

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Kasdi Merbah-Ouargla
Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière
Département de Chimie



Mémoire
Master Académique

Spécialité : Chimie
Option : Chimie appliquée

Présenté par : **BENZID Amina & LITIM Narimen**

Thème :

**Etude comparative de l'activité antioxydante de
deux variétés d'*Ocimum basilicum L.* cultivées
dans plusieurs régions d'Algérie**

Soutenu publiquement le : /06/2016
Devant le jury :

M ^{elle} HAMMOUDI Roukia	M. C. B, Univ. K. M. Ouargla	Présidente
M ^{elle} SMARA Ouanissa	M. C. B, Univ.K. M. Ouargla	Examineur
M ^r HADJ-MAHAMMED Mahfoud	Professeur, Univ.K.M. Ouargla	Promoteur
M ^{me} SLOUGUI Nabila	M.A.A, Univ. K. M. Ouargla	Co- Promoteur

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions sincèrement Monsieur **HADJ MAHAMMED Mahfoud.**, notre Professeur à la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'encadrer ce travail et pour son accueil au laboratoire de Biogéochimie des Milieux Désertiques de l'université KASDI MERBAH, Ouargla.

Nos vifs remerciements vont à Madame **SLOUGUI Nabila.**, notre enseignante et Maître assistante (A) à la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla pour avoir co-dirigé ce travail, ainsi que pour ses conseils, ses encouragements et le soutien qu'elle nous a donné pour finir ce travail.

Nos sincères remerciements vont à **HAMMOUDI Roukia**, Maître de conférences (B) à l'université KASDI MERBAH-Ouargla, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions M^{elle} **SMARA Ouanissa**, Maître de conférence (B), à l'université KASDI MERBAH, Ouargla, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous aimerons également remercier sincèrement Monsieur **HAMDI- AISSA Belhadj.**, professeur, à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla, pour ses conseils et ses orientations.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les membres du laboratoire de Biogéochimie des Milieux Désertiques de l'université KASDI MERBAH-Ouargla : Messrouk Houria, **BOUZIANE Mebarka**, **HAMMOUDI Roukia.**, Habiba, Zohra, Fatiha..., pour leur aide, gentillesse et leurs encouragements.

Enfin, nous remercions nos amies proches. Merci à nos parents de nous avoir permis d'aller aussi loin dans nos études et de nous avoir soutenu et supporté tout au long de notre parcours.

Liste des abréviations

AC : acide ascorbique.

SDE: Distillation par extraction simultanée.

ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity.

TRAP: Total Radical-Trapping Antioxydant Power.

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxydant Power.

ABTS: sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

DPPH: diphényl-picrylhydrazyle.

R[•]: radical libre.

Fe(III)-TPTZ: Complexe tripyridyltriazine ferrique.

O.basilicum L. minimum: *Ocimum basilicum minimum* Linné.

CE₅₀: Concentration à 50% de DPPH perdu.

HE: Huile essentielle.

Eq: Equivalent.

R% : Rendement.

M_{HE} : Quantité d'huile essentielle extraite en g.

M_S : Quantité de la matière végétale sèche en g.

H % : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M_{FR} : poids de l'échantillon en gramme après la récolte (plante fraîche).

M_S : poids de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

CLHP (HPLC) : Chromatographie liquide à haute performance

I_R ou I_(x) : L'indice de rétention du soluté (x) étudié.

t_R : Temps de rétention du soluté (x).

t_R' : Temps de rétention corrigé du soluté (x).

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

t_R'_(x) : Temps de rétention corrigé du soluté (x).

t_R'_(n) : Temps de rétention corrigé du l'alcane à n atome de carbone qui précède le soluté (x).

t_R'_(n+1) : Temps de rétention corrigé du l'alcane à n+1 atome de carbone qui suit le soluté (x).

Liste des figures

Figure.1 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrées dans les huiles essentielles.....	5
Figure.2 : Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles.....	6
Figure.3 : Exemples de structures de composés aromatiques rencontrées dans les huiles essentielles.....	6
Figure 4. Dispositif de l'hydrodistillation par Clevenger.....	7
Figure.5 : Dispositif de l'entraînement à la vapeur.....	8
Figure.6 : Structure chimique du radical libre DPPH'.....	10
Figure.7 : Mécanisme réactionnel du test DPPH' entre l'espèce radicalaire DPPH' et un antioxydant (RH).....	10
Figure.8 : Mécanisme réactionnel du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (RH).....	11
Figure.9 : Le basilic grand vert.....	14
Figure.10 : Le basilic citron.....	14
Figure.11 : Le basilic nain compact.....	14
Figure.12 : Le basilic pourpre.....	14
Figure.13 : Montage de l'hydrodistillation utilisé pour l'obtention des deux essences...	20
Figure.14 : Protocole expérimental suivi pour obtenir l'huile essentielle pure des deux variétés de basilic.....	21
Figure.15 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de la série de n-alcanes.....	24
Figure.16 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> (Grand vert) cultivé dans la région d'Ouargla.....	24
Figure.17 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>minimum</i> . (Nain compact) cultivé dans la région d'Ouargla.....	28

Figure.18 : dispositif de l'hydrodistillation par Clevenger.....	33
Figure.19 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région d'Ouargla...	37
Figure.20 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région de Constantine.....	38
Figure.21 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région de Touggourt.....	38
Figure.22 : activité antioxydante de l'acide ascorbique.....	39
Figure 23 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>minimum</i> de la région de Constantine.....	40
Figure 24 : Valeurs de CE_{50} pour les quatre huiles essentielles et l'acide ascorbique.....	40
Figure 25 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique dans le test de FRAP.....	42
Figure 26 : Activité antioxydante des différentes huiles essentielles de deux variétés par la méthode de FRAP.....	43

Liste des tableaux

Tableau 01 : Description de quelques tests antioxydants <i>in vitro</i>	11
Tableau 2 : Conditions de culture des deux variétés d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	20
Tableau 03 : Conditions opératoires des analyses chromatographiques (CPG).....	22
Tableau 04 : Composés détectés dans l'analyse de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> par CPG.....	25
Tableau 05 : Composés identifiés dans l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région d'Ouargla par CPG.....	27
Tableau 06 : Composés détectés dans l'analyse de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>minimum</i> de la région d'Ouargla par CPG	29
Tableau 07 : Composés identifiés dans l'huile essentielle d' <i>O.basilicum minimum</i> L. par CPG.....	30
Tableau 08 : Présentation géographique des trois régions d'étude.....	32
Tableau 09 : Valeurs de rendement d'extraction d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i>	34
Tableau 10 : Valeurs du taux d'humidité d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i>	34
Tableau 11 : Valeurs de rendement et taux d'humidité des deux variétés dans la région de Constantine.....	35
Tableau 12 : Valeurs des CE ₅₀ des huiles essentielles et de l'acide ascorbique.....	39
Tableau 13 : Absorbances obtenues pour chaque huile essentielle par la méthode de FRAP.....	42

Table des matières

Introduction général	1
Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles.....	3
Chapitre II : Analyse des huiles essentielles par CPG.....	17
Historique sur la chromatographie.....	17
Principe de la CPG.....	17
Description de la plante	19
Extraction des huiles essentielles.....	20
Analyses par Chromatographie en phase gazeuse.....	21
Résultats et Discussion.....	22
Chapitre III : Matériel végétal et extraction.....	32
Choix et présentation des régions d'études.....	32
Matériel végétal.....	32
Extraction des huiles essentielles.....	32
Détermination du rendement et du taux d'humidité	33
Conclusion.....	35
Chapitre IV : l'évaluation de l'activité antioxydante.....	36
Test de réduction du radical stable, DPPH.....	36
Test de réduction du fer (FRAP)	41

Discussion.....	43
Conclusion générale.....	46

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions sincèrement Monsieur **HADJ MAHAMMED Mahfoud.**, notre Professeur à la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'encadrer ce travail et pour son accueil au laboratoire de Biogéochimie des Milieux Désertiques de l'université KASDI MERBAH, Ouargla.

Nos vifs remerciements vont à Madame **SLOUGUI Nabila.**, notre enseignante et Maître assistante (A) à la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla pour avoir co-dirigé ce travail, ainsi que pour ses conseils, ses encouragements et le soutien qu'elle nous a donné pour finir ce travail.

Nos sincères remerciements vont à **HAMMOUDI Roukia**, Maître de conférences (B) à l'université KASDI MERBAH-Ouargla, pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions M^{elle} **SMARA Ouanissa**, Maître de conférence (B), à l'université KASDI MERBAH, Ouargla, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous aimerons également remercier sincèrement Monsieur **HAMDI- AISSA Belhadj.**, professeur, à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla, pour ses conseils et ses orientations.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les membres du laboratoire de Biogéochimie des Milieux Désertiques de l'université KASDI MERBAH-Ouargla : Messrouk Houria, **BOUZIANE Mebarka**, **HAMMOUDI Roukia.**, Habiba, Zohra, Fatiha..., pour leur aide, gentillesse et leurs encouragements.

Enfin, nous remercions nos amies proches. Merci à nos parents de nous avoir permis d'aller aussi loin dans nos études et de nous avoir soutenu et supporté tout au long de notre parcours.

Liste des abréviations

AC : acide ascorbique.

SDE: Distillation par extraction simultanée.

ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity.

TRAP: Total Radical-Trapping Antioxydant Power.

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxydant Power.

ABTS: sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique.

DPPH: diphényl-picrylhydrazyle.

R[•]: radical libre.

Fe(III)-TPTZ: Complexe tripyridyltriazine ferrique.

O.basilicum L. minimum: *Ocimum basilicum minimum* Linné.

CE₅₀: Concentration à 50% de DPPH perdu.

HE: Huile essentielle.

Eq: Equivalent.

R% : Rendement.

M_{HE} : Quantité d'huile essentielle extraite en g.

M_S : Quantité de la matière végétale sèche en g.

H % : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M_{FR} : poids de l'échantillon en gramme après la récolte (plante fraîche).

M_S : poids de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

CLHP (HPLC) : Chromatographie liquide à haute performance

I_R ou I_(x) : L'indice de rétention du soluté (x) étudié.

t_R : Temps de rétention du soluté (x).

t_R' : Temps de rétention corrigé du soluté (x).

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

t_R'_(x): Temps de rétention corrigé du soluté (x).

t_R'_(n): Temps de rétention corrigé du l'alcane à n atome de carbone qui précède le soluté (x).

t_R'_(n+1): Temps de rétention corrigé du l'alcane à n+1 atome de carbone qui suit le soluté (x).

Liste des figures

Figure.1 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrées dans les huiles essentielles.....	5
Figure.2 : Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles.....	6
Figure.3 : Exemples de structures de composés aromatiques rencontrées dans les huiles essentielles.....	6
Figure 4. Dispositif de l'hydrodistillation par Clevenger.....	7
Figure.5 : Dispositif de l'entraînement à la vapeur.....	8
Figure.6 : Structure chimique du radical libre DPPH [•]	10
Figure.7 : Mécanisme réactionnel du test DPPH [•] entre l'espèce radicalaire DPPH [•] et un antioxydant (RH).....	10
Figure.8 : Mécanisme réactionnel du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (RH).....	11
Figure.9 : Le basilic grand vert.....	14
Figure.10 : Le basilic citron.....	14
Figure.11 : Le basilic nain compact.....	14
Figure.12 : Le basilic pourpre.....	14
Figure.13 : Montage de l'hydrodistillation utilisé pour l'obtention des deux essences...	20
Figure.14 : Protocole expérimental suivi pour obtenir l'huile essentielle pure des deux variétés de basilic.....	21
Figure.15 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de la série de n-alcanes.....	24

Figure.16 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> (Grand vert) cultivé dans la région d'Ouargla.....	24
Figure.17 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>minimum</i> . (Nain compact) cultivé dans la région d'Ouargla.....	28
Figure.18 : dispositif de l'hydrodistillation par Clevenger.....	33
Figure.19 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région d'Ouargla...	37
Figure.20 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région de Constantine.....	38
Figure.21 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région de Touggourt.....	38
Figure.22 : activité antioxydante de l'acide ascorbique.....	39
Figure 23 : activité antioxydante d' <i>O.basilicum</i> L. <i>minimum</i> de la région de Constantine.....	40
Figure 24 : Valeurs de CE_{50} pour les quatre huiles essentielles et l'acide ascorbique.....	40
Figure 25 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique dans le test de FRAP.....	42
Figure 26 : Activité antioxydante des différentes huiles essentielles de deux variétés par la méthode de FRAP.....	43

Liste des tableaux

Tableau 01 : Description de quelques tests antioxydants <i>in vitro</i>	11
Tableau 2: Conditions de culture des deux variétés d' <i>Ocimum basilicum</i> L.....	20
Tableau 03 : Conditions opératoires des analyses chromatographiques (CPG).....	22
Tableau 04 : Composés détectés dans l'analyse de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> par CPG.....	25
Tableau 05: Composés identifiés dans l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i> de la région d'Ouargla par CPG.....	27
Tableau 06 : Composés détectés dans l'analyse de l'huile essentielle d' <i>O.basilicum</i> L. <i>minimum</i> de la région d'Ouargla par CPG	29
Tableau 07: Composés identifiés dans l'huile essentielle d' <i>O.basilicum minimum</i> L. par CPG.....	30
Tableau 08 : Présentation géographique des trois régions d'étude.....	32
Tableau 09 : Valeurs de rendement d'extraction d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i>	34
Tableau 10 : Valeurs du taux d'humidité d' <i>O.basilicum</i> L. <i>gratissium</i>	34
Tableau 11: Valeurs de rendement et taux d'humidité des deux variétés dans la région de Constantine.....	35
Tableau 12 : Valeurs des CE ₅₀ des huiles essentielles et de l'acide ascorbique.....	39
Tableau 13 : Absorbances obtenues pour chaque huile essentielle par la méthode de FRAP.....	42

Tableau des matières

Introduction général	1
Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles.....	3
Chapitre II : Analyse des huiles essentielles par CPG.....	17
Historique sur la chromatographie.....	17
Principe de la CPG.....	17
Description de la plante	19
Extraction des huiles essentielles.....	20
Analyses par Chromatographie en phase gazeuse.....	21
Résultats et Discussion.....	22
Chapitre III : Matériel végétal et extraction.....	32
Choix et présentation des régions d'études.....	32
Matériel végétal.....	32
Extraction des huiles essentielles.....	32
Détermination du rendement et du taux d'humidité	33
Conclusion.....	35
Chapitre IV : l'évaluation de l'activité antioxydante.....	36
Test de réduction du radical stable, DPPH.....	36
Test de réduction du fer (FRAP)	41

Discussion.....	43
Conclusion générale.....	46

Introduction générale

Introduction générale

Les huiles essentielles ont, à toute époque, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps, puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. Il plongeait dans un même récipient, rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle. Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuent avant tout un usage religieux. Puis progressivement, ces huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles.

Les plantes aromatiques et médicinales, riches en huiles essentielles, présentent des intérêts particuliers pour traiter des problèmes de santé, puisqu'elles sont utilisées depuis longtemps dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre certaines maladies infectieuses. Par ailleurs, la découverte des antioxydants synthétiques et des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire, bien qu'elles soient très utilisées en cosmétologie, parfumerie et dans l'industrie alimentaire.

En Algérie la production, des plantes aromatiques et médicinales, est très faible et difficile à évaluer, et la quasi-totalité de nos besoins sont importés. Tel est le cas par exemple de la plante qui fait l'objet de notre travail, en l'occurrence : *Ocimum basilicum* L. (le basilic). Seulement deux variétés de basilic sont cultivées en Algérie, le Grand vert (*Ocimum basilicum* L. *gratissium*) et le nain compact (*Ocimum basilicum* L. *minimum*).

Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles algériennes d'une façon générale, et particulièrement du sud d'Algérie, notre contribution consiste à étudier et de comparer l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces deux variétés d'*Ocimum basilicum* L., cultivées dans trois régions : Constantine, Ouargla et Tougourt.

