné en maturité, donne de meilleures activités antioxydantes et de teneurs en polyphénols.

L'évolution de l'activité antioxydante des fractions d'HE obtenues dans des intervalles de temps bien déterminés est presque constante, proche de la valeur de la fraction globale. Ainsi, le fractionnement, qui ne donne pas d'améliorations aussi bien en termes d'activité antioxydante qu'en termes de rendement, n'est pas recommandé.

Nous avons également étudié la propriété antioxydante des hydrolats récupérés lors des extractions des huiles essentielles.

Les résultats ont révélé que les hydrolats de l'inule visqueuse sont riches en polyphénols, et l'hydrodistillation donne des teneurs en polyphénols plus élevées que les deux autres procédés.

Les teneurs obtenues varient de 1,64 à 2,99 mg EAG mg/mL pour l'HD, de 0,43 à 0,84 mg EAG mg/mL pour l'EVE et atteint 1,55 mg EAG mg/mL pour l'Hdiff.

L'activité antioxydante des hydrolats augmente en fonction de la teneur en polyphénols, elle peut atteindre 80% pour l'HD pour une concentration $> 20 \mu\text{g EAG/mL}$, 85% pour l'EVE pour une concentration $> 1 \mu\text{g EAG/MI}$ et 80% pour l'Hdiff pour une concentration $> 2 \mu\text{g EAG/mL}$. Ce fort pouvoir est aussi indiqué par leurs IC_{50} qui varient de 0,33 à 5,9 $\mu\text{g EAG /mL}$.

Dans cette étude, nous avons aussi analysé les extraits obtenus par succession de solvants de polarités opposées (éthanol et hexane). L'extraction par l'hexane suivie de l'éthanol a donné une forte activité antioxydante ($\text{IC}_{50} = 12,33 \mu\text{g/mL}$) et une teneur en polyphénols moyenne. Ces résultats indiquent l'intérêt de valoriser la matière végétale résiduelle de l'extraction par l'hexane. L'extrait obtenu par l'hexane peut être utilisé dans les industries cosmétiques et parfumeries, la matière végétale qui est un déchet peut subir une seconde extraction à l'éthanol pour obtenir des activités antioxydantes importantes, en améliorant les conditions opératoires des procédés, la teneur en polyphénols pourrait aussi être améliorée.

Les feuilles résiduelles des procédés de distillation ont subi une seconde extraction par différents solvants : hexane, acétate d'éthyle et éthanol. Nous avons constaté pour ces derniers des propriétés antioxydantes considérables ($\text{IC}_{50} = 50,33$ et $51,00 \mu\text{g/mL}$ respectivement) d'où l'intérêt de valoriser les déchets solides lors de la distillation par une extraction par solvant polaire notamment l'éthanol et l'acétate d'éthyle.

Notre travail sert de référence pour les travaux à venir, en perspectives nous suggérons :

