

Liste des abréviations

% : pourcentage.

µg : Microgramme.

µl: Microlitre.

ABTS: 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid).

C° : Degré Celsius.

CO₂: Dioxyde de carbone.

DPPH : Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl.

E. coli: Escherichia coli.

FRAP: ferric reducing ability of plasma.

HE : Huile essentielle.

L. citriodora: Lippia citriodora.

MDA : malondialdéhyde.

mg : milligramme.

ml : Millilitre.

N : Nord.

Rd : Rendement.

SOD : superoxyde dismutase.

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre I : La plante étudiée <i>Lippia citriodora</i>.	
1. Noms communs.....	4
2. Description de <i>Lippia citriodora</i>	4
3. Classification de <i>L. citriodora</i>	5
4. Habitat et culture de <i>L. citriodora</i>	6
5. Utilisation en médecine traditionnelle de <i>L. citriodora</i>	6
6. Composition en polyphénols de l'infusé de <i>Lippia citriodora</i>	6
7. Propriétés antioxydantes de l'infusé de <i>Lippia citriodora</i>	7
8. Récolte et séchage de <i>Lippia citriodora</i>	8
9. Marché de <i>Lippia citriodora</i>	8
Chapitre II : Les huiles essentielles	
1. Définition des huiles essentielles.....	9
2. Répartition systématique et caractères chimiques des huiles essentielles.....	11
3. Propriétés et activités biologiques des huiles essentielles.....	11
3.1. Antibactérienne.....	11
3.2. Antivirale.....	11
3.3. Antifongique.....	11
3.4. Antiparasitaire.....	11
3.5. Antiseptique.....	12
4. Propriétés physique des huiles essentielles.....	12
5. Chimie des huiles essentielles.....	13
6. Extraction des huiles essentielles.....	15
6.1. Principales méthodes d'extraction.....	16
6.2. Autres méthodes d'obtention des extraits volatils.....	17
7. Les applications alimentaires des huiles essentielles.....	18
8. Utilisation des huiles essentielles.....	20
9. Mode d'action des huiles essentielles.....	21

10. Parfumerie et cosmétologie.....	22
11. Toxicité des huiles essentielles.....	22
12. L'aromathérapie.....	23
13. Contrôle de qualité des huiles essentielles.....	23
Chapitre III : Matériels et méthodes	
1. Prévenance de matériels végétal.....	24
1-1.Situation géographique de la zone d'étude.....	24
1.2. Récolte et conservation de la plante (<i>Lippia citriodora</i>).....	25
2. Extraction l'huile essentielle de plante étudié.....	25
2.1. Procédé d'extraction et conservation des huiles essentielles.....	25
2.2. Matériels utilisés.....	25
2.3. Méthode.....	25
2.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	27
2.5. Le rendement(Rd).....	27
3.L'activité antioxydante.....	27
3.1. Le test du DPPH.....	28
3.2. Le teste de l'ABTS.....	29
Chapitre IV : Résultats et discussion	
1. propriétés organoleptiques d'huile essentielle extraite.....	31
2. Rendement en huile essentielle.....	31
3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	33
3.1. L'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i> par le test de DPPH.....	34
3.2. L'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i> par le test de l'ABTS.....	35
Conclusion générale.....	37
Références bibliographiques.....	38



INTRODUCTION



Introduction

Malgré les progrès réalisés en médecine au cours des dernières décennies, de nombreux médicaments restent insuffisants face aux fléaux tels que : la malaria, première cause de mortalité dans le monde, cancer, Alzheimer, infection virales et bactériennes. A ceci, s'ajoute l'augmentation de l'incidence des infections fongiques avec l'émergence de nouvelles maladies qui affaiblissent le système immunitaire (SIDA) ; le recours aux traitements immunosuppresseurs (afin d'éviter les rejets de greffes), les traitements antinéoplasiques de plus en plus agressifs, ainsi que l'apparition de souches de microorganismes de plus en plus résistantes aux traitements connus (**Hostettmann et Marston, 2002**).

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces fléaux. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances, si l'on considère que chacune de ces plantes peut contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires (**Hostettmann et Marston, 2002**).

Toutes les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. Le développement des techniques d'analyses chimiques a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents ceux-ci appartiennent à deux types de métabolisme primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (**Wichtel et Anton, 1999**). En phytochimie et pharmacologie seule une petite partie de 400000 espèces végétales connues était exploitée, et une espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents et d'intérêts variés (**Remmal et al., 1993**). La pharmacologie utilise ces molécules car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes, parmi ces substances, les huiles essentielles qui caractérisent les plantes aromatiques (**Remmal et al., 1993**). En effet, les huiles essentielles sont très utilisées par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Haddouchi et Benmansour, 2008**).

Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune : elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons (**Piochon, 2008**).

En industrie alimentaire, jusqu'à présent de nombreux micro-organismes pathogènes ; tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* et *Campylobacter jejuni*, ont été signalé comme agents responsables de maladies d'origine alimentaire et d'altération des aliments (**Walker, 1988; Deak et Beuchat, 1996 ; Pitt et Hocking, 1997 ; Betts et al., 1999**).

Les aliments frais et/ou transformés sont ouverts à la contamination au cours de leur production, leur vente et leur distribution (**Deak et Beuchat, 1996**).

Actuellement, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs (**El-Lakany et al., 1997**).

Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes les rendant intéressants comme produits de remplacement des antibiotiques pour la manipulation de la fermentation dans le rumen. Ce sont des composés volatils naturels qui confèrent aux plantes et, notamment, aux herbes et aux épices, leurs essences (**El-Lakany et al., 1997**).

Les tisanes représentent une source majeure de composés phénoliques dans notre alimentation. Parmi les tisanes les plus consommées, l'infusé de verveine odorante (*Lippia citriodora* ou *Aloysia triphylla*) est connu pour ses propriétés aromatiques, digestives et anti-spasmodiques (**Lenoir, 2011**).

Le genre *Lippia* (Verbenaceae) inclut approximativement 200 espèces des herbes, des arbustes et des petits arbres, il montre une diversité génétique riche, lui permettant de synthétiser un grand choix de constituants d'huiles essentielles aux plantes cultivées dans différentes régions du monde (**Catalan et De Lampasona, 2002 ; Santos- Gomes et al., 2005**).

La consommation des polyphénols, micronutriments largement répandus dans les aliments d'origine végétale, a été associée à une diminution du risque de développement de pathologies comme les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives ou le cancer. De plus, de nombreuses études ont montré des effets bénéfiques de ces composés *in vitro* et *in vivo*. Par ailleurs, du fait de leur faible absorption au niveau de l'intestin grêle, les polyphénols sont présents en grande quantité dans le côlon où ils peuvent exercer des propriétés anti-inflammatoires (**Lenoir, 2011**).

Parmi les sources alimentaires de polyphénols, les tisanes pourraient jouer un apport intéressant. La verveine odorante, (*Lippia citriodora* *Aloysia triphylla*), est une plante médicinale connue pour ses vertus thérapeutiques digestives et antispasmodiques et couramment consommée en infusion. L'infusé de feuilles de *Lippia citriodora* contient de grandes quantités de polyphénols, acides phénoliques complexes et dérivés de flavones (Lenoir, 2011).

Notre travail a pour objectif d'étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Lippia citriodora* par les tests du DPPH et de l'ABTS.



Partie bibliographique





Chapitre I
La plante étudiée
Lippia citriodora



Chapitre I : La plante étudiée *Lippia citriodora*

1. Noms communs

Selon **Pierre et Lis (2002)**, *Lippia* vient du nom de lippi, un botaniste du XVII^e siècle, qui laissa son nom gravé pour marquer la plante ; le terme *citriodora* signifie «à odeur de citron». Cette plante possède aussi les noms suivants : Verveine citronnelle, verveine à trois feuilles, thé arabe, herbe Louise.

Selon les recherches de **Pierre et Lis (2002) et Bonjean (2001)** la verveine odorante possède plusieurs nominations suivant les langues courantes de chaque pays :

Allemagne : Citronenkraut, Zitronenkraut, Zitronenverbene ;

France : Herbe-Louise, Verveine citronnelle, Verveine citronnée, Verveine du Pérou ;

Grande Bretagne : Lemon verbena, Herb Louisa, Lemon Beebrush, Lemon Verbena, Lemon-scented Verbena ;

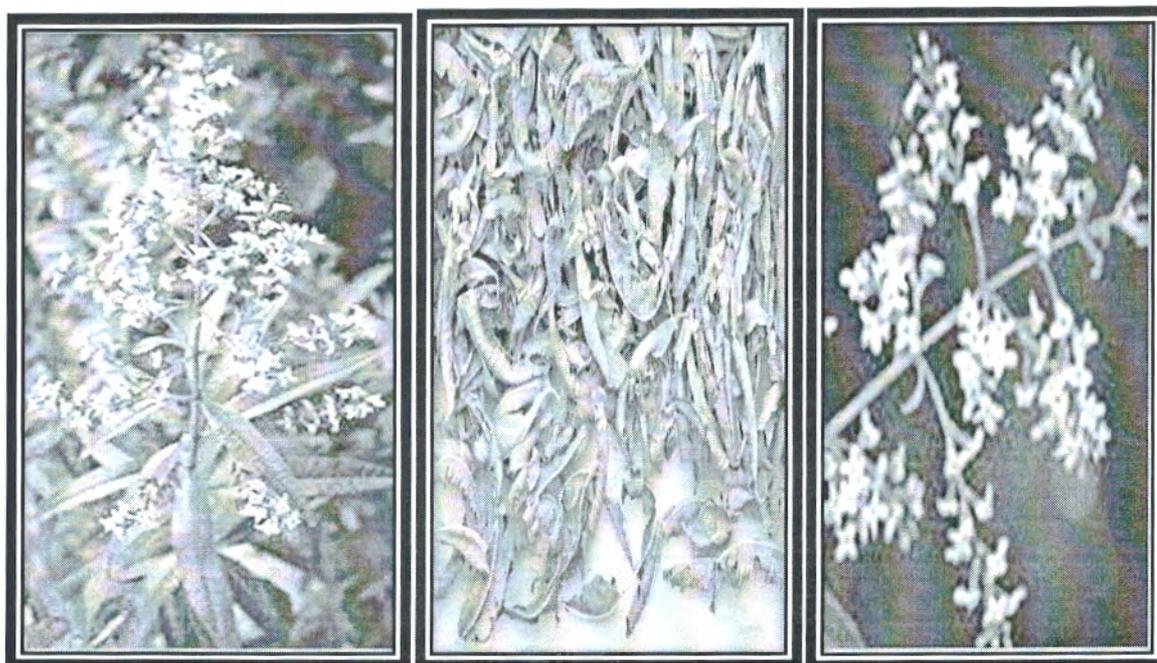
Italie : Cedrina, Cedronella, Erba-Luigia, Verbena odorosa ;

Espagne : Cedrón del Perú, Cidrón, Hierba Luisa, Hierba cidrera ;

Nederland : Citroenkruid, Citroenverbena, Lemonverbena.