Afin de comprendre la relation entre l'activité antioxydante et la composition chimique des huiles essentielles, nous avons analysé les huiles essentielles des deux variétés de la région d'Ouargla par chromatographie en phase gazeuse. A cet effet, Notre travail sera illustré par quatre chapitres:

- ✓ Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles.

- ✓ Chapitre II : Analyse des huiles essentielles par CPG.
- ✓ Chapitre III : Matériel végétal et extraction.
- ✓ Chapitre IV : Evaluation de l'activité antioxydante.

Une conclusion générale à la fin de notre mémoire qui présente nos résultats ainsi que des perspectives à développer ultérieurement.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Les plantes sont de véritables pharmacies naturelles que la nature a établie sur cette terre afin d'entretenir notre santé, prévenir nos maux, voir les guérir. Jusqu'à nos jours, en dépit des progrès considérables de la chimie, de l'industrie pharmaceutique et de la médecine, les plantes médicinales n'ont rien perdu de leur importance. La pharmacie moderne continue à les utiliser comme matière première pour la préparation de certains médicaments. En effet, 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 métabolismes : primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétal, conduisant à une grande biodiversité moléculaire. La pharmacologie utilise ces métabolismes secondaires car elles ont un effet spécifique sur d'autre organisme parmi eux : les huiles essentielles qui caractérisent les plantes aromatiques. [1]

1- Définition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles. Il est important de distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huile d'olive...) et les graisses contenues dans les végétaux :

- Seule les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et des graisses.
- Elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommes et les résines.
- Elles se distinguent des huiles fixes par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques. [1]

2- Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles :

a. Propriétés physiques :

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.

- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (certaines huiles essentielles telles que celles de saffran, de girofle, ou de cannelle, constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistances huileuses, plus ou moins fluides, voir résinoïdes, très odorantes et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, comme le cas de l'huile essentielle à azulène qui est de coloration bleue.
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté. [2-5]

b. Composition chimique :

La détermination de la composition chimique des HE a fait l'objet de nombreux travaux de recherche, notamment sur les méthodes d'analyse de plus en plus sophistiquées qui ont permis d'identifier un très grand nombre de constituants. Les huiles essentielles sont des mélanges plus ou moins complexes dont les constituants jouent des rôles d'inégale importance : les uns contribuent puissamment à l'arôme de l'essence, certains participent simplement à l'harmonie du mélange. D'autres sont complètement inodores ou peu odorants, ceux-ci ont un rôle tout à fait effacé. [1]

Les constituants des huiles essentielles appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Ces huiles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils. [1]

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants :

➤ Les terpénoïdes :

Dans le cas des huiles essentielles, les terpènes les plus volatils : mono- et sesquiterpènes sont les plus présents. [1]

○ Les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) :

Ce sont les constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques ». Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus...) (**Figure 1**). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, α -terpinéol, bornéol, trans-trans-franésol), phénols (thymol), aldéhydes (citronellal), cétones (carvone, β -vétivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1,8-cinéole). [1]

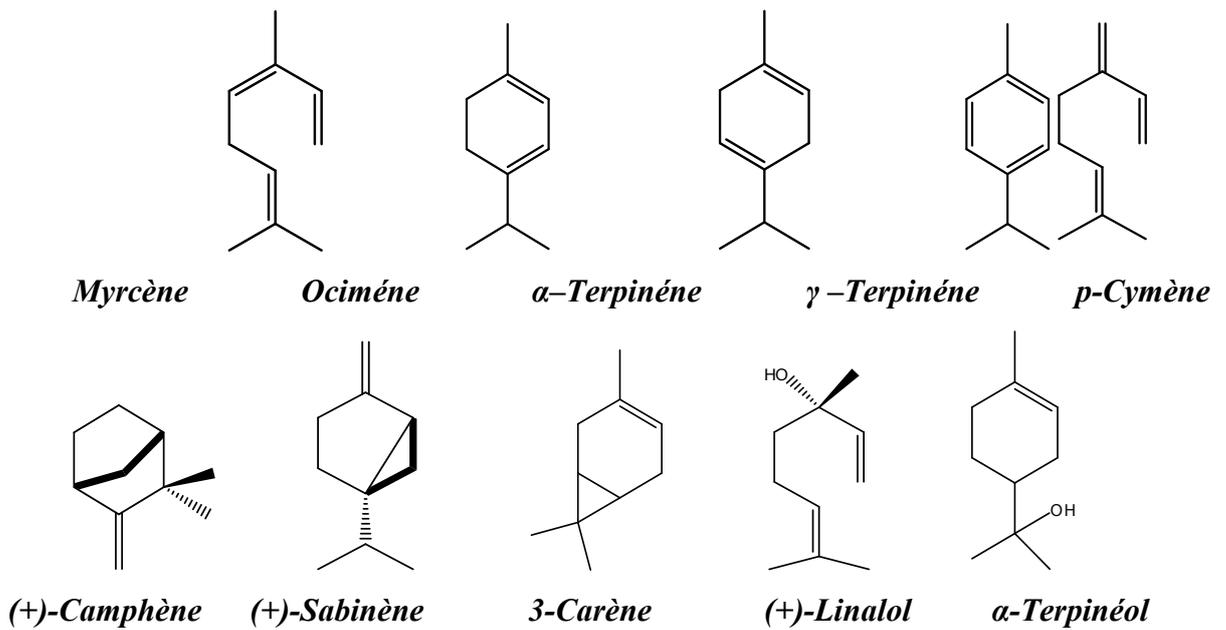


Figure 1 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles.

○ Les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) :

Un grand nombre de sesquiterpènes (**Figure 2**) sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles. [1]

Biologiquement, un bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, ou encore attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs antinutritifs. [1]

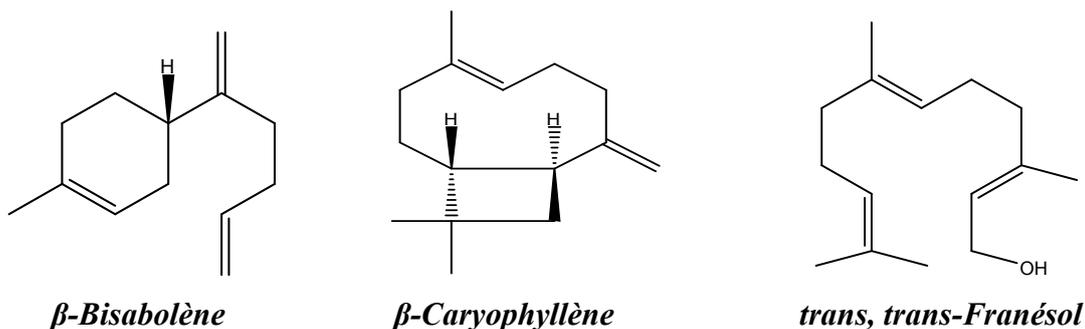


Figure 2 : Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrés dans les huiles essentielles.

➤ Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles- et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C_6-C_1) comme la vanilline ou comme l'antranilate de méthyle (**Figure 3**). [1]

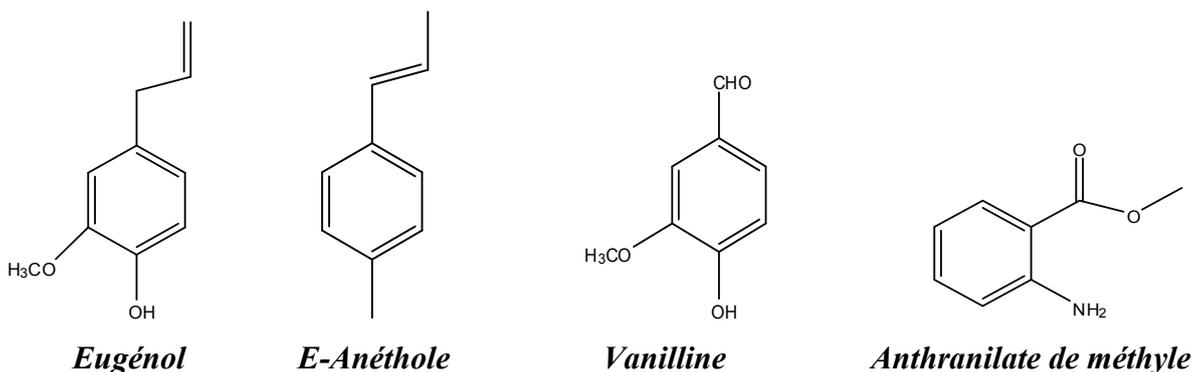


Figure 3 : Exemples de structures de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles.

c. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

➤ Distillation :

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement. La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse et exigeant une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable. La plus part des huiles essentielles sont obtenus par distillation, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange, etc.)

et l'huile de cade [1]. La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de la plante.

Il existe trois grands modes de distillation [1]:

- L'hydrodistillation :

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotrope. 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 (**Figure 4**).

- Entraînement à la vapeur d'eau :

Le matériel végétal, dans ce cas, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante (**Figure 5**).

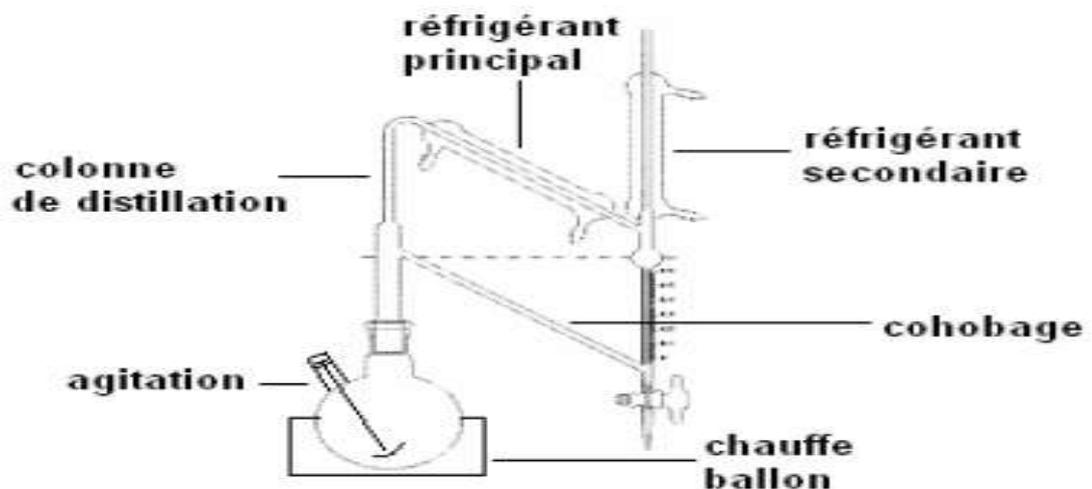


Figure 4 : Dispositif de l'hydrodistillation par Clevenger

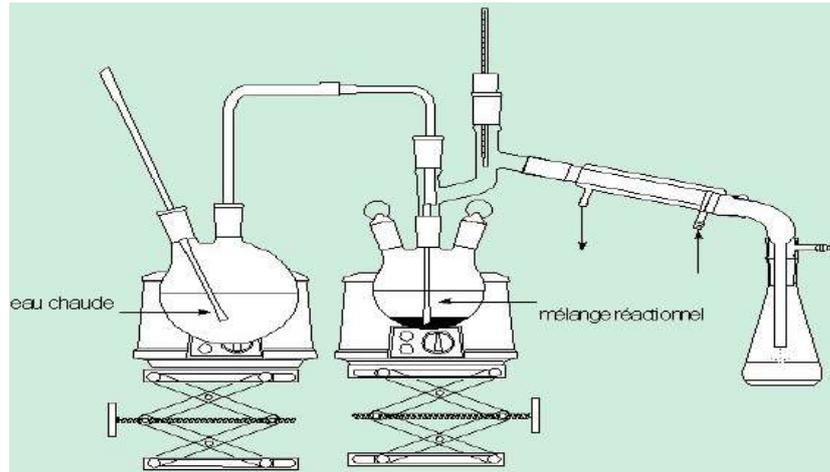


Figure 5 : Dispositif de l'entraînement à la vapeur.

➤ Extraction assistée par micro-ondes :

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle :

L'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. [1]

➤ Extraction à l'eau surchauffée :

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à température constante dans une étuve. [1]

➤ Distillation par extraction simultanée (SDE) :

C'est une extraction liquide-liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant : les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en continu, le solvant. [1]

3- Généralités sur l'activité antioxydante :

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans

diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires. [6]

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique la (vitamine C), tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénolique. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénolique dans leurs structures et les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libre tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes. [6]

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de différents radicaux, comme les peroxydes ROO^\bullet par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxydant Power) ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxydant Power) ; ou les radicaux ABTS^\bullet (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH^\bullet (diphényl-picrylhydrazyle).[6]

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester. [6]

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'évaluation de cette activité par les deux méthodes suivantes :

a- Méthode du piégeage du radical libre DPPH^\bullet :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante . Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (**Figure 6**). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH^\bullet reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur violé bien caractéristique de la solution de DPPH^\bullet . La mesure de

l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH[•], mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

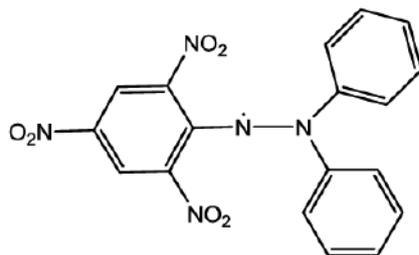


Figure 6 : Structure chimique du radical libre DPPH[•]

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants (**Figure 7**) est tributaire de deux type de mécanisme : (i) la libération de l'atome hydrogène de groupement hydroxyle ; (ii) la libération d'un électron. [7] et [8]

L'objectif de l'étude est de proposer une technique rapide et reproductible permettant de comparer les extraits vis-à-vis de leur action sur les phénomènes du piégeage des radicaux libres. [6]

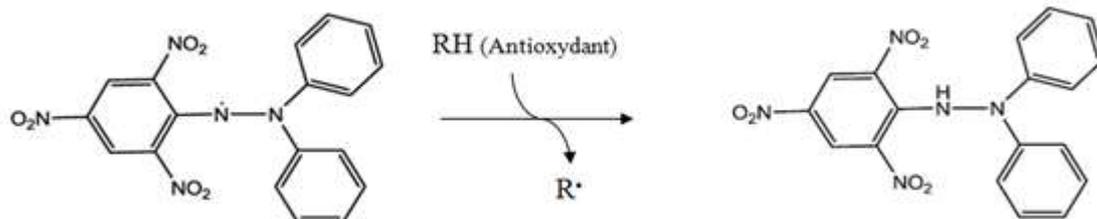


Figure 7 : Mécanisme réactionnel du test DPPH[•] entre l'espèce radicalaire DPPH[•] et un antioxydant (RH).

b- Méthode de FRAP:

La méthode de FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*), a été initialement développée pour mesurer la capacité antioxydante du plasma sanguin, ensuite le test a été généralisé aux études des pouvoirs antioxydants des extraits de plantes. [9, 10 et 11] Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ)] de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (**Figure 8**). La variation de la coloration est mesurée par spectrophotométrie à 593

nm. [12] Le pouvoir réducteur d'un composé est associé à son pouvoir antioxydant, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur. [13]

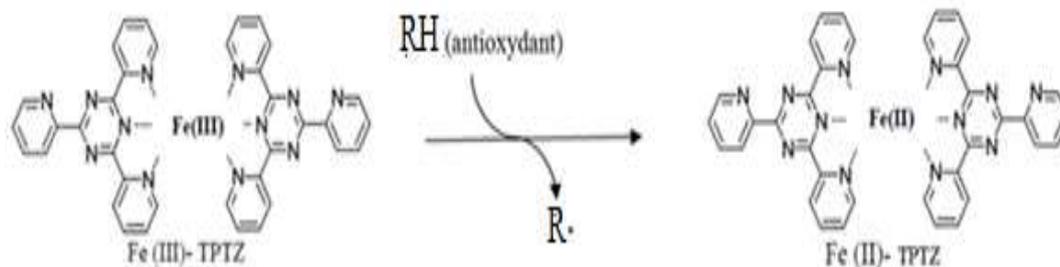


Figure.8 : Mécanisme réactionnel du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)- TPTZ et un antioxydant (RH)

