



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université KASDI MERBAH Ouargla

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité: Biochimie Appliquée

Présenté par: ATTI Ikram

Thème

**Evaluation des activités antioxydant et
antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el
hanout »**

Soutenu publiquement

Le : 08 / 06 /2014

Devant le jury :

Présidente	Mme BISSATI Samia	Professeur	UKM Ouargla
Encadreur	Mme OULD EL HADJ-KHELIL Aminata	Professeur	UKM Ouargla
Co-encadreur	Mme ANNOU Ghania	MAA	UKM Ouargla
Examineur	Mme BAYOUSEF Zahia	MCB	UKM Ouargla

Année universitaire 2013/2014

Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout »

Résumé

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante et antiradicalaire de quelques épices rentrant dans la composition d'un largement utilisé chez les habitants de Ouargla connu sous le nom de Ras-el-Hanout.

Les épices étudiées sont *Coriandrum sativum*, *Cinnamomum cassia*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum*, *Cuminum cyminum*, *Curcuma longa*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Foeniculum Mill*, *Myristica fragans*, *Rosa damascena* et leurs mélanges préparés à des proportions bien déterminées.

L'évaluation de l'activité antioxydant sur les extraits bruts des différentes épices et leur mélange, est effectuées par la méthode dec fer (FRAB) et la piégeage de radical libre (DPPH)

Le test de FRAP indique la forte activité antioxydant de *Carum carvi*, *Zingiber officinale*, *Cuminum cyminum*, *Piper nigrum*, ces résultats sont confirmés par le test au DPPH, révélant une activité antioxydant considérable cible de ces épices. Mais aussi, la forte activité antioxydant de coriandre non révélée par le test de FRAB (0.0055 mg/ml). Une puissant antiradicalaire de la coriandre a aussi été mise en évidence par le même test.

D'autre épices telles que *Piper nigrum* (5.40 mg/ml), *Curcuma longa* (5.12 mg/ml), *Rosa damascena* (2.56 mg/ml), *Cuminum cyminum* (2.56 mg/ml), ont aussi montre une forte activité antiradicalaire. le mélange d'épices Ras el hanout n'a montré qu'une faible activité antioxydant est une faible activité antiradicalaire.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence le rôle que peut jouer Ras el hanout dans la conservation des aliment et la prévention de maladie causées par de radicaux libre

Mots clé : épices, Ras el hanout ,activité antioxydante, activité antiradicalaire, DPPH, FRAP.

Evaluation of antioxidant and antiradical activities of a mixture of spices "Ras el hanout"

Abstract

The object of our study was to evaluate the antioxidant and antiradical activity of some spices widely used among people of Ouargla known as Ras-el-Hanout.

Studied épices are *Coriandrum sativum* , *Cinnamomum cassia* , *Zingiber officinale* , *Piper nigrum* , *Cuminum cyminum* , *Curcuma longa* , *Pimpinella anisum* , *Carum carvi* , *Foeniculum Mill*, *Myristica fragrans* , *Rosa damascena* and their mixtures at very specific proportions.

The evaluation of différentes spices and mixing crude extracts of the antioxidant activity is carried out by the iron reduction method (FRAP) and trapping of free radical DPPH method.

These results are confirmed by the DPPH test , revealing a target antioxidant activity of these spices . But also strong antioxidant coriander undisclosed by the test FRAP (0.0055 mg / ml) activity.

A powerful antiradical activities of coriander was demonstrated by the DPPH test .

Other spices such as *Piper nigrum* (5.40) , *Curcuma longa* (5.12) , *Rosa damascena* (2.56) , *Cuminum cyminum* (2.56) , also a strong antiradical activity.

Spice mixture Ras el hanout to weak antioxidant activity is low antiradical .
Ent the results of percis Evidance to the role that Ras el hanout little cheeks in the conservation of food and presentation of disease free radicals

Keywords: spices, antioxidant activity, scavenging activity, DPPH, FRAP

تقييم أنشطة المضادة للأكسدة وجذري من خليط من التوابل "راس حانوت"

الملخص

كان الهدف من دراستنا لتقييم النشاط المضادة للأكسدة وantiradical بعض التوابل في تكوين وتستخدم على نطاق واسع بين الناس ورقلة المعروفة باسم رأس الحانوت.

التوابل المعنية بالدراسة هي *Coriandrum sativum*, *Cinnamomum cassia*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum*, *Cuminum cyminum*, *Curcuma longa*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Foeniculum Mill*, *M*

ويتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الخام من مختلف التوابل والاختلاط بها طريقة ديسمبر الحديد (FRAB) ومحاصرة من الجذور الحرة (DPPH)

يشير اختبار FRAP مضادة للأكسدة ان *Carum carvi*، *Zingiber officinale*، *Cuminum* *Piper nigrum*، *cyminum*، تأكدت هذه النتائج وفقا لاختبار DPPH، وكشف عن الهدف considerable نشاط مضادات الأكسدة من هذه التوابل. ولكن الكزبرة لديها مضادات الأكسدة القوية غير مكشوفة من قبل اختبار FRAB قوية (0.0055 ملغ / مل). آخر وقد تجلى أيضا من قبل نفس الاختبار.

التوابل الأخرى مثل *Piper nigrum* (5.40 ملغ / مل)، *Curcuma longa* (5.12 ملغ / مل)، *Rosa damascena* (2.56 ملغ / مل)، (ملغ / مل 2.56) *Cuminum cyminum* وهو أيضا antiradcaire قوية Mantre النشاط النمل. خليط التوابل راس حانوت n'à Mantre ضعف النشاط المضادة للأكسدة هو انخفاض النشاط antiradical.

سمحت لنا النتائج الدور الذي يمكن أن تلعبه راس حانوت في الحفاظ على المواد الغذائية والوقاية من الأمراض التي تسببها الجذور الحرة

الكلمات دالة: التوابل، رأس حانوت، والنشاط المضادة للأكسدة، والنشاط المضاد للجذور الحرة، DPPH، FRAP.

REMERCIEMENTS

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d' *ALLAH* qui ma donné la force afin de l'accomplir.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements et mes vives reconnaissances à notre promotrice Madame *OULD EL HADJ KHELIL Aminata* .Professeur au Département des sciences biologiques de Faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'université *KASDI MERBAH* – Ouargla d'avoir proposé et dirigé ce travail, je la remercie infiniment pour ses conseils judicieux et son attention qu'elle a apporté et pour l'ambiance sympathique qu'elle a créé pour la réalisation de ce mémoire.