- d'identifier les composés antioxydants et la composition phénoliques de chaque extrait notamment les hydrolats qui ont révélé des résultats intéressants et qui sont rarement étudiés ;
- d'identifier et de quantifier les métaux lourds présents dans les extraits et de les éliminer avant commercialisation ; cette suggestion est basée sur les résultats de l'étude [16] qui ont prouvé la forte absorption des métaux lourds par l'inule visqueuse ;
- d'utiliser des procédés alternatifs tels que l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par CO_2 supercritique et d'optimiser les conditions opératoires afin de minimiser la consommation énergétique, d'augmenter le rendement et probablement augmenter l'activité antioxydante.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] SECA M.L.A, GRIGORE A., PINTO D.C.G.A., SILVA A.M.S., 2014. The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses. *Journal of Ethnopharmacology*. **154**. 286–310.
- [2] LAMBION J., 2012. Biodiversité fonctionnelle : plante des inules visqueuses et son exploitation, article paru dans le bulletin du GRAB n°65.
- [3] BRULLO S., DE MARCO G., 2000. Taxonomical revision of the genus *Dittrichia* (Asteraceae). *Portugaliae Acta Biologica* **19**.341-354.
- [4] STAVRIANAKOU S., LIAKOPOULOS G., KARABOURNIOTIS G., 2006. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany*. **56**. 293-300.
- [5] REEB C., 2010. Plantes mellifères : L’Inule visqueuse. *Abeilles & Fleurs*. **720**. 19-20.
- [6] GUEZEL P., SANTA S., 1962. Nouvelle flore de l’Algérie, tome 1, Edition du centre national de la recherche scientifique.
- [7] DPIPWE (Department of Primary Industries, Parks, Water and Environment), 2011. False Yellow Head Weed Management Plan. Statutory Weed Management Plan as at June 2011. Tasmania / Australia.
- [8] TESSIER H., A., FOUGEROUX DE BONDAROY A.D., THOUIN A, BOSC L.A.G., 1813. Encyclopédie méthodique, Agriculture, Tome cinquième. Paris. P29.
- [9] PAROLIN P., M. ION SCOTTA, C. BRESCH. 2014. Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant : a review. *FYTON*. **83**. 251-262.
- [10] KARAGEORGOU P., LEVIZOU E., MANETAS Y., 2002. The influence of drought, shade and availability of mineral nutrients on exudate phenolics of *Dittrichia viscosa*. *Flora*. **197**. 285-289.
- [11] HAOUI I.E., 2011. Extraction et valorisation des huiles essentielles de l’inula viscosa (L.) Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique d’Alger. p 61.
- [12] DE LAURENTIS, N., LOSACCO V., MILILLO M.A., LAI M., 2002. Chemical investigations of volatile constituents of *Inula viscosa* (L.) Aiton (Asteraceae) from different areas of Apulia, Southern Italy. *Delpinoa*. **44** .115-119.
- [13] LAURO, L., ROLIH, C., 1990. Observations and research on an extract of *Inula viscosa* Ait. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*. **66**. 829-834.
- [14] AKKAWI M., ABBASI I., JABER S., ABUREMELEH Q., NASEREDIN A., LUTGEN P., 2014. Investigation of Traditional Palestinian Medicinal Plant *Inula viscosa* as Potential Anti-malarial Agent. *Br. J. Pharmacol. Toxicol*. **5(5)**. 156-162.
- [15] PEREZ ALONSO M.J., VELASCO-NEGUERUELA A., EMIN DURU M., HAR- MANDAR M., GARCIA VALLEJO M.C.1996. Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Inula viscosa*. *Flavour and Fragrance Journal*. **11**. 349-351.
- [16] CONESA H.M., MARIA-CERVANTES A., ALVAREZ-ROGEL J., GONZALEZ-ALCARAZ M.N., 2011. Influence of soil properties on trace element availability and plant accumulation in a Mediterranean

salt marsh polluted by mining wastes: Implications for phytomanagement RID A-3481-2009. *Science of the Total Environment*. **409**. 4470-4479.

[17] FRANCO-MICÁN, S., CASTRO J., CAMPOS M., 2010. Preliminary study of the parasitic complex associated with *Dittrichia viscosa* in Andalusia (Spain). *IOBC/WPRS Bulletin*. **53**. 139-143.

[18] NAWAFLEH E., IRSHEDAT M., BATAINEH T., MUHAIDAT R., AL-QUDAH M., ALOMARY A., 2012. The effects of *Inula viscosa* Extract on corrosion of copper in NaOH Solution. *Res.J.Chem.Sci*. **2(9)**, 37-41,

[19] LAHOUZI N., 2015. Extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse. Mémoire de master. Ecole nationale polytechnique, Alger.

[20] PIOCHON M., 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. L'université du Québec à Chicoutimi

[21] JEANNOT, V. ; CHAHBOUN, J.; RUSSEL, D.; CASABLANCA, H. 2003. *Origanum compactum* Bentham : Composition of the hydrolat aromatic fraction, comparison with the essential oil and its interest in aromatherapy. *Int. J. Aromather*. **13**, 90-94.

[22] SAGDIÇ, Ö. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm-Wiss Technol*. **36**,467-473.

[23] BOYRAZ, N. ; Özcan, M. 2005. Antifungal effect of some spice hydrosols. *Fitoterapia* **76**, 661-665.

[24] MESSAOUDI S., 2015. Récupération des extraits de l'inule visqueuse. Mémoire de master. École nationale polytechnique d'Alger.

[25] BOUSBIA N., 2011. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & École Nationale Supérieure Agronomique .128.

[26] SARNI-MANCHADO P., CHEYNIER V., 2006. Les polyphénols en agroalimentaire (résumé). Ed Tec et Doc / Lavoisier.

[27] MOULAY Y., 2012. Investigation Phytochimique de l'Acacia arabica Aux propriétés antioxydantes et inhibitrices. Mémoire de Magister, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA.

[28] BELYAGOUBI Née BENHAMMOU N., 2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien, THÈSE de doctorat, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.