Tableau 01 : Description de quelques tests antioxydants *in vitro*

Tests	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
Mécanisme réactionnel	transfert d'électron majoritaire	transfert d'électron et de proton	transfert d'électron	transfert de proton
Nature des molécules testées	hydrophiles et lipophiles	hydrophiles et lipophiles	hydrophiles	hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	EC ₅₀ et/ou en mg ou µmol équivalent Torolox [®]	EC ₅₀ et/ou en mg ou µmol équivalent Torolox [®]	en mg ou µmol équivalent Fe ⁺³	EC ₅₀ et/ou en mg ou µmol équivalent Torolox [®]
Avantages	- Très facile à mettre en œuvre. - Peu coûteux.	- Très facile à mettre en œuvre. - Cinétique de réaction très rapide. - Peu coûteux.	Très facile à mettre en œuvre. - Peu coûteux.	- Facile à mettre en œuvre. - coûteux (nécessite d'un fluorimètre) - Utilisation d'un générateur de radicaux (ROO [*])
Inconvénients	- Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires. - Interférences possibles à 515 nm. - forte dépendance au PH et au solvant. - Radical inexistant <i>in vivo</i> .	- produit de dégradation antioxydants. - Radical inexistant <i>in vivo</i> .	- PH utilisé non physiologique. - Interférences possibles à 595 nm - Interférences avec composés possédant E° < 0.77 v.	- Mécanisme de génération des ROO [*] non physiologique. - Interférence possible des protéines.
Références	[14] [15]	[16-18]	[9] [19]	[20][21]
	[22]			

4- Présentation de la plante *O.basilicum* L.:

a. Historique :

Le terme « **basilic** », qui est apparu dans la langue française en 1120, désignait à l'origine un serpent mythique dont le regard pouvait tuer, à moins qu'on ne l'ait aperçu le premier. Le mot vient du bas latin *basilicum* qui l'a emprunté au grec *basilikos*, « petit roi ». Cette plante, probablement originaire d'Iran ou d'Inde, est arrivée en Europe via le Moyen-Orient : en Italie et dans le sud de la France au XV^e siècle, en Angleterre au XVII^e siècle, puis en Amérique avec les premiers émigrants. Le genre *Ocimum* compte environ 150 espèces allant de plantes annuelles à des buissons vivaces. Le plus cultivé de ceux-ci est *O. basilicum*, une espèce très variable. Plus de 50 espèces et formes d'*Ocimum ssp.*[23-26]

b. Systématique :

Le basilic est une plante annuelle de la famille des lamiaceae (labiacées, labiées), cultivé comme plante aromatique et condimentaire.

- Nom scientifique : *Ocimum basilicum* L.
- Nom commun : basilic commun, basilic roman et herbe royale. [31]

La classification systématique du basilic est :

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsita

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Ocimum*

Espèce: *Ocimum basilicum* L. [32]

c. Caractères botaniques :

Le basilic est une plante herbacée annuelle de 20 à 60 cm de hauteur. Ses tiges anguleuses et ramifiées portent des feuilles opposées de forme ovale et de couleur généralement verte à l'aspect brillant, parfois pourpre violet chez certaines variétés. Les fleurs blanches ou rosées, formant des épis lâches au sommet de la tige, apparaissent de juin à septembre. Les graines fines, oblongues, elles sont de couleurs noires. Les racines sont pivotantes. [33]

d. Variétés :

Les principales variétés du basilic sont les suivantes :

Basilic à petites feuilles :

Au goût citronné, courant sur les marchés européen, son parfum intense est parfait pour la cuisine (sauces et soupe au pistou); la soupe au pistou est lare cette de traditionnelle de Provence, c'est une soupe que l'on déguste exclusivement l'été, qui signifie d'écraser les feuilles de basilic au mortier pour bien les incorporer à la préparation. [34]

- Basilic citron « *Ocimum basilicum cinnamon* » : Feuilles vertes claires presque jaunes, goût citronné, fragiles sensible au soleil et au vent. (Figure 9).
- Basilic fin vert ou nain compact : Petites feuilles minces, lisse, vert vif, à odeur intense. Plante à allure ornementale qui se porte bien à la culture en pot. Port buissonnant. Protégerait les plants de tomates de certains insectes (Figure 10). [34]
- Basilic marseillais « *Ocimum basilicum var. marseillais* » : Variété traditionnelle Provençale. Très parfumé et typé. Lent à monter en graines. [34]

Basilic à grandes feuilles :

Les feuilles peuvent atteindre jusqu'à 10 cm de longueur, à l'odeur de jasmin, de réglisse et citron. [34]

- Grand vert « *Ocimum basilicum L. gratissium* » : De port buissonnant, ses feuilles vertes, ovales, et ses jeunes pousses très aromatiques sont largement utilisées comme plante condimentaire dans la cuisine méridionale (Figure 08). [34]
- Basilic à feuilles de laitue : Hauteur de 50 cm, compact aux très grandes feuilles vertes tendres, larges et cloquées, très parfumées. [34]
- Basilic pourpre « *Ocimum basilicum L. purperescens* » : A feuilles pourpres et fleur rose pâle, aux feuilles souples et décoratives, au parfum doux et un peu poivré, s'utilise pour les salades (Figure 11). [34]
- Basilic thaï : Ses feuilles évoquent à la fois la menthe et le clou de girofle, et s'utilise avec les fruits de mer et dans les soupes exotiques. [34]
- Basilic sacré « *Ocimum sanctum* » : Est une espèce cultivée près des temples bouddhistes, notamment en Thaïlande. [34]



Figure 9 : le basilic grand vert



Figure 10 : le basilic citron



Figure 11: le basilic nain compact



Figure 12 : le basilic pourpre

e- Culture :

La culture du basilic nécessite un climat chaud et ensoleillé, méditerranéen ou tropical. Il peut aussi se cultiver en pays tempérés, soit en pots ou jardinières, ou en pleine terre moyennant quelques précautions.

La culture du basilic nécessite cinq heures d'ensoleillement quotidien, ou 12 heures de lumière artificielle. Juillet-août est la période propice pour la récolte de ses feuilles à des fins de congélation. [23] et [3]

f- utilisation d'*Ocimum basilicum* L.***Pour l'alimentation :***

Comme herbe aromatique fraîche, les feuilles sèches sont utilisées pour assaisonner des ragoûts, des dressages et des potages. Les feuilles et les jeunes tiges sont séchées, ou utilisées comme source d'huile essentielle.

En parfumerie :

Comme huile essentielle pour les préparations de parfums et liqueurs la plante fraîche donne une essence contenant de l'eucalyptol et de l'eugénol. [36]

En pharmacie :

Partie utilisée : feuilles et sommités fleuries

Propriété : Stomachique, carminatif, lactagogue, stupéfiant léger

Mode d'emploi : Infusion, poudre, essence, oenolé, cataplasme

Sédative, antispasmodique des voies digestives, diurétique, antimicrobienne, contre l'indigestion et en tant que vermifuge. Elle éloignerait les moustiques et c'est un remède contre l'héméralopie. [36]

g- Travaux sur le basilic :

De nombreux chercheurs ont été intéressés à l'étude de cette plante, nous citons quelques exemples :

➤ Travaux sur la composition chimique :

M. L. Brada, Hadj Khelifa et D. Achour, ont trouvé que l'*O.basilicum* L., contient le linalol et acétate de linalol comme des composés majoritaires. [27]

M. Özcan et J. Chalchat ont fait la comparaison entre deux variétés (l'*O. basilicum*. L, et l'*O.basilicum minimum*. L), ils ont découvert que les composés majoritaires de la première variété sont : linalol, méthyl chavicol et eugénol ; et pour la deuxième variété : linalol, eugénol et acétate de bornyle. [28]

N.B. Slougui, et al ont effectué une comparaison de la composition des huiles essentielles de six variétés d'*O.basilicum*. L d'origine européenne cultivées pour la première fois en Algérie. Les chémotypes identifiés dans cette étude sont les suivants : linalol-eugénol pour la variété *O.basilicum*, méthyl eugénol pour la variété *O.basilicum purpureum* opale, farnésène (β , E) pour la variété *O.basilicum minimum*, méthyl cinnamate(E)-linalol pour la

variété *O.basilicum* cinnamome, linalol pour l'*O.basilicum* (marseillais) et gèranial-néral pour la variété *O.basilicum* citriodora. [29]

➤ **Travaux sur l'activité antioxydante :**

L. Hadj Khelifa. M. Brada et al ont montré que l'*O.basilicum* a une activité antioxydante ($CE_{50} = 83.54$ mg/ml) moins importante que la vitamine E ($CE_{50} = 22$ mg/ml). L'activité a été évaluée en utilisant le DPPH.

Par contre, S. Lee a, K. Umano et al, qui ont étudié l'activité antioxydante de 12 constituants de l'*O.basilicum* L. et *Thymus vulgaris* L. par l'utilisation de l'essai d'aldéhyde/acide carboxylique, ont trouvé que l'eugénol, thymol, carvacrol et 4-allylphénol montrent une forte activité antioxydante par rapport aux autres constituants. [30]

Chapitre II

Analyse des huiles essentielles par CPG

Pour déterminer la composition des huiles essentielles des deux variétés locales de basilic, le basilic grand vert (*Ocimum basilicum* L. *gratissium*) et le basilic nain compact (*Ocimum basilicum* L. *minimum*), la technique la plus fiable et la plus investie dans la littérature c'est **la chromatographie en phase gazeuse (CPG)**. Cette technique permet de séparer les molécules volatiles et thermostables (Masse moléculaire < 500 Daltons) de façon générale. Les résultats issus de cette méthode sont illustrés par un enregistrement d'une série de pics, dont chacun représente une molécule qui pourra être identifiée par plusieurs techniques. [37-38]

1- Historique sur la chromatographie :

En 1906 un chimiste russe, Tswett, a séparé des pigments végétaux colorés sur une colonne remplie de carbonate de calcium pulvérulent, les pigments étaient entraînés avec de l'éther de pétrole (mélange pentanes et d'hexanes). Il a observé sur la colonne la formation de bandes de couleur différente (vert, orange, jaune..). Il a donné à cette technique le nom de chromatographie (écriture des couleurs). Il a défini également les termes : chromatogramme, élution, rétention. Cette technique fut quasi-abandonnée jusqu'en 1930, où Edgar Lederer a purifié par la méthode de Tswett la lutéine du jaune d'œuf.

Vers 1940, Martin et Synge développent la pratique et la théorie de la chromatographie, ils obtiennent le prix Nobel en 1952. En 1968, il y a eu la mise au point de la Chromatographie Liquide à Haute Performance CLHP ou HPLC en anglais, suivi en 1979 par la première séparation chirale par HPLC. [38]. Et depuis cette date les techniques chromatographiques n'ont cessé d'évoluer notamment lorsqu'elles sont couplées avec les techniques spectroscopiques.

2- Principe de la CPG :

La CPG est un processus de séparation qui est réalisé par la distribution des substances pour être séparées entre deux phases, une phase stationnaire et une phase mobile. Ces solutés, distribués préférentiellement dans la phase mobile, se déplaceront plus rapidement par le système que ceux distribués préférentiellement dans la phase stationnaire. Ainsi, les solutés s'élueront par ordre de leurs coefficients de distribution croissants en ce qui concerne la phase stationnaire. [39]

Avant que la CPG ne soit devenue populaire vers la fin des années 50, la seule manière de séparer les matériaux volatils était la distillation, qui sépare des matériaux basés

sur des différences dans la pression de vapeur ou le point d'ébullition. La CPG est semblable à cet égard, mais ses séparations dépendent également de la nature de la phase stationnaire, qui lui donne beaucoup plus de polyvalence que la distillation.

Imaginer le plaisir et la surprise des distillateurs qui pourraient maintenant séparer des matériaux avec les points d'ébullition étroits, comme le benzène et le cyclohexane. Et elle était facile, rapide, et pas trop chère ; en outre, ils n'ont pas dû s'inquiéter des azéotropes. [40]

La chromatographie en phase gazeuse permet de séparer des mélanges gazeux complexes par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire appropriée. [41]

La chromatographie en phase gazeuse a commencé exactement comme technique qualitative, plus précisément axée sur la séparation et probablement l'identification des composants dans un mélange plus que déterminer la quantité de chaque composant. Au début, l'identification a été basée sur le temps de rétention du chaque pic cible, comparée avec temps de rétention d'un composé authentique. C'était assez simple et les états d'analyse étaient gardés constants. Kovats a développé un système d'indices de rétention basé sur les rétentions relatives d'une gamme étendue des composés organiques à d'autres composés clés qu'il a assignés comme marqueurs.

La mesure relative de rétention est basée sur la comparaison du temps de rétention corrigé du pic d'intérêt au temps de rétention corrigé d'une référence ajoutée. [42]

La séparation est suivie d'une détection et éventuellement d'une identification, destinée à faciliter l'analyse qualitative.

Les détecteurs placés en sortie du chromatographe décèlent la présence des composés au fur et à mesure de leur arrivée. Les variations enregistrées sont transformées par le détecteur en signaux électriques qui sont amplifiés et transcrits sous forme graphique par l'enregistreur. Il existe divers types de détecteurs pouvant être couplés à la chromatographie en phase gazeuse. Le choix entre les différents détecteurs est fait en fonction de leur sensibilité et de leur spécificité. [41]

a. Analyses quantitatives :

Pas très longtemps après l'invention des chromatographes en phase gazeuse commerciaux, les manipulateurs des chromatographes, ont voulu détecter non seulement le nombre de composants d'un mélange, mais aussi obtenir une bonne résolution dans une analyse par rapport à des mélanges témoins. Les études de calibrage de détecteurs et l'invention du détecteur à ionisation de flamme, conduisent à de grandes améliorations et performances

analytiques. En parallèle des systèmes plus rapides et plus précis de traitement des données, ont permis de résoudre une grande partie des problèmes d'interprétation et d'exploitation des résultats. Les performances les plus pointues sont encore en cours d'évolution, notamment en termes d'analyses quantitatives par cette technique.[42]

b. Méthodes d'analyse qualitative :

La méthode la plus couramment utilisée et celle des indices de rétention qui se base sur le calcul d' I_R selon l'une de ces deux équations :[38]

- ✓ Équation de Van Den Dool utilisée en mode programmation de température :

$$I(x) = 100 \cdot n_i + 100 \cdot \frac{\log t_R'(x) - \log t_R'(n)}{\log t_R'(n+1) - \log t_R'(n)} \quad (1)$$

- ✓ Équation de Kovats utilisée en mode isotherme :

$$I(x) = 100 \cdot n_i + 100 \cdot \frac{t_R(x) - t_R(n)}{t_R(n+1) - t_R(n)} \quad (2)$$

Ces équations permettront d'identifier un grand nombre de composés tout en opérant dans les mêmes conditions opératoires pour les mélanges complexes et les alcanes pris comme références. Ainsi, la chromatographie restera la technique analytique la plus adaptée pour l'analyse qualitative et même quantitative des mélanges de composés volatils les plus complexes, surtout en termes précision et de fiabilité.