Mes vifs remerciements vont également à ma co-encadreur Madame *ANNOU G*, Maitre assistante A département de sciences Biologiques de la faculté SNV à l'Université *KASDI MERBAH* – Ouargla, pour son aide et ses conseils.

C'est avec un grand plaisir que j'adresse mes vifs remerciements à Madame *BISSATIS*, Professeur à la ne la Faculté des sciences de la Nature et de la Vie *KASDI MERBAH*-Ouargla, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.

A Madame *BAYOUCEF Z*, MCB au de sépartment des sciences biologiques l'Université de *KASDI MERBAH* – Ouargla, qui me fait l'honneur d'examiner ce travail. je lui exprime mes sincères remerciments et ma profonde gratitude.

Mes profonde gratitude a aussi à tout le personnel du laboratoire de la polyclinique EL KSAR et de SIDI KHOULED, laboratoire interne de l'hôpital Mohamed Boudiaf ,sans oublier le personnel des laboratoires pédagogique de l'Université de Ouargla.

Enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail

Dédicace

Je dédie ce travail

Tout d'abord et spécialement à ma chère tante pour ses encouragements, sa tendresse, sa disponibilité et ses sacrifices durant toutes mes années d'étude.

A mon chère père, pour son soutien son aide et sa compréhension.

A ma chère, mère et grande mère, pour leur gentillesse, leur tendresse, leur douceur, leur patience et leur encouragement durant toute ma vie et qui sans elles rien n'aurait été possible.

A mes oncles a ma chère sœur : Maïssa et Dounia

Aux mes chère frères : Mouhammed amine ; Charaf el din

A mes collègues de promotion Mastes Biochimie appliquée

Atti ikram

Lister des tableaux

N de tableau	Titre	Page
01	Classification des épices	08
02	Quelque composé phénoliques à activités antioxydant naturels dans les épices	09
03	Vertus de quelque épices avec leurs utilisations culinaires	11 ,12
04	Mécanisme d'action de quelque antioxydant	21
05	Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires	28
06	Les principaux caractéristiques de quelques tests d'évaluation de l'activité antioxydante	36
07	Classification systématique des épices constitutives de ras el hanout	40,41,42
08	les épices constitutives de ras el hanout	49
09	Valeurs des concentrations efficaces et de l'activité antiradicalaires	56

Listes des figures

N de figure	Titre	page
01	Quelque espèce d'épices	07
02	Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde	17
03	Balance radicaux libres /antioxydants	18
04	Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène	21
05	Les systèmes de défense contre les radicaux libres	23
06	Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.	24
07	Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires	25
08	Oxydation de l'acide ascorbique	26
09	Structure de la vitamine E	26
10	Mécanismes d'action antioxydante de la vitamine E sur les radicaux LOO•	26
11	Structure de La β-carotène	27
12	Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques	29
13	Structure du radical stable DPPH	33
14	Structure du radical-cation ABTS ⁺	34
15	Protocole de d'extraction	44
16	Réduction du Fe ⁺³ en Fe ⁺²	45
17	Piégeage du radical libre DPPH•	46
18	Rondement des épices	50
19	Pouvoir réductrice des épices (cumin, carvi,poivre noir) et ac ascorbique	51
20	Pouvoir réductrice des épices (coriandre, fenouil, anis vert) et Ac ascorbique	51
21	Pouvoir réductrice des épices (curcuma, cannelle, mélange) et ac ascorbique	52
22	Pouvoir réductrice des épices(gingembre, églantin, noir de muscade) et ac ascorbique	52
23	Les pourcentages d'inhibition de chaque épices	54 ,55

Liste des abréviations

•OH	Radical libre hydroxyle
¹O₂	: Oxygène singulet
AAPH	: 2,2'-azobis(2-amidinopropane)dichloride
ABAP	: 2,2'-azobis-(2- amidinopropane)
ABTS•-	: l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique),
AGPI	: Auto-oxydation des acides gras poly-insaturés
Aβ	: β-amyloïde
BHA	: Butylhydroxyanisole
BHT	: Butylhydroxytoluène
CAT	:Catalase
CI50	: Concentration inhibant 50% de l'activité
DPPH•	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAO	: Espèces réactives de l'oxygène
ERO	: Espèce réactive d'oxygène
FRAP	: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter
GPx	: Glutathion peroxydases
GSH	: Glutathion réduit
GSHPX	: Glutathion peroxydase
GSSG	: Glutathion oxydé
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
HAT	:Hydrogène Atom Transfer
HOCl	: Acide hypochloreux
L•	: Lipid alkyl radicals
LO•	: Lipid alkoxy radicals
LOO•	: Lipid peroxy radicalMDA
NBT2+	: Nitro-Blue Tétrazolium
NO	: Oxyde d'azote
NO₂	: Dioxyde d'azote
⁻O₂	: Anion superoxyde
O₃	: Ozone
ONOO⁻	: Peroxynitrite
ORAC	: Oxygène Radical Absorbance Capacity
R•	: Radical d'acide gras
RO•	: Radical alkoxy
ROO•	: Radical peroxy
ROOH	: Hydroperoxyde lipidique
SET	: Single Electron Transfer
SOD	: Superoxyde dismutase
TBHQ	: Tétrabutylhydroquinone
TEAC	: Trolox equivalent antioxidant capacity
TPTZ	: 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine
TRAP	: Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter
Trolox®	: Acide 6- hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique
β-PE	: Porphyridium cruentum β Phycoerythrin

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Listes des figures	
Liste des abréviations	
Sommaire	
Introduction	01

Partie I. Partie bibliographiques

CHAPITRE I : Généralité sur les épices

1. Histoire des épices	06
2. Définition	06
3. Classification des épices	07
4. Activité biologique des épices	08
4.1 Activité antimicrobienne des épices	08
4.2. Activité antioxydante	09
5. Domaines d'utilisation des épices	09
5.1. Utilisation médicale	09
5.2. Utilisation cosmétique	10
5.3. Utilisation culinaire	10