2. Description de *Lippia citriodora*

La verveine odorante, *Aloysia triphylla* (L'Hérit.) Britton ou *Lippia citriodora* (Kunth.), est un sous-arbrisseau de la famille des Verbenaceae, originaire d'Amérique du Sud, introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (midi de la France et Afrique du Nord). « Il s'agit d'un arbrisseau ramifié dont les tiges anguleuses et cannelées portent des feuilles rudes, courtement pétiolées, verticillées par 3. Les fleurs disposées en épis possèdent 4 pétales soudés à la base en un tube et étalés en 4 lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne » (**Bruncton, 2009**). La verveine odorante est utilisée en herboristerie et en industrie de la parfumerie à cause de l'odeur de citron que dégagent les feuilles broyées. Les rameaux sont récoltés peu avant la floraison, rassemblés en bouquets puis séchés. Les feuilles sont mondées une fois séchées puis consommées en infusion (**Perrot et Paris 1974**).



(A)

(B)

(C)

Figure 01: *Lippia citriodora*, (A) : la plante entière (Bugnard et Hirschi, 2007), (B) : feuilles séchées (Barnes et al., 2007) , (C) : les fleurs (Elattir et al., 2003).

3. Classification de *L. citriodora*

Selon Taleb-Toudert K. et al. (2002), *Lippia citriodora* est classée comme suit (tableau 01) :

Tableau 01 : Classification systématique de *Lippia citriodora* (Taleb-Toudert et al., 2002).

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Sous règne	Trachéobionta
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbénacées
Genre	<i>Lippia</i>
Espèce	<i>Lippia citriodora</i>

4. Habitat et culture de *L. citriodora*

Originnaire d'Amérique du Sud, la verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale, ainsi que pour ses feuilles, utilisées en phytothérapie. Celles-ci sont récoltées à la fin de l'été. Elle s'accommode sur tous les types des sols et exige une quantité d'eau importante (**Pascual et al., 2001**).

5. Utilisation en médecine traditionnelle de *L. citriodora*

Le genre *Lippia* (Verbenaceae) comprend environ 200 espèces d'herbes, arbustes et arbrisseaux. La plupart des espèces sont traditionnellement utilisées comme remèdes gastrointestinaux et respiratoires. Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, les parties aériennes et les fleurs. L'infusé de feuille de verveine odorante est consommé traditionnellement dans l'ensemble de l'Amérique centrale et de l'Amérique du sud, en Afrique tropicale et dans certains pays européens comme traitement gastro-intestinal et sont considérées comme particulièrement efficace pour le traitement des douleurs stomacales et l'indigestion. La verveine odorante peut également être consommée pour ses propriétés antispasmodiques ainsi que pour lutter contre la fièvre. Les feuilles peuvent également être utilisées comme assaisonnement dans certaines préparations culinaires (**Pascual et al., 2001**).

Elle est agréable à boire et s'emploie surtout dans les digestions difficiles, les indigestions, les ballonnements, les brûlures d'estomac (**Pascual et al., 2001**).

Quand on sait que les troubles digestifs sont un des motifs les plus courants de consultation chez le médecin, l'utilisation régulière de la verveine permettrait des économies importantes sur les coûts de la santé. Et surtout une augmentation de la qualité de vie de toutes celles et ceux qui souffrent au quotidien de ces problèmes. La verveine odorante est également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges (**Pascual et al., 2001**).

6. Composition en polyphénols de l'infusé de *Lippia citriodora*

Bien que l'infusé de feuilles de verveine odorante soit largement consommé, sa composition qualitative et quantitative en polyphénols est encore mal connue. Une première analyse de sa composition avait été réalisée au laboratoire par **Carnat et al. (1999)**. Cette

étude rapporte la présence dans l'infusé de flavonoïdes, principalement la lutéoline 7-diglucuronide, et de dérivés hydroxycinnamiques dont le principal est le verbascoside.

Plus récemment, des études ont identifié dans l'infusion de verveine odorante, outre la lutéoline 7-diglucuronide et le verbascoside, des dérivés diglucuronidés d'apigénine et de chrysoériol ainsi qu'un isomère du verbascoside, l'isoverbascoside (**Quirantes-Pine et al., 2009**) (**Figure 02**). Par ailleurs, l'instabilité du verbascoside et de son isomère à la chaleur a été soulignée. D'un point de vue quantitatif, la concentration en polyphénols de l'infusion de verveine odorante a été évaluée à 675 mg/l dont 24% de flavonoïdes et 76% d'acides phénoliques, la teneur des 2 principaux constituants, lutéoline 7-diglucuronide et verbascoside, étant respectivement de 100 mg/l et 500 mg/l (**Carnat et al., 1999**).

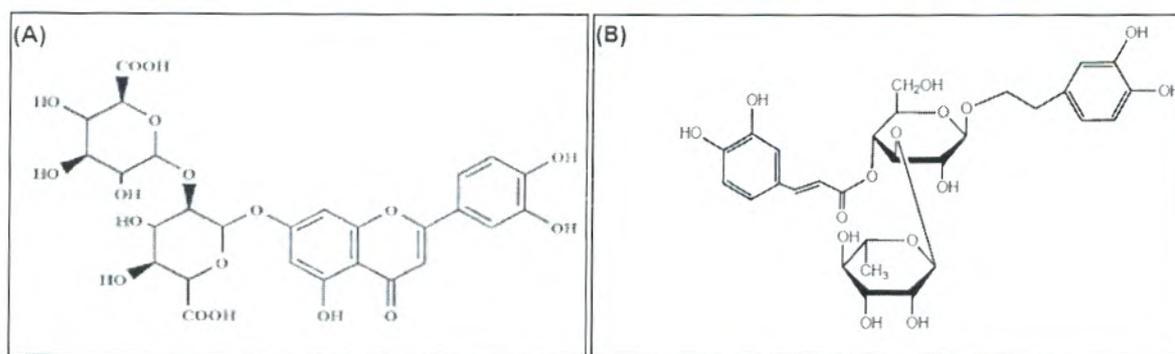


Figure 02 : Structure des principaux polyphénols présents dans l'infusé de verveine odorante.

(A) lutéoline 7-diglucuronide ; (B) verbascoside (**Carnat et al., 1999**).

7. Propriétés antioxydantes de l'infusé de *Lippia citriodora*

Etant donnée la composition en polyphénols de l'infusé de verveine odorante, certaines études se sont intéressées aux effets antioxydants de cet infusé. Des analyses menées *in vitro* à l'aide de différents tests ont permis de montrer les propriétés antioxydantes de l'infusé. L'infusé de verveine odorante et le verbascoside se sont révélés plus actifs que le Trolox lors d'un test au DPPH. L'infusé a une forte activité de piégeage du radical superoxyde et une activité plus modérée vis-à-vis du radical hydroxyle et de l'acide hypochloreux (**Valentao et al. 2002**). A forte concentration, un effet prooxydant a par ailleurs été rapporté (**Valentao et al. 2002**). Un extrait de verveine odorante standardisé à 25% de verbascoside a montré une forte activité antioxydant dans un milieu lipophile, ce qui pourrait indiquer une capacité à piéger les radicaux libres au niveau des membranes biologiques (**Funes et al., 2009**). De même, cet extrait ainsi que le verbascoside lui-même inhibent la peroxydation lipidique *in*

vitro (Funes *et al.*, 2009). Ces effets antioxydants de la verveine odorante ont également été observés *ex vivo* sur du plasma de rats ayant préalablement consommé un extrait de verveine odorante. Le pic plasmatique de concentration en verbascoside est corrélé à l'activité antioxydante plasmatique maximale évaluée par la détermination du MDA plasmatique, du FRAP et de l'activité SOD (Funes *et al.*, 2009).

Ainsi, les propriétés digestives et antispasmodiques pour lesquelles l'infusé de verveine odorante est utilisé dans la médecine traditionnelle semblent supportées par des propriétés antioxydantes marquées dues en partie à la présence de divers composés polyphénoliques tels que le verbascoside ou la lutéoline 7-diglucuronide.

8. Récolte et séchage de *Lippia citriodora*

La récolte est effectuée à la faucille et consiste à couper à 10-15 cm à partir du départ des pousses de l'année. Il y a en général 2 époques de coupe : (1) Mai-Juin (quand 50% des plantes ont fleuri) ; et (2) Fin Juillet-Aout. Une troisième récolte peut avoir lieu 1 à 2 mois après la 2^{ème} récolte. Le rendement varie de 1,5 à 3 T / ha en verveine sèche (cas de la zone de Ghmat) pour les 2 coupes. Une fois la récolte est effectuée, on procède au séchage des feuilles et à leur séparation des tiges (Elattir *et al.*, 2003).

9. Marché de *Lippia citriodora*

Principalement pour la consommation en herboristerie mais aussi de l'huile essentielle. Le Kg de plante sèche varie de 5 à 10 Euro. Celui de l'essence était d'environ 15 000 Euro/kg.

L'arrivée de nouveau producteur sur ce marché a fait baisser les prix, actuellement il se situe entre 7 000 et 10 000 Euro/kg en fret et de 12 000 Euro/kg en Bio (EL Hmamouchi, 2006).



les huiles essentielles

Chapitre II



Chapitre II : Les huiles essentielles

1. Définition des huiles essentielles

Ce sont des extraits volatiles et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des composés liquides très complexes. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie qui est l'aromathérapie (Benayad, 2008).

Au point de vue chimique, il s'agit de mélanges extrêmement complexes. Les Huiles essentielles (HE) sont constituées de différents composants comme les terpènes, esters, cétones, phénols, et d'autres éléments (Benayad, 2008).

Les HE doivent leur nom à ce qu'elles sont très réfringentes, hydrophobes et lipophiles. Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau et on les retrouve dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille. Par contre, elles sont solubles dans les solvants (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) des lipides et, à l'inverse des glycérides, dans l'alcool (Benayad, 2008).

Mais à ces caractères de solubilité se limite la ressemblance avec les huiles grasses. Si les HE forment une tache transparente sur le papier, celle-ci disparaît rapidement car les essences végétales sont très volatiles (contrairement aux résines qui, habituellement dissoutes dans les essences, laissent un résidu visqueux ou solide après évaporation des essences). Grâce à cette propriété, les essences végétales diffusent rapidement au travers des épidermes, même au travers des cuticules épaisses et se répandent dans l'atmosphère. Ce caractère, 20 associé à la propriété qu'ont la plupart des essences végétales de posséder une odeur très prononcée, et souvent agréable, les rend responsables de l'odeur caractéristique de nombreux végétaux odoriférants (Benayad, 2008).

2. Répartition systématique et caractères chimiques des huiles essentielles

Les HE n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à

essences qu'elles regroupent, en particulier les labiés (Thym, Menthe, Lavande, Origan, Sauge, etc.), les Umbellifères (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre, Persil, etc.), les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus), les Lauracées (Camphrier, Laurier-sauce, Cannelle) (Benayad, 2008).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organe fleur (origan), feuillés (citronnelle), écorce (cannelier), bois (bios de rose), rhizomes (acore), fruits (badiane), ou grain carvi (Boudjemaa et Ben Guegua, 2010).