3- Description de la plante :

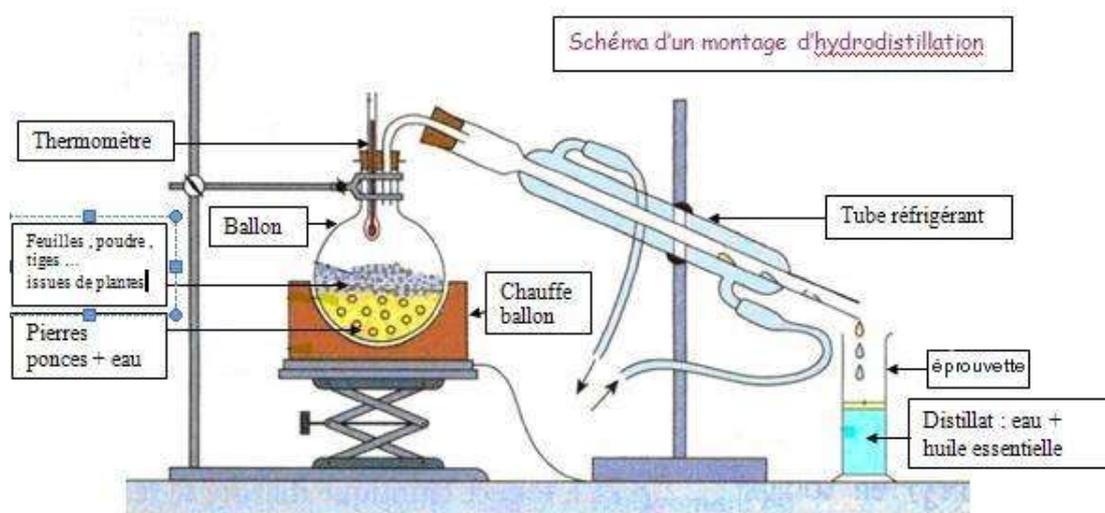
Le matériel végétal dans cette étude est représenté par deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. : Le basilic grand vert (*Ocimum basilicum* L. *gratissium*) et le basilic nain compact (*Ocimum basilicum* L. *minimum*), cultivées dans la station I.T.D.A.S. de HassiBen Abdellah. Les conditions de culture sont regroupées dans le tableau 2.

Tableau2: Conditions de culture des deux variétés d'*Ocimum basilicum* L.

Opérations	Dates
Travail du sol	Mois de janvier
Semis en pépinière	01/02/09
La levée	06/02/09
Fumure de fond	04/03/09
Pré-irrigation	15/03/09
Repiquage	16/03/09
Récolte	20/04/09

4- Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles des deux variétés de basilic ont été obtenues par hydrodistillation selon le montage illustré dans la figure 13. Les huiles essentielles pures ont été obtenues selon le protocole schématisé dans la figure 14.

**Figure 13 :** Montage de l'hydrodistillation utilisé pour l'obtention des deux essences

Les deux essences obtenues ont été conservées dans des flacons bruns à une température de 4°C, et ce jusqu'au jour de leur analyse.

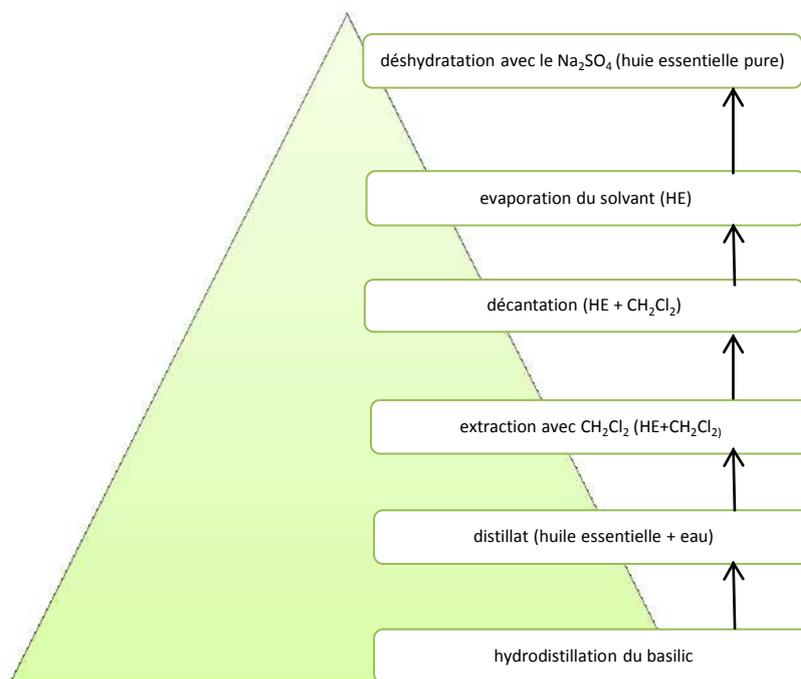


Figure.14 : Protocole expérimental suivi pour obtenir l'huile essentielle pure des deux variétés de basilic.

5- Analyses par Chromatographie en phase gazeuse :

L'analyse des huiles essentielles des deux variétés : *O.basilicum* L.*gratissium* et *O.basilicum* L. *minimum* de la région d'Ouarglaa été faite à l'aide d'un Chromatographe de type Chromatographe Agilent 6890 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

➤ Conditions opératoires :

Les analyses sont faites selon les conditions opératoires indiquées dans le tableau 03 ci-dessous.

Tableau 03 : Les conditions opératoires des analyses chromatographiques (CPG)

Chromatographe	Agilent 6890
Détecteur	FID (Détecteur à Ionisation de Flamme)
Colonne et Phase stationnaire	HP-1 : 50 m x 0.2 mm Apolaire avec 0.33 µm pour l'épaisseur du film
Gaz vecteur	Hélium (He) : 1.3 ml/min
Mode d'injection	En split à 1/100
Température d'injecteur	250°C
Programmation de température	60°C (2 min) rampe à 4°C/min, jusqu'à 300 °C (10 min)

Pour chaque huile essentielle, on a injecté successivement la série des n-alcanes (C₅-C₂₈) et l'huile essentielle étudiée.

6. Résultats et Discussion :

Les résultats des analyses chromatographiques sont illustrés par les chromatogrammes des **Figures 16** et **17**.

Les indices de rétention ont été calculés selon l'équation de Van Den Dool (1). Les constituants sont identifiés par comparaison des indices de rétention calculés d'après les chromatogrammes obtenus avec ceux des données de la littérature.

La **Figure 16** représente le chromatogramme de l'huile essentielle d'*O.basilicum* L. *gratissium* (Grand vert) de la région d'Ouargla. Les composés qui ont pu être identifiés, et leurs paramètres de rétention ainsi que leurs pourcentages, sont présentés dans le **Tableau 05**. 83 composés ont été détectés et 25 composés identifiés.

Les taux des 2 composés majoritaires sont : 27.713% de Linalol, 26.032% de Méthyl chavicol.

La **Figure 17** représente le chromatogramme de l'huile essentielle d'*O.basilicum minimum* L. (Nain compact) de la région d'Ouargla. Les composés qui ont pu être identifiés, et leurs paramètres de rétention ainsi que leurs taux sont présentés dans le **Tableau 07**. 56 composés ont été détectés et 17 composés identifiés. Le taux du composé majoritaire est : 30.46% en Acétate de Linalol.

Les résultats sont différents pour chaque huile essentielle, au niveau des teneurs des composés identifiés et au niveau des types de molécules identifiées. Cela indique la grande différence entre les huiles essentielles et relativement entre les variétés de basilic cultivées.

Les résultats de la CPG indiquent que les chémotypes pour chaque variété sont comme suit:

Pour la variété *O.basilicumgratissium*, le chémotype est hybride : le Linalol (27.713%)- Méthyle Chavicol (26.032%). M. BRADA *et al* [27] et N. SLOUGUI *et al* [29] ont trouvé que l'huile essentielle du basilic grand vert de la région d'Ain Defla et Mostaganem comporte Linalol et Eugénol avec les taux majeurs : 44.7% et 54.8% pour la première étude et 37.6% et 33.5% pour la deuxième étude. L'Eucalyptol est aussi présent avec les deux taux suivants 0.4% et 9.1% respectivement qui sont loin des taux que nous avons trouvé. Par contre M. ÖZCAN et ses collaborateurs [28] ont trouvé que l'huile essentielle du basilic grand vert contient le méthyle eugénol comme chémotype (78.016%) et des traces de géranial et linalol (0.010 et 0.003%). Ces résultats ne se croisent pas avec les notre. S. SAJJADI [48] a prouvé que l'huile essentielle du basilic grand vert comporte le géranial comme chémotype (27.6%).

Pour la variété *O.basilicumL. minimum*, le chémotype est l'acétate de linalol (30.46%). N. SLOUGUI *et al* [29] ont trouvé que l'huile essentielle du basilic nain compacte contient le méthyl eugénol (28.4%) comme chémotype et l'eucalyptol (7.0%), par contre M. ÖZCAN et J.C. CHALCHAT [28] ont déterminé que la même huile contient le Caravol (0.043 %) et présente comme chémotype l'Acétate de géranyl et. Ces taux sont très différents par rapport au taux trouvés dans nos échantillons.

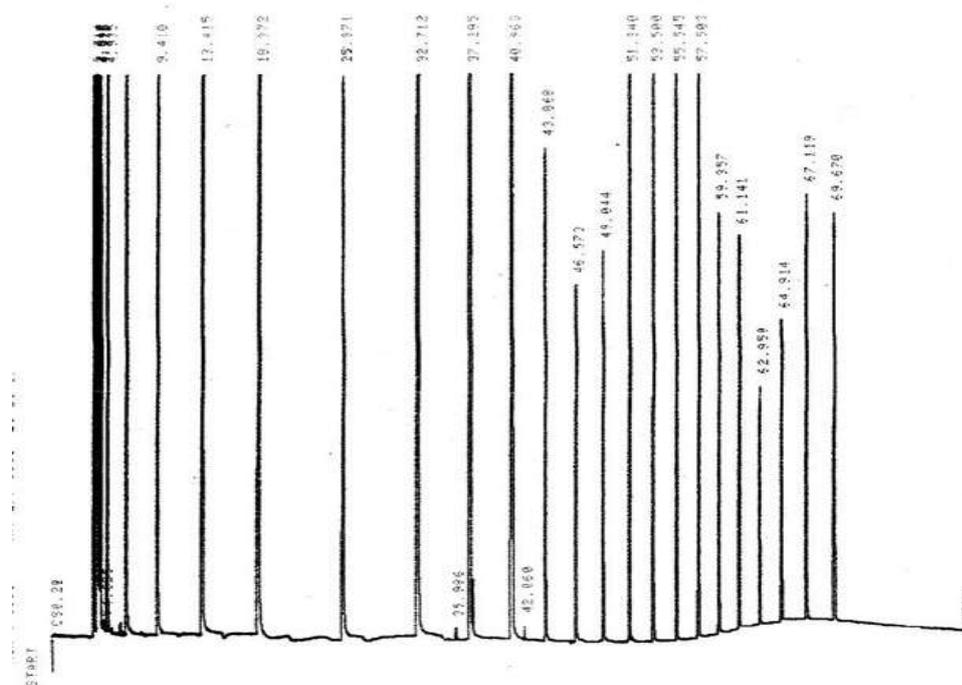


Figure 15 : Chromatogramme de l'analyse par CPG de la série de n-alcanes

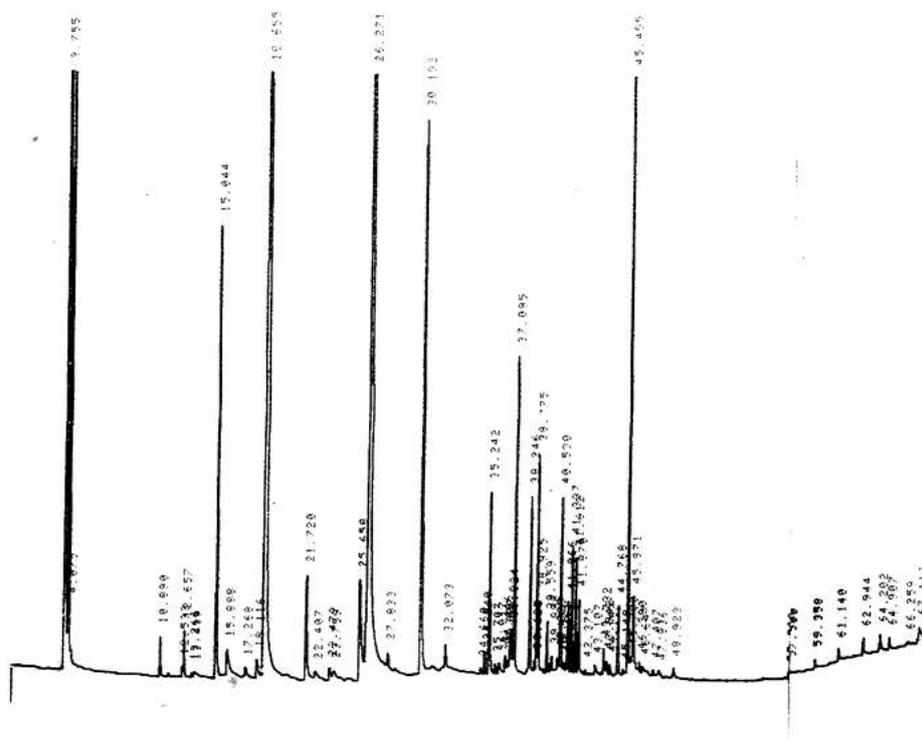


Figure.16 :Chromatogramme de l'analyse par CPG de l'huile essentielle d'*O.basilicum*L. *gratissium* (Grand vert) cultivée dans la région d'Ouargla.

Tableau 04 : Composés détectés dans l'analyse de l'huile essentielle d'*O.basilicum*L.
gratissium par CPG :

n°	t _R (x)	I _{R(cal)}	%	n°	t _R (x)	I _{R(cal)}	%
1	4.075	/	3.364	43	43.942	1602	0.109
2	10.890	941	0.154	44	44.187	1612	0.077
3	12.533	980	0.0445	45	44.768	1633	0.335
4	12.657	983	0.209	46	45.148	1648	0.029
5	13.266	996	0.0250	47	45.455	1659	2.619
6	13.439	1000	0.133	48	45.700	1668	0.156
7	15.044	1036	1.802	49	45.871	1674	0.648
8	15.888	1053	0.379	50	46.380	1693	0.146
9	17.268	1080	0.131	51	46.647	1703	0.098
10	18.116	1095	0.148	52	47.407	1743	0.065
11	18.655	1104	27.713	53	47.836	1751	0.114
12	21.720	1148	0.716	54	48.923	1795	0.100
13	22.407	1158	0.114	55	57.500	2199	0.024
14	23.479	1171	0.107	56	59.358	2200	0.034
15	23.759	1175	0.156	57	61.140	2299	0.047
16	25.650	1196	0.740	58	62.944	2499	0.068
17	26.271	1206	26.032	59	64.202	2564	0.111
18	27.833	1231	0.088	60	64.907	2599	0.066
19	30.192	1265	2.924	61	66.259	2661	0.045
20	32.073	1291	0.248	62	67.113	2696	0.247
21	34.660	1344	0.0281	63	67.714	2723	0.085
22	34.940	1350	0.114	64	67.850	2729	0.244
23	35.242	1356	0.900	65	68.033	2736	0.189
24	35.707	1366	0.051	66	68.173	2741	0.246
25	36.017	1373	0.102	67	68.315	2747	0.258
26	36.446	1382	0.075	68	68.620	2759	1.008
27	36.602	1385	0.066	69	68.983	2773	0.860
28	36.824	1390	0.317	70	69.275	2784	1.051

29	37.095	1395	1.400	71	69.582	2796	2.242
30	38.246	1400	0.794	72	69.979	/	1.001
31	38.625	1437	0.039	73	70.105	/	1.546
32	38.775	1441	0.881	74	70.410	/	2.016
33	38.825	1445	0.325	75	70.834	/	1.909
34	40.530	1488	0.895	76	71.127	/	2.311
35	40.761	1494	0.057	77	71.471	/	0.795
36	41.066	1503	0.017	78	71.604	/	1.758
37	41.337	1513	0.521	79	71.950	/	1.597
38	41.612	1522	0.025	80	72.452	/	1.051
39	41.870	1531	0.370	81	72.846	/	0.546
40	42.375	1549	0.027	82	73.358	/	0.397
41	43.107	1574	0.103	83	74.390	/	0.139
42	43.732	1595	0.137				