Chapitre II : Notion de stress oxydatif et de l'activité antioxydant

I. Stress oxydatif	14
I.1. Historique	14
I.2. Radicaux libres	14
I.2.1. Définition	14
I.1.2. Origine des radicaux libres	15
I.1.2.1. Origine endogène	15
I.1.2.2. Origine exogène	16
I.3. Nature des radicaux libres	16
I.4. Rôles biologique des radicaux libres	17
I.5. Définition du stress oxydant	18

I.6. Les conséquences du stress oxydant	19
I.7. Les maladies liées au stress oxydant	19
II. Antioxydante et activité antioxydante	20
II.1. Définition des antioxydants	20
II.2. Mécanismes d'action des antioxydantes	20
II.3. Classification des antioxydantes	22
II.3.1. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action	22
II.3.1.1. Groupe I (les antioxydants primaires)	22
II.3.1.2. Groupe II (les antioxydants secondaires)	22
II.3.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique	23
II.3.2.1. Les antioxydants naturels	23
II.3.2.1.1 Les antioxydantes enzymatiques	23
II.3.2.1.2. Les antioxydantes non enzymatiques	25
II.3.2.2. Les antioxydantes synthétiques	28

CHAPITRE III : Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire

1. Introduction	31
2. Les tests de l'activité antioxydante et antiradicalaire	31
2.1. Piégeage du radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$)	31
2.2. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 scavenging activity)	32
2.3. Piégeage du radical hydroxyle (HO^{\bullet})	32
2.4. Piégeage du radical peroxyde (ROO^{\bullet}) par la méthode de TRAP et ORAC	32
2.5. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH $^{\bullet}$)	33
2.6. Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])	33
2.7. Réduction de fer par test de FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)	34
2.8. Blancissement de la bêta-carotène (β -carotene bleaching method)	34

Partie II. ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I. Matériels et méthodes

1. Présentation de la région d'étude	39
2. Matériels biologique	39
2.1. Echantillonnage	39

2.2. Classification systématique des épices constitutives de ras el hanout	39
3. Méthodes	42
3.1. Extraction des principes actifs	42
3.1.1. Principe et la méthode d'extraction	42
3.1.2. Rendement de l'extrait brut	45
3.2. Evaluation de l'activité antioxydant	45
3.2.1. Test de réduction du fer : FRAP	
(<i>Ferric reducing antioxidant power</i>)	45
3.2.1.1. Mise en œuvre pratique	46
3.2.1.2. Expression des résultats	46
3.2.2. Piégeage du radical libre DPPH [•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	46
3.2.2.1. Mise en œuvre pratique	47
3.2.2.2. Expression des résultats	47

Chapitre II. Résultats et discussion

II.1 Résultats	49
II.1.1 Concentration des épices	49
II.1.2. Rendement	50
II.1.3. Evaluation de l'activité antioxydant et antiradicalaire	51
II.1.3.1. Réduction du fer : FRAP	
(<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	51
II.1.3.2 Piégeage du radical libre DPPH	
(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	54
II.2. Discussion	57
Conclusion	60
Références bibliographiques	
Annexes	

Introducción

Introduction

Au travers des temps, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'Homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (Svoboda et Svoboda, 2000).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobien, antiseptiques, diurétiques, Mais essentiellement antioxydant qui défendent contre le stress oxydatif (Bourgaud *et al.*, 2001 ; Kar, 2007).

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. La réduction univalente de l'oxygène résulte dans la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulier...etc. Toutes ces espèces sont potentiellement toxiques pour l'organisme car elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) avec, comme conséquence, une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés (Pincemail, 1998).

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (Mata *et al.*, 2007).

Les épices sont classées parmi les plantes médicinales, ces dernières sont des parties de plantes aromatiques à la saveur forte ou des préparations, notamment des mélanges faits à partir de ces plantes, utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateur, assaisonnement ou colorant. Elles peuvent provenir de différentes

Introduction

parties de la plante : l'écorce, exemple de la cannelle, de grains comme pour la coriandre et la cardamome, de feuilles, le cas de la mélisse, de rhizome exemple du curcuma et du gingembre ou de fruits comme pour le piment, l'aneth (Manandhar, 1995).

Les citoyens de Ouargla sont connus par l'utilisation vaste d'un mélange d'épices nommé « Ras-el-hanout », surtout au niveau des plats traditionnels. Ce mélange est usuellement composé de la coriandre, le cumin, la cannelle, le gingembre, le poivre noir, laurier, le piment, le Curcuma, le carvi, le fenouiletc

C'est à ce niveau d'appréhension d'activité antioxydante, se situe notre travail, ayant pour l'objectif d'évaluer l'activité antioxydant des épices constitutives de ras el hanout.

Outre la quantité organoleptique de ce mélange d'épices, il a été rapporté qu'il contribuant aussi dans la conservation des aliments préparées en sa présence .

La recherche d'autre intérêt de ces épices tant appréciées par diverses population est à l'origine de notre travail visent à évaluer les activités antioxydant et anti radicalaire de « Ras el hanout »

Le présent travail est scindé en deux parties. La première regroupant les principales informations sur les épices, la notion de stress oxydatif et de l'activité antioxydant sous forme d'une synthèse bibliographique.

Dans la seconde partie, le matériel biologique et la méthodologie de travail.les principaux résultats obtenus suivie des discussions. Nous achevons notre travail par une conclusion.

Etude
Bibliographique

Chapitre I

Généralité sur les épices

CHAPITRE I : Généralité sur les épices

1. Histoire des épices

Le mot "épice" du latin "species" désigne une substance aromatique d'origine végétale (Droniou-Cassaro, 2012).

Les épices sont originaires pour la plupart, des régions tropicales d'Asie (Inde, Indonésie, Asie du sud-est) et d'Amérique (Mexique, Pérou, Antilles).

Dans l'Antiquité, en Mésopotamie, les Assyriens et Babyloniens utilisaient déjà des épices dans la nourriture, en médecine et en parfumerie. Le commerce des épices était alors comparable en importance à celui de l'or ou des pierres précieuses. Les égyptiens se servaient aussi des épices pour embaumer les morts et confectionner des parfums et des onguents.

XIX^{ème} siècle, la culture des épices s'est très largement étendue. L'Indonésie, restent un fournisseur important, mais est supplantée sur le marché international par l'Amérique latine (Droniou-Cassaro, 2012).

