



N° d'ordre :FS/UMBB/2021.



République Algérienne Démocratique et Populaire.

Ministère de L'enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique.

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES.

Faculté des Sciences – Département de chimie.

Domaine : Science de la matière.

Filière : CHIMIE.

Spécialité : Chimie organique.

*Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
de Master.*

Présenté Par :

BERRAZ Assia.

TICHERAFI Randa.

THÈME :

Évaluation de l'activité anti - oxydante de deux huiles essentielles

Soutenue publiquement le :

devant le Jury composé de :

Mme AKROUM-AMROUCHE Dahbia	M.C.B	Université de Boumerdes	Présidente
Mme GUEMMOUR Hind	M.C.B	Université de Boumerdes	Examinatrice
Mme KHIER Nawal	M.C.A	Université de Boumerdes	Promotrice

2020/2021

Remerciement :

En tout premier lieu, nous remercions le bon « **Allah** » tout puissant de nous avoir donné courage, volonté et patience pour accomplir ce modeste travail.

On commence par exprimer nos vifs remerciements à notre encadreur **Mme KHIER Nawal** pour nous avoir honoré en acceptant de diriger ce travail, pour tous les efforts qu'elle a consenti tout au long de l'élaboration de ce travail. Ses encouragements, et ses précieux conseils.

Nos chaleureux remerciements vont aux membres de jury: **Mme AKROUM-AMROUCHE Dahbia** qui nous a fait l'honneur de présider le jury, et **Mme GUEMMOUR Hind** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants qui nous ont enseigné durant nos années d'études.

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Louange à **ALLAH**, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris ces
petits mots.

Je dédie ce modeste travail Aux deux êtres les plus chers au monde, qui ont souffert nuit et
jour pour nous couvrir de leur amour, mes parents.

À mon père "**HACENE**" pour sa patience avec moi et son encouragement.

À ma source de bonheur, ma mère "**SALIHA**" pour sa patience, sa compréhension, sa
disponibilité, son écoute et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma
vie. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je le dois.

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

À ma très chère sœur "**HAFSA**" et mon cher frère "**ABDELLAH** " qui, m'ont toujours
soutenu et encouragé,

et me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin.

Merci pour votre amour sans limite.

À toute ma Famille BERRAZ et KOULECHE

Spéciale dédicace à toutes mes amies.

À mon binôme **RANDA** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

À tous mes camarades de la promotion 2020-2021 Chimie Organique, tous mes enseignants
qui m'ont enseigné durant mes années d'études, et toute personne qui occupe une place dans
mon cœur.

ASSIA

Dédicace :

Louange à **ALLAH**, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris ces petits mots.

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

À mes très chers parents,

Ma mère **Razika** et mon père **Slimen** qui m'ont offert leur amour et leur soutien et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner la persévérance durant toutes mes années d'études. Je souhaite qu'**ALLAH** les garde en bonne et en parfaite santé et leur donne une longue vie.

À mes chères sœurs : Mariem, Imen, Kaouthar

Qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

À toute ma Famille Ticherafi

Spéciale dédicace à toutes mes amies, Sabrina, Kahina, Yasmine.....

À mon binôme **Assia** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

À tous mes camarades de la promotion 2020-2021 Chimie Organique, tous mes enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études, et toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

RANDA

Résumé :

Dans nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale.

Ce regain d'intérêt vient du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substance et de composés naturels bioactifs, pour cela dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'étude physico-chimique de deux huiles essentielles extraites de la menthe poivrée est de la menthe Arvensis.

Une étude de l'activité biologique a été réalisée par une voie électrochimique afin de déterminer le pouvoir antioxydant de ces deux substances.

Mots clés : menthe Poivrée, menthe Arvensis, extraction, radicaux libres.

Abstract:

Nowadays, the use of medicinal plants in herbal medicine has received great interest in biomedical research.

This renewed interest comes from the fact that medicinal plants represent an inexhaustible source of substance and bioactive natural Compounds, that's why we are interested in this research about the physicochemical study of two essential oils extracted from peppermint, is Arvensis mint.

The research study of biological activity was carried out by electrochemical way to determine the antioxidant power of these two substances.

Key words: Pepper mint, Arvensis mint, extraction, free radicals.

ملخص :

في الوقت الحاضر، حظي استخدام النباتات الطبية في طب الأعشاب باهتمام كبير في البحوث الطبية الحيوية. يأتي هذا الاهتمام المتجدد من حقيقة أن النباتات الطبية تمثل مصدرًا لا ينضب للمادة والمركبات الطبيعية النشطة بيولوجيًا ، ولهذا السبب نحن مهتمون في هذا البحث بدراسة الفيزيائية والكيميائية لزيت أساسية مستخرجة من النعناع الفلفلي و النعناع الحلقي .

قمنا بإجراء دراسة بحثية للنشاط البيولوجي بالطريقة الكهروكيميائية لتحديد القوة المضادة للأكسدة لهاتين المادتين.

الكلمات الدالة: النعناع الفلفلي, النعناع الحلقي, إستخلاص شوارد.

Liste des figures :

Figure 1 : Aspects morphologique de la menthe poivrée	2
Figure 2 : Aspects morphologique de la menthe arvensis	4
Figure 3 : Schéma représentatif du montage d'hydrodistillation	6
Figure 4 : Schéma générale d'entraînement à la vapeur	7
Figure 5 : Principe de l'hydrodiffusion	8
Figure 6 : Principe d'extraction par CO ₂ supercritique	9
Figure 7 : Montage de l'extraction assisté par microonde	10
Figure 8 : Montage de l'expression à froid	10
Figure 9 : Discription du Soxhlet	12
Figure 10 : Les principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène	13
Figure 11 : Dommages causée par les ERO au niveau de l'ADN	14
Figure 12 : Acide ascorbique	15
Figure 13 : Structure de tocophérol	16
Figure 14 : Deux exemples des structures des caroténoïdes	16
Figure 15 : Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène. Le radical formé devient moins dangereux	17
Figure 16 : Schéma du dispositif expérimental voltampérométrique	20
Figure 17 : Allure du voltampérogramme cyclique d'un couple rédox	21
Figure 18: Hydrodistillation par système clewenger	23

Figure 19: Voltampérogrammes cycliques pour les différentes concentrations de l' α -tocophérol	32
Figure 20 : Droite d'étalonnage de l' α -tocophérol	33
Figure 21 : Voltampérogrammes cyclique de la MA (a) et la MP (b)	35

Liste des tableaux :

Tableau 1: Conditions opératoires des H.E à 100 C°	28
Tableau 2: Rendement d'extraction des H.E	29
Tableau 3 : Indices physico-chimiques	30
Tableau 4: Valeurs des densités du courant en fonction de la concentration de α -tocophérol	33
Tableau 5: Paramètres électrochimiques des deux extraits en huile essentielle	36
Tableau 6: Activité antioxydante de nos HE et des HV	36

Liste des abréviations :

HE : Huiles essentielle

HV : Huile végétale

AFNOR : Association Française de normalisation

ISO: International standard organisation.

AOAC: Association of official agricultural chemist.

OX : Oxydant

Red : Réducteur

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ERN : Espèces réactives de l'azote

α -T : α - tocophérol

LDL : Low Density Lipoprotrin

AAT : Activité Antioxydante Totale

CV : Voltamétrie cyclique

MP : Menthe poivrée

MA : Menthe Arvensis

DPPH : 1,1-diphenyl-2-pierylhydrazyl

UV : Ultra Violet.

Sommaire :

Introduction générale	1
CAPITRE I : Rappel bibliographique sur les huiles essentielles.	
I. 1. Les plantes aromatiques et huiles essentielles	2
I. 1. 1. La menthe poivrée (Mentha piperita)	2
I. 1. 2. Huile essentielle de la menthe poivrée	3
I. 1. 3. La menthe Arvensis (Mentha arvensis)	4
I. 1. 4. L'huile essentielle de la menthe Arvensis	4
I. 2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	6
I. 2. 1 Hydrodistillation	6
I. 2. 2 Entraînement à la vapeur d'eau	7
I. 2. 3 Hydrodiffusion	8
I. 2. 4 Extraction par du CO ₂ supercritique	8
I. 2. 5 Extraction assistée par micro-onde	9
I. 2. 6 L'expression à froid	10
I. 2. 7 L'extraction par solvants volatils	11
I. 3. Les antioxydants et le système de défense	12
I. 4. Méthode de mesure de l'activité antioxydante	17
I. 4. 1. La voltammétrie cyclique	18
I. 4. 2. Dispositif expérimental des techniques voltamétriques	18
I. 4. 3 Allure d'un voltampérogramme	20

CHAPITRE II : évaluation de l'activité antioxydant de deux huiles essentielles.

II .1. Appareillage et matériel	22
II.1.1. Appareillage	22
II.1.2. Matériel végétal	22
II .2. Extraction des huiles essentielles	22
II .2.1. Dispositif d'extraction	22
II .2.2. Procédé d'extraction	23
II .2.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue	24
II .3. Détermination du rendement d'extraction	24
II .4. Caractérisation physicochimique des huiles essentielles	24
II .4.1. Indice d'acide (I_A)	25
II .4.2. Indice d'ester (I_E)	25
II .4.3. Densité relative d_{20}	26
II .4.4. Indice de réfraction η_D	26
II .4.5. Le pouvoir rotatoire spécifique α	26
II .5. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles	27
II .6. Résultats et discussions	28
II .6.1. Extraction des huiles essentielles	28
II .6.2. Calcul du rendement	29
II .6.3. Caractères organoleptiques	29
II .6.4. Indices physico-chimiques	30

II. 6.5. Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles par voltamétrie cyclique	31
II .6.5. 1. Etude électrochimique du comportement de l'électrolyte	31
II .6.5. 2. Etude électrochimique du comportement de l' α -tocophérol	31
II .6.5. 3. Courbe d'étalonnage de l' α -tocophérol	32
II .6.5. 4. Evaluation de l'activité antioxydante totale des deux huiles essentielles ...	34
II .6.5. 5. Voltampérogrammes cycliques des deux huiles	34
II .6. 5. 6. Paramètres électrochimiques des deux huiles	36
Conclusion générale	38
Références bibliographiques	39

Introduction

générale

Introduction générale :

Les huiles essentielles constituent une partie importante dans la constitution des produits naturels. Elles sont utilisées dans des domaines très variés : industriels, pharmaceutiques, parfumerie, cosmétologie, l'aromathérapie [1]. Ce sont des extraits liquides, concentrés et complexes de plantes aromatiques ou d'organes de ces plantes (fleur, feuille, bois, racine, écorce, fruit...), obtenus par distillation par entraînement à la vapeur d'eau. Elles sont composées, chacune d'elles, d'une centaine de molécules terpéniques et aromatiques et qui sont particulièrement actives dans l'entretien de notre santé au quotidien.

Elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne [2]. Au niveau de la microflore vaginale [3] et d'origine fongique contre les dermatophytes [4]. Egalement, elles possèdent des propriétés cytotoxique [5] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à deux types de menthes connus sous l'appellation de la menthe poivrée et de la menthe Arvensis. Pour cela dans le première chapitre de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'extraction des deux huiles essentielles par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire, en utilisant l'appareil de Clevenger.

Dans le deuxième chapitre, nous avons réalisé une analyse électrochimique afin de déterminer le pouvoir antioxydant des deux huiles obtenues à partir de la menthe poivrée et de la menthe Arvensis, en utilisant la méthode de la voltamétrie cyclique, tout en choisissant le solvant adéquat (milieu organique).

CHAPITRE I :

Rappel

bibliographique

sur les huiles

essentielles

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

I.1. Les plantes aromatiques et huiles essentielles :

I. 1. 1. La menthe poivrée (*Mentha piperita*) :

La menthe poivrée est une plante herbacée de la famille des lamiacées, ces feuilles sont opposées et décussées de 4 à 10 cm de long, velues et d'un vert foncé sur la face supérieure. Elles sont recouvertes de poils. Ces fleurs sont petites violet pale, presque régulières. La floraison s'effectue de juillet à septembre.

En raison de la saveur poivrée de ses feuilles elle est assez peu utilisée en cuisine et réservée à un usage médical son huile essentielle est utilisée dans l'industrie alimentaire pour parfumer : bonbons, dentifrice, chewing-gums, confiseries et boisson alcoolisées (Figure 1).



Règne : Plante

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : Menthe

Figure 1 : Aspects morphologique de la menthe poivrée.

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

I. 1. 2. Huile essentielle de la menthe poivrée :

- **Propriétés et usages médicaux traditionnels :**

L'huile essentielle de la menthe poivrée présente un aspect limpide avec une couleur verdâtre pâle et une odeur herbacée fraîche et mentholée. Elle a des propriétés aromatiques et des propriétés digestives (diminuer les lourdeurs, les ballonnements, les gaz). Au début du XIX^{ème} siècle elle est considérée comme apéritif, désobstruant, diurétique.....

On l'emploie aussi comme stomachique, résolutive, emménagogue, et surtout comme antispasmodique [6,7].

- **Composition et effet antioxydant :**

La feuille de menthe poivrée contient de nombreux métabolites secondaires aromatiques : des acides-phénols (jusqu'à 7%), des flavonoïdes (glycosides de la lutéoline, de l'apigénine), des monoterpènes et des triterpènes. Sa composition chimique varie fortement avec les conditions climatiques, la nature de la terre cultivable et de la date de la récolte.

Elle est principalement constituée de :

- Menthol de 30 à 40% et atteignant parfois, jusqu'à 64% pour une culture à basse altitude.
- (-) - Menthone de 15 à 25%.
- Acétate de menthyle, de l'état de trace jusqu'à une forte concentration de 30,2% à haut altitude dans le nord.
- Menthofurane, composé hépatotoxique, parfois absent.
- (+) – isométhone, (+) – néomenthole, (-) – pipéritone, terpène -4- ol, β – viridiflorol... Etc.

La menthe poivrée est une plante riche en antioxydants : tanins, flavonoïdes 18%, mais aussi une présence de vitamine C.

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

I. 1. 3. La menthe Arvensis (*Mentha arvensis*) :

La menthe Arvensis (Menthe des champs) est une plante vivace de 50 à 60 cm de haut plus ou moins velue, dégageant un parfum chaleureux épicé, possédant des tiges à section carré, dressées ascendante [8]. Ces feuilles sont ovales poilue, les fleurs rosées sont disposés en verticille, axillaires, écartés compacts. La floraison se déroule de Juillet à Octobre. Elle croit dans les milieux humides (Figure 2).



Règne : Plante

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : Menthe

Figure 2 : Aspects morphologique de la menthe arvensis.

I. 1. 4. L'huile essentielle de la menthe Arvensis :

L'huile essentielle de la menthe Arvensis à un aspect liquide mobile limpide, une couleur jaune pâle à incolore et une odeur menthée et forte, elle est obtenue par hydrodistillation son action vasoconstrictrice permet de calmer spécifiquement les migraines. Comme elle possède aussi des propriétés anti-inflammatoires [9], antihypertenseurs [10], anxiolytique [11] et antalgiques [12].

- **Composition de l'huile essentielle :**

Une bonne huile essentielle de menthe de champs doit contenir :

- Menthol : 50 à 75%.
- Menthone : 5 à 20%
- Acétate de menthyle : 2 à 7%
- Isomenthone \leq 6%
- Limonène : 2 à 5%

I. 2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont obtenues avec de très faibles rendements (de l'ordre de 1%), ce qui explique leurs raretés et leurs couts, tout en tenant compte de leurs fragilités structurales. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Une forte demande toujours plus exigeante basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation. Ces techniques d'extraction seront présentées et classées en deux catégories distinctes selon la nature produit final désiré (une huile essentielle ou un extrait aromatique). Parmi ces méthodes, on peut citer : entrainement à la vapeur d'eau, hydro-diffusion, hydrodistillation[13], extraction par du CO₂ supercritique [14], extraction assistée par micro-onde [15], expression à froid [16] et l'extraction par solvants volatils [17].

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

I.2. 1 Hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) [13]. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger.

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

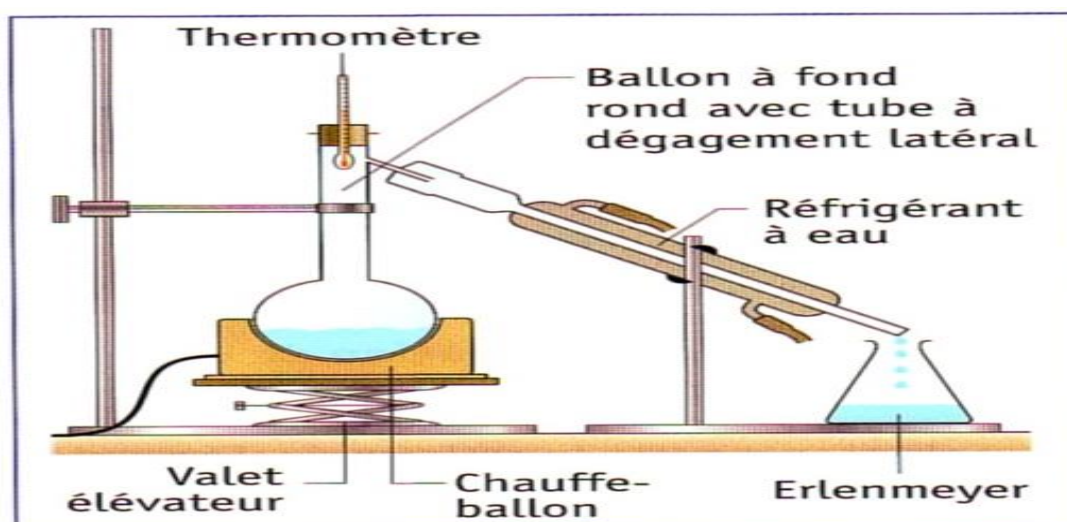


Figure 3 : Schéma représentatif du montage d'hydrodistillation.

I. 2. 2 Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielles qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

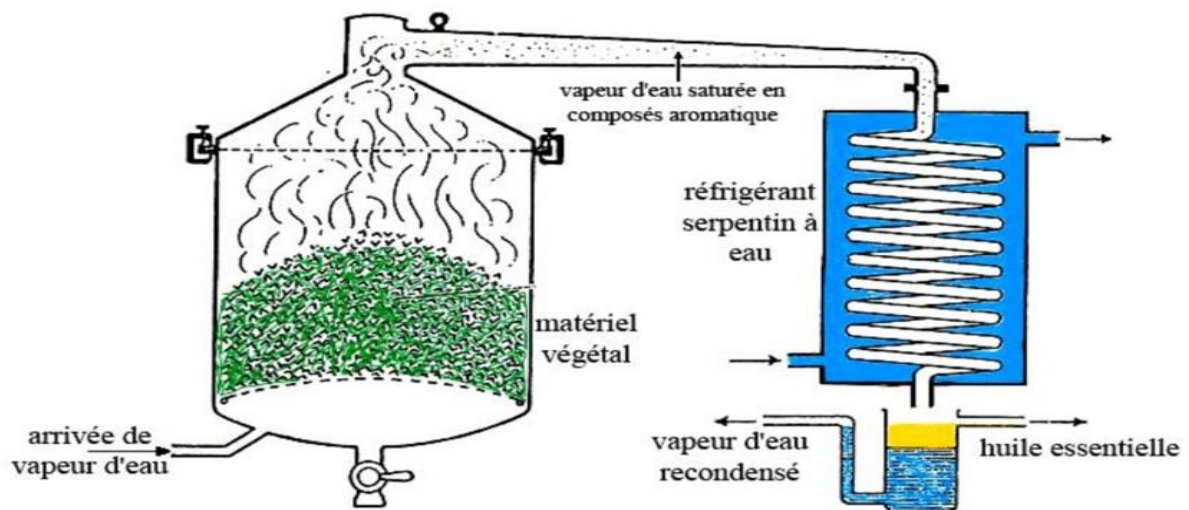


Figure 4 : Schéma générale d'entraînement à la vapeur.

I. 2. 3 Hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

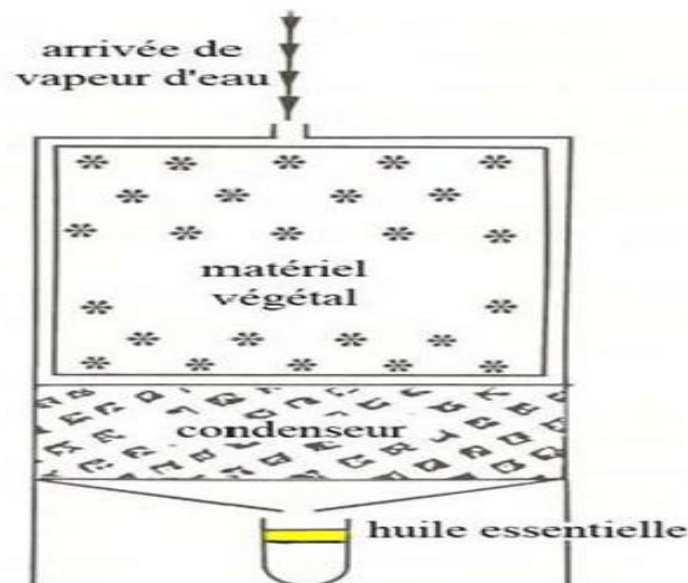


Figure 5 : principe de l'hydrodiffusion.