Tableau 05 : Composés identifiés dans l'huile essentielle l'*O.basilicum* L.
gratissium de la région d'Ouargla par CPG :

Composé	$t_R(x)$	$I_{R(cal)}$	$I_{R(Adams)}$	$I_{R(réf)}$	%
Camphène [29, 44,27 et 49]	10.890	941	946	944	0.154
β -pinène [28, 29, 44, 45, 46, 27, 47, 48 et 49]	12.533	980	974	983	0.044
Myrcène [28, 43, 46,27 et 49]	13.266	996	988	994	0.025
(Z)- β -Ocimène(Eucalyptol)[28,29,44, 27 ,47 et 49]	15.044	1036	1032	1036	1.802
γ - Terpinène [29, 44, 41, 29 et 30]	15.888	1053	1054	1054	0.3795
Linalol [28, 29, 43, 44, 45, 27,48 et 49]	18.655	1104	1095	1103	27.713
Camphor [43, 44, 30, 46 et 48]	21.720	1148	1141	1148	0.716
Terpinèn-4-ol [28, 29, 43, 44, 46, 47et 48]	23.479	1171	1174	1175	0.108
α -Terpinéol [28, 29, 44, 45, 46, 27, 47, 48 et 49]	25.658	1196	1186	1197	0.740
Méthyl chavicol [29, 44 et 43]	26.271	1206	1195	1203	26.032
Géranial [28, 29, 43, et 45]	30.192	1265	1264	1267	2.924
acétate de bornyl [45, 46, 27 et 49]	32.073	1291	1287	1289	0.248
α -Cubébène [28, 29 et 44]	34.660	1344	1345	1342	0.028
Eugénol [29, 44, 45, 46 et 27]	35.242	1356	1356	1356	0.901
α -Copaéne [29, 44, 27 et 48]	36.017	1373	1374	1374	0.102
Acétate de Géranyl [28, 29, 27, 48 et 49]	36.446	1382	1379	1383	0.075
β -cubébène [28, 29 et 30]	36.602	1385	1387	1381	0.066
β -élémente [28, 29, 45, 46, 27, 48 et 49]	36.824	1390	1389	1388	0.317
Méthyl eugénol [28, 29, 44, 45, 46 et 48]	38.246	1400	1403	1399	0.794
α -Guaiène [28, 29, 44, 27 et 48]	38.625	1437	1437	1437	0.039
D-Germacrène [28, 29, 43]	40.530	1488	1484	1482	0.895
(Z)- α -Bisabolène [29, 44 et 46]	41.066	1503	1506	1505	0.017
γ -Cadinène [29, 43, 44, 46, 47 et 48]	41.337	1513	1513	1515	0.522
δ - Cadinène [29, 43, 44, 46, 27, 48 et 49]	41.612	1522	1522	1522	0.026
β - Eudésmol [29, 43, 27 et 49]	45.148	1648	1649	1647	0.030

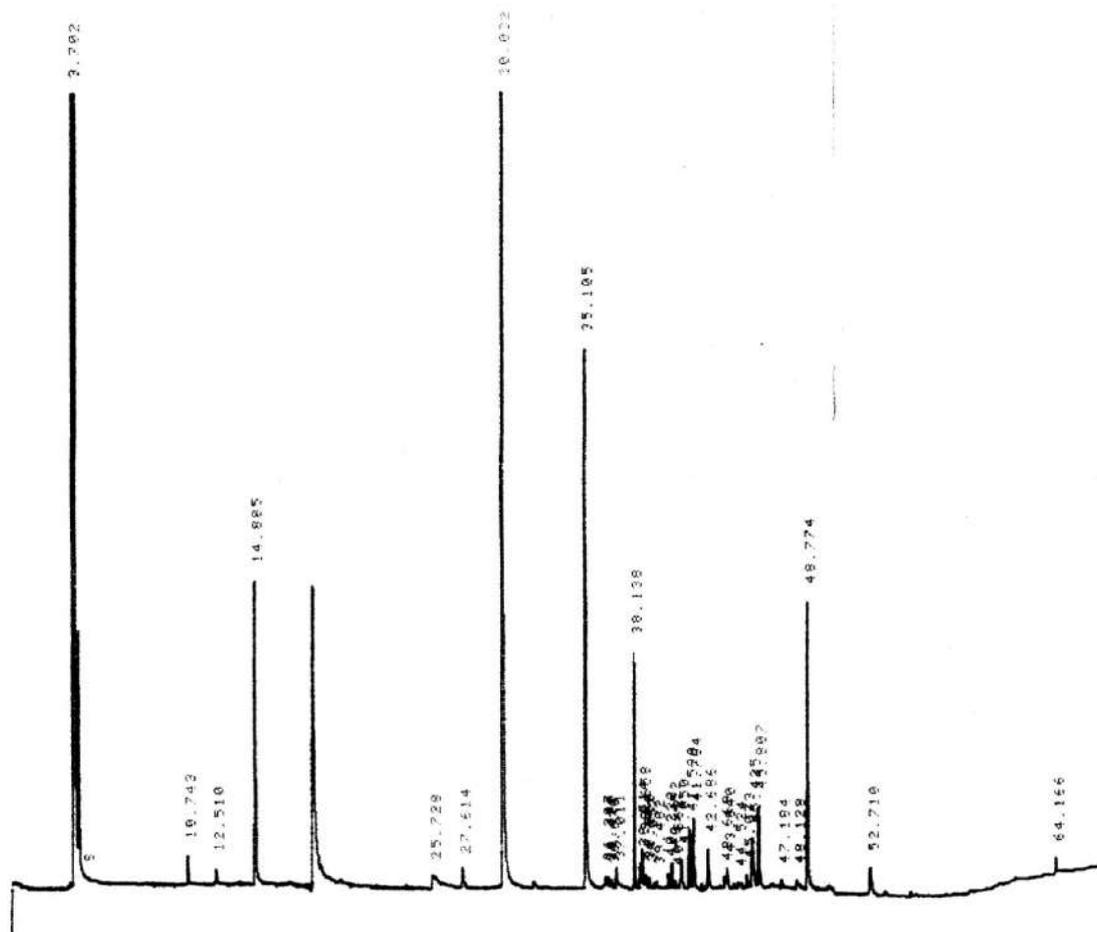


Figure 17 :Chromatogramme de l’analyse par CPG de l’huile essentielle d’*O.basilicum*L.
minimum. (Nain compact) cultivé dans la région d’Ouargla.

Tableau 06 : Composés détectés dans l'analyse de l'huile essentielle d'*O.basilicum*L.
minimum de la région d'Ouarglpar CPG :

n°	t _R (x)	I _{R(cal)}	%	n°	t _R (x)	I _{R(cal)}	%
1	10.743	937	0.387	29	45.425	1656	0.844
2	12.510	980	0.200	30	45.807	1671	1.158
3	14.885	1033	3.109	31	47.184	1725	0.1761
4	25.728	1198	0.267	32	48.128	1763	0.1765
5	27.614	1227	0.445	33	48.774	1789	3.587
6	30.032	1271	30.465	34	52.710	1963	0.743
7	35.105	1305	6.041	35	64.366	2562	0.244
8	36.337	1380	0.272	36	67.159	2701	0.163
9	36.490	1383	0.171	37	67.800	2727	0.238
10	36.670	1387	0.210	38	67.936	2734	0.115
11	37.011	1394	0.564	39	68.123	2736	0.193
12	38.139	1425	2.808	40	68.282	2746	0.141
13	38.514	1434	0.305	41	68.575	2757	1.090
14	38.658	1438	0.514	42	68.933	2771	1.514
15	38.850	1443	0.241	43	69.225	2782	1.862
16	39.057	1449	0.179	44	69.527	2794	4.488
17	39.482	1455	0.220	45	69.930	/	1.967
18	40.233	1480	0.297	46	70.058	/	3.213
19	40.452	1486	0.408	47	70.358	/	4.322
20	40.662	1492	0.146	48	70.778	/	4.252
21	41.050	1502	0.628	49	71.077	/	5.234
22	41.530	1519	0.699	50	71.411	/	1.739
23	41.784	1528	0.930	51	71.556	/	3.987
24	42.686	1558	0.502	52	71.896	/	3.495
25	43.669	1590	0.172	53	72.400	/	2.189
26	43.840	1595	0.371	54	72.803	/	1.027
27	44.524	1621	0.141	55	73.314	/	0.749
28	45.073	1643	0.174	56	74.326	/	0.217

Tableau 07: Composés identifiés dans l'huile essentielle d'*O.basilicumminimum L.* par CPG.

Composé	t _R (x)	I _R (cal)	I _R (Adams)	I _R (réf)	%
α -pinène [28, 29, 44, 45, 27, 47 et 48]	10.743	937	932	931	0.39
β - pinène [28, 29, 44, 45, 46, 27, 47, 48 et 49]	12.510	980	974	973	0.20
(Z)- β –Ocimène [28, 44, 27 ,47 et 49]	14.885	1033	1032	1036	3.11
Méthyl Chavicol	25.728	1198	1195	1195	0.27
Nérol [28, 29, 46, 27 et 49]	27.614	1227	1227	1228	0.44
Acétate de Linalol [28, 27 et 49]	30.032	1271	1272	1258	30.46
Carvacrol [28, 46, 27 et 47]	35.105	1305	1298	1301	6.04
Acétate de Géranyl [28, 29, 27, 48 et 49]	36.337	1380	1379	1383	0.27
β -cubebène [28, 29 et 30]	36.490	1383	1387	1381	0.17
β -élémente [28, 29, 45, 46, 27, 48 et 49]	36.670	1387	1389	1388	0.21
(trans)- α -Bergamotène [29, 43, 44, 45, 46, 27, 47, 48 et 49]	38.514	1434	1432	1431	0.30
α -Guaiène [28, 29, 44, 27 et 48]	38.658	1438	1437	1437	0.51
α -Humulène [28, 29, 45, 27, 47 et 48]	1695	1449	1452	1450	0.19
(E)- β -Farnésène[29, 44 et 46]	39.482	1455	1454	1452	0.14
Germacrène D [28, 29, 43]	40.452	1486	1484	1482	0.408
(Z)- α -Bisabolène [29, 44 et 46]	41.05	1502	1506	1505	0.628
γ -Cadinène [29, 43, 44, 46, 47 et 48]	41.530	1519	1513	1515	0.699

Conclusion :

A travers les résultats obtenus et cités plus haut, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- ✓ La variance dans les conditions de culture (climat, nature de sol...etc.) influent directement sur la composition d'huile essentielle.
- ✓ Deuxchémotypes ont été déterminés : Linalol- MéthyleChavicol et Acétate de Linalol qui ont une grande importance dans plusieurs domaines, surtout en pharmacothérapie.
- ✓ Les composés chimiques présents dans nos huiles essentielles sont nombreux et différents qualitativement et quantitativement.
- ✓ Les données de rétention ne peuvent être utilisés à titre seul comme moyen fiable pour l'identification des composés volatils, car un nombre non négligeable de molécules organiques peuvent avoir les mêmes donnés de rétention dans les mêmes conditions d'analyse.
- ✓ La présence d'autres composés dans les huiles essentielles non identifiés, nécessite des techniques de couplages plus pointues, comme la GC-MS, la GC*GC-MS...

Chapitre III

Matériel végétal et extraction

1- Choix et présentation des régions d'études :

Le choix des régions d'études était basé strictement sur la disponibilité et la possibilité de suivre les différentes opérations culturales de près. Dans le tableau 8, nous regroupons les caractéristiques géographiques des 3 régions étudiées dans notre présent travail.

Tableau 08 : Présentation géographique des trois régions étudiées

régions	Constantine	Ouargla	Touggourt
Climat	Méditerranéen	Désertique	Désertique
Latitude	36° 21' 54'' Nord	31° 56' 57'' Nord	33°06'18'' Nord
Longitude	6° 36' 52'' Est	5° 19' 30'' Est	6°03'28'' Est
Altitude	574 m	138 m	72 m

2- Matériel végétal

En Algérie, deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. sont connues et cultivées :

- L'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* (basilic grand vert), utilisé dans toute l'Algérie comme plante à grande utilisation culinaire et thérapeutique.
- L'*Ocimum basilicum* L. *minimum* (basilic nain compact), utilisés surtout au nord de l'Algérie comme plante décorative à grand effet insecticide.

Nous avons donc choisi d'étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de ces deux variétés locales en faisant la culture nous même dans les régions choisies au préalable.

Les graines des deux variétés ont été semées au mois de mai dans un sol bien drainé, riche en composte avec plus de cinq heures d'ensoleillement quotidien.

La partie aérienne des deux variétés d'*O.basilicum* L. a été récoltée au mois d'aout 2015 , au stade de pleine floraison.

Le matériel végétal recueilli a été séché à une température ambiante et à l'abri de la lumière, afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs molécules. A signaler que la culture de cette variété dans les régions d'Ouargla et Touggourt n'a pas réussi.

3- Extraction des huiles essentielles :

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger. Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre pyrex de 2000 ml où l'on place la plante sèche avec

1000 ml d'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation (**Fig.18**).

L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4 °C et à l'ombre. [37]



Figure.18 : dispositif de l'hydrodistillation par Clevenger

4- Détermination du rendement et du taux d'humidité :

➤ Détermination du rendement :

Le rendement de l'HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal traité [38]. Le rendement est exprimé en pourcentage :

$$R(\%) = \frac{M_{HE}}{M_S} * 100$$

R : Rendement de l'HE en %.

M_{HE}: Quantité d'HE récupéré en g.

M_S: Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

Les résultats du tableau 9 montrent que la plante issue de Constantine donne le meilleur rendement d'extraction suivie de celle de la région de Touggourt et enfin celle de Ouargla avec le plus faible rendement. Notons qu'un autre travail effectué pour cette même

plante provenant de la région d'Ain-Defla [39] a fourni un meilleur rendement qui est de 1.98 %.

Tableau 09 : Valeurs du rendement d'*O.basilicum* L. *gratissium*

Région	Ouargla	Touggourt	Constantine
Moyenne	0.511±0.0061	0.635±0.0015	1.145±0.0036

➤ Détermination de l'humidité :

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante [38].

$$H(\%) = \frac{M_{fr} - M_s}{M_{fr}} * 100$$

H % : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M_{fr} : poids de l'échantillon en gramme après la récolte (plante fraîche).

M_s : poids de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

La comparaison des taux d'humidité des régions d'études de notre plante, nous font constater que l'évolution de ce paramètre est inversée par rapport au rendement d'extraction ; le taux d'humidité le plus faible correspond au rendement le plus élevé.

Tableau 10 : Valeurs du taux d'humidité d'*O.basilicum* L. *gratissium*

Région	Ouargla	Touggourt	Constantine
Taux d'humidité %	89.66±5.002	84.8±3.993	67.4807±7.213

Nous constatons que l'huile essentielle d'*O.basilicum* L. *minimum* de la région de Constantine enregistre un rendement de l'ordre de 0.1419 % avec un taux d'humidité de 55.855 %. (**Tableau 11**)

La comparaison des rendements et taux d'humidité entre les deux variétés investies est illustrée par le tableau 11. La variété *O.basilicum* L. *gratissium* enregistre le maximum en huile essentielle avec un rendement de (1,145 %) par rapport à l'autre variété : *O.basilicum* L. *minimum*, qui présente un rendement de (0.1419 %).

Tableau 11: Valeurs de rendement et taux d'humidité des deux variétés dans la région de Constantine.

Variété	Rendement	Taux d'humidité
<i>O.basilicum. L gratissium</i>	1.145±0.0036	67.4807±7.213
<i>O.basilicum L. minimum</i>	0.1419±0.00026	55.855±2,11528371

5- Conclusion :

Dans la présente étude, les rendements en huile essentielle obtenus montrent bien des fluctuations chez les deux variétés de basilic. Ces variations dépendent de plusieurs paramètres, à savoir paramètres morphologiques, paramètres de précocité, paramètres de rendement et taux de mortalité. [41].