Aujourd'hui, les épices sont devenues de banals ingrédients de l'art culinaire, ils sont toujours un peu précieuses, surtout quand elles sont rares et leurs pouvoirs sont encore reconnus (Droniou-Cassaro, 2012).

2. Définition

Les épices sont des parties de plantes aromatique à la saveur forte. Ou des préparations, notamment des mélanges faits à partir de ces plantes. Elles sont utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateur, assaisonnement ou colorant. Un grand nombre d'épices étaient employées autrefois en médecine (Figueredo, 2012). Les épices sont à différencier d'autres produits utilisés pour parfumer les plats, comme les herbes aromatiques ou les fruits. Ces derniers sont classés parmi les épices et reçoivent l'appellation d'épices commune, vue leur utilisation dans l'assaisonnement (ou condiment), Le basilic, le romarin, le thym, le persil, l'estragon ou laurier en sont de bon exemple, dont on peut utiliser tout ou une partie de la plante suivant son intérêt aromatique (Droniou, 2012). Les épices peuvent provenir de différentes parties de la plante : l'écorce, exemple de la cannelle, de grains comme pour la coriandre et la cardamome, de feuilles, le cas de la mélisse, de rhizome

exemple du curcuma et du gingembre ou de fruits comme pour le piment, le fenouil, l'aneth et la moutarde. Les épices peuvent provenir de différentes parties de la plante : l'écorce, exemple de la cannelle, de grains comme pour la coriandre et la cardamome, de feuilles, le cas de la mélisse, de rhizome exemple du curcuma et du gingembre ou de fruits comme pour le piment,. Les épices sont devenues aujourd'hui des denrées banales ; contiennent beaucoup de vitamines et de minéraux. On les utilise pour leurs qualités gustatives mais aussi pour leurs vertus médicinales : antibactériennes, antioxydants, antiseptiques, analgésiques, énergisantes, anti-inflammatoires, antiémétiques et antispasmodiques (Xavier, 1996 ; Raghavan, 2007 ; Droniou, 2012 ; Muhammad *et al.*, 2012)

Les épices peuvent être utilisées seules ou sous forme d'un mélange d'épices. Parmi ces mélange on mentionne, le curry, caractéristique de la cuisine Indienne (Baharun, 1997) et Ras el Hanout qui est un mélange d'épices originaire d'Afrique du Nord à base de cumin, paprika, menthe, curcuma, coriandre, fenouil, fenugrec, romarin et origan. Certains ajoutent les pétales de rose concassées et de la cannelle. Son nom signifie «toit de la boutique» soit le meilleur des mélanges d'épices. Ce condiment très parfumé relève le riz, le couscous et les tajines. Il est très utilisé dans la cuisine algérienne, tunisienne et marocaine (Audibret, 1997).



Figure 01: Quelques espèces d'épices (Droniou, 2012)

3. Classification des épices

La classification des épices est basée sur les caractéristiques morphologiques des plantes (tableau 01). Or, dans le domaine des industries alimentaires et de la

gastronomie, il est intéressant de regrouper les épices en fonction de leurs propriétés organoleptique (couleur, odeur, arômes et saveur) (Richard, 1987).

Tableau 01 : Classification des épices (Richard, 1987)

La classe	Exemple d'épice	La famille
Epices à saveur piquante et brûlante	<i>Piper nigrum L</i>	piperacée
	<i>Zingiber officinal</i>	Gingérols, shogaols
	<i>Capsicum sp</i>	solanacée
Epices à pouvoir colorant	<i>Crocus sativus L</i>	Iridacée
	<i>Curcuma longa L</i>	zingibéracée
	<i>Capsicum annuum L</i>	Solanée
Epices aux notes terpéniques citronnées	<i>Citrus sinensis L</i>	Rutacée
	<i>Citrus limon L</i>	Rutacée
	<i>Coriandrum sativum L</i>	Ombellifère
Epices à note épices choude	<i>Cuminum cyminum L</i>	Ombellifère
	<i>Cinnanomomum Zeylanicum</i>	Lauracée
	<i>Crum carvi L</i>	Ombellifère
Epices à odeur phénolique	<i>Eugenia caryophyllata Thomsp</i>	Myrtacée
	<i>Pimenta dioica L</i>	Myrtacée
	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Lauracée
Epices à odeur anisée	<i>Pimpinella anisum L</i>	Ombellifère
	<i>Illicium verum hookes</i>	Magnoliacée
Epices à notes florala	<i>Ocimum basilicum L</i>	Labiée
	<i>Coriandrum sativum L</i>	Ombellifère

4. Activité biologique des épices

4.1 Activité antimicrobienne des épices

Le premier rapport des propriétés antimicrobiennes des épices est apparu en 1880, dans le quel les activités de la moutarde, clou de girofle et de la cannelle et leurs huiles ont été décrites (Prasad et Seenayya, 2000).

En 1994 Shetty, *et al.*, ont rapporté que l'huile des graines de cumin a des propriétés antimicrobiennes. Sagdic et Ozcan, (2003) ont révélé *in vitro* l'activité antibactérienne des hydrosols de seize épices, sur quinze espèces bactériennes. Les hydrosols du cumin ont été actifs, seulement sur *Bacillus brevis*, *Entérobacter aerogenes* et *Escherichia coli O157 :H7*.

Le pouvoir antifongique des composés majeurs des plantes aromatiques et des épices a été mis en évidence par de nombreux auteurs, contre les moisissures

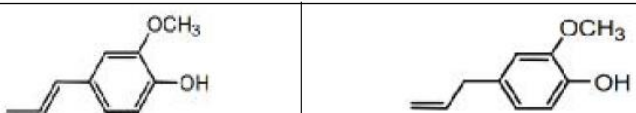
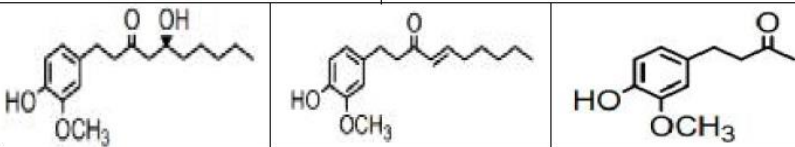
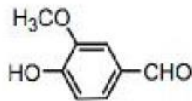
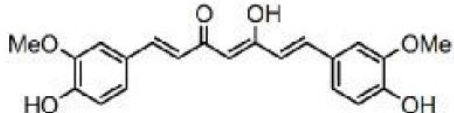
allergisantes (Billerbeck et al., 2002; Ouraini et al., 2005), et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure), *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (Teixeira, 2005).