I. 2. 4 Extraction par du CO₂ supercritique :

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux, le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles [14]. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables.

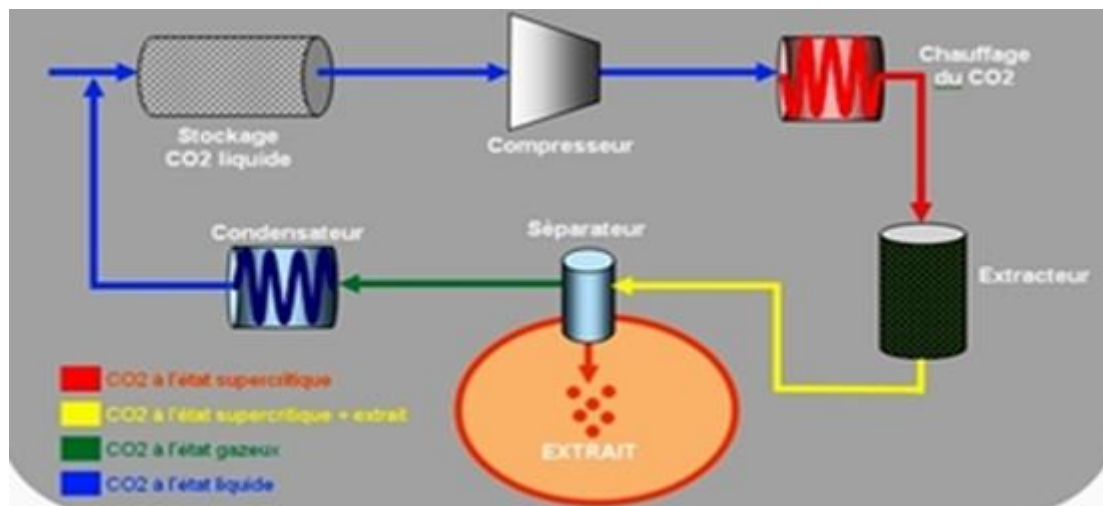


Figure 6 : Principe d'extraction par CO₂ supercritique.

I. 2. 5 Extraction assistée par micro-onde :

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques [15]. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement.

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extract.

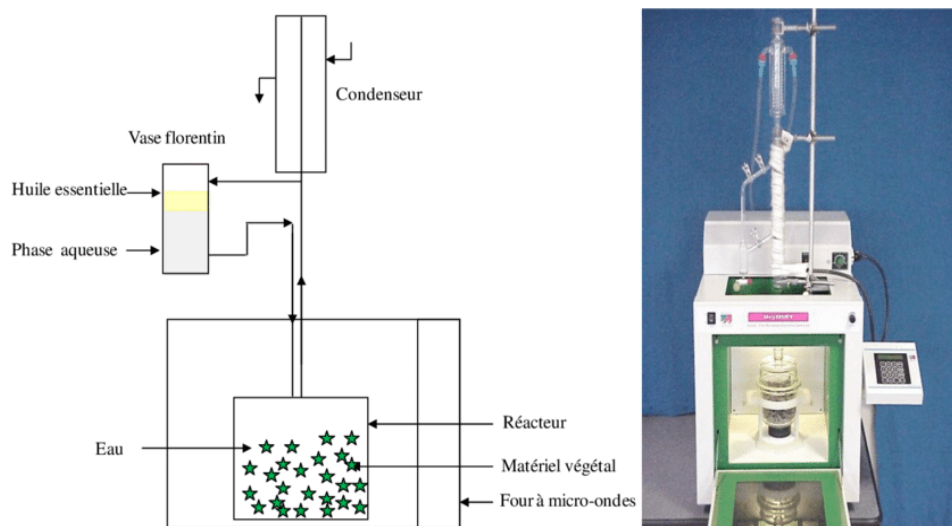


Figure 7 : Montage de l'extraction assisté par microonde.

I. 2. 6 L'expression à froid :

Le procédé d'extraction par expression à froid est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle [16].



Figure 8 : Montage de l'expression à froid.

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

I. 2. 7 L'extraction par solvants volatils :

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone [17]. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

Ces solvants ont pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances[18].

La technique d'extraction par solvant volatil, consiste à placer dans un extracteur la matière végétale à traiter et un solvant. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en huiles essentielles, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé sous pression atmosphérique.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau.

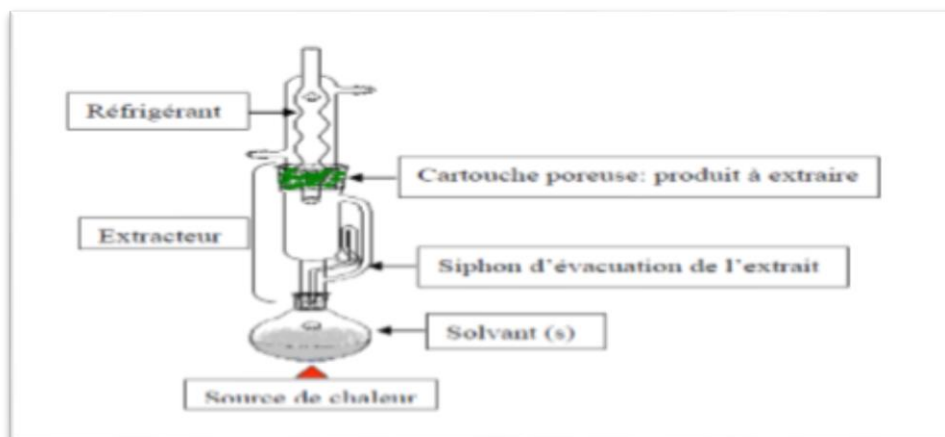


Figure 9 : description du Soxhlet.

I. 3. Les antioxydants et le système de défense :

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques [18,19]. L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables d'arrêter ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux et annihilant ainsi leur action.

Les radicaux libres les plus importants formés dans l'organisme sont :

- L'anion superoxyde : $O_2^{\cdot -}$ (biradical)
- Le radical hydroxyle : HO^{\cdot}
- L'hypochlorite : OCl^{\cdot}
- Le radical nitroxyle : NO^{\cdot}

Les dérivés suivants de l'oxygène ne sont pas de vrais radicaux libres, mais plutôt des précurseurs, présentant néanmoins une certaine réactivité :

- L'oxygène singulet : 1O_2
- Le peroxyde d'hydrogène : H_2O_2
- Le peroxyde de nitroperoxyde : $ONOOH$

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

La figure 10 représente les principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène.

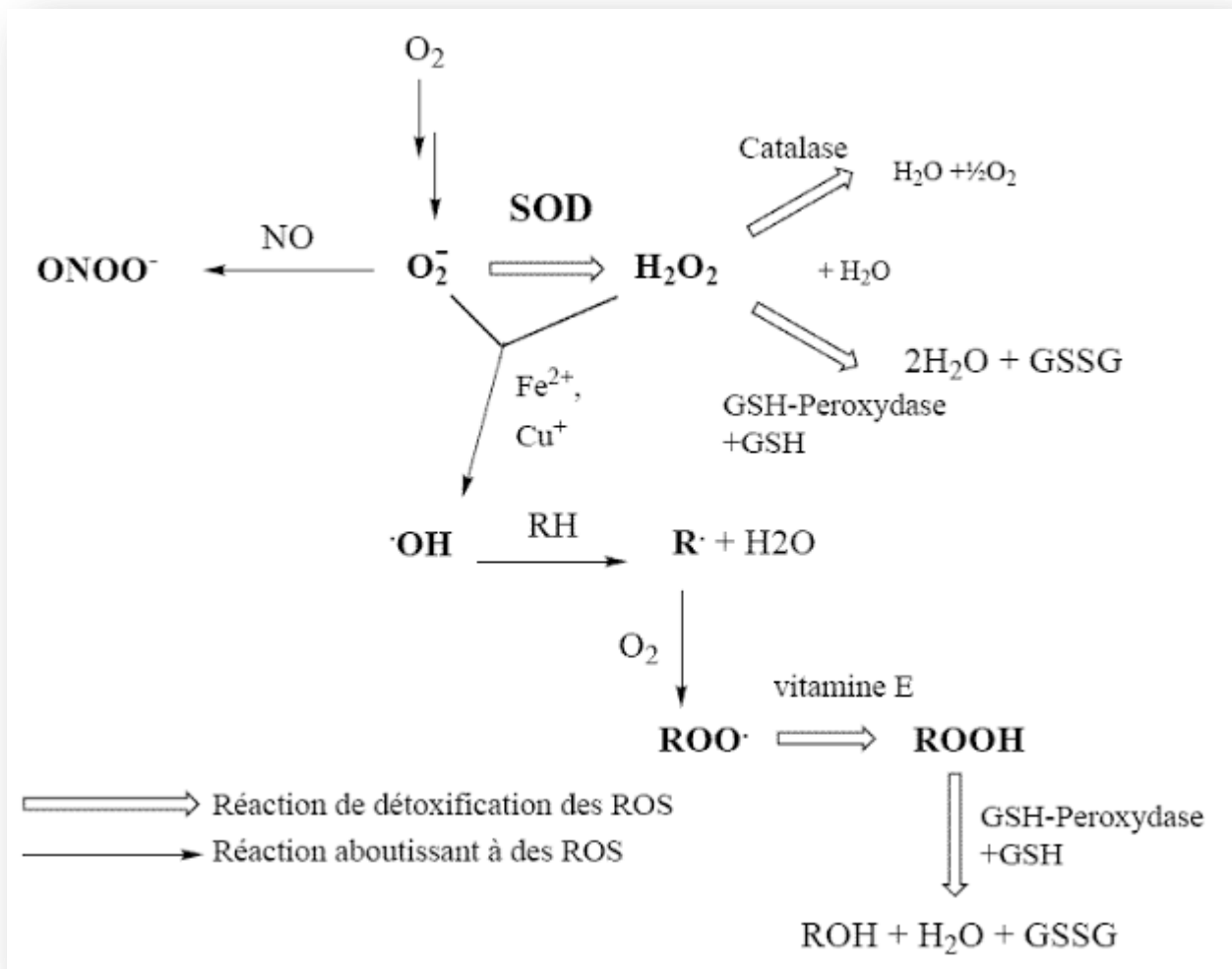


Figure 10 : Les principales voies de formation des espèces réactives de l'oxygène.