Ce constat est conforme à ce qui est rapporté dans la littérature, à savoir que les différences existantes entre les rendements d'extraction obtenue pour les variétés poussant dans différentes régions d'études sont liées aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), géographique (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétique croisement naturel [40].

Chapitre IV

L'évaluation de l'activité antioxydante

Actuellement une grande diversité des méthodes analytiques est disponible pour la détermination de la capacité antioxydante. Dans notre étude, l'activité antioxydante des huiles essentielles est évaluée par deux méthodes : le test de la réduction du radical libre du DPPH et le test de réduction du fer (FRAP).

1- Test de réduction du radical stable, DPPH :

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe péryl ; et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [55]. Le suivi de la décoloration est réalisé par spectrophotométrie UV-Visible à 517nm. [56-58]

Mode opératoire :

L'activité antioxydante de l'huile essentielle des deux variétés d'*O.basilicum* L. a été mesurée par la méthode décrite par B. Arachana *et al* (2005) et N.T. Dung *et al* (2008) [59][60].

Un volume de 100 µl des différentes dilutions des huiles essentielles ont été mélangés avec 3 ml de la solution d'éthanol de DPPH• de 0.004 % (p/v) dans des tubes à essai secs. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé 30 min à une température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le contrôle négatif est composé de 100 µl d'éthanol et de 3 ml de la solution de DPPH•. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'absorbance de l'acide ascorbique (antioxydant de référence) est mesurée dans les mêmes conditions que celles des huiles essentielles.

2- Résultats et Discussion :

La capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre est estimée en pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans l'éthanol. Le pourcentage d'inhibition a été déterminé selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{Abs_{contrôle} - Abs_{échantillon}}{Abs_{contrôle}} \times 100$$

Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l'huile essentielle et de la vitamine C, nous permet de calculer le paramètre CE_{50} . La CE_{50} qui est définie comme étant la Concentration de l'huile essentielle (ou de la vitamine C) nécessaire pour réduire 50 % des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Plus la valeur de CE_{50} est basse, plus l'activité antioxydante est élevée, et vice versa. [61] [62]

Les valeurs moyennes de la CE_{50} ont été calculées graphiquement à partir de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage [63].

Les résultats obtenus pour la première variété (*O.basilicum* L. *gratissium*) sont représentés sous forme de droite dans les figures 19 à 21 suivantes :

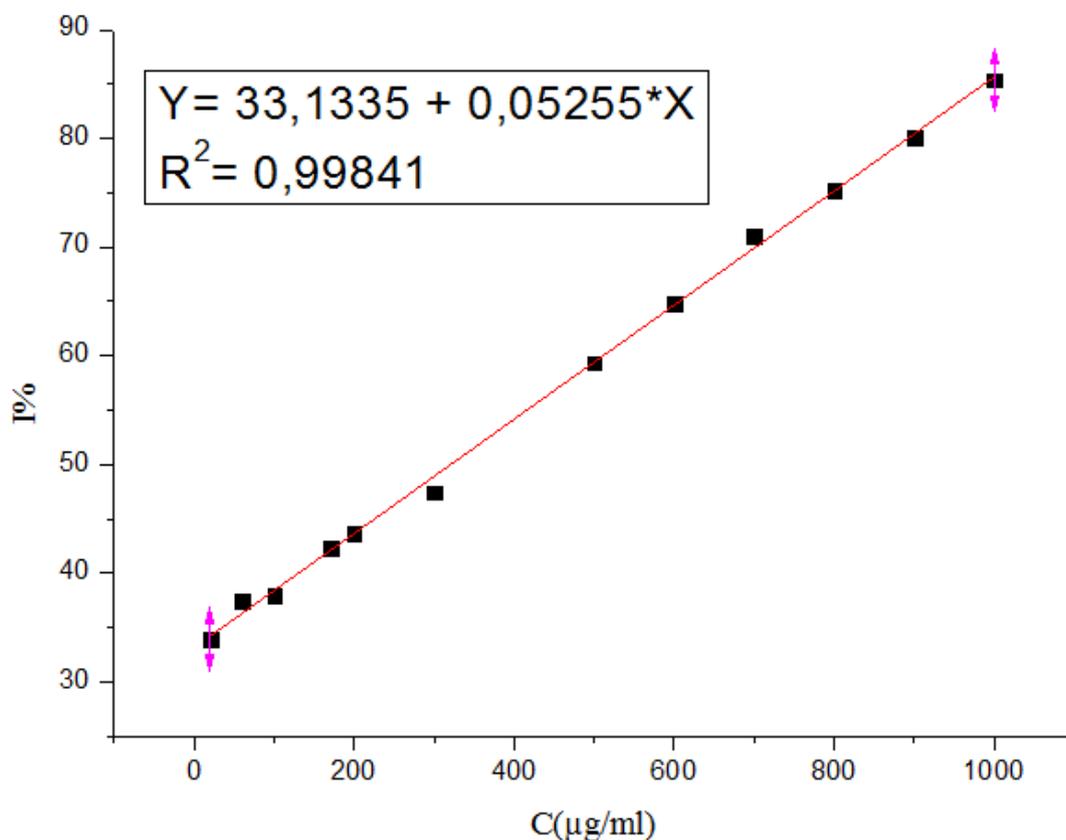


Figure 19 : Activité antioxydante d'*O.basilicum* L. *gratissium* de la région d'Ouargla.

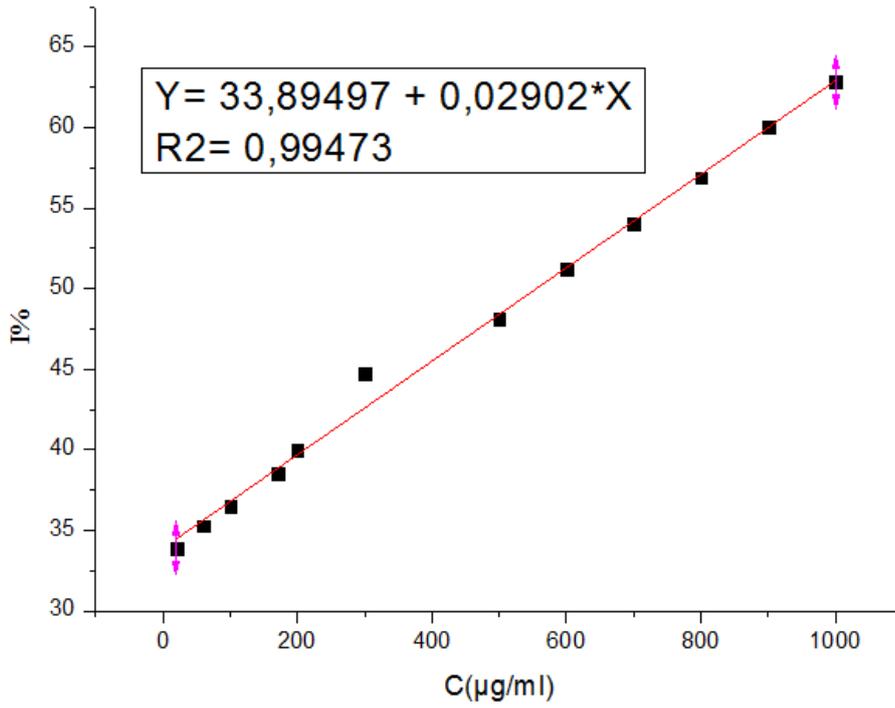


Figure.20 : Activité antioxydante d'*O.basilicum L. gratissium* de la région de Constantine.

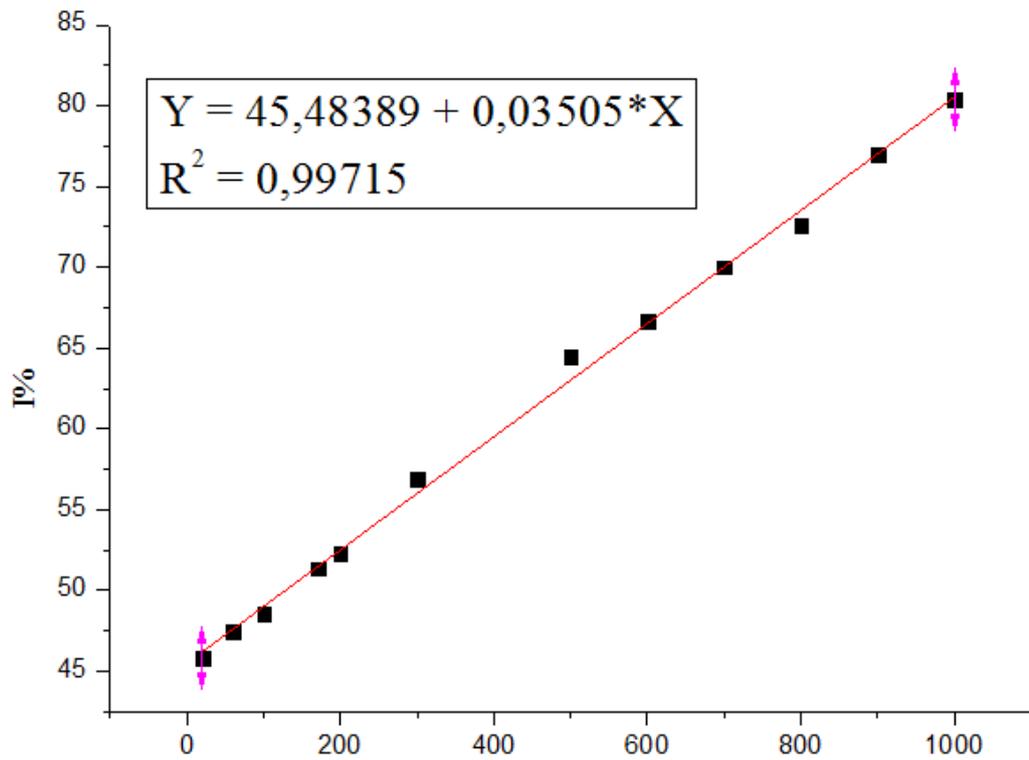


Figure 21 : Activité antioxydante d'*O.basilicum L. gratissium* de la région de Touggourt.

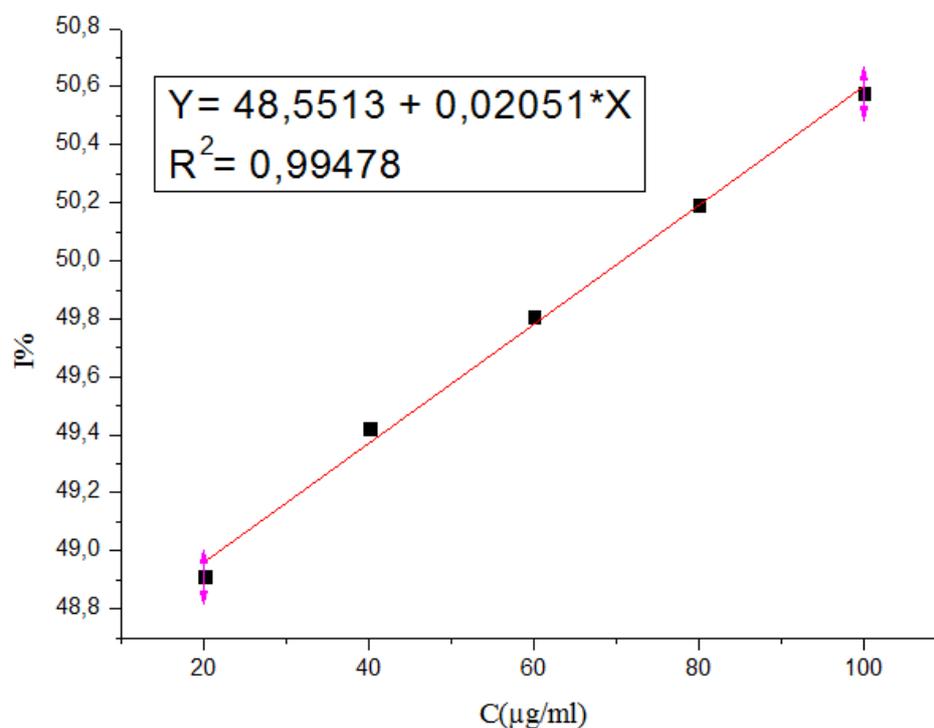


Figure 22 : Activité antioxydante de l'acide ascorbique.

D'après les courbes illustrées dans les figures ci-dessus, nous montrons que tous les extraits testés sont capables de neutraliser le radical DPPH• au cours du temps et en fonction de la concentration des antioxydants. L'activité antioxydante de nos huiles essentielles est exprimée en CE₅₀. Pour chaque huile, la CE₅₀ est déduite de la droite d'étalonnage correspondante (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Valeurs des CE₅₀ des huiles essentielles et de l'acide ascorbique

	HE Ouargla	HE Constantine	HE Touggourt	Acide ascorbique
CE ₅₀ (µg/ml)	320.96±0.0969	128.84±0.0453	554.96±0.0526	70.63±0.0739

Comme figurant dans le **tableau 12** l'acide ascorbique (Antioxydant de référence, figure 22) a montré une activité antioxydante forte (CE₅₀=70.63µg/ml), suivi par nos huiles essentielles avec l'ordre suivant : Huile essentielle d'*O.basilicum* L. *gratissium* de la région de Constantine (CE₅₀:128.84 µg/ml), suivie de celle de la région d'Ouargla (CE₅₀:320.96 µg/ml) et enfin celle de la région de Touggourt.

Les résultats obtenus pour la deuxième variété (*O.basilicum* L. *minimum*) sont représentés sous forme de droite dans la figure 23 suivante :

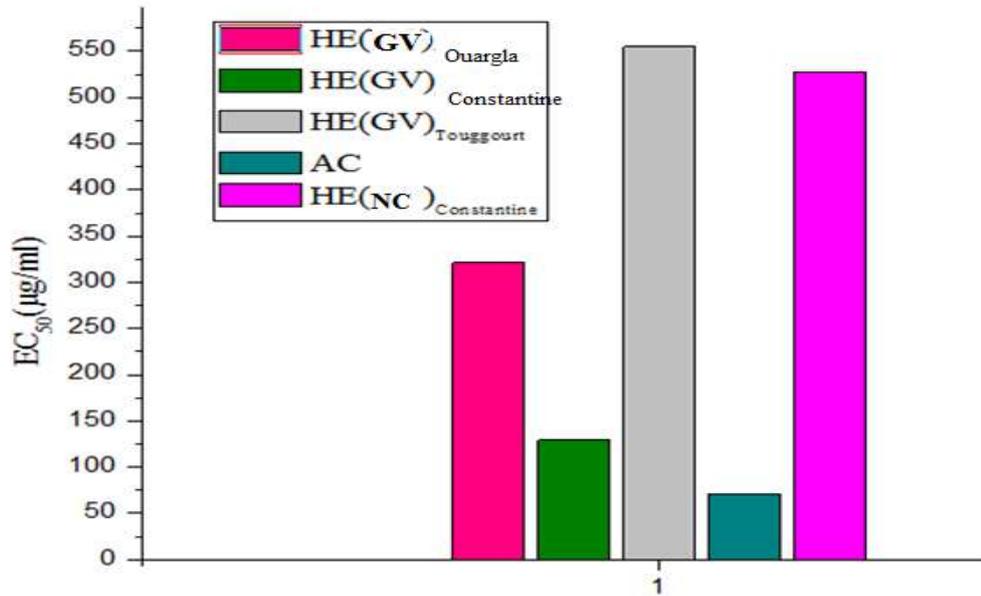


Figure 23 : Activité antioxydante d’*O.basilicum* L. *minimum* de la région de Constantine.

Pour l’*O.basilicum* L. *minimum*, la CE₅₀ est de l’ordre de 528.081±0.258 µg/ml. Cette valeur est plus élevée par rapport à celle de l’acide ascorbique, ce qui nous donne le pouvoir antioxydant le plus faible par rapport aux huiles essentielles de la variété *O.basilicum* L. *gratissium*.