4.2. Activité antioxydante

Les épices en générale, sont très riches en métabolites antioxydants (tableau...), une vaste revue scientifique a classé la cannelle moulue au quatrième rang parmi les 50 aliments renfermant le plus d'antioxydants par portion de 100 g (Halvorsen et al., 2006).

Les huiles essentielles du romarin et du cumin ont montré des activités antiradicalaires et anti-oxydantes (Halvorsen et al., 2006).

Tableau 02: Quelque composé phénoliques à activités antioxydant naturels dans les épices (Portes, 2008).

Végétaux	Composés phénoliques présents	Structures
Muscade	Isoeugénol / Eugénol	
Gingembre	Gingérol / Shogaol / Zingérone	
Vanille	Vanilline	
Curcuma	Curcumine	

5. Domaines d'utilisation des épices

Les épices ont de nombreuses utilisations. Elles sont employées, soit sous leur forme naturelle comme condiment et en pharmacopée traditionnelle, soit par leurs extraits renfermant des principes actifs recherchés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (Bahorun et al., 1997).

5.1. Utilisation médicinale

Les plantes médicinales y compris les épices, représente la base des remèdes traditionnels de la médecine populaire et des médecines savantes existant avant la médecine chimique moderne (médecines ayurvédique, chinoise et hippocratique). Aux doses utilisées en cuisine, toutes les épices sont bonnes pour la santé. Certaines épices facilitent la digestion des mets lourds, soit par les tanins contenus qui favorisent la sécrétion biliaire, soit parce qu'elles contiennent des lipases ou des protéases qui pré-digèrent les aliments qu'elles accompagnent (Bahorun *et al.*, 1997). Le cumin, en poudre ou en décoction est très utilisé dans le traitement des troubles gastro-intestinaux. Il est en effet recommandé comme stomachique, carminatif, antispasmodique et vermifuge. On emploie aussi sa décoction comme emménagogue. En usage externe, le cumin est utilisé en cataplasmes sur la nuque contre les oreillons (Bellakhdar, 1997). Le gingembre est également employé comme agent stomachique, tonique et dans le traitement des gastrites, des dyspepsies et l'inappétence. Il augmente le flux salivaire et le tonus de la musculature intestinale (Wichtl et Anton, 2003). La curcumine, en effet exerce une activité antiprotéase inhibant l'action du HIV ainsi qu'une activité anticancéreuse. La principale action de la curcumine est sa capacité à inhiber la formation d'espèces oxygénées actives comme les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde (Portes, 2008).

Enormément d'épices ont des activités antimicrobienne et antioxydant, et sont utilisées alors comme antiseptiques, analgésiques et anti-inflammatoires et également indiquées pour lutter contre les maladies du stress (Doucet-leduc, 1993 ; Mohammedi, 2006 ; Droniou et Cassaro, 2012 ; Omar et Atrooz, 2013).

5.2. Utilisation cosmétique





Un grand nombre des épices et leurs constituants sont utilisés dans l'élaboration des parfums, produit de beauté et produit de toilette. Ces essences servent à préserver ces produits cosmétiques grâce à leur activité antiseptique tout en leur assurant leur odeur agréable (Mallea *et al.*, 1979).


Le Cumin (*Cuminum cyminum* L.) et le carvi (*Carum carvi* L.) sont des plantes aromatiques de la famille Apiaceae qui sont utilisés dans les aliments, les parfums et préparations médicales (liqueurs, bains de bouche, dentifrices, savons, et parfums). (Atrooz, 2013).

5.3. Utilisation culinaire

On utilise les épices comme aromates, essentiellement végétales, pour l'assaisonnement, la coloration et la conservation des aliments ou des boissons, certaines épices sont aussi utilisées comme suppléments diététiques, L'exemple de curcuma «safran de l'Inde», riche en curcumine, qui est un colorant atoxique autorisé (E100), stable à la chaleur et peu sensible aux variations de pH. D'où leur large utilisation comme colorant alimentaire autorisé (E100) (Beraoud, 1990 ; Wichtl et Anton, 2003). Certaines épices doivent être ajoutées en début de cuisson, d'autre ne doivent pas cuire, elles sous peine de perdre toutes leurs qualités. En règle générale, il faut ajouter les épices aux trois quarts de la cuisson (Beraoud, 1990). Le tableau II mentionne les vertus de quelques épices avec leurs utilisations (Lejeune *et al.*, 2009).

Tableau03: Vertus de quelque épices avec leurs utilisations culinaires

L'épice	Vertus	Utilisation
 <p>La noix de musarde</p>	Aphrodisiaque, sédatrice, digestive, combat les gaz stomacaux, la diarrhée, les nausées et favorise le cycle menstruel,...	Utilisé dans certains plats sucrés et salés, surtout s'ils sont préparés avec du lait et du fromage, les légumes, les sauces et les pâtes, la sauce béchamel
 <p>Coriandre</p>	Aide à chasser les insomnies, la constipation, les douleurs d'estomac. Digestive et stimulante, aphrodisiaque, antibactérienne, tonique.	utilisée dans les mélanges d'épices, dans les plats de viande. La graine de coriandre sert à assaisonner des mets de tout genre à base de chou,
 <p>Curcuma</p>	Diurétique, il prévient les problèmes inflammatoires et aide à réduire les graisses qui encombrant le foie et l'estomac. Soigne les problèmes de peau	Utilisé dans Moulu Sauces, caris, riz, à titre de colorant et aussi dans les tajine aux légumes et à la viande
 <p>Cannelle</p>	Tonique, antiseptique, bactéricide, stimule les systèmes respiratoires, digestifs et circulatoires	- Permet de diminuer les quantités de sucre. -Délicieux dans les gâteaux, tartes aux pommes, muffins, dans une tasse de chocolat....etc