Selon Djossou (2006) le marché international des huiles essentielles possède son importante place à coté des produits commercialisés (Tableau 02).

Tableau 02 : Estimation de la production d'huile essentielle de quelques pays en milliers de dollars (Djossou, 2006).

Pays	Valeurs
USA	145000
Chine	110000
URSS	30000
Maroc	30000
Bulgarie	26000
Inde	25000
France	20000
Egypte	12000
Espagne	10000
Algérie	8000
Haïti	8000
Madagascar	6000
Côte d'Ivoire	3500
Burkina Faso	500
Cuba	500

3. Propriétés et activités biologiques des huiles essentielles

Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie.

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses, cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (Hammoudi, 2008; Ferhat *et al.*, 2009).

3.1. Antibactérienne

Selon Benayad (2008), les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géraniol), etc.

3.2. Antivirale

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (Benayad, 2008).

3.3. Antifongique

Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, avec les HE on utilisera les mêmes groupes que ceux cités plus haut, on ajoutera les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpéniques. Par ailleurs, les mycoses ne se développent pas sur un terrain acide. Ainsi il faut chercher à alcaliniser le terrain (Benayad, 2008).

3.4. Antiparasitaire

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (Benayad, 2008).

3.5. Antiseptique

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (Benayad, 2008).

4. Propriétés physique des huiles essentielles

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes (Tableau 03). Elles sont généralement sous forme liquides à température ambiante et leur grande volatilité les oppose aux "huiles fixes" (lipides). Lorsqu'elles viennent d'être préparées, leurs teintes est généralement comprise dans une gamme allant de l'incolore, à jaune pâle. Il existe toutefois quelques exceptions, comme l'huile essentielle de camomille romaine (*Anthemis nobilis*) qui possède une coloration bleu clair due à la présence du chamazulène (Faye et al., 1997).

Leur densité est le plus souvent inférieure à l'unité. Seules 3 huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau: il s'agit des huiles essentielles de cannelle, de girofle et de saffras. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire puisque constituées, pour l'essentiel, de molécules asymétriques. Peu solubles dans l'eau, elles lui communiquent cependant leurs odeurs (eaux distillées aromatiques). Elles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont très facilement altérables et sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. Le caractère odorant des huiles essentielles est lié à la volatilité des molécules qui les composent ce qui permet de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau (Faye et al., 1997).

Tableau 03 : Constantes physicochimiques de quelques constituants volatils (Rivera, 2006).

composés	Masse Molaire (g/mol)	Densité	Volume molaire (cm ³ /mol)
α- pinène	136	0,8580	158,51
β- pinène	136	0,8650	157,23
limonène	136	0,8450	160,95
Acétate de géranyle	196	0,9174	213,65
β- selinène	204	0,9140	223,19
carotol	222	0,9624	230, 67

Rapport-gratuit.com

LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

5. Chimie des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. A titre d'exemple, le carvacrol et le thymol sont les composants majeurs des huiles essentielles d'*Origanum compactum*, le linalol pour les huiles essentielles de *Coriandrum sativum*, le menthol et le menthone pour les huiles essentielles de *Mentha piperita*. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles (Garnon, 1991).

La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées. **Les terpénoïdes** : Ils représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires, végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones (C₅H₈), communément appelée isoprène (Calsamiglia et al., 2007) (Figure 03). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C₁₀), sesquiterpénoïdes (C₁₅) et diterpénoïdes (C₂₀). Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (Combrinck et al., 2007 ; Karray-Bouraoui et al., 2009) (Figure 04).

Les phénylpropanoïdes

Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine (Khenaka, 2011).

Ils sont constitués d'une chaîne carbonée liée à un noyau aromatique à six carbones (Figure 05) (Calsamiglia et al., 2007 ; Khenaka, 2011).

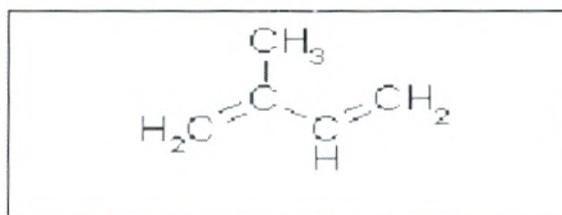


Figure 03: Structure de la molécule d'isoprène (Calsamiglia *et al.*, 2007).

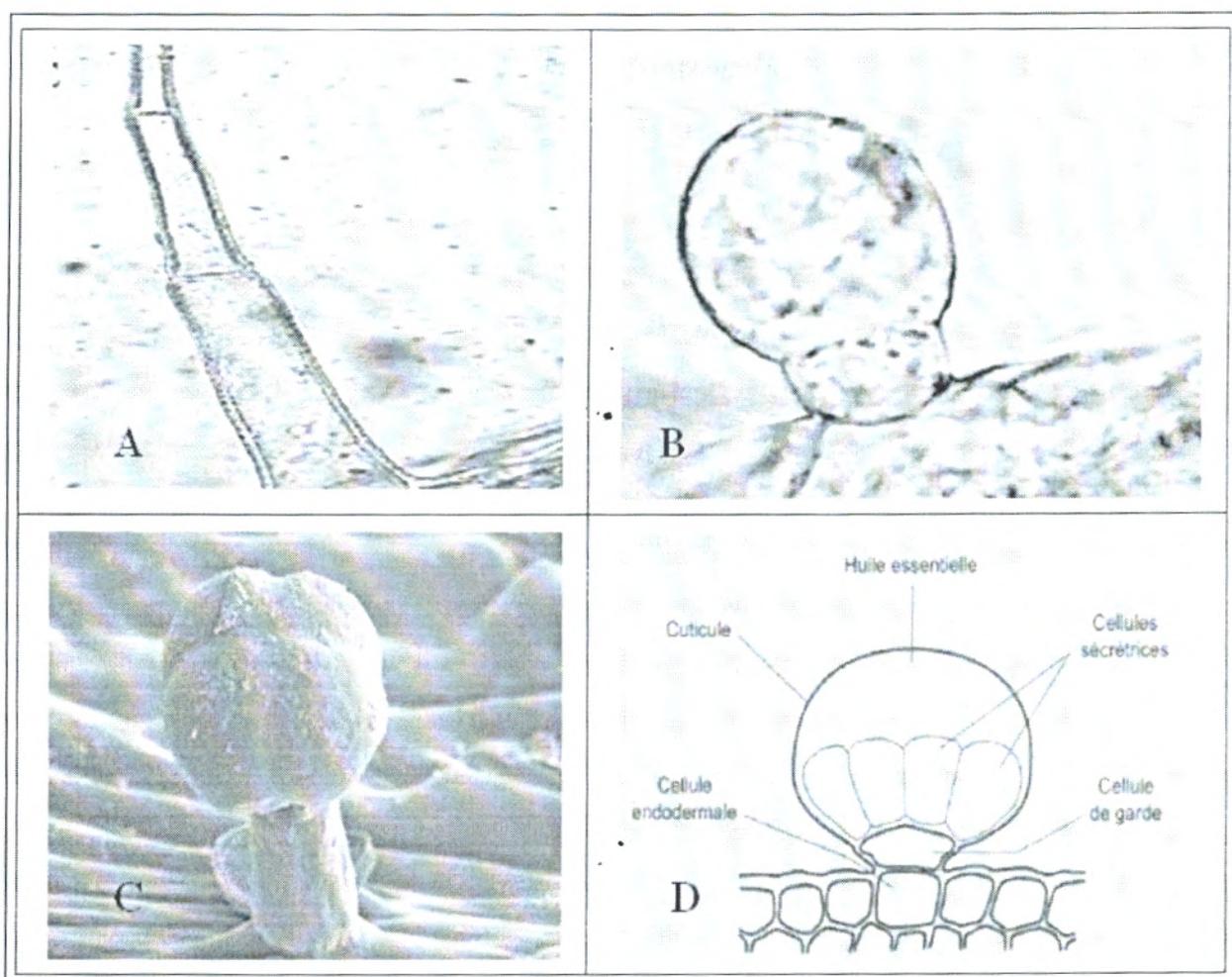


Figure 04: Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles. (A) : poil sécréteur de *Mentha pulegium*, (B) : trichome glandulaire de *Mentha pulegium*, (C) : trichome glandulaire de *Lippia scaberrima* et (D) : structure de trichome glandulaire de *Thymus vulgaris* (Combrinck *et al.*, 2007 ; Karray-Bouraoui *et al.*, 2009).