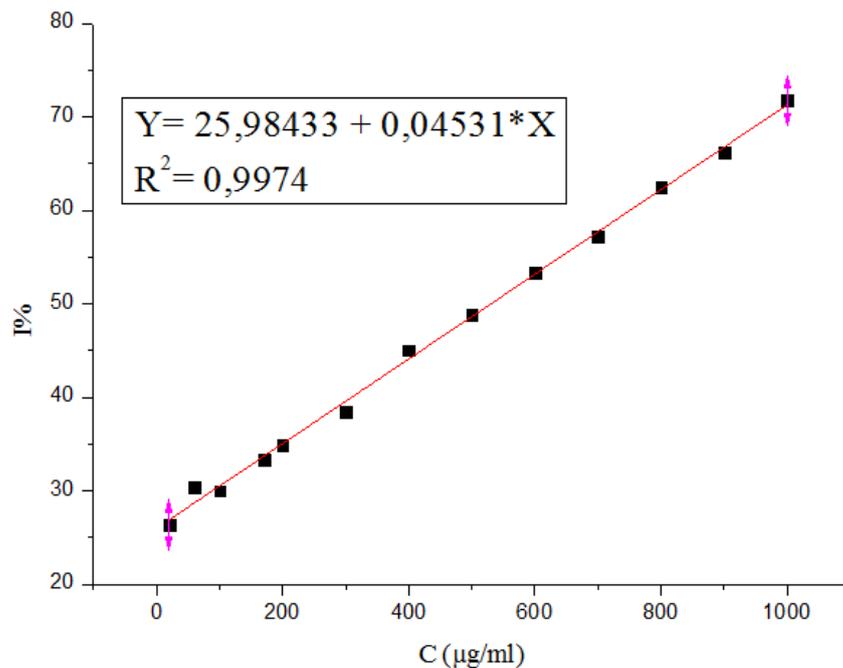


Figure 24 : Valeurs du CE₅₀ pour les quatre huiles essentielles et l’acide ascorbique.

3- Test de réduction du fer (FRAP) :

Mode opératoire :

Dans un premier temps, une solution tampon (acide acétique/acétate de sodium) à 300 mM à pH=3.6 est préparée.

Le réactif TPTZ à 10 mM, dilué dans l'HCl à 40 mM, est préparé extemporanément. Le deuxième réactif FeCl₃ et 25 ml de solution tampon. Cette solution doit être impérativement conservée dans un bain à 37 °C.

Le protocole qui suit est basé sur la méthode mise au point par Benzie *et al* [9], qui a subi quelques modifications [64].

Le test consiste à mélanger, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 100 µl de différentes dilutions d'huiles essentielles avec 2.8 ml de la solution FRAP.

L'absorbance est mesurée à 593 nm après avoir laissé incuber la réaction à l'obscurité pendant exactement 30 min.

La droite d'étalonnage est établie à partir des absorbances lues pour la gamme de solution d'acide ascorbique utilisé comme composé de référence. Elle est de la forme:

$$\text{Abs} = a \times [\text{Fe(II)-TPTZ}] + b$$

Chaque extrait est testé, et l'absorbance qui en découle permet de déterminer sa concentration, en µg d'équivalent Fe(II)-TPTZ en utilisant les formules suivantes :

$$\text{Concentration en } \mu\text{g d'Eq Acide ascorbique} = \frac{\text{Abs}-b}{a}$$

« **a** » : représente la pente, « **b** » : l'ordonnée du droit étalon.

La droite d'étalonnage d'acide ascorbique (**Figure 25**) est réalisée pour des concentrations de 10 à 100 µg/ml.

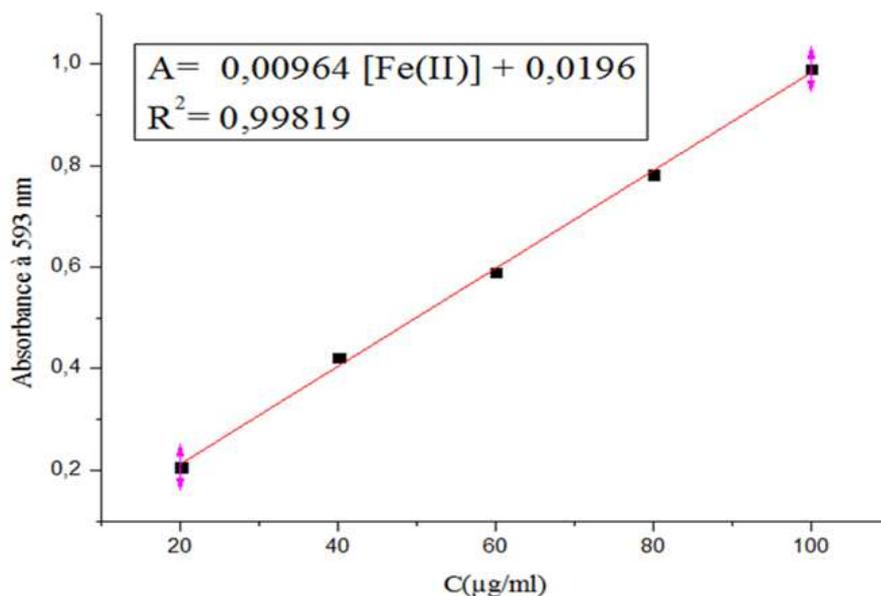


Figure 25 : Droite d'étalonnage d'acide ascorbique dans le test de FRAP.

Les résultats de l'absorbance des huiles essentielles des deux variétés étudiées sont représentés dans le **tableau 13**. Nous constatons que la capacité réductrice est proportionnelle à l'augmentation de la concentration.

Tableau 13 : Absorbances obtenues pour chaque huile essentielle par la méthode de FRAP.

C (µg/ml)	Grand vert			Nain compact
	A HE Ouargla	A HE Constantine	A HE Touggourt	A HE Constantine
20	0.248±0.002	0.456±0.026	0.216±0.0011	0.228±0.009
100	0.401±0.012	0.595±0.016	0.270±0.006	0.289±0.010
200	0.590±0.006	0.625±0.001	0.313±0.019	0.380±0.014
300	0.718±0.017	0.760±0.005	0.656±0.020	0.661±0.005
500	0.796±0.036	0.839±0.009	0.735±0.007	0.776±0.008

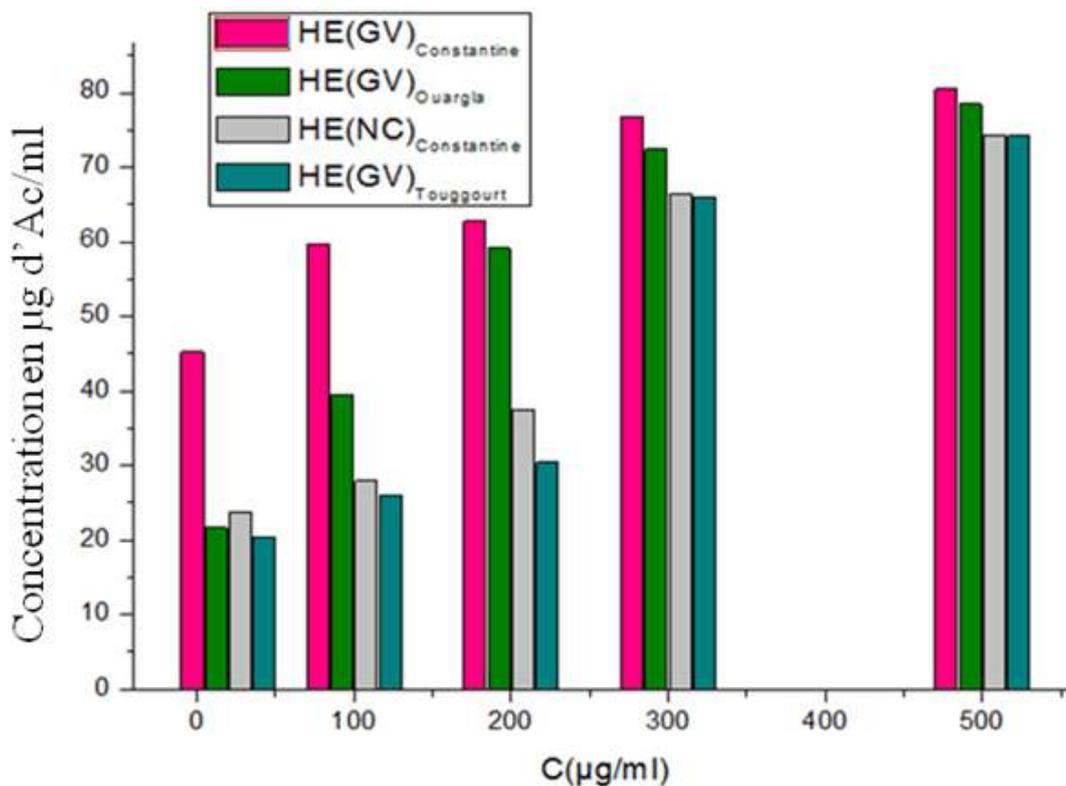


Figure 26 : Activité antioxydante des différentes huiles essentielles de deux variétés par la méthode de FRAP.

Selon les résultats illustrés par la **Figure 26** pour les différentes concentrations des huiles essentielles des deux variétés, nous observons que l'activité antioxydante augmente avec la concentration utilisée. L'huile essentielle de la variété d'*O.basilicum L. gratissium* (grand vert) issus de la région de Constantine à concentration 0.5 mg/ml présente la valeur la plus élevée (80.539 µg d'Eq AC/ml). Pour les autres régions Ouargla et Touggourt on a observé à la même concentration un maximum d'activité (78.46 et 74.21 µg d'Eq AC/ml respectivement).

Le pouvoir antioxydant augmente avec la concentration de l'huile essentielle de la variété d'*O.basilicum L. minimum* (nain compacte) issue de la région de Constantine, la valeur la plus élevée (74.315 µg d'Eq AC/ml) est obtenue à la concentration 0.5 mg/ml.

Plusieurs essais ont été réalisés pour la mesure de l'activité antioxydante des huiles essentielles des deux variétés de la plante investiguée, y compris le test de DPPH et de FRAP.

Les capacités antioxydantes des huiles essentielles de la plante étudiées ont été déterminées et comparées à l'activité antioxydante du composé de référence : l'acide ascorbique.

Dans le test de FRAP la réduction du complexe ferrique-triypyridiltriazine à sa forme colorée ferreux est évaluée en présence d'antioxydant. On utilise ce dosage pour confirmer les résultats obtenus par la méthode de DPPH.

L'huile essentielle de l'*O.basilicum* L. de la région de Constantine montre un pouvoir important à piéger le radical DPPH avec la valeur de CE_{50} de 128.84 ± 0.0453 $\mu\text{g/ml}$ suivi par l'huile essentielle de la région de Ouargla avec la valeur de CE_{50} de 320.96 ± 0.0969 , on peut dire que les huiles de Constantine et d'Ouargla ont une activité moyenne par rapport à l'activité d'acide ascorbique ($CE_{50} = 70.963 \pm 0.0739$ $\mu\text{g/ml}$).

Pour les autres huiles essentielles on a trouvé que l'huile essentielle d'*O.basilicum* L. *gratissium* de la région de Touggourt et l'huile essentielle d'*O.basilicum* L. *minimum* de la région de Constantine présentent la même activité avec les valeurs de CE_{50} suivantes : 554.96 ± 0.0526 et 528.081 ± 0.258 $\mu\text{g/ml}$ respectivement, cette activité est faible par rapport à l'activité d'acide ascorbique.

Ces résultats ont été confirmés par la méthode de FRAP, puisque nous avons montré que l'huile essentielle de l'*O.basilicum* L. *gratissium* de la région de Constantine présente la valeur la plus élevée (80.539 $\mu\text{g d'Eq AC/ml}$) donc l'activité la plus importante suivie par celle de la région d'Ouargla (78.46 $\mu\text{g d'Eq AC/ml}$). En effet, l'huile essentielle d'*O.basilicum* L. *minimum* de la région de Constantine et l'huile essentielle d'*O.basilicum* L. *gratissium* de la région de Touggourt possèdent des activités pareilles avec des valeurs très proches (74.315 et 74.21 $\mu\text{g d'Eq AC/ml}$ respectivement) à la concentration 0.5 mg/ml .

L. Hadj Khelifa *et al* ont trouvé que l'huile essentielle du basilic grand vert de la région d'Ain Defla présente une activité forte (83.54 $\mu\text{g/ml}$) comparée à nos résultats.

L'activité antioxydante des huiles essentielles étudiée est peut être liée aux composés majoritaires qui sont principalement les monoterpènes (α , β -pinène, myrcène, ocimène et α -terpinène...etc.) et les sesquiterpènes (β -bisabolène et β -farnésène...etc.). Ces composés présentent des propriétés antioxydantes importantes. En outre, les huiles essentielles riches en composés oxygénés (linalol, eugénol, géraniol, bornéol et α -terpinéol...etc.) ont une activité antioxydante plus marquée que celle à terpène hydrocarboné [65], ce résultat est confirmé par le travail de S. Lee *et al* [34] qui ont prouvé que l'eugénol, carvacrol et 4-allylphénol montrent une forte activité antioxydante par rapport aux autres constituants.

Le travail d'O. Politeo et ses collaborateurs [51] sur la comparaison de la composition chimique des aglycones volatiles avec celle de l'huile essentielle révélée pour des composés communs : eugénol, chavicol, linalol et α -terpinéol, l'évaluation de l'activité antioxydante de ces composés a été testée par les mêmes méthodes que nous avons utilisées. Le test DPPH montre que l'aglycone a donné une bonne activité antioxydante par rapport à l'huile essentielle et l'antioxydant BHT mais inférieur à celle de l'eugénol. Les résultats obtenus par le test FRAP montrent que l'activité anti oxydante de ces composés est moins efficace que l'huile essentielle et BHT.

Au vu des résultats obtenus dans ces essais, il est clair que l'interaction d'un antioxydant avec le DPPH dépend de sa structure chimique [66]. On remarque aussi que cette activité diffère selon le test utilisé. Ainsi, T. Michel [67], a montré que plus le temps d'extraction et le nombre de cycles d'extraction augmentent, plus la capacité antioxydante des huiles augmente. De même que C. Dabire *et al* [50] ont trouvé que l'Activité antioxydante varie au cours du séchage, l'huile essentielle obtenue à partir du matériel végétal frais présente l'activité antioxydante la plus élevée, avec environ 170 mg d'EAA/ml. Mais cette activité diminue fortement en fonction du temps de séchage des feuilles. Il est important de noter le fait que dans le test de FRAP, toutes les substances réduites réagissent dans le milieu réactionnel [68]. Par ailleurs, l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants [69].

Conclusion générale

Conclusion générale

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antioxydantes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques. Cependant, les travaux de recherche sur les propriétés antioxydantes de certaines plantes sont rares. Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antioxydants naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante, de l'huile essentielle extraite d'une plante connue par ces effets thérapeutiques : l'*Ocimum basilicum* L.

Avant l'évaluation de l'activité antioxydante, nous avons déterminé la composition des huiles essentielles des deux variétés locales de basilic, le basilic grand vert (*Ocimum basilicum* L. *gratissium*) et le basilic nain compact (*Ocimum basilicum* L. *minimum*) par CPG. Les résultats obtenus démontrent que l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* comporte les composés majoritaires suivants :

L'eucalyptol (1.802 %), linalol (27.713 %), méthyle chavicol (26.032 %) et le géraniol (2.924 %), alors que l'eucalyptol (3.11 %), acétate de linalol (30.46 %) et carvacrol (6.04 %) ont été les composés majoritaires d'*Ocimum basilicum* L. *minimum*.

Les deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. ont été cultivées dans trois régions : Constantine, Ouargla et Touggourt. La culture d'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* a réussi dans les 3 régions d'études, par contre la variété d'*Ocimum basilicum* L. *minimum* a connu des difficultés pendant la durée du cycle de croissance dans les deux régions : Ouargla et Touggourt, et sa culture était un succès dans la région de Constantine.