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN [20], les lipides (peroxydation), les protéines [21]...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) [22] et la dégradation des cellules et des tissus [23]. La Figure 10 représente un exemple des dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau de l'ADN.

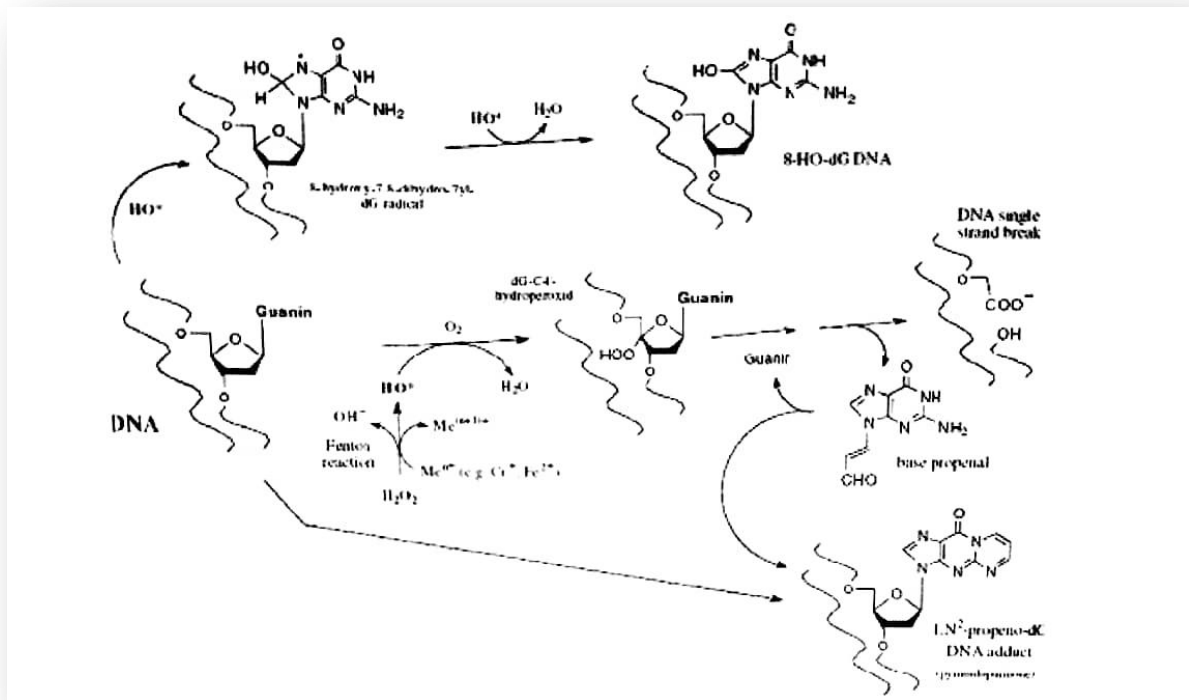


Figure 11 : Dommages causée par les ERO au niveau de l'ADN.

Pour faire face à ces attaques et boucler les radicaux libres produits par la réaction d'oxydation. Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre par l'organisme :

- Les superoxydes dismutases (SOD) qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène [24,25].
- La catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci [26-28].
- La glutathion peroxydase (GPX) qui décompose aussi le peroxyde d'hydrogène en utilisant le glutathion comme donneur d'hydrogène [29] (Figure 10).

Il existe aussi des antioxydants non enzymatiques capables de piéger les radicaux libres tel que :

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

- L'acide ascorbique (Vitamine C) :

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble, sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène. Après ingestion, elle passe rapidement dans le sang puis diffuse de façon variable dans tous les tissus. Un apport quotidien minimal d'origine alimentaire est donc nécessaire, celui-ci provient essentiellement des fruits et légumes frais [30].

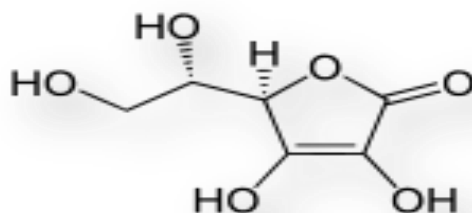


Figure 12 : Acide ascorbique.

La vitamine C est nécessaire pour de nombreuses fonctions physiologiques de la biologie humaine. La plus part des plantes et des animaux peuvent synthétiser l'acide ascorbique sauf les singes et les humains en raison du manque de l'enzyme gulonolactone oxydase [31]. Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger / neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène [32,33]. Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les tocophérols [34,35].

- La tocophérol (Vitamine E) :

Les tocophérols sont des composés liposolubles, ils regroupent quatre substances dont l'alpha-tocophérol, appelé communément, Vitamine E. C'est l'antioxydant majeur et le plus actif biologiquement [28].

La vitamine E a été largement étudiée comme complément alimentaire potentiellement préventive dans les maladies cardiovasculaires. Elle joue un rôle dans l'atténuation du stress oxydatif, dans les symptômes des maladies neuro-dégénératives et en particulier dans la maladie d'alzheimer. En conséquence, il entrave l'adhérence des leucocytes

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

aux cellules endothéliales, l'agrégation des plaquettes et la formation consécutive des plaques d'athérome [29].

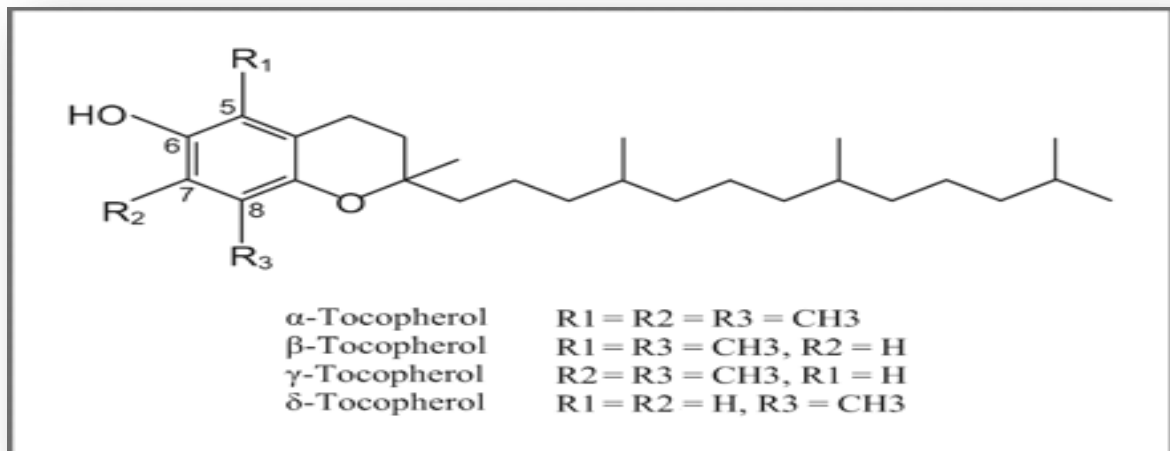


Figure 13 : Structure des tocophérols.

- La caroténoïde :

Les caroténoïdes (figure 14), sont des pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le bêta-carotène, l'alpha-carotène, la zéaxanthine et le lycopène. Ce sont eux qui donnent aux fruits des couleurs orange, rouge et jaune. Leur fonction essentielle est de protéger les plantes. La plupart des caroténoïdes ont une propriété antioxydante [38].

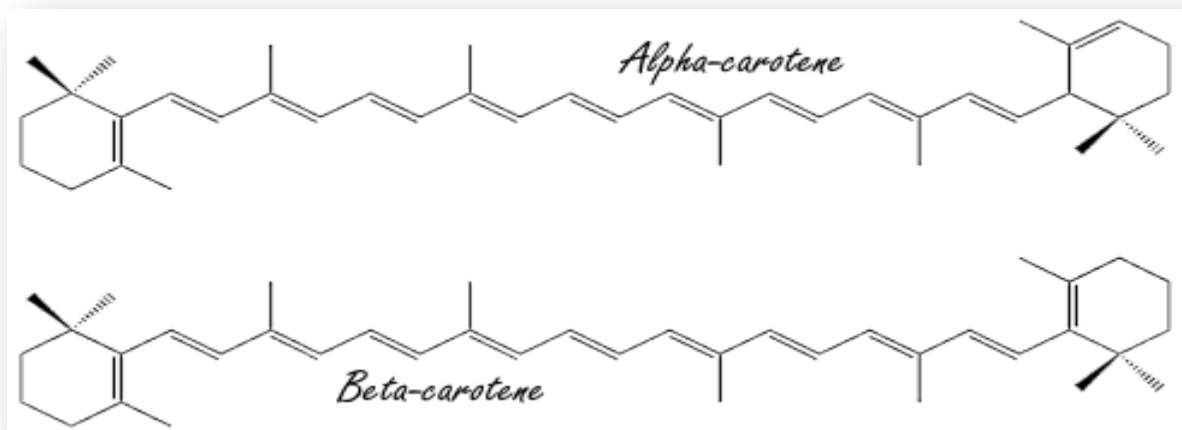


Figure 14 : Deux exemples des structures des caroténoïdes.

- Les polyphénols :

Les composés phénoliques sont des antioxydants [39-42] qui peuvent neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou un atome d'hydrogène (figure 15). Leurs structures leur confèrent une activité antioxydante aussi importante. Les groupes hydroxyle des polyphénols sont bien des donneurs d'atomes d'hydrogènes, ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et les espèces réactives de l'azote, enfin de réaction, le cycle de génération de nouveaux radicaux est interrompu.

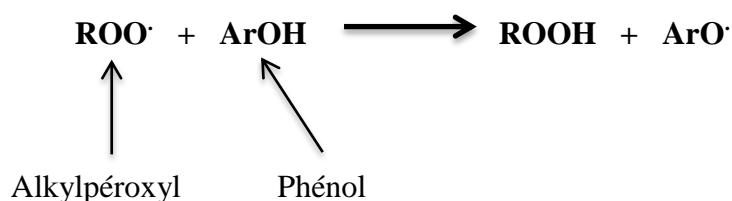


Figure 15 : Illustration d'un mécanisme d'action des polyphénols : la donation d'hydrogène.