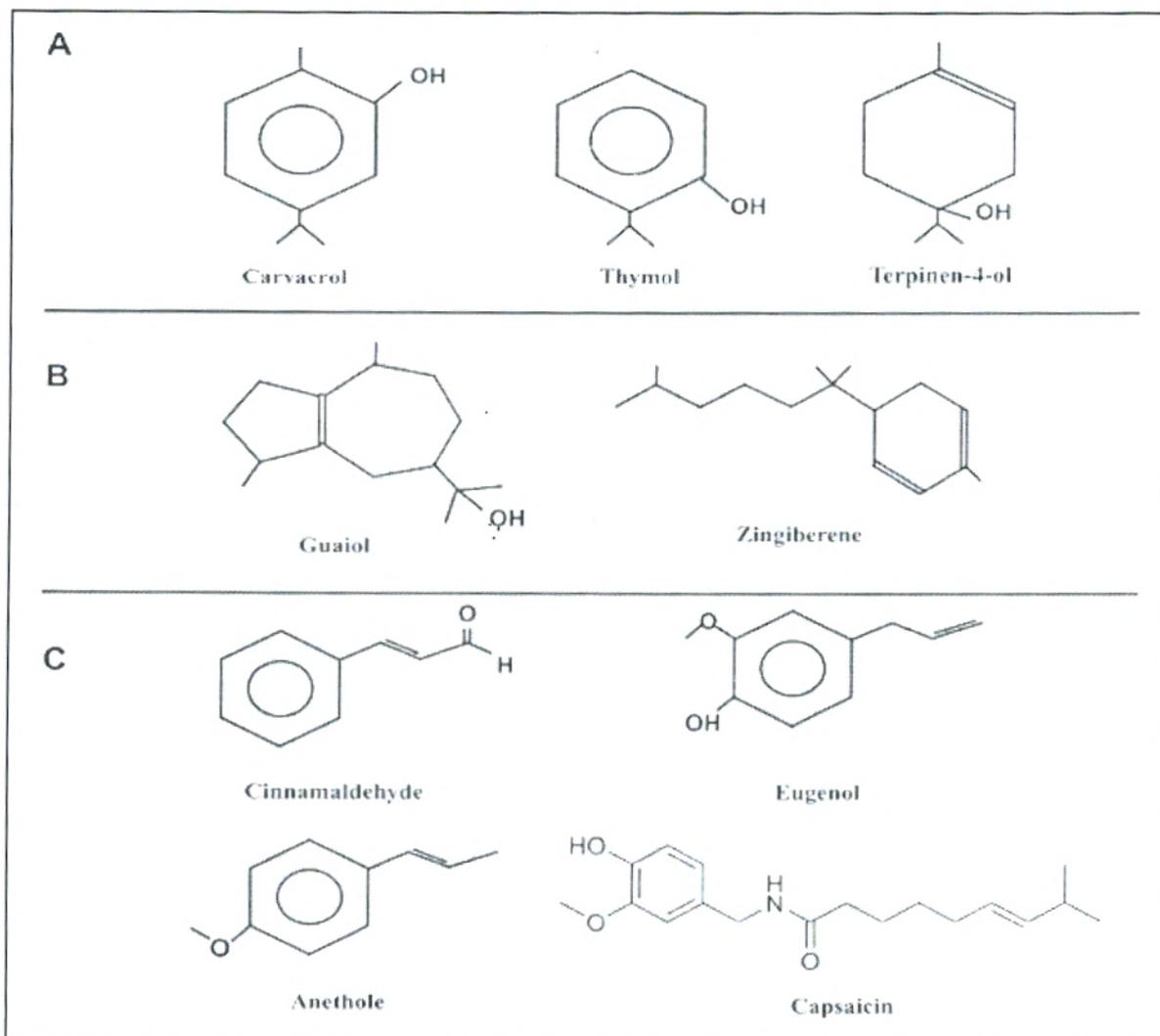


Figure 05 : Structure de quelques composés des huiles essentielles (A) : monoterpénoïdes, (B) : sesquiterpénoïdes et (C) : phénylpropanoïdes (Calsamiglia et al., 2007 ; Khenaka, 2011).

6. Extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (Samate Abdoul, 2001).

6.1. Principales méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes de distillation dont voici les principales :

6.1.1. L'entraînement à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation (**Bruneton, 1993**).

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent ;
- au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion (**Bruneton, 1993**).

6.1.2. L'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réactions d'hydrolyse, de réarrangement, d'oxydation, d'isomérisation, etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation (**Brian, 1995**).

6.1.3. La distillation à vapeur saturée

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées (Brian, 1995).

6.1.4. L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (Roux, 2008).

6.1.5. L'expression à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'encore des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

6.2. Autres méthodes d'obtention des extraits volatils

6.2.1. Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre

désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (Brian, 1995).

6.2.2. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras (Brian, 1995).

6.2.3. Extraction par micro- ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en oeuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Justin Nzeyumwami, 2004).

7. Les applications alimentaires des huiles essentielles

Les études qui ont été réalisées jusqu'à maintenant, montrent que les H.E peuvent être appliquées à tous les aliments (Tableau 04). Ainsi, les H.E d'origan, de thym, de cannelle ou

de coriandre sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries et les légumes; l' H.E. de menthe pour les produits frais (salades, yaourts...); les H.E. à base de carvacrol ou de citral pour les poissons; les H.E. de thym, de noix de muscade ou de gingembre pour les céréales (plus particulièrement celles riches en carvacrol pour le riz); et les H.E. à base de carvacrol ou de cinnamaldéhyde pour les fruits (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Les H.E. sont aussi utilisées pour apporter de la saveur et un arôme raffiné au café, au thé, aux vins et aux liqueurs distillées (**Caillet et Lacroix, 2007**).

Les études de **Caillet et Lacroix (2007)** ont montré que l'incorporation d' H.E. dans la viande hachée du boeuf a contribué au maintien de la qualité microbiologique et à la réduction de l'oxydation des gras au-delà de sa durée normale d'entreposage. Ils ont aussi démontré que l'utilisation des H.E. pouvait augmenter la sensibilité des bactéries à différents procédés de conservation des aliments (chauffage, pasteurisation, atmosphère modifiée). Selon la bactérie et le procédé utilisé, la sensibilisation augmente de 2 à 10 fois. Par exemple, l'H.E. mélangée à des carottes hachées, emballées sous air ou sous atmosphère modifiée (AM ou MAP en anglais: Modified Atmospheres Packaging) permet de multiplier par trois la sensibilité de *Listeria sp.*, de même que pour de la viande hachée emballée sous les mêmes conditions, une augmentation très significative de la sensibilité d'*E. coli* (2.5 fois) et de Salmonelle (4.5 fois) est constatée en présence d' H.E. Aussi, l'H.E. combinée à un chauffage doux (55 °C pendant 1 minute) a permis d'inhiber totalement Salmonelle, alors qu'en absence d'huile, un chauffage de plus d'une heure était nécessaire pour arriver au même résultat. Cependant, le seuil d'efficacité des huiles essentielles les plus efficaces étant très bas, souvent inférieurs à 0.1%, leur ajout en très faibles quantités n'altère pas les qualités organoleptiques de l'aliment

Des investigations ont été effectuées pour évaluer l'efficacité de quatre H.E. de plantes: Laurier, clou de girofle, cannelle et thym en tant que conservateurs normaux. L'effet des H.E. aux concentrations de 0,1 de 0,5 et de 1 % a été étudié en fromage à pâte molle à faible teneur en matière grasse et à matière grasse naturelle contre *Listeria monocytogenes* et *Salmonella enteritidis* à 4°C et à 10°C respectivement, sur une période de 14 jours. Ils ont conclu que les H.E. des plantes choisies agissent comme inhibiteurs potentiels contre *L. monocytogenes* et *S. enteritidis* dans ce produit alimentaire (**Boubrit et Boussad, 2007**).

Les traitements du pâté tout préparé de foie de porc avec le romarin retardent la croissance de *Listeria monocytogenes*. Par contre, *Aeromonas hydrophila* et *Listeria*

monocytogenes ont été inhibées sur la viande cuite (poitrine de poulet) par des extraits d'eugénol et de piment (Boubrit et Boussad, 2007).

Tableau 04: Exemples de la diversité d'applications des huiles essentielles (Grysole, 2005).

Huiles essentielles	Parfumerie		Alimentation	Médecine
	Cosmétiques	Technique		
basilic	Parfum		Arôme pour sauces et condiments	Antispasmodique régulateur du système
citronnelle		Arôme pour savons, désinfectant, éloigne les insectes	Arôme pour boisson et sucreries	
eucalyptus			Arôme pour boissons, sucreries, sucreries, crèmes glacées	Anti-inflammatoire
géranium	parfum		Arôme pour sucreries, chewing-gum	Anti-spasmodique, relaxant
lemongrass				Vasodilatateur, sédatif
Menthe poivrée		Saveur pour dentifrice	Saveur pour liqueurs, glaces, chewing-gum, chocolat	Antalgique, anesthésique, tonique, stimulant du système nerveux
Menthe verte			Saveur pour boissons, sucreries, crèmes glacées	Saveur pour les sirops par exemple

8. Utilisation des huiles essentielles

Ces HE agissent selon leur tropisme ; ce terme signifie que chaque huile exerce ses pouvoirs curatifs sur un organe ou une zone en particulier, ces substances volatiles pénètrent les tissus et l'organisme. Par exemple, l'HE de basilic est particulièrement actif au niveau de la digestion. Celle de cyprès améliore la circulation. Il est donc très important de se renseigner sur les effets thérapeutiques des HE car leur usage peut comporter des inconvénients. Par exemple, une HE de menthe des champs est indiquée pour stimuler les personnes fatiguées,

elle soulage les douleurs névralgiques mais ne doit jamais être utilisée dans un bain, sous peine d'irritation sérieuse de la peau. Outre ces propriétés principales, elles ont toutes une vertu (**Maach et Jemali, 1986**).

9. Mode d'action des huiles essentielles

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les HE exercent leur activité antimicrobienne. La composition complexe des HES tend à prouver que cette activité serait due à plusieurs mécanismes d'action différents, liés à la nature chimique de ces composés (**Skandamis et al., 2001; Carson et al., 2002 ; Burt, 2004**).

La plupart des mécanismes d'action sont attribués à l'interaction des composants des HE avec la membrane cellulaire (**Benchaar et al., 2008**). Les HE sont constituées de molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaires des substances nutritives (**Sikkema et al., 1994 ; Ultee et al., 1999**). Les HE peuvent aussi perturber le gradient ionique de la membrane cytoplasmique ce qui diminue la stabilité membranaire et perturbe aussi le transport membranaire. Mais certaines bactéries sont capables de contrebalancer cet effet par l'utilisation de la pompe ionique, dans ce cas la croissance ralentit grâce à l'épuisement de l'énergie de la pompe (**Griffin et al., 1999 ; Ultee et al., 1999 ; Cox et al., 2001**). Un mécanisme d'action proposé par **Ultee et al., (2002)** implique le groupement hydroxyle des phénols, comme le carvacrol, qui agirait comme un transporteur transmembranaire des cations et des protons monovalents, cet effet perturbe le gradient ionique et le fonctionnement membranaire des cellules microbiennes (**Figure 6**).

D'autres mécanismes d'action sont liés à la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines (**Gustafson et Bowen, 1997**). Les HES extraites de cannelle et de l'ail peuvent inhiber l'activité enzymatique des bactéries du rumen telle l'espèce *Enterobacter aerogenes*. D'autres HE inhibent la croissance microbienne par l'inactivation des acides nucléiques (**Calsamiglia et al., 2007**).

L'action des HE dépend aussi de la nature des microorganismes ciblés. Les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HE, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés

hydrophobes (Calsamiglia et al., 2007). Cependant, les molécules à faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent traverser cette barrière (Dorman et Deans, 2000 ; Ultee et al., 2002).

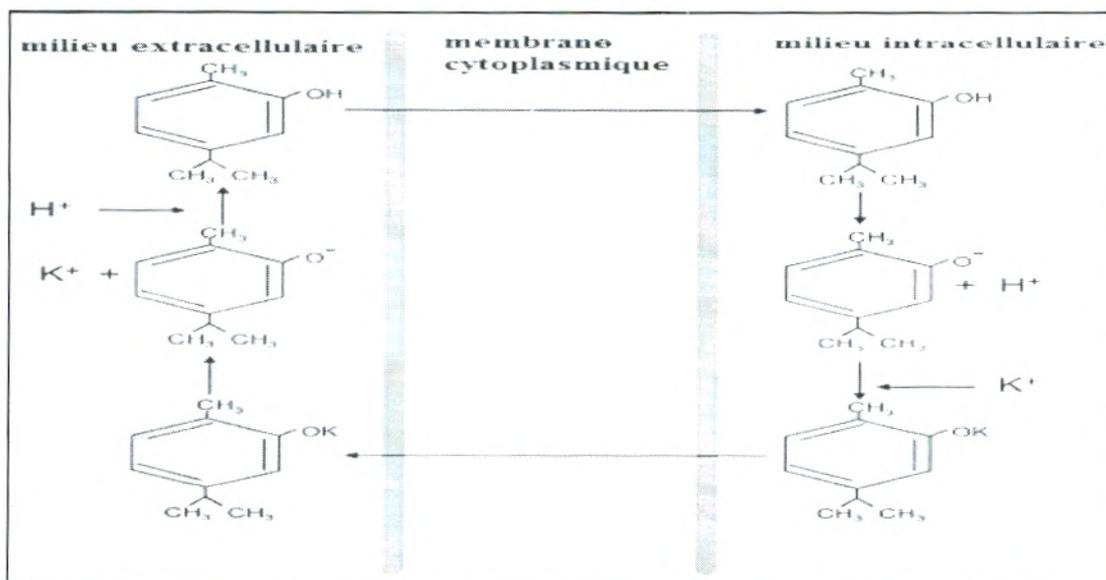


Figure 06 : Mécanisme d'action du carvacrol sur la membrane cellulaire (Ultee et al., 2002).