	<p>Combat les ballonnements, le mal de foie, l'anémie (fer), le mal des transports et les maux de tête, les douleurs rhumatismales, ouvre l'appétit, facilite la digestion et aurait des vertus aphrodisiaques,...</p>	<p>-le gingembre est employé comme épice ; c'est un condiment recherché pour la préparation de certaines bières, de pain d'épice, de gâteaux, de liqueurs...</p>
	<p>stimulante, sédative, expectorante, carminative</p>	<p>Crudités, salades, potages, pâtisserie, confiserie, liqueurs</p>
	<p>-Digestive, diurétique, stimulante, antibactérienne, insecticide, bactéricide,...</p> <p>-le poivre noir est le plus piquant</p>	<p>-Utilisé dans les plats de viande, les grillades, les sauces, les dressings, le poisson et le fromage</p> <p>- sont bactéricides ils sont également excellents pour la conservation des aliments.</p>
<p>Poivre noir</p>		

Chapitre II

*Notion de stress
oxydant et de l'activité
antioxydant*

Chapitre II : Notion de stress oxydatif et de l'activité antioxydant

I. Stress oxydatif

I.1. Historique

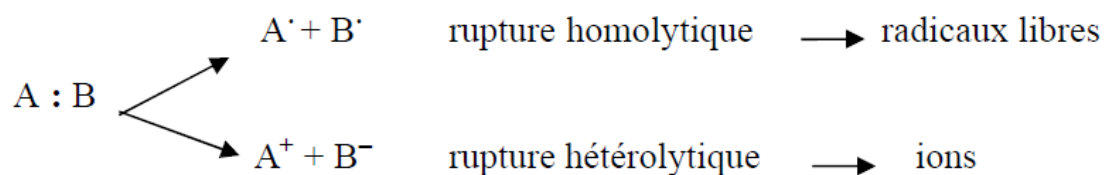
Les Radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même pour le grand public. Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisqu'il faut rappeler que dans le milieu des années 50, Gerschman puis Hartman évoquaient déjà la toxicité de l'oxygène et la « free radical theory » pour expliquer le processus du vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains un système enzymatique antioxydant superoxyde dismutase « SOD », démontrant ainsi pour la première fois que notre organisme produit des espèces réactives d'oxygène « ERO » dont il doit se protéger. Cette découverte sera le point de départ d'une intense recherche scientifique dans le monde entier sur le stress oxydant et les antioxydants (Favier, 2003).

I.2. Radicaux libres

I.2.1. Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques (Meziti, 2007).

Selon la définition proposée par Halliwell et Gutteridge , (1996). Les radicaux libres sont des espèces capables d'exister indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente selon le schéma suivant :



entre les atomes A et B gagne l'orbitale externe de ces atomes, qui deviennent alors des radicaux libres (Bonnefont-rousselet *et al.*, 2003).

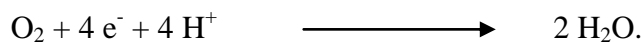
Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant un à une autre molécule. Ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants. En jouant le rôle d'accepteur ou de donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de nanoseconde à la milliseconde) (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Bien que le terme de radical libre ait souvent été assimilé à une espèce réactive ou à un oxydant, il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (Diallo, 2005).

Les radicaux libres sont très instables de par leur configuration électronique et leur durée de vie est très courte (de 4 à 10 S). Leur réactivité réside dans le fait qu'ils recherchent un électron pour reappairier leur électron célibataire, entraînant la propagation du phénomène par création d'un nouveau radical libre. Ils produisent ainsi des réactions en chaîne qui peuvent aboutir à des dénaturations ou destructions au niveau cellulaire (Gardès-Albert, 2003).

I.1.2. Origine des radicaux libres

I.1.2.1. Origine endogène

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation :



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$) mais surtout de l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$). La dismutation de $\text{O}_2^{\bullet-}$ va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis indirectement au radical hydroxyl ($\bullet\text{OH}$) (Pincemail, 2002 ; Valko *et al.*, 2006).

Les radicaux libres peuvent également être produits lors de la défense antibactérienne. Les cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles...) activées

pendant la réaction inflammatoire, vont libérer un anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Ce phénomène est appelé la flambée respiratoire. Les radicaux superoxydes formés peuvent alors subir eux aussi des transformations donnant naissance aux dérivés oxygénés toxiques.

La régulation des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée (apoptose). fait appelle aussi à la production endogènes des radicaux libre (Pincemail, 2002 ; Valko *et al.*, 2006).

I.1.2.2. Origine exogène

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives (Favier, 2003) :

Les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants) et les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , 1O_2 et de molécules génératrices de radicaux libres.

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO_2), des toxiques présents dans notre environnement (suie, goudron, tabac, polluants industriels) sont également responsables de la synthèse de radicaux libres. Ils sont à l'origine d'une auto-oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaires (Favier, 2003).

Il a aussi été montré que l'ingestion d'alcool pouvait être à l'origine de la production de radicaux libres. Ils sont produits au cours de l'oxydation de l'acétaldéhyde. Mais aussi certains médicaments anti-cancéreux antibiotiques (Favier, 2003 ; Mohammedi, 2005). L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres.

D'autres facteurs sont également capables de générer des radicaux libres dans l'organisme, en citant, les rayonnements UV, les particules inhalées (amiante, silice) l'ingestion d'alcool, des anticancéreux (Favier, 2003).

I.3. Nature des radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Favier, 2003).

Du point de vue de la terminologie, il est souvent fait mention d'espèces réactives de l'oxygène. Ces espèces incluent non seulement des radicaux libres dérivés de l'oxygène : anionsuperoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($\bullet OH$), radical hydroperoxyde (HO_2^{\bullet}), radical peroxyde (RO_2^{\bullet}), radical alcoyle(RO^{\bullet}), mais d'autres espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), acide hypochloreux ($HOCl$), Ozone (O_3), Oxygène singulet (1O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$) (Bonfont-rousselot *et al.*, 2003), qui ne sont pas réactives mais peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

Par ailleurs, tous les radicaux libres ne sont pas des dérivés de l'oxygène, par exemple le monoxyde d'azote ($\bullet NO$) est un radical libre dérivé de l'azote (Bonfont-rousselot *et al.*, 2003). mais d'autres espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), acide hypochloreux ($HOCl$), Ozone (O_3), Oxygène singulet (1O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$) (Bonfont-rousselot *et al.*, 2003), qui ne sont pas réactives mais peuvent être des précurseurs de radicaux (Favier, 2003).