Le radical formé devient moins dangereux.

Suite à l'interaction avec les espèces réactives initiales, la forme radicalaire de l'antioxydant est produite, ayant une plus grande stabilité chimique que le radical initial. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons π du noyau benzénique.

I. 4. Méthode de mesure de l'activité antioxydante :

Grace à la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mises au point pour évaluer l'efficacité des antioxydants à piéger les radicaux libres et d'empêcher les réactions radicalaires [43,44]. La majorité de ces méthodes se base sur des phénomènes chimiques, des processus physiques et instrumentations spécifiques. Parmi ces méthodes on a : La méthode de FRAP, méthode de ABTS, activité réductrice sur le ferricyanure de potassium, capacité de piégeage du radical anion superoxyde, capacité de piégeage du radical DPPH et les méthodes électrochimiques (la voltammétrie cyclique et la voltammétrie à onde carrée) dans notre cas nous avons réalisé la méthode électrochimique (la voltammétrie cyclique).

I. 4. 1. La voltammétrie cyclique :

La voltammétrie cyclique est une méthode électrochimique parmi les plus couramment utilisées et qui présente également une méthode de choix, notamment pour évaluer les pouvoirs réducteurs des espèces chimiques. Elle est une technique expérimentale qui permette l'étude du système en régime de diffusion pure.

Le principe général de la voltampérométrie est donc l'obtention d'une réponse (le courant) du système soumis à une perturbation (le potentiel) responsable de la réaction électrochimique désirée. Cette opération est réalisée en effectuant une exploration par imposition et variation progressive du potentiel d'électrode (balayage de potentiel) [45].

La connaissance des caractéristiques fondamentales d'une réaction électrochimique se fait au moyen de la mesure des variations du courant en fonction du potentiel appliqué aux bornes d'une cellule d'électrolyse. Cette relation se traduit par l'obtention de figures appelées voltampérogrammes. A partir des courbes obtenues, il est alors possible de déterminer la nature et la concentration des espèces Ox et Red, aussi d'évaluer des paramètres de cinétique électrochimique...etc.

I. 4. 2. Dispositif expérimental des techniques voltamétriques :

Le dispositif expérimental pour réaliser des mesures électrochimiques nécessite la présence des composants suivants (figure 16) :

- **Potentiostat :**

Un potentiostat est un appareil dont le rôle est d'imposer une différence de potentiel constante entre l'électrode de travail (ET) et l'électrode de référence (ER) tout en fournissant la puissance nécessaire à la cellule. Il mesure le courant traversant l'électrode auxiliaire (EA) et l'électrode de travail [46].

CHAPITRE I Rappel bibliographique sur les huiles essentielles

- **Cellule électrochimique type :**

Une cellule électrochimique est composée de plusieurs types d'électrodes selon le type de montage utilisé. On utilise une cellule type d'un système à trois électrodes immergées dans la solution à analyser [47].

- **Types d'électrodes :**

On distingue, plusieurs types d'électrodes en fonction de l'application envisagée ; on utilise dans cette étude trois types d'électrodes [48].

- Une électrode de travail sur laquelle on examine les différents processus électrochimiques à explorer.
- Une électrode de référence dont le potentiel est constant et connu, ce qui permet ainsi de contrôler le potentiel à l'électrode de travail.
- Une électrode auxiliaire appelée aussi contre-électrode qui permet de mesurer le courant circulant dans la cellule électrochimique.

- **Electrolyte :**

En général, on utilise des solutions contenant outre les espèces électroactives, un sel d'électrolyte support totalement dissocié permettant de saturer la solution. Dans ces conditions le tracé d'un voltampérogramme est de quelques millisecondes à quelques minutes.

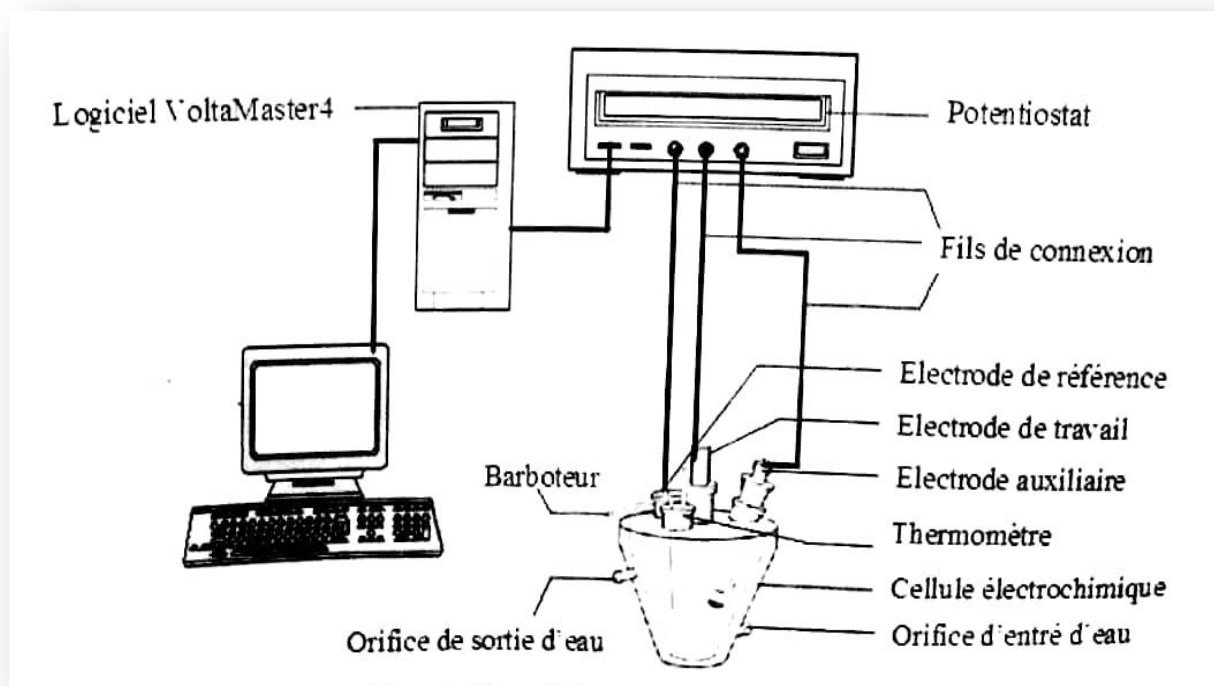


Figure 16 : Schéma du dispositif expérimental voltampérométrique.

I. 4. 3 Allure d'un voltampérogramme :

Récemment, beaucoup de chercheurs ont adapté cette nouvelle technique pour la mesure de l'activité antioxydante des produits naturels et pour d'autres études [49-54]. La voltampérométrie cyclique (CV) est une des méthodes électrochimiques les plus efficaces pour caractériser les réactions de transfert de charges. Elle consiste à effectuer un balayage aller-retour complet du potentiel appliqué. Dans le cas qui nous intéresse, la caractéristique de courant aller est différente de la caractéristique retour car entre l'aller et le retour, la couche de diffusion a été modifiée dans sa composition. L'allure du voltampérogramme cyclique est donnée par la figure 17.

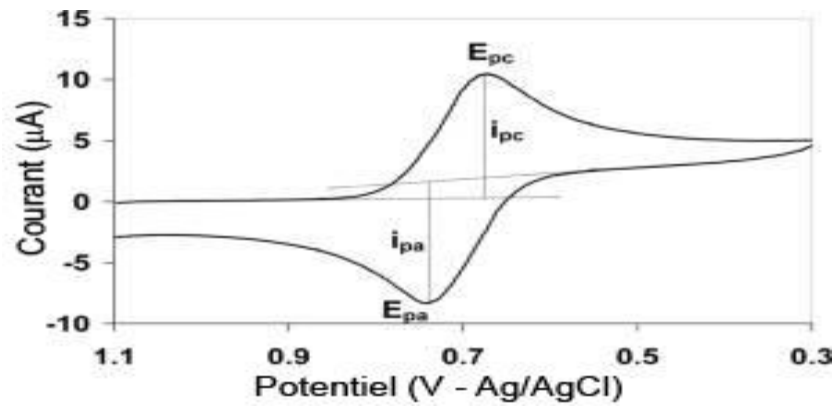


Figure 17 : Allure du voltampérogramme cyclique d'un couple rédox.

CHAPITRE II :
Évaluation de
l'activité
antioxydant de
deux huiles
essentielles

II .1. Appareillage et matériel:

II.1.1. Appareillage:

L'appareil utilisé pour le calcul de l'activité antioxydante de nos huiles est le voltampérométrie à balayage du potentiel équipé d'un Potentiostat/Galvanostat PGZ 301 type voltalab fabriqué par (Radiometer Analytical SAS) avec un logiciel VoltaMaster 4, accompagné d'une cellule électrochimique type d'un système à trois électrodes fabriquée en verre de capacité 50 ml.

II.1.2. Matériel végétal :

Les deux plantes de menthes ont été récoltée à la région d'El- oued durant la période allant du mois de Janvier jusqu'au Septembre. Les tiges, les feuilles et les sommités fleuries de la plante sont ensuite séchées pendant dix jours, à l'ombre dans un endroit sec et aéré à l'abri de la lumière.

II .2. Extraction des huiles essentielles :

II. 2.1. Dispositif d'extraction :

L'extraction de l'huile essentielle (HE) des deux menthes a été faite par un hydrodistillateur de type Clevenger. Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon à vide en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement de ballon à vide et une ampoule à décanter qui reçoit les extraits de la distillation et d'un thermomètre pour contrôler la température et éviter le sur chauffage (figure 18).



Figure 18: Hydrodistillation par système clevenger

II .2.2. Procédé d'extraction :

400 g de feuilles séchées ont été broyées et mises dans un erlenmeyer à vide, additionnées de 3 litres d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition, après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur: l'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le réfrigérant, qui est fixé par un support approprié en position inclinée pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures.

Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décantier. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueuse. En fin, le distillat est recueilli dans le collecteur (erlen en verre pyrex) et l'huile essentielle des menthes sera par la suite récupérée dans un flacon approprié.

II .2.3. Conservation de l'huile essentielle obtenue :

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous avons déshydraté l'huile essentielle des deux menthes par le sulfate de sodium (Na₂SO₄) anhydre et la conservée à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

II .3. Détermination du rendement d'extraction :

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$RHE = M'/M.100$$

RHE : rendement en huile essentielle de menthe.

M': masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

M: masse des feuilles de menthe utilisée en gramme.