10. Parfumerie et cosmétologie

Un grand nombre d'HE (400 à 500) est utilisé dans l'élaboration de la majorité des parfums et produits de toilette. Ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique tout en leur assurant une odeur agréable (Roulier, 1992). De même, certains constituants chimiques isolés à partir d'HE peuvent faire l'objet de transformations chimiques donnant naissance à de nouvelles odeurs; ainsi, à partir de l'eugénol tiré de l'essence de girofle, on aboutira à l'isogénol qui a une odeur d'œillet (Vigne, 1987).

12. Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (Degryse et al., 2008).

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront

toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et al., 2008**).

Selon **Englebin (2011)**, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quelque soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit : "rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose " Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et /ou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

12. L'aromathérapie

L'aromathérapie, qui signifie littéralement "soin par les odeurs" est le terme que l'on utilise pour désigner la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles. Il s'agit donc de la capacité et de l'art de soigner avec les huiles essentielles (**Buronzo, 2008**).

Donc, l'aromathérapie est l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques. C'est une "biochimio-thérapie" naturelle sophistiquée qui repose sur la relation existant entre les composants chimiques des huiles essentielles et les activités thérapeutiques qui en découlent. Elle recourt à une méthodologie rigoureuse qui s'inspire de données scientifiques solides confirmées tant par la clinique que par le laboratoire. C'est une thérapie naturelle de qualité supérieure (**Baudoux, 2008**).

14. Contrôle de qualité des huiles essentielles

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (**Pibiri, 2006**).

Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement «végétale», contrairement aux essences synthétiques ou «identiques naturelles» intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (**Pibiri, 2006**).



Matériels et méthodes



Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Provenance de matériels végétal

1-1. Situation géographique de la zone d'étude

L'échantillon utilisé est d'origine commerciale (herboriste) ; qui provient de Tlemcen (**figure 07**) et dont les paramètres géographiques de cette région sont représentés dans le **tableau 05**

Tableau 05 : Situation géographique (Encarta, 2009).

Station	Tlemcen
Latitude	34° 53' Nord
Longitude	1° 19' Ouest
Altitude	800 m
Superficie	9061 cm ²
Zone climatique	Modéré et semi-aride



Limite d'état.
 Station de récolte.
 - - - - - Oueds.

Figure 07 : situation géographique de la zone d'étude (Encarta, 2009).

1.2. Récolte et conservation de la plante (*Lippia citriodora*)

La récolte de la plante a lieu durant le mois de Juillet 2013. Les différents organes du matériel végétal (feuilles, tiges et fleurs) ont été séchés à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant quelques jours ; la plante est ensuite ramenée au laboratoire où elle a subi divers traitements (nettoyage, cassage des tiges).

2. Extraction l'huile essentielle de plante étudié

2.1. Procédé d'extraction et conservation des huiles essentielles

Nous avons utilisé la technique d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles.

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour des composés d'arômes du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse et exige une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable (Bendjilali, 2004).

2.2. Matériels utilisés

- Balance analytique de précision ;
- Ballon bi-colle de 2L ;
- Becher ;
- Flacons ;
- Ampoule à décanter ;
- Eau distillée ;
- Chauffe ballon ;
- Matériel végétale sèche (feuilles, tiges, fleurs) de *Lippia citriodora*.

2.3. Méthode

L'extraction des huiles essentielles de plusieurs échantillons de la matière végétale sèche d'ensemble les parties aériennes (feuilles, fleurs, tiges) de *Lippia citriodora* a été effectuée au laboratoire pédagogique du département des sciences Agronomiques et des forêts (université de Tlemcen).

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**).

Chaque échantillon, de matériel végétale, séché et coupé en petits morceaux au préalable, a fait l'objet d'une ébullition de 02 heures avec 01 litre l'eau distillé, le tous introduit dans un ballon de 02 litres surmonté d'une colonne de 60 cm reliée à un réfrigérant à son tours relié à une conduite d'eau froide pour permettre la condensation des vapeurs (**figure 08**). Donc les vapeurs d'eau chargées d'huiles essentielles, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.



Figure 08 : Montage d'hydrodistillation

2.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue

Une fois les huiles essentielles obtenues, elles sont conservées dans un flacon en verre enveloppée de papier d'aluminium à une température comprise entre 4 et 6°C pour éviter toute dégradation des huiles essentielles.

2.5. Le rendement(Rd)

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du végétal à traiter (Carré, 1953 *In* Bekhchi, 2002).

Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd} = m / m_0 \times 100$$

Avec :

Rd : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage ;

m : masse en gramme d'huile essentielle ;

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche (Carré, 1953 *In* Bekhchi, 2002).

3. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles est une autre propriété biologique de grand intérêt parce qu'ils peuvent conserver des nourritures des effets toxiques des oxydants (Maestri *et al.*, 2006). D'ailleurs, les huiles essentielles peuvent jouer un rôle important dans certaine prévention des maladies telles que le dysfonctionnement de cerveau, le cancer, les maladies cardiaques et la baisse d'activité du système immunitaire. Les preuves croissantes ont suggéré que ces maladies puissent résulter des dommages cellulaires provoqués par les radicaux libres (Aruoma, 1998 ; Kamatou et Viljoen, 2010).

Les flavonoïdes sont des molécules connues pour leurs propriétés antioxydantes (Robak et Gryglewski, 1988). Afin d'évaluer cette activité antioxydante des huiles essentielles de notre plante, des méthodes ont été adoptées qui sont : la méthode de DPPH, et la méthode de l'ABTS.

3.1. Le test du DPPH

3.1.1. Principe

La méthode de DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre. Elle a été utilisée par **dong-Sun Lee et al. (2001)** et elle met en évidence l'efficacité des huiles essentielles de *Lippia citriodora* vis-à-vis de la réduction du radical libre (DPPH[•]) selon la réaction suivante :



La méthode de DPPH, consiste à utiliser un radical stable, 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) dans du méthanol (pour la plupart des cas). La réduction du DPPH[•] est contrôlée en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde caractéristique (517nm). A cette longueur d'onde le radical absorbe, mais après sa réduction par l'antioxydant ou un autre radical, l'absorption diminue (**Burits et Bucar, 2000 ; Dvaranauskaite et al., 2008**).

3.1.2. Matériels utilisés

- L'huile essentielle de *Lippia citriodora*
- L'éthanol
- Les tubes épindorfs
- Les micropipettes (200µl, 1000µl)
- Les embouts
- Porte tubes
- Solution de DPPH
- Spectrophotomètre UV-Visible.
- Bécher

3.1.3. Méthode

Selon le protocole décrit par **Mansouri et al. (2005)**. La solution de DPPH à été préparée par solubilisation de 0,005 g de DPPH dans 200 ml de l'éthanol, la couleur de la solution de DPPH est violette. On prépare par la suite, 12 épindorfs marqués sur le bouchon

par l'ordre de décroissance (1/2 jusqu'à 1/4096), contenant chacun 200 µl de l'éthanol, dans le première épindorf on introduit 200 µl des huiles essentielles de *lippia citriodora* et on homogénéise bien puis à l'aide d'une micropipette on prend de chaque dilution 200 µl et on le verse dans l'autre tube epindorf qui contiens 200 µl de l'éthanol et on homogénéise et on procède de la même manière jusqu'à la dernière dilution.

Pour chaque dilution on prépare 3 tubes à épindofs qui constituent les trois répétitions qu'on met 975 µl de la solution éthanolique de DPPH, puis on ajoute 25 µl de chaque dilution des huiles essentielles qu'on laisse 60 minutes à l'obscurité et à température ambiante.

Une mesure d'absorbance d'un échantillon contenant 975 µl de la solution éthanolique du DPPH a été considérée comme témoin négatif. Les absorbances sont mesurées directement par le spectrophotomètre à 517 nm après l'avoir taré et remis à zéro par du méthanol.

3.1.4. Calcule du pourcentage d'inhibition

L'absorbance lue est transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin.

$$I\% = [(A_t - A_e) / A_t] \times 100 \quad (\text{Wang et al., 2005}).$$

Où :

I% : Pourcentage d'inhibition

A_t : La densité optique de DPPH sans extrait

A_e : La densité optique de DPPH avec extrait

3.2. Le teste de l'ABTS

3.2.1. Le principe

Cette méthode se fonde sur la réduction du radical bleu-vert de cation d'ABTS^{•+}, en mesurant la réduction du cation radical comme pourcentage d'inhibition d'absorbance à 734 nanomètre (Moon et Shibamoto, 2009).

3.2.2. Matériels utilisés

- L'huile essentielle de *Lippia citriodora*
- L'eau distillée
- Les tubes épindorfs
- Les micropipettes (200 μ l, 1000 μ l)
- Les embouts
- Porte tubes
- Solution de l'ABTS
- Sulfate de potassium
- Spectrophotomètre
- Bécher

3.2.3. Méthode

La solution de l'ABTS à été préparée par solubilisation de 0.38 g de l'ABTS et 0.0662 mg de sulfate de potassium dans 100 ml de l'eau distillée après 16 à 18h de repos de la solution à l'obscurité on ajuste l'absorbance à 0.700 à la longueur d'onde de 734 nm par l'ajout d'eau distillé, on suit le même protocole de la méthode de DPPH pour préparer les dilutions.

Mais pour la préparation des répétitions on prend 10 μ l de chaque dilution des huiles essentielles, puis on ajoute 990 μ l de la solution de l'ABTS qu'on laisse 6 minutes à l'obscurité et à température ambiante.

Une mesure d'absorbance d'un échantillon contenant 990 μ l de la solution de l'ABTS a été considérée comme témoin négatif. Les absorbances sont mesurées directement par le spectrophotomètre à 734 nm après l'avoir taré et remis à zéro par du méthanol.



Résultats/Discussion



Chapitre IV : Résultats et discussion

1. propriétés organoleptiques d'huile essentielle extraite

Les huiles essentielles de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) sont recherchées par les secteurs cosmétiques et pharmaceutiques, pour les différentes vertus thérapeutiques et aromatiques rapportées par de nombreux auteurs comme **Carnat et al. (1999)** et **Zheng et Wang (2001)**.

Les propriétés organoleptiques remarquées de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* extraite par hydrodistillation sont résumées dans le **tableau 06**.