Il ne faut pas penser que tous les radicaux d'oxygène sont extrêmement réactifs, cette réactivité étant très variable selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde comme le monoxyde d'azote ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives (Favier, 2003 ; Bouhadjra, 2011).

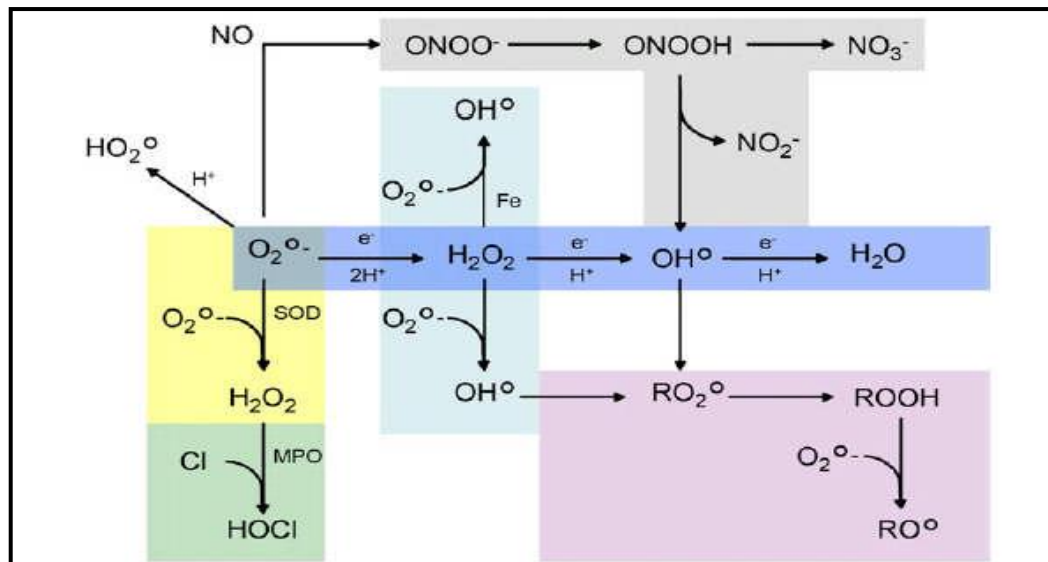


Figure 02 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

I.4. Rôles biologique des radicaux libres

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui à part la phagocytose, ont été découvertes récemment.

Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes (Favier, 2003), à la production énergétique, au règlement de la croissance des cellules et à la signalisation intracellulaire (Ardestani et Yazdanparast, 2007 ; Touafek, 2010 ; Marfak, 2011).

I.5. Définition du stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (Favier, 2003).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (Diallo, 2005). L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé (Aruoma, 1999).



Figure 03 : Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004).

I.6. Les conséquences du stress oxydant

L'attaque des radicaux libres au sein des doubles liaisons lipidiques membranaires, induit des processus de peroxydations en cascade aboutissant à la désorganisation complète de la membrane, altérant de ce fait ses fonctions d'échange, de barrière et d'information (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

La toxicité des EOR s'exerce également sur les protéines. Les EOR sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, l'histidine, la cystéine et la méthionine. Les EOR sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des EOR. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN, mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont « réparées » entraînent à long terme des altérations géniques (Koechlin-Ramonatxo, 2006).

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant :

mutation, carcinogenèse, malformation des foetus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppressions (Favier, 2003).

I.7. Les maladies liées au stress oxydant

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

II. Antioxydante et activité antioxydante

II.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit.

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

Les épices en générale, sont très riches en métabolites antioxydants, une vaste revue scientifique a classé la cannelle moulue au quatrième rang parmi les 50 aliments renfermant le plus d'antioxydants (Halvorsen *et al.*, 2006).

II.2. Mécanismes d'action des antioxydantes

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006).

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

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (Yaacoub, 2009 ; Hellal , 2011).

Tableau 04 : Mécanisme d'action de quelque antioxydante

	NATURE	MODE D'ACTION
Défenses non enzymatiques	Vitamine E	Neutralise les radicaux libres
	Vitamine C	Participe aux réactions d'oxydoréduction
	Bêta carotène	
	Bêta carotène	
	Bêta carotène	Fixation des métaux de transition
	Ubiquinone, acide urique...	
Défenses enzymatiques	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydroperoxydes

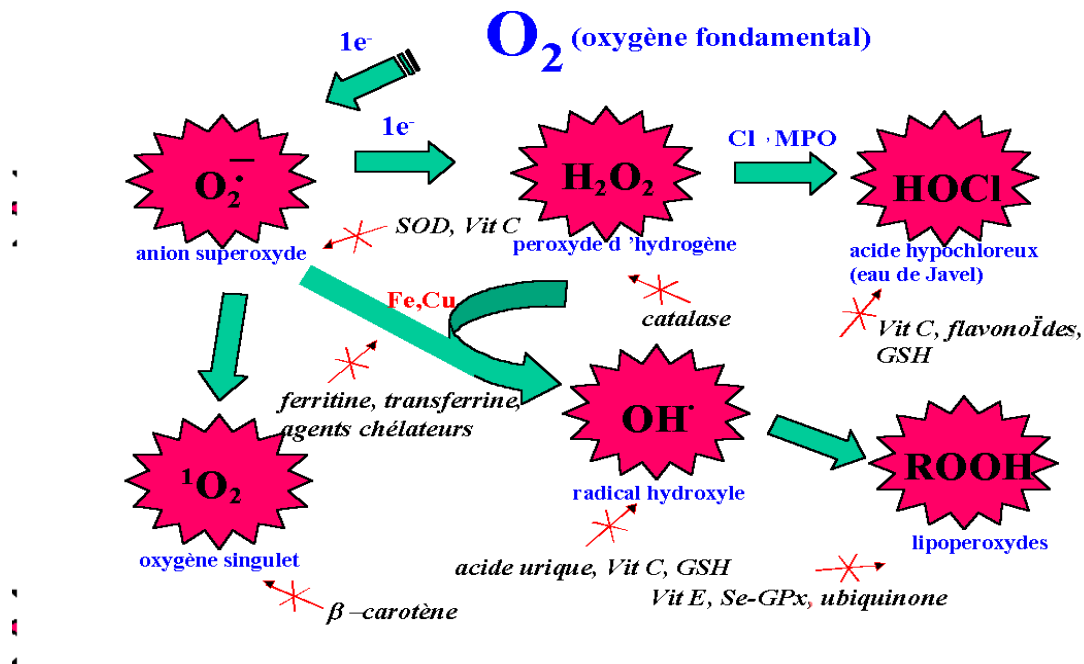


Figure 04: Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces. GSH: glutathion, Cl $^-$: anion chlorure; MPO: myéloperoxydase, SOD: superoxyde dismutase, Se-GPx: glutathionperoxydase séléno-dépendante (Pincemail, 1998).