II .4. Caractérisation physicochimique des huiles essentielles :

Les caractéristiques organoleptiques (apparence, couleur, odeur, goût) étaient autrefois les veules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précise. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques. Ces normes ont été déterminées par plusieurs organisations connus à l'échelle mondiale comme: ISO, AFNOR et AOAC.

Dans notre cas, nous avons déterminé les indices (acide, ester, réfraction) ainsi que la densité relative suivant la norme AFNOR.

II .4.1. Indice d'acide (I_A):

L'indice d'acide d'une huile essentielle est fini comme étant le nombre de milligramme de potassium (KOH) nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle (AFNOR, 2000). Il est calculé par la formule suivante :

$$I_A = V.C. (56,11/ M)$$

I_A : Indice d'acide.

V: Volume de KOH utilisé (ml).

C: Concentration exacte, en mole par litre de la solution de KOH.

M: Masse de la prise d'essai.

II .4.2. Indice d'ester (I_E):

L'indice d'ester est le nombre de milligramme de potassium (KOH) nécessaire pour effectuer la saponification totale des esters sels contenus dans un gramme d'huile essentielle. Il est calculé par la formule suivante :

$$I_E = 28,05(V - V_0)/M$$

I_E : Indice d'ester.

V: Volume en ml de HCl utilisé dans cette détermination.

V_0 : Volume en ml de HCl de l'essai à blanc.

M: Masse de la prise d'essai.

II .4.3. Densité relative d_{20} :

La densité relative de l'huile essentielle est déterminée par le rapport entre la masse d'un certain volume de l'essence et la masse du même volume d'eau distillée à la même température.

$$d_{20} = \frac{m_1 - m_0}{m - m_0}$$

d_{20} : Densité relative.

m_1 : Masse en g de la seringue contenant 0,20 ml d'essence.

m_0 : Masse en g In seringue vide.

m : Masse en g de la seringue contenant 0,20 ml d'eau.

II .4.4. Indice de réfraction n_D :

C'est la mesure directe de l'angle de réfraction soit l'observation de la limite de réflexion totale en maintenant l'huile dans ces conditions isotropisme et de transparence. La mesure s'effectue à l'aide d'un réfractomètre de type de BIOBLOCK scientifique polystat. Coupler à un thermomètre ATAGO (digital thermomètre). n_D varie en fonction de la température.

II .4.5. Le pouvoir rotatoire spécifique α :

C'est la mesure de la rotation du plan de polarisation de la lumière à une longueur d'onde définie, traversant une épaisseur déterminée d'H.E la longueur d'onde est généralement celle correspondant à la raie D du sodium.

- Un polarimètre de type galileo.
- Une lampe à raie D de sodium $\lambda=589$ nm.
- Température de l'expérience 21°C, il est donné par la relation:

$$[\alpha] = A.V/L.m$$

A: la valeur de l'angle de rotation exprimée en degré.

L: la longueur du tube exprimée en décimètre.

V: le volume de la solution en millilitre.

m: la masse de la substance dissoute en gramme.

II .5. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles :

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. De nombreuses méthodes suscitées sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. Dans notre étude nous avons utilisé la méthode électrochimique [55,56] en se basant sur des voltamogrammes reproductibles tel que la voltamétrie cyclique afin de déterminer l'activité antioxydante des huiles essentielles contenus dans la menthe poivrée et la menthe Arvensis.

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos huiles étudiées a été effectuée à l'aide de l'antioxydant standard α - tocophérol connu pour ses propriétés antioxydantes très intéressantes. L'activité antioxydante totale de nos huiles est calculée en utilisant l'équation suivante :

$$AAT \text{ (mg/ g)} = C_{\text{éq}}/C''_1$$

AAT: Activité antioxydante totale

$C_{\text{éq}}$: Concentration équivalente de l'a-tocophérol (g/l)

C''_1 : Concentration massique d'échantillon dans la cellule (g/ml)

$$C''_1 = m_{\text{extrait}} / V_{\text{Totale}} \quad \text{avec } m_{\text{extrait}} = V_{\text{inj}} C_1$$

$$\text{et } C_1 = m_{\text{extrait}} / V_{\text{extrait}}$$

C_1 : Concentration de l'échantillon (g/ml)

V_{inj} : Volume injecté dans la cellule électrochimique (ml)

V_{extrait} : Volume d'éthanol dans le quel on a dissout l'échantillon sec (ml)

V_{Total} : Volume total dans la cellule en ml ($V_{\text{électrolyse}} = 25$ ml de solution tampon+ V_{inj})

m_{extrait} : masse de l'échantillon sec (g)

II .6. Résultats et discussions :

II .6.1. Extraction des huiles essentielles :

Les conditions opératoires sont données dans le tableau 1. Ce dernier regroupe seulement les plantes qui ont subi une hydrodistillation.

Tableau 1: Conditions opératoires des H.E à 100 C°

Matière végétale (sèche)	Poids (g)	Quantité d'eau (litres)	Temps d'hydrodistillation (h)
Menthe poivrée	400	3	2,30
Menthe arvensis	400	3	3

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement au procédé d'hydrodistillation puisque c'est une méthode de mise en œuvre facile et peut donner des rendements très élevés. Une fois l'obtention de l'H.E on détermine les rendements d'extraction.

II .6.2. Calcul du rendement :

Les résultats obtenus des rendements des deux huiles à l'échelle laboratoire sont représentés dans le tableau 2.

Tableau 2: Rendement d'extraction des H.E

Matière végétale (sèche)	Rendement*	Rendement (%) [57]	Rendement (%) [60]
Menthe poivrée	1.7	0.81	2.2
Menthe arvensis	0.925	/	2.2

*notre travail

A partir des résultats présentés dans le tableau 2. On constate que:

- Les rendements en huiles essentielles sont très variables et cela est dû à la différence de morphologie des plantes et la nature du sol. Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HE dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction suivant les plantes.

La menthe poivrée fournit une grande quantité en huile essentielle, ce qui explique l'élévation de son rendement.

II .6.3. Caractères organoleptiques:

Les caractères organoleptiques restent importants [58,59]. Par exemple l'examen olfactif qui précède ou suit toute analyse est indispensable car, si l'odeur de l'huile essentielle n'est pas satisfaisante, il importe peu que les constantes physico-chimiques soient correctes, le produit est à rejeter. Nous citons ici les caractères organoleptiques de nos essences.

- l'HE de la menthe poivrée est un liquide mobile, limpide de couleur jaune ambré d'odeur caractéristique menthée.

- l'HE de la menthe Arvensis est un liquide mobile, limpide de couleur jaune pâle d'odeur caractéristique menthée,

Ces paramètres sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR [60].

II .6.4. Indices physico-chimiques :

La valeur commerciale d'une huile essentielle est la plus part du temps estimée d'après ses qualités organoleptiques. (odeur, goût, couleur, état) aux quelles s'ajoutent un certain nombre de constantes appelées (indices) qui ont fait l'objet d'étude statistique très importante. Ces constantes ont été normalisées au sein d'organismes nationaux exemple en France: l'AFNOR (Association Française de Normalisation) ou encore l'ISO (International Standard Organisation) et généralement dans tous les pharmacopées existantes.

Comme les propriétés organoleptiques ne donnent qu'une idée fluctuante et fragmentaire d'une huile essentielle, le besoin d'une caractérisation plus précise s'est manifesté Celle-ci a été obtenue par l'examen des propriétés globales de l'essence les plus facilement accessibles en particulier ses propriétés physico-chimiques. Ces indices sont constitués par des déterminations physiques et chimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, indice d'acide, indice d'ester). Les valeurs des indices physico-chimiques sont toujours proposées sous forme d'une moyenne comprise entre deux valeurs limites car de nombreux travaux ont montré que la variation qualitative des constituants d'une H.E d'une même espèce botanique entraînait durant le cycle végétatif de celle-ci, des variations dans les calculs de ces indices (tableau 3).

Tableau 3 : Indices physico-chimiques

H.E	d_{20}	η_{20}	α_{20}	I_A	I_E
Normes AFNOR (pm)	0.820-0.9900	1.4600-1.5000	-29 à -10	2	14-19
Menthe poivrée*	0.900	1.4633	-14	0.57	17
Menthe arvensis*	0.903	1.4611	-13	0.60	20
Menthe poivrée [61]	0.901	1.4600	-29°	/	14
Menthe poivrée [57]	0.8900	1.4927	/	0.56	/
Menthe arvensis [62]	0.890-0.910	1.456-1.465	-30 à -10	/	/
Menthe poivrée [62]	0.900-0.916	1.457-1.467	-30 à -10	/	/

II.6.5. Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles par voltamétrie cyclique :

II .6.5. 1. Etude électrochimique du comportement de l'électrolyte :

Avant de commencer notre étude électrochimique, on commence par l'étude du comportement de la solution électrolytique pour être sûr que cette solution transporte uniquement le courant et n'exerce aucun effet sur les solutions des échantillons, La solution des électrolytique est constituée du mélange de 50% de toluène, 50% d'éthanol et de 0,1M de H₂SO₄.

II .6.5. 2. Etude électrochimique du comportement de l' α -tocophérol :

Les mesures électrochimiques "sont réalisées dans une cellule en verre contenant trois électrodes: l'électrode de travail, contre-électrode en platine et l'électrode de référence saturée avec KCl. Avant chaque mesure, les solutions sont désaérées par barbotage d'azote pendant quelques minutes. L'électrode de travail est nettoyée après chaque mesure électrochimique en frottant sa surface sur un papier d'oxyde d'aluminium et ensuite rincer par l'eau distillée et enfin l'acétone.

L'étude électrochimique du comportement du standard utilise qui est l' α -tocophérol est effectuée dans l'intervalle du potentiel E allant de -0.2 jusqu'à 1 V avec une vitesse de balayage de 100 mV/s. La figure 19 montre que pour une graduation croissante et de façon régulière pour la concentration de l' α -tocophérol (à partir de 0.32g/l jusqu'à 0.81g/l) dans la cellule, on obtient des voltampérogrammes cycliques avec des surfaces et des densités de courants croissantes régulièrement aussi.