Tableau 06 : caractéristiques organoleptique d'huile essentielle de *Lippia citriodora*.

Huile essentielle De <i>Lippia</i> <i>citriodora</i>	Aspect	Couleur	Odeur	Saveur
	Liquide mobile	Jaune	Agréable citronnée	Douce

Ces caractéristiques sont en accord avec ceux reportées par **Taleb-Toudert et al. (2002)** qui ont analysé les huiles essentielles de *Lippia citriodora*.

2. Rendement en huile essentielle

Le rendement enregistré de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation est déterminé par rapport à la matière sèche de *Lippia citriodora* (**Tableau 07**).

Tableau 07 : Le rendement en huile essentielle de *Lippia citriodora* par hydrodistillation.

Matière végétale	Le rendement(%)	
Les Feuilles		0,22
		0,15
		0,21
		0,20
	Moyenne	0,195
	Ecart type	0.0007

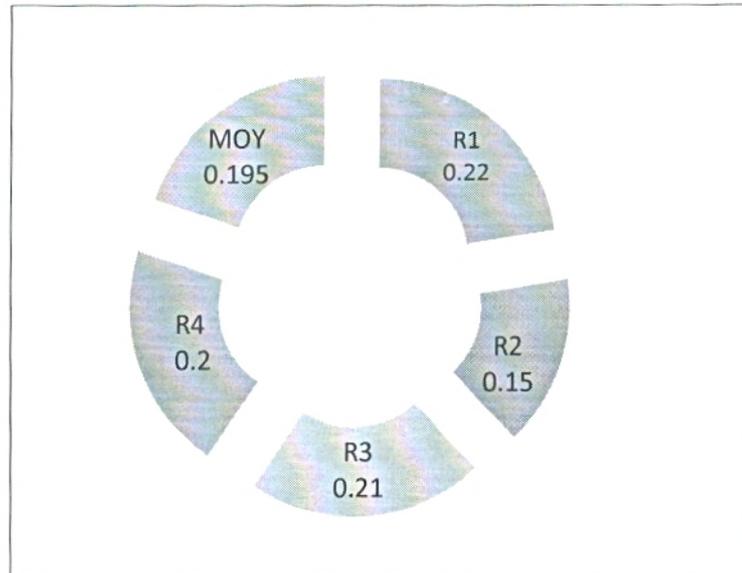


Figure 09 : Représentation graphique des différents rendements (%) d'HE de *Lippia citriodora*.

L'extraction de notre échantillon effectué par hydrodistillation a fourni un rendement moyen de $(0,195 \pm 0.0007)$ % obtenus à partir de quatre extractions. Ce rendement est nettement plus faible que celui enregistré par **Evelyn Ivana et al. (2010)** en étudiant *Lippia grandis* d'Amazon Brésilienne et qui est de l'ordre de 2.1%.

Les échantillons de la verveine odorante fraîche proviennent de la région de Kabylie en Algérie, présente un rendement important de 0,29 % nettement supérieur à celui rapporté par Belkamel (2003) qui est de 0,17 % **Taleb-Toudert et al. (2002)**.

Selon **Taleb-Toudert et al. (2002)**, le taux du rendement en huile essentielle de *Lippia citriodora* atteint 0.35% pendant 4 h

Dans une autre étude faite par **El Hmamouchi (2006)** ; les rendements moyens en huiles essentielles des échantillons de *Lippia citriodora* ont avoisiné les notre (**Tableau 08**).

Tableau 08 : Le taux de rendement moyen en huiles essentielles de *Lippia citriodora* (**El-Hmamouchi, 2006**).

Matériel végétale	Plante entière fraîche	Feuilles fraîches	Feuilles sèches
Rendement en huiles essentielles (%)	0,07à 0,1	0,15 - 0,2	0,4

Généralement, le rendement des huiles essentielles est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même dans les plantes de la même espèce. De plus, cette différence de teneur en HE peut être liée à plusieurs facteurs tels que :

- La zone géographique de collecte ;
- le climat ;
- le moment de la collecte ;
- la méthode d'extraction (**Bendjilali, 2004**).

3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante peut être due à différents mécanismes, dont parmi la prévention de l'initiation de l'altération des chaînes, la décomposition des peroxydes, l'abstraction continue d'hydrogène, capacité réductrice. Elle exprime la capacité de réduction des radicaux libres (**Bounatirou et al., 2007**).

« Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui

interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène » (Gardès-Albert et Jore, 2005).

3.1. L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* par le test de DPPH

Pour nos extraits, nous avons employé la méthode au DPPH. Ce radical libre présente une coloration violet sombre, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la coloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire (Mohammedi, 2006).

La **figure 10** nous donne une idée assez claire sur l'efficacité antioxydante de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* mise en évidence par la méthode de DPPH cette efficacité s'est traduite par des pourcentages d'inhibition des radicaux libres frôlant les 73% pour une concentration de 5mg/ml d'huile essentielle de cette plante ; avec une concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres $IC_{50} = (0.0207 \pm 0.008 \text{ mg/ml})$.

L'étude de **Dopico-Garcia et al. (2008)** sur l'extrait aqueux de *Lippia citriodora* enregistre une forte activité antioxydante qui dépasse les 90 % à une concentration de 0.075mg/ml; par contre le résultat d'inhibition à 50 % (IC_{50}) qui est de l'ordre de 0.0314 mg/ml est inférieur à nos résultats.

Mothana et al. (2008), dans une étude sur *Lippia citriodora* du Yemen ont obtenus une concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres $IC_{50} = 30 \mu\text{g/ml}$.

En raison du pourcentage élevé des monoterpènes oxygénés dans *Lippia citriodora* d'Iran ils montrent l'activité antioxydante remarquable de $IC_{50} = (3,2 \pm 0,15 \mu\text{g/ml})$ **Alavi et al. (2008)**.

Zheng et Wang (2001), ont apportés que *Lippia citriodora* a révélé une activité antioxydante grâce à la présence dans sa composition de certains phénols.

Selon **Rehecho et al. (2011)** en étudiant l'extrait méthanolique de *Verbena officinalis* $IC_{50} = (21.04 \pm 1.61 \mu\text{g/ml})$.

Dans une autre étude faite par **Evelyn Ivana et al. (2010)** et qui a fait l'objet de mettre en évidence l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Lippia grandis* d'Amazonie

Brésilienne et qui ont enregistré un IC_{50} de 18.9 ± 0.6 $\mu\text{g/ml}$, et un 19.7 ± 1.2 pour l'extrait méthanolique.

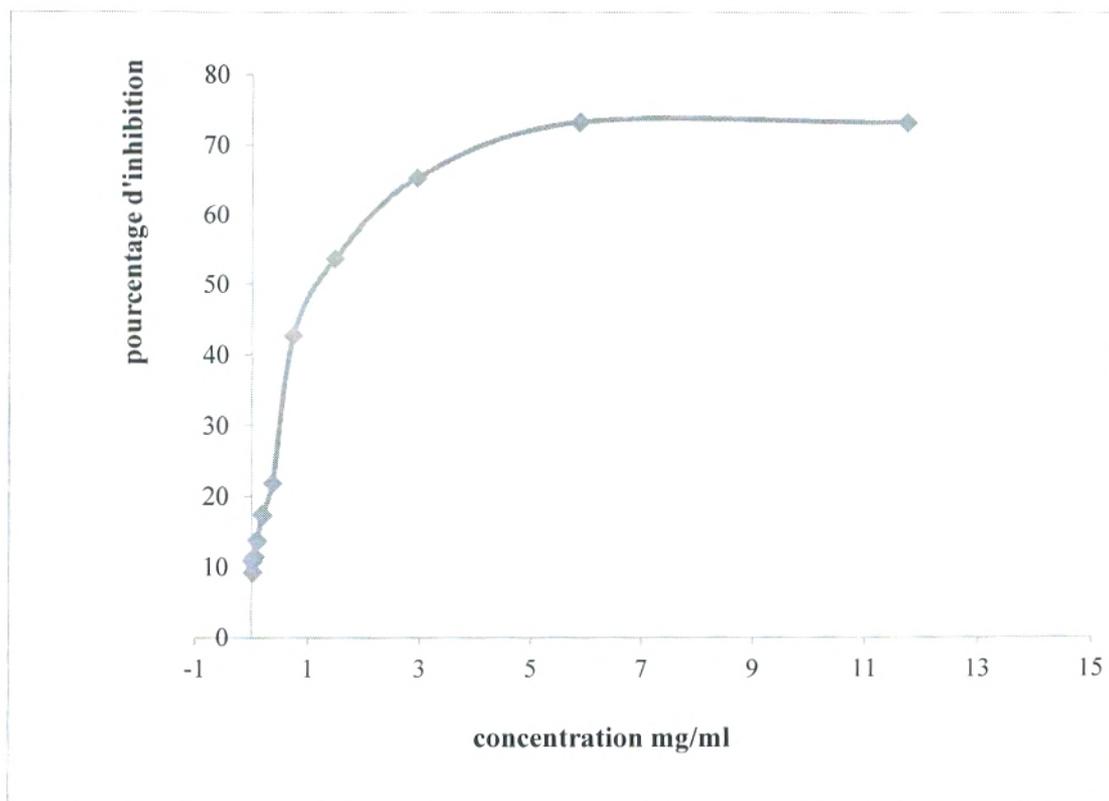


Figure 10 : activité antioxydante (%) de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* mesurée par la méthode de DPPH.

3.2. L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* par le test de l'ABTS

D'après la **Figure 12**, on remarque que les huiles essentielles de *Lippia citriodora* ont une forte activité antioxydante mise en évidence par la méthode d'ABTS, le pourcentage d'inhibition des radicaux libres atteint les 93% pour une concentration de 4 mg/ml d'huiles essentielles de cette plante ; avec un IC_{50} de l'ordre de 0.13 ± 0.007 mg/ml. Cette concentration est nettement plus élevée que celle enregistré par **Rehecho et al. (2011)** en étudiant l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Verbena officinalis* et qui est de l'ordre de 0.09927 ± 0.00473 mg/ml ce qui signifie qu'elle a une forte activité par rapport à nos huiles.

Dans une autre étude faite par Evelyn Ivana et al. (2010) en étudiant l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Lippia grandis* d'Amazonie Brésilienne ont enregistré un IC_{50} de $240.4 \pm 3.7 \mu\text{g/ml}$, et un $260.2 \pm 8.0 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique de la même plante.