[29] NEDJMI A., SOUSSOU A., 2014. Caractérisations biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales à travers des différents modes de séchage, Mémoire de MASTER, Université KASDI MERBAH OUARGLA.

[30] YAKHLEF G., 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L., thèse de MAGISTER, Université EL HADJ LAKHDAR BATNA.

[31] DJEMAI ZOUGHLACHE S., 2009. Étude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L., thèse de MAGISTER, Université EL HADJ LAKHDAR –BATNA

- [32] PHOTO HOLLMAN P.C.H., HERTOOG M.G.L., KATAN M.B. 1996. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*. **57(1)**. 43-46.
- [33] JOSEPH M.L., ASHARAJ K.R., 2014. Trend of organ-wise change in selected antioxidant enzyme activity in spotted scat from Cochin backwaters. *Asv. Appl.Sci.Res.* **5(2)**. 153-158.
- [34] FAVIER A., 2003. Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique, mécanismes biochimiques*. 108 - 115.
- [35] HALLIWELL B., 2006. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *J Neurochem.* **97(6)**. 1634-58.
- [36] PELLI K., LYLly M., 2003. Les antioxydants dans l'alimentation, VTT Biotechnology, Finlande. Project n° QLK1-CT - 2000 – 00040. N° ISBN : 2-7380-1069-5.
- [37] MARC F., DAVIN A., DEGLÈNE-BENBRAHIM L., FERRAND C., BACCAUNAUD M. ET FRITSCH P., 2004. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S : médecine sciences*, **20**. 458-463.
- [38] PIETTA P.G, 2000. Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.***63(7)**.1035-42.
- [39] LABUZA T.P., DUGAN JR L.R.,1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *Jr - Critical Reviews in Food Science & Nutrition.* **2(3)** ; 355-405.
- [40] EL KALAMOUNI C., 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
- [41] PENCHEV P.I. 2010. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse. 6.
- [42] DEFRAIGNE J.O., PINCEMAIL J. 2007. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités, *Rev Med Liege* .**62** .4.
- [43] MOGHADDAM M., KHALEGHI MIRAN S N., GHASEMI PIRBALOUTI A., MEHDIZADEH L., GHADERI Y., 2015. Variation in essential oil composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, **70**, 163–16. activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*, **70**, 163–16.
- [44] PUSHPARAJ F.S., UROOJ A., 2014. Antioxidant Activity in Two Pearl Millet (*Pennisetum typhoideum*) Cultivars as Influenced by Processing. *Antioxidants*, **3**, 55-66. doi: 10.3390/antiox3010055
- [45] MIGUEL M. G., 2009. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. *Flavor and fragrance journal.***25(5)**. 291-312.
- [46] AGROBIO. 2009. Evaluer la capacité antioxydante par des tests in vitro.
- [47] DENYS J.C., 2012. Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Eds, springe Science & business media, New York, 39.
- [48] ANGAJI S. A., MOUSAVI S.F., BABAPOUR E., 2012. Antioxidants: A few key points. *Annals of Biological Research*, **3 (8)**, 3968-3977.