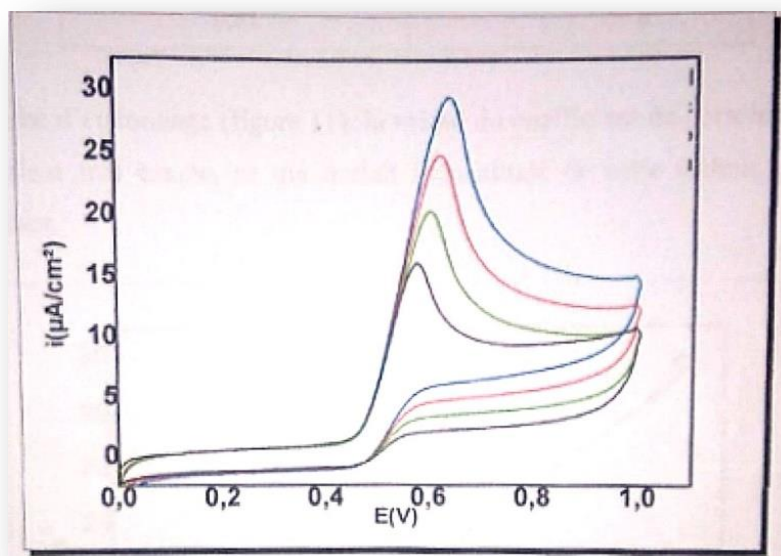


Figure 19: Voltampérogrammes cycliques pour les différentes concentrations de l' α -tocophérol

D'après la figure 19 obtenu, l' α -tocophérol se comporte comme un réducteur (absence de pic de retour cathodique), donc l'oxydation de l' α -tocophérol dans ces conditions est une réaction non réversible. Alors que l'oxydation en général est irréversible. La différence dans la réponse de courant entre les antioxydants peut être attribuée à la différence dans les coefficients de diffusion (D), et des barrières d'énergie sur l'électrode qui peut être améliorée en tant que la surface devient contaminer par les produits d'oxydation [64].

II .6.5. 3. Courbe d'étalonnage de l' α -tocophérol:

Après avoir représenté les différents voltampérogrammes cycliques pour un gradient de concentrations différentes, on peut représenter la courbe d'étalonnage de l' α -tocophérol (figure 20) en prenant la densité du courant anodique en $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ en fonction de la concentration mg/l (tableau 4).

Tableau 4: Valeurs des densités du courant en fonction de la concentration de α -tocophérol.

C(g/l)	I($\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$)
0.32	16.106
0.49	20.334
0.65	24.909
0.81	29.675

D'après la courbe d'étalonnage (figure 20), la valeur du coefficient de corrélation $R^2=0,994$ qui est une valeur très exacte, ce qui traduit l'exactitude de cette technique à travers les résultats obtenues.

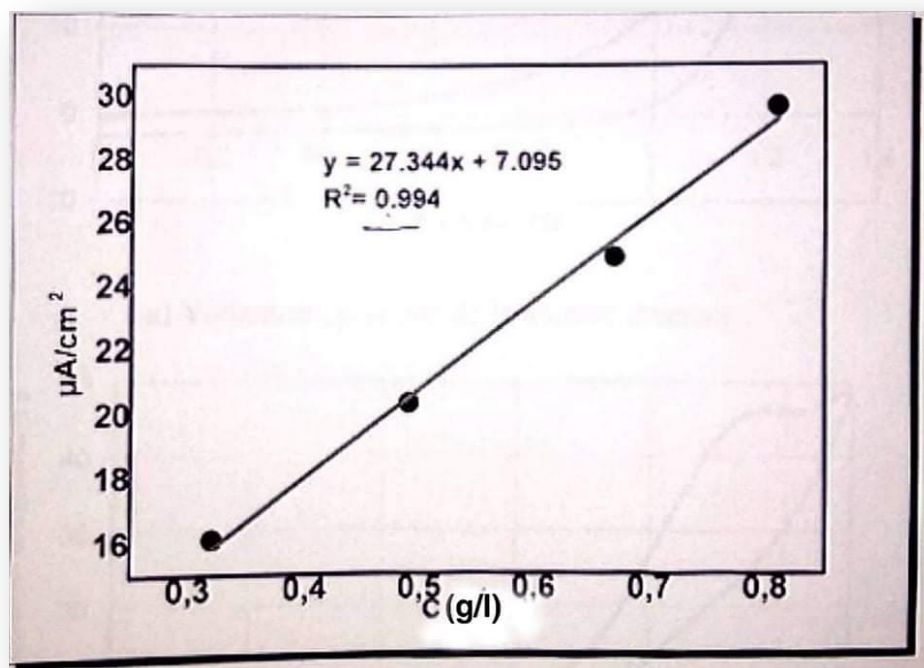


Figure 20 : Droite d'étalonnage de l' α -tocophérol.

II .6.5. 4. Evaluation de l'activité antioxydante totale des deux huiles essentielles :

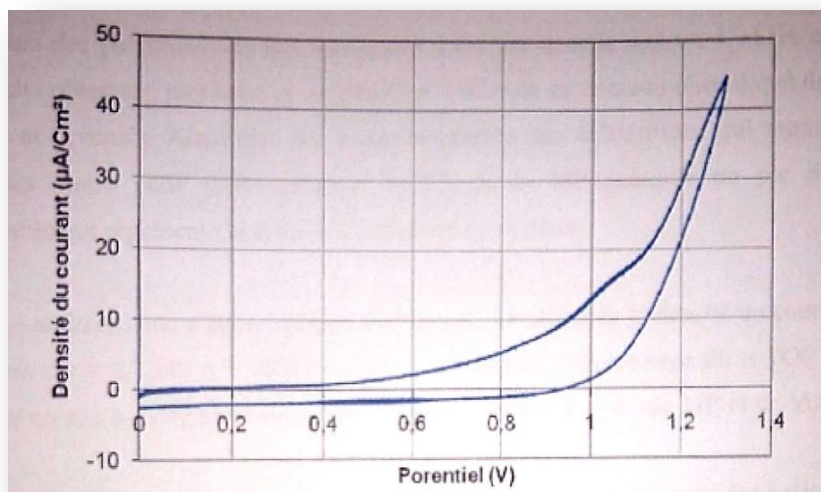
L'équation obtenue d'après la courbe linéaire de l' α -tocopherol est :

$y = 27.344 x + 7,095$; d'où y représente la valeur de la densité anodique du courant et x représente la valeur de la concentration standard en g/l.

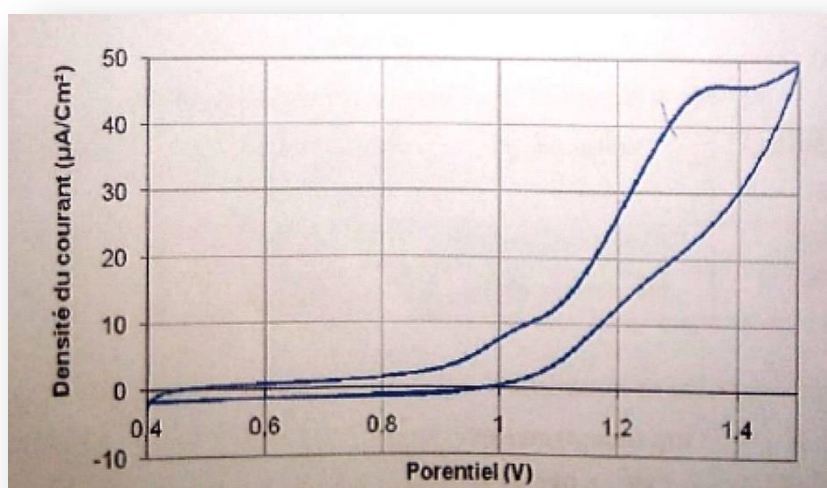
En remplaçant à chaque fois la valeur de la densité du courant dans l'équation précédente, on trouve la valeur de la concentration équivalente en l' α -tocophérol C_{éq} (g/l) afin de calculer l'activité antioxydante.

II .6.5. 5. Voltampérogrammes cycliques des deux huiles :

De la même façon et sous les mêmes conditions précédentes appliquées sur l' α -tocopherol, on traite les deux échantillons de menthes et on obtient les voltampérogrammes cycliques (figure 21).



a) Voltampérogramme de la menthe arvensis



b) Voltampérogramme de la menthe poivrées

Figure 21 : Voltampérogrammes cyclique de la MA (a) et la MP (b)

II .6. 5. 6. Paramètres électrochimiques des deux huiles :

Le tableau 5 illustre les paramètres électrochimiques des deux extraits de menthes.

Tableau 5: Paramètres électrochimiques des deux extraits en huile essentielle :

Huile essentielle	$I_{p,a}$ ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)	$E_{p,a}$ (V)
MP	43,59	1,319
MA	14,55	1,026

Les valeurs des potentiels des pics anodiques présentés dans le tableau 4, et les couleurs de nos extraits obtenues, montrent la composition différente en contenu phénolique des menthes poivrées et arvensis. Ainsi que les voltamogrammes des échantillons qui montrent d'une façon très claire cette différenciation. L'H.E de la MP présente un pic d'oxydation remarquable qui représente la valeur de la densité du courant.

L'activité antioxydante a été calculé en se référant a la valeur de la densité du courant suivant la relation : $y = 27,345 x + 7,095$ obtenu de la courbe d'étalonnage du α -TOC (standard) exprimée en mg α -tocopherol équivalent par gramme de l'HE de MP et de MA (mg TE/g).

Les valeurs de l'activité antioxydante pour chaque extrait ainsi que pour les huiles végétales sont regroupées dans le tableau 6.

Tableau 6: Activité antioxydante de nos HE et des HV

Huile essentielle	Activité antioxydante des H.E.	Huile végétale	Activité antioxydante. des H.V.
MP	583,8	Huile alimentaire [65]	289,4-887
MA	118,42	Huile d'olive [66]	121-369

En comparant nos résultats avec ceux donnés par la littérature en utilisant la même méthode électrochimique mais sur des huiles végétales nous remarquons que :

- L'activité antioxydante de l'huile alimentaire est de 289,4 - 887 mg TE/g [65] et celle de l'huile d'olive est de 121-369 mg TE/g [66].

Le pouvoir antioxydant est meilleur dans le cas de la MP avec une valeur de 583,8 mg TE/g alors que l'extrait MA présente une valeur de 118,42 mg TE/g. Ces résultats sont en accord avec les recherches données par [65] et [66].

Conclusion

générale

Conclusion générale :

Dans nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substance et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les huiles essentielles issues des plantes contiennent une variété de composés phénoliques.

La présente étude a pour but d'étudier deux variétés locales de menthes provenant de la région d'El-oued et d'évaluer leurs activités anti-oxydantes.

Le choix du mode d'extraction, du matériel végétale, le calcul du rendement ainsi que la détermination des indices physico-chimiques permet de donner une première caractérisation de nos essences, les valeurs trouvées restent globalement proches des normes.