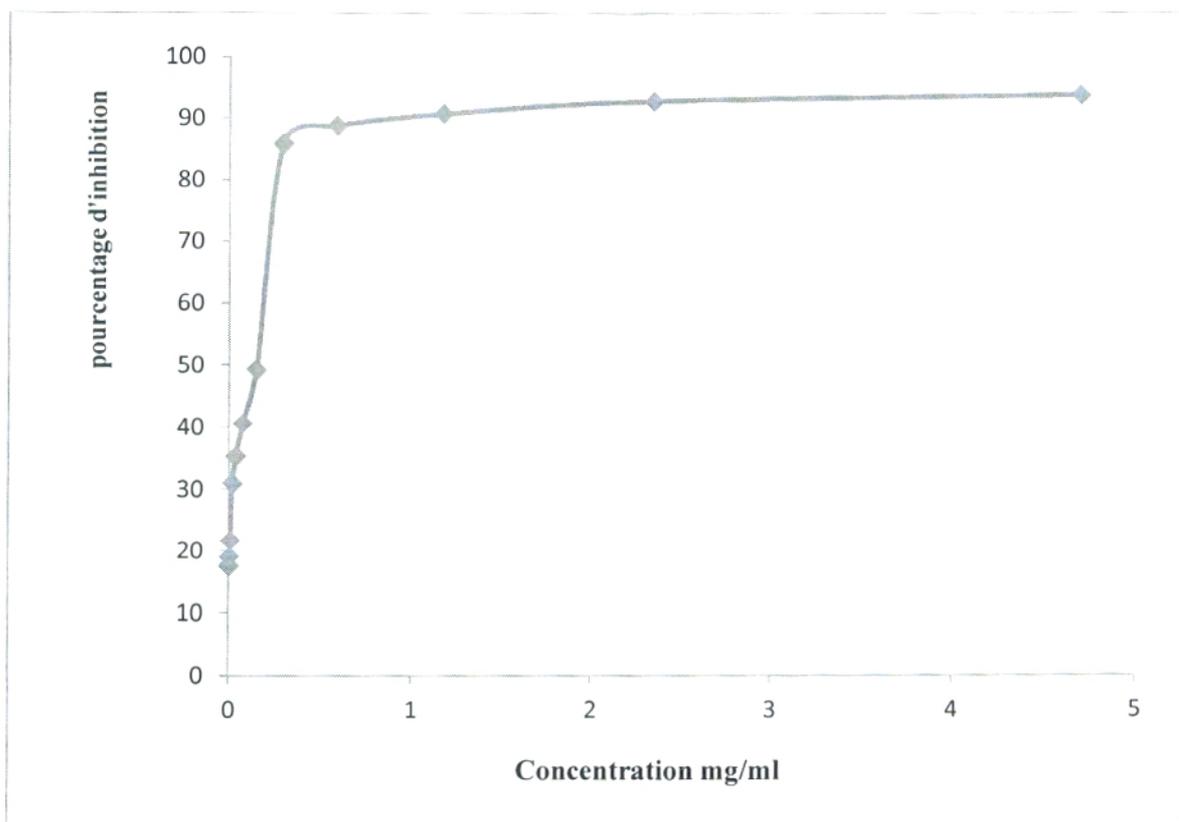


Figure 12 : activité antioxydante (%) de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* mesurée par la méthode de l'ABTS.



CONCLUSION



Conclusion générale

Les produits naturels étaient et restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses vu le rôle que peuvent jouer certains composés purs dans beaucoup d'applications, à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique et la parfumerie (Benayad, 2008).

Les plantes restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement. Environ 40 % des médicaments sont ainsi dérivés de la nature. La nouvelle démarche consiste à s'intéresser à la recherche d'un principe actif dans les produits naturels d'origine végétal, plus particulièrement les métabolites secondaires à savoir les huiles essentielles et les flavonoïdes, issus de plantes médicinales qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter des maladies et améliorer la santé (Newman et al., 2007)

Le travail de recherche entrepris dans le cadre de la valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales, c'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Lippia citriodora* de la région de Tlemcen. Ce travail nous a permis de conclure que :

L'obtention des huiles essentielles par hydrodistillation reste une méthode simple et efficace, et donne un rendement intéressant. Le calcul de rendement moyen en huile essentielle de notre plante nous a révélé une valeur de $(0,195 \pm 0.0007\%)$.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres. Nous remarquons que l'activité antioxydante du piégeage du DPPH de l'huile essentielle s'est traduite par des pourcentages d'inhibition des radicaux libres frôlant les 73%, avec une concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres $IC_{50} = (0.020 \pm 0.008 \text{ mg/ml})$.

La deuxième méthode d'évaluation de l'activité antioxydante par l'ABTS montre une forte activité antioxydante de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* dont le pourcentage d'inhibition atteint les 93 % et un $IC_{50} = (0.13 \pm 0.007 \text{ mg/ml})$.

Les études futures devront dans un premier temps étudier l'effet antibactérienne de cette plante et compléter l'identification des composés de l'huile essentielle et dans un 2ème temps faire un fractionnement de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* et tester chaque fraction individuellement pour déterminer le ou les principes actifs, puis faire des synergies.



RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



Références bibliographiques

- Alavi L., Jabbari A., Barzegar M., Naghdibadi H. (2008)** : Chemical composition and Antioxidant Properties of Essential Oils (*Lippia citriodora*, *Thymus daenensis*). *Food Chem.* 89:27-36.
- Aruoma O.I. (1998)**: Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 75, 199-212.
- Baudoux D. (2008)** : L'aromathérapie, Se soigner par les huiles essentielles. Ed Broché.ppl.
- Benayad N. (2008)** : Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V – Agdaï. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair. Département de Chimie. Faculté des Sciences de Rabat. P 61.
- Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A. (2008)**: Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology.* 145: 209–228.
- Bendjilali A. (2004)** : Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Le pharmacien du maghreb.
- Betts G.D., Linton P., Betteridge R.J. (1999)**: food spoilage yeasts: effects of pH, NaCl and temperature on growth. *Food Control*, 10, 27-33.
- Bonjean A. (2001)** : *Aloysia triphylla* - Verveine odorante (Verbenaceae) - - *Aloysia triphylla*, *Verveine odorante*, *Systématique et répartition géographique*, *Combinaison spécifique*, *Morphologie*, *Histoire*, *Culture et récolte*, *Propriétés médicinales*, *Autres usages*. - Association Tela Botanica, Synthèses des forums Tela Botanica, - Saisie : Tamara LE BOURG - Art. n°1220.
- Boubrit S. et Boussad N. (2007)** : Détermination "In vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Ingénieur d'état en biologie, option contrôle de la qualité et analyses .Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.
- Boudjmaa N. E. et Ben Guegua H. (2010)** :L'effet antibactérien de *Nigella sativa*. Mémoire de fin d'études. Université kasdi merbah - ouargla. Département des Sciences de la Nature et de la Vie. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers.

- Bounatirou S., Suiti S., Miguel M.G., Faliero L., Rejb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. (2007):** Chemical composition, antioxydant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff.et Link. *Food Chemistry*. 105: 146-155.
- Brian M.L. (1995):** The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem (USA), p.57-148
- Bruneton J. (1993) :** Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2^{ième}éd. Tec. Doc., Lavoisier, Paris, France.
- Bruneton J. (2009) :** "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales." Paris. Lavoisier. 1269 p.
- Bugnard V.et Hirschi S. (2007) :** Les Tisanes, Parlons-En ! Haute école de santé Genève. Filière diététiciennes. p 5.
- Burits M. et Bucar F. (2000) :** Antioxidant activity of *Nigella sativa*, essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, p.323-328.
- Buronzo A-M. (2008) :** Grand guide des huiles essentielles. Ed. Hachette pratique.254p.
- Burt S. (2004):** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223–253.
- Caillet S. et Lacroix M. (2007) :** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentation. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, Université de Laval (Québec).
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A. (2007):** Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2580–2595.
- Carnat A., Carnat A.P., Fraisse D., Lamaison J.L. (1999):** The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*.70:44-49.
- Carré P. (1953) :** précis de technologie et de chimie industrielle. Tome 3., Ed. Ballière J.B. et fils.France.Paris. **In : Bekhchi C. (2002) :** analyse d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (nunkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien.Thèse de magister, Université de Tlemcen.

- Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V. (2002):** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 46: 1914–1920.
- Catalan C., De Lampasona P. (2002):** The chemistry of the genus *Lippia* (Verbenaceae). In S.E.Kintzios, (ed.) *Oregano: The genera Origanum and Lippia*, Taylor and Francis; London 127-149.
- Clevenger J.F. (1928):** Les substances de réserve du Pin marine : rôle éventuel des métabolites secondaires. *Actuel. Bot.*, 1.25-40.
- Combrinck S., Du Plooy G.W., McCrindle R.I., Botha B.M. (2007):** Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. 99 (6): 1111–1119.
- Cox S.D., Mann C.M., Markam J.L. (2001):** Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 492–497.
- Deak T., Beuchat L.R. (1996):** Handbook of food spoilage. New York, USA: CRC Press.
- Degryse A., Delpla I., Voinier M. (2008):** Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire, atelier santé environnement.
- Djossou J. (2006):** Etude des possibilités d'utilisations des formulations à base de fruits secs de *Xylopiya aethiopica* Dunal (Annonaceae) pour la protection des stocks de niebe contre *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera : Bruchidae). Master complémentaire. Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux Belgique.
- Dong-Sun L., Nam-Soon K., Sang-Han L. (2001):** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate, a stable Free radical, IS an a-Glucosidase Inhibitor, *J biological and pharmaceutical bulletin*; V.24. N°. 6. 727-728.
- Dopico-Garcia M. S., Castro-Lopez M.M., Noguerol-Cal R., Lopez-Vilarino J.M., Dorman H.J.D., Deans S.G. (2008):** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 308–316.
- Dvaranauskaite A., Venskutonis P.R., Raynaud C., Talou T., Viskelis P., Dambrauskiene E. (2008):** Characterization of Steam Volatiles in the Essential Oil of black CurrantBuds and the Antioxidant Properties of Different Bud Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56 :p.3279-3286.

- EL Hmamouchi M. (2006)** : Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. AP³. Numéro spécial : L'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA) de Taounate. P.4.
- Elattir H., Skiredj A., Elfadl A. (2003)** : Transfère de technologie en agriculture. Fiches techniques VIII : La laitue, l'endive, le topinambour, la verveine, la tomate industrielle. N°103. P.4.
- El-Lakany A., Abdel-kader M.S., Hammouda H.M., Ghazy N.M., Mahmoud Z.F. (1997)** : A new flavone glycoside with antimicrobial activity from *Carduus pycnocephalus* L. *pharmazie*. 52P.78679.
- Englebin M. (2011)** : Essences et huiles essentielles : précaution d'emplois et conseils d'utilisation. Centre de formation en aromathérapie.
- Evelyn Ivana T., Joyce Kelly R., Eloisa Helena A., Pergentino José C., José Guilherme S. (2010)** : Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from *Lippia grandis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 21(1): 78-85.
- Faye O., Lo M., Gaye O. (1997)**: Connaissances et circuits thérapeutiques relatifs au paludisme en zone rurale Sénégalaise. *Médecine tropicale* ; 57: 161-164.
- Ferhat M., Kadi I. et Lahouaou A. (2009)** : Recherche de substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* Coss et Dur. Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES). Université Mohamed Boudiaf - M'sila. Faculté des sciences et des sciences de l'ingénieur. Département de biologie.
- Funes L., Fernández-Arroyo S., Laporta O. (2009)**: "Correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels in rats after oral administration of lemon verbena extract." *Food Chem* 117: 589-598.
- Gardès-Albert M., Jore D. (2005)**. "Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène." *Radicaux libres et stress oxydant*. Paris, Lavoisier: p 1-23.
- Garnon P. (1991)** : 3ième rencontres techniques et économiques : plantes aromatiques et médicinales Nyons 2-3-4 Décembre, pp. 216-231.
- Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L., Leach D.L. (1999)**: The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour Fragrance Journal*. 14: 322-332.