- [49] CHETHAN J., SAMPATH KUMARA K.K., SEKHAR SHAILASREE, PRAKASH H.S., 2012. Antioxidant, antibacterial and DNA protecting activity of selected medicinally important asteraceae plants. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, **4** (2), p257.
- [50] CANDAN F., UNLU M., TEPE B , DAFERERA D., POLISSIOU M., SÖKMEN A, AKPULAT HA., 2003, Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *J Ethnopharmacol*, **87**(2-3), 215-20.
- [51] RIAHI L., CHOGRANI H., ELFERCHICHI M., ZAOUALI Y., ZOGHLAMI MLIKI A., 2013. Variations in Tunisian wormwood essential oil profiles and phenolic content between leaves and flowers and their effects on antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, **46**, 290–296.
- [52] GHASEMI PIRBALOUTIA A., FIROZNEZHAD M., CRAKERB L., AKBARZADEH M., 2013. Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. *Rev Bras Farmacogn*, **23**, 861-869.
- [53] BOZIN B., MIMICA-DUKIC N, BOGAVAC M., SUVAJDZIC L., SIMIN N., SAMOJLIK I., COULADIS M., 2008. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele Essential oils. *Molecules*, **13**, 2058-2068.
- [54] BAKCHICHE B., GHERIB A., SMAIL A., CUSTÓDIA G., GRACA MIGUEL M., 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, **46**, 85–96.
- [55] AYOUGHI F., BARZEGAR M., SAHARI M.A., NAGHDIBADI H., 2011. Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. and Endemic *Matricaria chamomilla* L. and an Evaluation of their Antioxidative Effects. *J. Agr. Sci. Tech.* (**13**), 79-88.
- [56] JUAN-BADATURUGE M., HABTEMARIAM S., JACKSON C., THOMAS M.J., 2009. Antioxidant principles of *Tanacetum vulgare* L. aerial parts. *Nat Prod Commun.* **4** (11), 1561- 1564.
- [57] MAZANDARANI M., GHAFOURIAN M, KHORMALI A., 2014. Ethnopharmacology, Antibacterial and Antioxidant Activity of *Dittrichia graveolens* (L.) W. Greuter. Which Has Been Used as Remedies Antirheumatic, Anti-inflammation and Antiinfection against Leishmaniasis in the Traditional Medicine of Gorgan, Iran. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, **1**(4), 125-129.
- [58] VANESSA M. MUNHOZ, RENATA LONGHINI, JOSÉ R.P. SOUZA, JOÃO A.C. ZEQUI, ENERI V.S. LEITE MELLO, GISELY C. LOPES, JOÃO C.P. MELLO 2014. Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity. *Rev Bras Farmacogn*, **24**, 576-583.
- [59] KENNY O., SMYTH T.J., WALSH D., KELLEHER C.T., HEWAGE C.M., BRUNTON N.P., 2014. Investigating the potential of under-utilised plants from the Asteraceae family as a source of natural antimicrobial and antioxidant extracts. *Food Chemistry*, **161**, 79–86.
- [60] STANISAVLJEVIĆ I., STOJILJEVIĆ S., VELIČKOVIĆ D., VELJKOVIĆ V., LAZIĆ M. 2009. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Echinacea* (*Echinacea purpurea* L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, **17**(3), 478-483.
- [61] BARANAUSKIENE R., KAZERNAVICI R., PUKALSKIENE M., MAZDZIERIEN R., RIMANTAS VENSKUTONIS P., 2014. Agrorefinery of *Tanacetum vulgare* L. into valuable products and evaluation of their antioxidant properties and phytochemical composition. *Industrial Crops and Products*, **60**, 113–122.

- [62] IRDA F., EVELYNE N., KOMAR R., 2015. In vitro antioxidant activities, total flavonoid, phenolic and carotenoid content from various extracts of four species asteraceae herb. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7(4).
- [63] KALOUSTIAN J., MIKAIL C. , ABOU L. ,VERGNES M.F. ,NICOLAY A.,PORTUGAL H., 2008 . Nouvelles perspectives industrielles pour les hydrolats, *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*, 155:3, 367-373, DOI: 10.1080/12538078.2008.10516117
- [64] SILVIA M. ALBANO, A. SOFIA LIMA, M. GRAÇA MIGUEL, LUIS G. PEDRO, JOSE G. BARROSO, A. CRISTINA FIGUEIREDO, 2012. Antioxidant, Anti-5-lipoxygenase and Antiacetylcholinesterase Activities of Essential Oils and Decoction Waters of Some Aromatic Plants. *Rec. Nat. Prod.* **6** (1), 35-48.
- [65] MACHEIX J.J, FLEURIET A., JAY-ALLEMAND C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique .1-18.
- [66] LI H-B, CHENG K-W., WONG C-C., FAN K-W., CHEN F., JIANG Y.,2007 .Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*. **102**. 771-776.
- [67] AOUCHE H., 2010. Extraction et valorisation des polyphénols d'inule visqueuse. Mémoire de fin d'étude. Ecole nationale polytechnique.48.
- [68] SALHI H., SEHAL I., 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'inule visqueuse. Mémoire de fin d'étude. 61.
- [69] QUE F., MAO L., PAN X. 2006. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compound. *Food Research International*. **39**. 581-587.
- [70] HUANG D., OU B., HAMPSCH-WOODILL M., FLANAGAN J.A., DEEMER E.K., 2002. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer. *J Agric Food Chem* **50**.1815-1821.
- [71] WU X., BEECHER G.R., HOLDEN J.M., HAYTOWITZ D.B., GEBHARDT S.E., PRIOR R.L.2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J Agric Food Chem*. **52**.4026-4037.
- [72] CHAHMI N., ANISSI J., JENNAN S., FARAH A., SENDIDE K, EL HASSOUNI M.,2015. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pac J Trop Biomed*. **5(3)**. 228-233.