Les principaux atouts olfactifs d'une huile essentielle ne tiennent pas seulement compte de la composition chimique de l'H.E mais aussi de son examen organoleptique de ses constantes physiques permettant de déceler toute adultération.

La méthode utilisée dans cette partie du travail est la voltamétrie cyclique à cause de sa meilleure reproductibilité, d'après les voltamogrammes nos huiles essentielles répondent de la même manière que l' α -tocophérol. Les valeurs du potentiel d'oxydation de l'huile essentielle de MP tendent vers les valeurs positives par rapport au potentiel de MA et du α -tocophérol. Les résultats montrent que le pouvoir antioxydant de MP est meilleur que celui de MA.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- [1] S. S. Chun, A. V. Vатtem, Y. T. Lin, K. Shetty, *Biochemistry*. 2005, 40, 809-816.
- [2] J. Pellecier, J. L. Roussel, C. Andary, *Rivista Italiana Essenzo (Eppos)*. 1980,23, 45-50.
- [3] C. Viollon, J. P. Chaumont, *My Copathologia*. 1994, 128(3), 151-153.
- [4] J. P. Chaumont, D. Leger, *Plant Med. Phyto*. 1989,23(2), 124-126.
- [5] A. Sivro Poulon, E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras, M. Arsenakis, J. *Agric. Food Chem*. 1996, 44, 1202-1205.
- [6] F. V. Mérat, J. B. Ballière, *Dictionnaire universel de matière médicale et de thérapeutique générale*. 1832.
- [7] F. P. Chaumeton, J. Baptiste, J. L. M. Poiret, *Flore médicale, panckoucke*. 1834.
- [8] Bruneton, J. *Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éditions médicales internationales*. 2009,1288 P.
- [9] A. T. Peana, P. S. D'Aquila, F. Panin, G. Serra, P. Pippia, M. D. Moretti, *Phytomedicine*.2002, 9 (8), 721-6
- [10] R. J. de Siqueira, K. M. Rodrigues, M. T. Dasilva, C. A. Correia Junior, G. P. Duart, A. A. Santos, J. G. Maia, *Phytother Res*. 2013 feb 27.
- [11] T. Umezu, K. Nagano, H. Ito, K. Kosakai, M. Morita, *Pharmacol Biochem Behav*. 2006, 85(4), 713-721.
- [12] A. T. Peano et al, *Eur. J. Pharmacol*. 2003,460(1).
- [13] D. L. Pavida, G. M. Lampman. G. S. Kriz, *Introduction to organic laboratory technique*, W. B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 1976, 567.
- [14] luicita. Lagunez rivera. *Etude de l'extraction de métabolites secondaires des différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe*. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France. 2006. 31-42.
- [15] D. L. Pavida, G. M. Lampman. G. S. Kriz, *Introduction to organic laboratory technique*, W. B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 1976, 567.

- [16] M. C. Martini, M, Seiller, Edition Tec and Doc, Edition médicales internationaux Paris, Lavoisier. 1999, 563.
- [17] Z. Wang, L. Li. T. Ding, X. Zhou, L. Wang, H. Zhang, L. Liu, Y. Li, Z. Liu, H. Wang, H. Zeng, H. He, J. Chrom. A. 2006, 1102.
- [18] R. Anton, A. Lobstein. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec and Doc, Paris, 2005. 522.
- [19] W. J. Bauer, R. Badoud, J. Loliger, A. Etournud, Science et technologie des aliments. 2010, 212.
- [20] J. Hadj Salem. 2009. Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE.
- [21] L. Jacob. 2007. L'insuffisance rénale aiguë. Edition Supringer, p 88.
- [22] J. Pincemail, & J. O. Defraigne. Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*. 2003. 18 (2), 55-60.
- [23] C. Bonnet, F. Almigeon & P. Micheels. Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. Edition Eyrolles. 2010 , p 14.
- [24] M. J. Droillard & A. Pauli. Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology*. 1990, 94 (3), 1187-1192.
- [25] A. C. Arisi, G. Cornic, L. Jouanin & C. H. Foyer. Overexpression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology*. 1998, 117 (2), 565-574.
- [26] M. Yoshimoto, H. Sakamoto, N. Yoshimoto, R. Kuboi & K. Nakao. Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver : Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology*. 2007, 41, 849-858.
- [27] N. A. T. Garci , C. Iribarne, F. Palma & C. Lluch. Inhibition of the catalase activity from *Phaseolus vulgaris* and *Medicago sativa* by sodium chloride. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2007, 45, 535-541.

- [28] P. Nicholls. Classical catalase : Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2012, 525, 95-101.
- [29] C. Bédane. *Photodermatologie : Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie*. Edition Wolters Kluwer France. 2008, p 20.
- [30] O. Fain, *La Revue de Médecine Interne*. 2004, 25, 872-880.
- [31] K. A. Naidu, *Nutrition Journal*. 2003, 2(7), 1-10.
- [32] A. Carr, B. Frei, *J. FASEB*. 1999, 13(9), 1007-1024.
- [33] J. Césarini, *Le sélénium : actualités*. John Libbey Eurotext Edittion. 2004, P 14.
- [34] M. Greff, Springer Edition. 2011, P 39.
- [35] B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, *Arch. Biochem. Biophys*. 1986, 246, 501-514.
- [36] X. Wang, P. J. Quinn, *Biochimie*. 2006, 88, 1883-1888.
- [37] A. Annahazi, E. Maracsko, Z. Sule, E. Karg, B. Penke, F. Bari, *European Journal of Pharmacology*. 2007, 571, 120-128.
- [38] A. K. DUTTA-ROY, *Food and Chemical Toxicology*. 1993, 37, 967-971.
- [39] M. J, Laughton, B. Halliwell, P. J. Evans, J. Robin & S. Hoult. Antioxidant and pro-oxidant actions of the plant phenolts quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology*. 1989, 38 (17), 2859-2865.
- [40] B. Halliwell. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2008, 476, 107-112.
- [41] N. R. Perron, C. R. Garcia, J. R. Pinzón, M. N. Chaur & J. L. Brumaghim. Antioxidant and prooxidant effects of polyphenol compounds on copper-mediated DNA damage. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2011, 105, 745-753.

- [42] R. Apak, K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E. Çelik, B. Bektaşoğlu, K. I. Berker & D. Özyurt. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*. 2007, 12, 1496-1547.
- [43] C. Manach, A. Mazur, A. Scalbert, *Curr. Opin, Lipidol*, 2005, 16, 77-84.
- [44] A. C. Kaliora, G. V. Z. Dedoussis, H. Schmidt, *Atherosclerosis*, 2006, 187, 1-17.
- [45] Y. Hanasaki, S. Ogawa, S. Fukui, *Free. Rad. Biol. Med.* 1994, 16. 845-850.
- [46] M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, K. Robards, *Analyst*. 2002, 127, 183-198.
- [47] F. Bedioui, *Voltampérométrie sur electrode solide. Introduction, Technique de l'ingénieur*. 1999.
- [48] C. LAMY Conséquences de la dégénérescence des corps cellulaires dopaminergiques de la substance noire sur la neurotransmission dopaminergique dans le noyau caudé: Approches méthodologiques en microdialyse et voltamétrie. *Memoire : Ecole pratique des hautes études-LYON*. 2002.
- [49] B. Torbiero. Développement de microcapteurs électrochimiques pour l'analyse en phase liquide. *Thèse de Doctorat: Institut National des Sciences Appliquées de TOULOUSE*. 2006.
- [50] C. H. V. Hoyle, & J. H. Santos. Cyclic voltammetric analysis of antioxidant activity in citrus fruits from Southeast Asia. *International Food Research Journal*. 2010, 17. 937-946.
- [51] H. Alemu, B. M. Abegaz, & M. Bezabih. Electrochemical behaviour and voltammetric determination Of geshoidin and its spectrophotometric and antioxidant properties in aqueous buffer solutions. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2007, 21 (2), 189-204.
- [52] S. Petrovic. Cyclic voltammetry of hexachloroiridate (IV): An alternative to the electrochemical study of the ferricyanide ion. *Chem, Educator*. 2000, 5, 231-235.
- [53] R. C. Martins, R. Oliveira, F. Bento, D. Geraldo, V. V. Lopes, P. G. De Pinho, C. M: Oliveira & A. C. S. Ferreira. Oxidation management of white wines using cyclic voltammetry and multivariate process monitoring *J.Agric. Food Chem.* 2008, 56, 12092-12098.
- [54] P. A. Kilmartin, H. Zou & A. L Waterhouse. A cyclic voltammetry method suitable for characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics. *J. Agric. Food Chem*, 2001. 49, 1957-1965.

- [55] Y. Yardim & z. Sentirk Voltammetric behavior of indole-3-acetic acid and kinetin at pencil-lead graphite electrode and their simultaneous determination in the presence of anionic surfactant. *Turk J. Chem.* 2011, 35, 413-426.
- [56] C. Boubekri, A. Rebei and T. Lanez, *J. Fund. App.Sci.* 2012, 4(2), 16-25.
- [57] E. Amy. Clough, *JAOVS.* 1992, 69(5), 456-460.
- [58] B. Ayaidia. «Etude comparative des huiles essentielles de trois variétés de menthes de la région de ouaragla».
- [59] J. Valnet, 1984, *Aromathérapie, Traitement des Maladies par des Plantes*, Maloine S.A Editeur Paris.
- [60] N. Chanegriha. Y. Foudil-cherif, A. Baaliouaner, B. Y. Meklati. *Rivista Italiara. EP.PO.* 1998, 2511-16.
- [61] AFNOR. (Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles). AFNOR, Paris. 2000, 661-663.
- [62] Association Française de Normalisation, 1986, *Huiles Essentielles*, AFNOR 2' édition. région de Ouargla. Mémoire de master, Ouargla, 2011.
- [63] M. Benbouali, Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de mentha rotundifolia et thymus vulgaris . Mémoire de magister. 2006.
- [64] P. Kilmartin, H. Zou, and A. Waterhouse, *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 1957-1956.
- [65] R. Gulaboski, V. Mirčeski & S. Mitrev. Development of a rapid and simple voltammetric method to determine total antioxidative capacity of edible oils. *Food chemistry.* 2013, 138 (1). 116-121.
- [66] N. Pellegrini. F. Visioli, S. Buratti & F. Brighenti. Direct analysis of total antioxidant activity of olive oil and studies on the influence of heating, *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2001, 49 (5), 2532-2538.