L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* et *minimum*, a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été calculé pour les deux variétés dans les régions étudiées, pour l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* le rendement été voisin de 0.511 ± 0.0061 % issu de la région d'Ouargla et de 0.635 ± 0.0015 % pour la région de Touggourt et pour la région de Constantine le rendement été de

1.145±0.0036 %. Pour la variété d'*Ocimum basilicum* L. *minimum*, l'étude a été effectuée pour une seule région (Constantine), l'extraction a fourni un rendement de 0.1419±0.00026 %

L'activité antioxydante *in vitro* des huiles essentielles a été évaluée par deux méthodes différentes. La méthode de réduction du DPPH• et la méthode de FRAP qui nous ont permis respectivement d'étudier l'activité antioxydante de ses huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L.. Ces dernières ont réduit le radical DPPH• avec des différentes valeurs de CE₅₀ : 320.96±0.0969µg/ml pour l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* de la région d'Ouargla, 554.96±0.0526µg/ml pour le basilic grand vert de la région de Touggourt et 128.84±0.0453 µg/ml pour l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* de la région de Constantine et pour l'*Ocimum basilicum* L. *minimum* de la région de Constantine il a présenté une valeur de 528.081±0.258 µg/ml. La méthode de FRAP nous a permis de confirmer nos résultats obtenus avec les meilleures valeurs pour les concentrations suivantes : pour l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* de la région de Constantine (80.539 µg d'Eq AC/ml), l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium* de la région d'Ouargla (78.46 µg d'Eq AC/ml) et l' *Ocimum basilicum* L. *gratissium* de Touggourt (74.21 µg d'Eq AC/ml) et (74.315 µg d'Eq AC/ml) pour *Ocimum basilicum* L. *minimum* à la concentration 0.5 mg/ml.

De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. Afin de bien mettre en évidence une relation plus significative et plus concrète entre les activités biologiques et la composition chimique des plantes aromatiques et médicinales, l'utilisation des techniques d'analyse chimiques et biologiques plus développées s'impose.

Référence

- [1] C. Bekhechi et D. Abdelouahid., 2010, Les huiles essentielles, Office des publications universitaires. Alger. 1-42.
- [2] F. Bardeau., 1976, La médecine par les fleurs. Robert Laffont.
- [3] G. Legrand., 1978, Manuel préparatoire en pharmacie. 8^{ème} éd. masson.
- [4] S. Lemberg., «Armoise» *Artémisia herba alba*. *Parfumer flavorist*, 7, 58-63. 1982.
- [5] J. Bruneton, 1999, Huiles essentielles, In Pharmacognosie-Phytochimie plantes médicinales. 3^{ème} éd. Doc & Tec. Lavoisier,
- [6] C. Popovici, I. Saykova, B. Tylkowski., 2009, Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de Génie Industriel.*, 4, 25-39.
- [7] D. Huang, B. Ou, R. L. Prior RIOR., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agrc. Food Chem.*, 53, 1841-1856.
- [8] F. Nanjo, K. Goto, R. Seto, M. Suzuki, M. Sakai et Y. Hara., 1996, Scavenging effects of tea catechins and their derivatives on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Free Radic Biol Md.*, 21 (6), 895-902.
- [9] I. F. Benzie et J.J. Strain., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- [10] F.F. Iris, I.F. Benzie et J.J. Strain., 1996, Ferric reducing antioxidant power assay, *Methods Enzymol*, 299, 15–27.
- [11] J. Nilsson, D. Pillal, G. Önning, C. Persson, A. Nilsson et B. Akesson., 2005, Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 239–246.
- [12] I.F. Benzie, W.Y. Chung et J.J. Strain., 1999, Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10(3), 146-150.
- [13] J. Hubert., 2006, Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé

humaines, Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, Spécialité: Qualité et sécurité des aliments, 174.

[14] W. Brand-Williams, M. Cuvelier *et* C. Bereset., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und –Technologie*. 28, 25–30.

[15] M. Pinelo, M. Rubilar, J. Sineiro *et* M. J. Nunez., 2004, Extraction of antioxidant phenolic form almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*), *Food chemistry*, 85, 267-273.

[16] M. J. Awika *et* W. L. Rooney., 2004, Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health, *Phytochemistry*, 65, 1199-1221.

[17] J. Pokorny., 2007, Are the natural antioxidants better-and sufer-than synthetic antioxidants?., *Eur. J. Lipid. Sci. Technol*, 109, 629-642.

[18] R. Flash, M. Osman, A. Dicainson *et* C. Heyes., 2005, The interaction between response effects during the acquisition of response priming, *Acta psycologica*, 122, 11-26.

[19] F.F. Iris, I.F. Benzie *et* J.J. Strain., 1999, Ferric reducing antioxidant power assay, *Methods Enzymol*, 299, 15–27.

[20] B. Ou, D. Huang, M. Hamtsch-Woodill, J. Flanagan *et* E. De-Emer., 2002, Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study, *J. Agric. Food Chem*, 50, 3122-3128.

[21] B. Ou, M. Hamtsch-Woodill *et* R. L. Prior., 2003, Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe, *J. Agric. Food Chem*, 49, 4619-4926.

[22] M. Hernandez-Lopez, J. A. Randez *et* F. Randez-Gil., 2003, Osmotolerance and leaving ability in sweet and frozen sweet dough. Camparative analysis between *Torulaspota delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast strain, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 84 (2), 34-125.

[23] R. Prior, X. Wu *et* K. Schaich., 2005, Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4280-4302.

- [23] Site 1: <http://fr.wikipedia.org> consulté le :19/04/2016
- [24] Site 2 : <http://www.alchemy-works.com> consulté le :22/04/2016
- [25] Site 3 : <http://www.omafra.gov.on.ca> consulté le :19/04/2016
- [26] Site 4 : <http://www.passeportsante.net> consulté le :18/04/2016
- [27] J.M. Clement., 1981, Larousse agricole. Ed. Librairie Larousse, Paris, 144.
- [28] J.L. Pousset, 2004, Plantes médicinales d'Afrique, Provence. 188.
- [29] C.A. Carron, C. Rey et H. Brutin., 2004, Essai de variétés de basilic en montagne., *Revue suisse vitic. Arboric. Hortic.*, 38 (1), 51-55.
- [30] Philippe et Delwaulle., 2006, Culture du basilic. Revue suisse RAC. Arboric. Hortic, 17 (2), 1-8.
- [31] Site 5 : <http://www.saveursdumonde.net> consulté le :28/04/2016
- [32] J.R. Magness, G.M. Markle *et* C.C. Compton., 1971, Food and feed crops of the United States, Bul. 828 New Jersey Agr. Expt. Sta .
- [33] M. Brada, L. Hadj Khelifa, D. Achour, J. P. Wathelet *et* G. Lognay., 2011, Essential Oil Composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Algeria, *Jeobp*, 14 (6), 810 – 814.
- [34] M. Özcan *et* J.C. Chalchat., 2002, Essential Oil Composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey, *Czech J. Food Sci.*, 20(6), 223–228.
- [35] N. Slougui, M. Hadj Mahammed, Z. Rahmani *et* A. Baaliouamer., 2015, Composition of essential oils of six varieties of *Ocimum basilicum* L. Grown in Algeria (Mustaghanem: west of Algeria). *A. j. chem.*, 27(10), 3895-3899.
- [36] L.Hadj Khelifa. M. Brada, F. Brahmi, D. Achour, M.L. Fauconnier *et* G. Lognay., 2012, Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of *ocimum basilicum* leaves from the northern region of Algeria, *Topcls. J. Herbal Med.*, 1 (2), 25-30.
- [37] S.J. Lee, K. Umamo, T. Shibamoto *et* K.G. Lee., 2005, Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties, *Food Chemistry*, 91, 131–137.

- [38] M. Barkat *et* I. Laib. 2011, Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Revue de Génie Industriel*, 6, 46-54.
- [39] AFNOR, Recueil des normes françaises « huiles essentielle », AFNOR. Paris, 57, 1986.
- [40] J. Cazes *et* R. P. W. Scott, Chromatography Theory, Marcel Dekker, 2002.
- [41] Marie-Hélène. Paris Sous la direction de Jean-François PHAM, L'analyse des composés organiques volatils (COV) et leur réglementation dans les produits cosmétiques, Société COLETICA, Rapport de recherche bibliographique Mars 2003, DESS Ingénierie documentaire.
- [42] A. Ian Fowles, 1995, Gas Chromatography Analytical Chemistry by Open Learning Second Edition, John Wiley & Sons Ltd.
- [43] A. Vina *et* E. Murllo., 2003, Essential Oil Composition from Twelve Varieties of Basil (*Ocimum spp*) Grown in Colombia, *J. Braz. Chem. Soc.*,14(5), 744-749.
- [44] R. Nurzynska-Wierdaki, B. Borowski, K. Dzida, G. Zawislaki *et* R. Kowalski., 2013, Essential oil composition of sweet basil cultivars as affected by nitrogen and potassium fertilization, *Turk J Agric For*, 37, 427-436.
- [45] C. Dabire, R.H.C. Nebie, A. Belanger, M. Nacro *et* F. S. Sib., 2011, Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits d'*Ocimum basilicum* L, *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 5(3), 1082-1095.
- [46] O. Polite, M. Jukic *et* M. Milos., 2007, Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil, *Food Chem.*, 101, 379–385.
- [47] M. Kpo Podekon, K. Boko, J. Mainil, S. Farougou, P. Sessou, B. Yeouenou, J. Gbenou *et* J. D. M. Bariau., 2013, Composition chimique et test d'efficacité *in vitro* des huiles essentielles extraites de feuilles fraîches du basilic commun (*Ocimum basilicum*) et du basilic tropical (*Ocimum gratissimum*) sur *Salmonella enterica* sérotype Oakland et *Salmonella enterica* sérotype Legon, *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 035, 41 - 48.
- [48] S. Sajjadi. 2006, Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L) from IRAN, *DARU*; 14(3), 128-130.
- [49] Site 06: Dateandtime.info/Fr/citycoordinates consulté le :18/03/2016
- [50] K. Veres, E. Varga, A. Dobos, Zs. Hadju, I. Mathe, E. Nemeth *et* K. Szabo., 2003,

Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare* ssp ., *vulger* L., and *O. vulgare* ssp. *Hertus* (Link) Ietswaart. *Chromatographia*, 57(12), 95-98.

[51] O. Elkoubi., 2000, Contribution à l'optimisation de la culture biologique de quelques espèces aromatiques et médicinales : thym, sauge et basilic. Thèse de 3^{ème} cycle, IAV Hassan II, Agadir, 161.

[52] C. Sanchez-Moreno., 2002, Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech.* 8: 121-137.

[53] I. Gulcin, V. Mshvidadze, A. Gepdiremen et R. Elias., 2003, Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Med.* 70, 561-563.

[54] P. Molyneux., 2004, The use of the stable free radical diphenyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Tech.* 26(2), 211-219.

[55] V. Roginsky et EA. Lissi., 2005, Review of method to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chem.*, 92, 235-254.

[56] B. Archana, N. Dasgupta et B. De., 2005, *In vitro* study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem.*, 90, 727-733.

[57] N.T. Dung, J.M. Kim et S.C. Kang., 2008, Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food. Chem. Tox.*, 46, 3632-3639.

[58] E. Portes., Synthèse et Etudes de tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. *Thèse de doctorat.* № 3695. Université Bordeaux I, 244p, 2008.

[59] A. Gramza, K. Pawlak-Lemańska, J. Korczak, E.W. Sowicz et M. Rudzinska., 2005, Tea extracts as free radical scavengers. *Polish Journal of Environmental Studies.* 14 (6), 861-867.

[60] H. Qian et V. Nihorimbere., 2004, Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *J. Zhejiang Univ. Sci.*, 5(6), 676-683.

[61] H. Milladi, R. Ben Slama, D. Mili, S. Zouari, A. Bakhrouf, E. Ammar., 2013, Chemical composition and cytotoxic and antioxydant activities of *Satureja Montana* L. essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella* ssp. strains. *J. chem.*, 9-18.

- [62] S. Athamena, L. Chalghemi, A. Kassah-Laouar, S. Laroui et S. Khebri., 2010, Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L, *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69.
- [63] T. Michel., 2011, Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse doctorat Université Oréans.
- [64] L. Rojo, J. Benites, J. Lopez, M. Rojas, M. Diaz, J. Ordonez et E. Pastene., 2009, Antioxidant capacity and polyphenolic content of texelve traditionally used herbal medicinal infusions from the south American Andes. *Boletin Latinoamericano y del Caribe de plantas Medicinales y Aromaticas*. 8 (6), 498-508.
- [65] H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba et C. Abdelly, 2008, Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *C, R. Biologies*, 331, 372-379.

Résumé :

Ce travail fait partie des objectifs de recherche du laboratoire BioGéoChimie des milieux désertiques : la valorisation des plantes aromatiques et médicinales des milieux désertiques.

Dans notre étude, on s'intéresse à l'étude de la composition et l'activité antioxydante des huiles essentielles de deux variétés d'*Ocimum basilicum* L ; *Ocimum basilicum* L. *gratissium* et *Ocimum basilicum* L. *minimum*, cultivées dans trois régions : Constantine, Ouargla et Touggourt.

L'analyse des huiles essentielles des deux variétés de la région de Ouargla par CPG donne les chémotypes suivants : linalol-méthyle chavicol pour l'*Ocimum basilicum* L. *gratissium*, et l'acétate de linalol pour l'*Ocimum basilicum* L. *minimum*.

L'activité antioxydante, des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, a été évaluée par la méthode de réduction du DPPH•. Les valeurs de la CE₅₀ de l'*O.basilicum* L. *gratissium* sont 320.96±0.0969 µg/ml pour la région d'Ouargla, 554.96±0.0526 µg/ml pour la région de Touggourt et 128.84±0.0453 µg/ml pour la région de Constantine. Quant à la variété l'*O.basilicum* L. *minimum* de la région de Constantine; une valeur de 528.081±0.258 µg/ml a été obtenue. La méthode de FRAP nous a permis de confirmer ces résultats.

Mots clés : Huiles essentielles, *O.basilicum* L. *gratissium*, *O.basilicum* L. *minimum*, CPG, rendement, activité antioxydante.

ملخص :

هذا العمل يعتبر جزء من أهداف مخبر البيوجيوكيمياء للمناطق الصحراوية؛ تتمين النباتات العطرية و الطبية في المناطق الصحراوية. في عملنا هذا قمنا بدراسة المكونات و الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية لنوعين من نبتة *Ocimum basilicum* L. *gratissium* و *Ocimum basilicum* L. *minimum* مزروعين في ثلاث مناطق : قسنطينة، ورقلة و تقرت.

تحليل الزيوت الطيارة للنوعين من منطقة ورقلة بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي (CPG) أعطت الأنواع الكيميائية التالية: *Ocimum basilicum* L. *gratissium* لـ linalol-méthyl chavicol و *Ocimum basilicum* L. *minimum* لـ acétate de linalol

الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية المتحصل عليها عن طريق التقطير ببخار الماء قيمت بطريقة الإرجاع لـ DPPH• . قيم CE₅₀ للنوع *O.basilicum* L. *gratissium* هي 320.96±0.0969 ميكروغرام/مل لمنطقة ورقلة، 554.96±0.0526 ميكروغرام/مل لمنطقة تقرت و 128.84±0.0453 ميكروغرام/مل لمنطقة قسنطينة. أما بالنسبة لـ *O.basilicum* L. *minimum* التابع لمنطقة قسنطينة فقد اظهر القيمة 528.081±0.258 µg/ml . طريقة FRAP سمحت لنا بتأكيد النتائج المحصل عليها.

الكلمات المفتاحية: زيوت طيارة، *O.basilicum* L. *gratissium* ، *O.basilicum* L. *minimum* ، كروماتوغرافيا الطور الغازي ، مردود، فعالية مضادة للأكسدة.