- Grysole J. (2005) :** Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique.140-162.
- Gustafson R.H. et Bowen R.E. (1997):** Antibiotic use in animal agriculture. *Journal of Applied Microbiology*. 83: 531–541.
- Haddouchi F. et Benmansour A. (2008) :** Huiles essentielles, utilisation et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire N°8.
- Hostettmann K. et Marston A. (2002):** Twenty years of research into medicinal plants : Results and perspectives. *Phytochemistry Reviews* 1:275-285.
- Justin Nzeyumwami K. (2004) :** Caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : Hyptis Spicigera, Pluchea Ovalis et Laggera Aurita. DEA. Université de Lomé- Togo.
- Kamatou G.P.P. et Viljoen A.M. (2010):** A review of the application and pharmacological properties of α - bisabolol and α -bisabolol-rich oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87, 1-7.
- Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. (2009):** Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*. 30 : 338–343.
- Khenaka K. (2011) :** Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovine. Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biochimie et de Microbiologie. p 81.
- Lenoir L. (2011) :** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Université d'Auvergne. Ecole doctorale des sciences de la vie et de la sante. P. 290.
- Maach A. et Jemali A. (1986) :** Etude des caractéristiques physico-chimiques des HE de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc: Menthe Naa Naa Abdi, Coriandre. IAV Hassan II, Rabat, Maroc.
- Maestri D.M., Nepote V., Lamarque A.L., Zygadlo J.A. (2006) :** Natural products as antioxidants. In *Phytochemistry: Advances in Research*; Imperato, F., Ed.; Research Signpost: Kerala, India; pp. 105-135.

- Mansouri V., Ingram C., Echard B.X., Bagchi D. (2005):** Antifungal activities of origanum oil against candida albicans. *Mol. Cel. Biochem.* 228 : p.111-117.
- Mohammedi Z. (2006) :** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- Moon J.K. et Shibamoto T. (2009):** Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agr. Food Chem.*, 57, 1655-1666.
- Mothana R., Abdo S., Hasson S., Althawab F., Alaghbari S., Lindequist U. (2008) :** Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Yemeni Medicinal Plants. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Sana'a-University, PO Box 33039, 2Institute of Pharmacy, College of Medical science, University of Science and Technology, Sana'a, Yemen and 3Department of Pharmaceutical Biology, Institute of Pharmacy, Ernst-Moritz-Arndt-University, Greifswald, F-L-Jahn Str. 15a, D 17487 Greifswald, Germany. P. 8.
- Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M. (2007) :** *Natural Prod. Rep.* 17 (2000) 175-285.
- Pascual ME., Slowing K., Carretero E., Sanchez Mata D., Villar A. (2001):** *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *J Ethnopharmacol* 76:201-214.
- Perrot E. et Paris R. (1974) :** "Les plantes médicinales." Presses universitaires de France, p. 244.
- Pibiri M.C. (2006) :** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.161p.
- Pierre M. et Lis M. (2002) :** Secrets des plantes. Pour se soigner naturellement 250 plantes et 230 recettes. ARTèmis edition.
- Piochon M. (2008) :** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi- synthèse. Mémoire présenté à Université du Québec comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables.
- Pitt J.I., Hocking A.D. (1997):** Fungi and food spoilage (seconded). UK, London: Blackie Academic and professional, *Methods Enzymol* 234: 279-293.

- Quirantes-Pine R., Funes L., Micol V. (2009):** "High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compound from a lemon verbena extract." *J Chromatogr A* 1216: 5391-5397.
- Rehecho S., Hidalgo O., García-Iñiguez M., Navarro I., Astiasarán I., Ansorena D., Yolanda Caverro R., Calvo M. I. (2011) :** Chemical composition, mineral content and antioxidant activity of *Verbena officinalis* L. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Navarra, Irunlarrea s/n, 31008 Pamplona, Spain. P. 27.
- Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettaybi M. (1993):** improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Essent. Oil. Res.*, p. 5. 179-184.
- Robak J., Gryglewski R.J. (1988):** Flavonoïds are scavengers of superoxide anions. *Biochemical pharmacology*, vol 37. N°5, pp. 837-841.
- Roulier G. (1992) :** Les huiles essentielles pour votre santé ; Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indication thérapeutiques des essences de plantes. Ed Dangles. France.
- Roux R. (2008) :** conseil en aromathérapie. 2^{ème} Edition, pro-officia., p. 187. Their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*. 128: p. 151-153.
- Samate Abdoul D. (2001) :** Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation, thèse de doctorat, Univ.de Ouagadougou, Burkina Faso.
- Santos-Gomes P.C., Fernandes-Ferreira M., Vicente A. (2005) :** *J. Essent. Oil Res* 17, 73.
- Sikkema J., Bont J.A.M., Poolman B. (1994):** Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*. 269 : 8022–8028.
- Skandamis P., Koutsoumanis K., Fasseas K., Nychas G.J.E. (2001).** Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *Escherichia coli* O157:H7. *Italian Journal of Food Science*. 13 (1): 65–75.
- Taleb-Toudert K., Bellanteur K., Haddad N., Ouazzoug T., Kellouche A. (2002) :** Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *aloesia triphylla*. evaluation *in vitro* de son effet sur la croissance de certains agents pathogènes de l'homme.

Département de biologie Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques
Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou Algérie. p.14.

Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R. (2002): The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68: 1561–1568.

Ultee A., Kets E.P., Smid E.J. (1999): Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 65: 4606–4610.

Valentao P., Fernandes E., Carvalho F., Andrade P.B, Seabra R.M., de Lourdes Basto M. (2002): Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biol Pharm Bull* 25:1324-1327.

Vigne P. (1987) : La France et ses productions aromatiques végétales actuelles. Parfums, Cosmétiques, Arômes.78 p. 97-103.

Walker S.J. (1988): Major spoilage microorganisms in milk and dairy products. *Journal of the society of dairy technology*.41, 91-92.

Wang S.Y., Chen P.F., Chang S.T. (2005): Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon. (*cinnamomum osmophloeum*) leaves againsts wood decay fungi. *Bioresource Technology*, 96 :813-818.

Wichtel M. et Anton R. (1999) : Plantes thérapeutiques : tradition pratique, officinale, science et thérapeutique. Ed. Tech. ET. Doc.

Zheng W., Wang S. Y. (2001): antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem*. P: 49: 5265 – 2001.

Résumé

L'emploi empirique des drogues d'origine végétale continue de garder une grande popularité en Algérie.

Ainsi, le présent travail portant sur l'analyse de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* a été réalisé dans le but d'investiguer, de valoriser et de mieux connaître le pouvoir antioxydant de la flore médicinale et aromatique de la région de Tlemcen.

C'est une plante, connue sous le nom verveine odorante. Elle est très utilisée par la population locale pour ses propriétés thérapeutiques.

L'extraction de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* a été effectuée par l'hydrodistillation le rendement moyen a été obtenu est de (0,195 ± 0.0007 %). Son pouvoir antioxydant a été évalué par deux test DPPH et ABTS. La concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (IC₅₀) est de (0.0207 ± 0.008 mg/ml) avec un pourcentage d'inhibition de 73%, et par le test de l'ABTS IC₅₀ est de (0.13 ± 0.007 mg/ml) avec un pourcentage d'inhibition de 93%. Dans cette étude nous avons pu constater que l'huile essentielle de *L. citriodora* a exercé une activité antioxydante considérable.

Ces résultats nous encouragent à compléter le travail par l'identification des molécules responsables de cette activité antioxydante et d'envisager des perspectives de travaux plus poussés sur *L. citriodora* dans le domaine de l'ethnopharmacologie.

Mots clé : Plantes médicinales- *Lippia citriodora*, activité antioxydante DPPH- ABTS

Abstract

The empirical use of plant-based drugs continues to maintain a high popularity in Algeria.

The present work is about the analysis of the essential oil of *Lippia citriodora* in order to investigate and enhance awareness of the antioxidant medicinal and aromatic plants in the region of Tlemcen.

This plant is known by the name of Verbena and it is widely used for its therapeutic properties.

The extraction of essential oil of *lippia citriodora* was performed by steam distillation where the average yield that was obtained was (0.195±.0007%). Its antioxidant capacity was evaluated by both DPPH and ABTS tests. the effective concentration that causes a loss of 50% of DPPH activity (IC₅₀) is (0.0207±0.008mg/ml) with 93% of inhibition. In this study we found that the essential oil of *Lippia citriodora* had considerable antioxidant activity.

These results encourage us to complete the work activity and consider the prospects for further work on *lippia citriodora* in the field of ethnopharmacology.

Keywords : medicinal plants, *lippia citriodora*, antioxidant activity DPPH-ABTS.

المخلص

لازال الاستعمال التجريبي للعقاقير التي مصدرها نباتي يحظى بشعبية كبيرة في الجزائر.

ويهدف هذا العمل الذي نقدمه والذي يعتمد على تحليل الزيت الأساسي لنباتة *lippia citriodora* إلى استغلال وتقييم ومعرفة الأفضل لقدرة العشب الطبية المعطرة الموجودة في منطقة تلمسان من حيث مقاومة الأكسدة.

هي نبتة معروفة باسم verveine odorante وهي كثيرة الاستعمال في أوساط السكان المحليين لخصائصها العلاجية.

وقد تم استخلاص الزيت الأساسي ل *lippia citriodora* عن طريق عملية التقطير المائي وكان معدل المرود المتحصل عليه هو (0.195%±0.0007%). وقد تم تقييم قدرتها المضادة للأكسدة عن طريق اختياري DPPH وABTS

التركيز الفعال الذي يتسبب في فقدان 50% من نشاط DPPH (IC₅₀) هو (0.0207± 0.008 mg/ml) بنسبة تثبيط مئوية تقدر ب 73% وعن طريق اختبار ABTS , IC₅₀ هو (0.13±0.0007mg/ml) بنسبة تثبيط مئوية تقدر ب: 93%. ومن خلال هذه الدراسة وصلنا إلى أن الزيت الأساسي ل *lippia citriodora* قد قام بنشاط معتبر مضاد للأكسدة.

هذه النتائج تشجعنا على إتمام العمل بغية تحديد الجزيئات المسؤولة عن هذا النشاط المضاد للأكسدة و يعطينا الأمل للقيام بأعمال مقامة أخرى حول *lippia citriodora* في المجال العلاجي الصيدلي .

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية, *lippia citriodora* - النشاط المضاد للأكسدة, DPPH, ABTS.