WEBOGRAPHIE

- [1] Site web http://www.maltawildplants.com/ASTR/Dittrichia_viscosa.php
- [2] Site web http://kanlaipoulorondaidan.fr/flore_bonnier/pages/170-inula.htm
- [3] Site web www.albanmuller.com
- [4] Site web <http://www.futura-sciences.com/magazines/matiere/infos/dossiers/d/chimie-aromes-alimentaires-384/page/4/>
- [5] Site web <http://www.eusacolors.com/fr/oleoresines-et-huiles-essentielles>

- [6] **Site web** http://www.laveritesurlescosmetiques.com/themen_003_fr.html
- [7] **Site web** <http://santepourvous.overblog.com/2015/01/les-secteurs-d-utilisation-des-extraits-de-plante.html>
- [8] **Site web** <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814696000659>
- [9] **Site web:** <http://www.thierrysouccar.com/nutrition/info/quest-ce-que-le-stress-oxydant-471>
- [10] **Site web** <http://fr.wikipedia.org/wiki/Antioxydant>
- [11] **Site web** <http://fr.wikipedia.org/wiki/Antioxydant>
- [12] **Site web:** http://fr.wikipedia.org/wiki/Baie_de_goji
- [13] **Site web:** http://fr.wikipedia.org/wiki/Morinda_citrifolia
- [14] **Site web:** <http://www.wellbeing.com.au/blog/essential-oils-the-most-powerful-antioxidants/>
- [15] **Site web:** <http://www.cancertutor.com/limujuice/>
- [16] **Site web:** <http://algerianativeplants.net/html/plante-algerie-statistique-familleboutanique.php>
- [17] **Site web** http://www.senioractu.com/Des-pouvoirs-antioxydant-et-anti-radicalairesdesplantes-aromatiques-et-medicinales-fruits-et-legumes_a16391.html

**ANNEXE A – DISTRIBUTION DES DIFFÉRENTES FAMILLES DE LA FLORE
ALGÉRIENNE EN FONCTION DU NOMBRE D'ESPÈCES.**

Famille	Nb. d'espèces*	Pour cent.	Famille	Nb. d'espèces*	Pour cent.
Astéracées	648	15,72 %	Zygophyllacées	27	0,65 %
Fabacées	453	10,99 %	Plantaginacées	26	0,63 %
Poacées	368	8,93 %	Iridacées	24	0,58 %
Brassicacées	200	4,85 %	Fumariacées	21	0,50 %
Lamiacées	184	4,46 %	Dipsacacées	20	0,48 %
Caryophyllacées	182	4,41 %	Résédacées	20	0,48 %
Apiacées	163	3,95 %	Amaranthacées	19	0,46 %
Scrofulariacées	110	2,66 %	Linacées	19	0,46 %
Cistacées	94	2,28 %	Polypodiacées	19	0,46 %
Liliacées	86	2,08 %	Primulacées	19	0,46 %
Boraginacées	81	1,96 %	Amaryllidacées	18	0,43 %
Chénopodiacées	75	1,82 %	Papavéracées	17	0,41 %
Cypéracées	73	1,77 %	Asclépiadacées	16	0,38 %
Orchidacées	60	1,45 %	Clusiacées	16	0,38 %
Ranunculacées	54	1,31 %	Gentianacées	15	0,36 %
Euphorbiacées	51	1,23 %	Polygalacées	14	0,33 %
Rosacées	50	1,21 %	Onagracées	13	0,31 %
Rubiacees	50	1,21 %	Potamogetonacées	13	0,31 %
Géraniacées	46	1,11 %	Rhamnacees	13	0,31 %
Plumbaginacées	44	1,06 %	Tamaricacées	13	0,31 %
Convolvulacées	43	1,04 %	Aizoacées	12	0,29 %
Malvacées	39	0,94 %	Oléacées	12	0,29 %
Campanulacées	37	0,89 %	Thyméliacées	12	0,29 %
Valérianacées	35	0,84 %	Cucurbitacées	10	0,24 %
Polygonacées	34	0,82 %	Fagacées	10	0,24 %
Solanacées	33	0,80 %	Frankéniacées	10	0,24 %
Orobanchacées	32	0,77 %	Violacées	10	0,24 %
Crassulacées	27	0,65 %	Autres familles	303	7,35 %
Juncacées	27	0,65 %	Total	4120	