II.3. Classification des antioxydantes

II.3.1. Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés (groupe 1) ou en épurant les radicaux libres oxygénés formés (groupe 2). En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Gardès- Albert, 2003).

II.3.1.1. Groupe I (les antioxydants primaires)

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les

radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxylysés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement (ROO·). Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation (Frankel *et al.*, 2000 ; Huang *et al.*, 2005).

II.3.1.2. Groupe II (les antioxydants secondaires)

Les antioxydants secondaires englobent une large gamme de différentes substances chimiques chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singlet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydants et destructeurs des hydroperoxydes.

Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions antioxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singlets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux (Miller *et al.*, 1996).

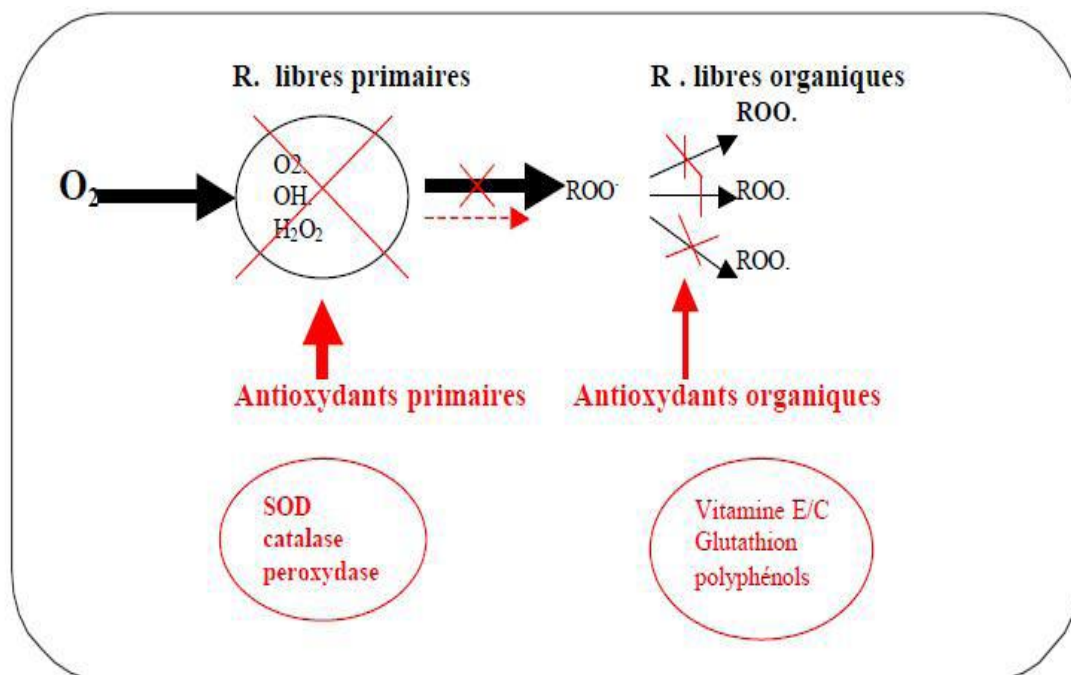


Figure 05 : Les systèmes de défense contre les radicaux libres (Binov, 2001).

II.3.2. Classification des antioxydants suivant la nature chimique

II.3.2.1. Les antioxydants naturels

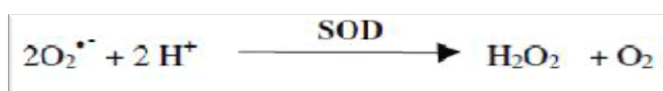
Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo*. Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E...etc. (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres.

II.3.2.1.1 Les antioxydantes enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques s'agit principalement de trois enzymes ; la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du $O_2^{\bullet-}$ et du H_2O_2 , conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel *et al.*, 2001).

A. Les superoxydes dismutases (SOD)

La famille des superoxyde-dismutases comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H_2O_2 et O_2 (Antwerpen, 2006). L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc (Goudable et Favier, 1997).



B. Les catalases

Essentiellement présente dans les peroxysomes et dans les érythrocytes, est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Delattre *et al.*, 2005), mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux (Lindau-Sehpard et Shaffer, 1993).



C. Les glutathions peroxydases et réductases (GSHPX) :

Les glutathions peroxydases et réductases sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) (Marfak, 2003).

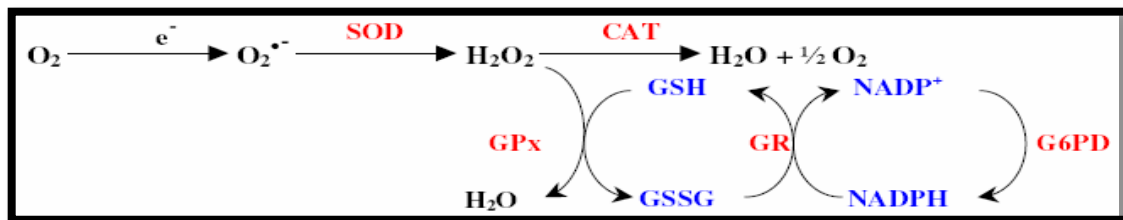
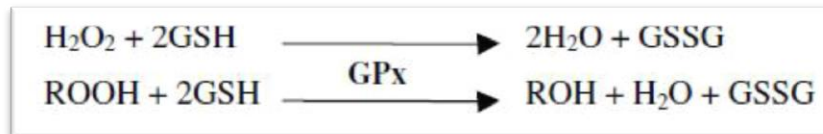


Figure 06: Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydant, l'ensemble formant un système complexe : glutathion réductase, thioredoxine réductases, glutathion transférase.

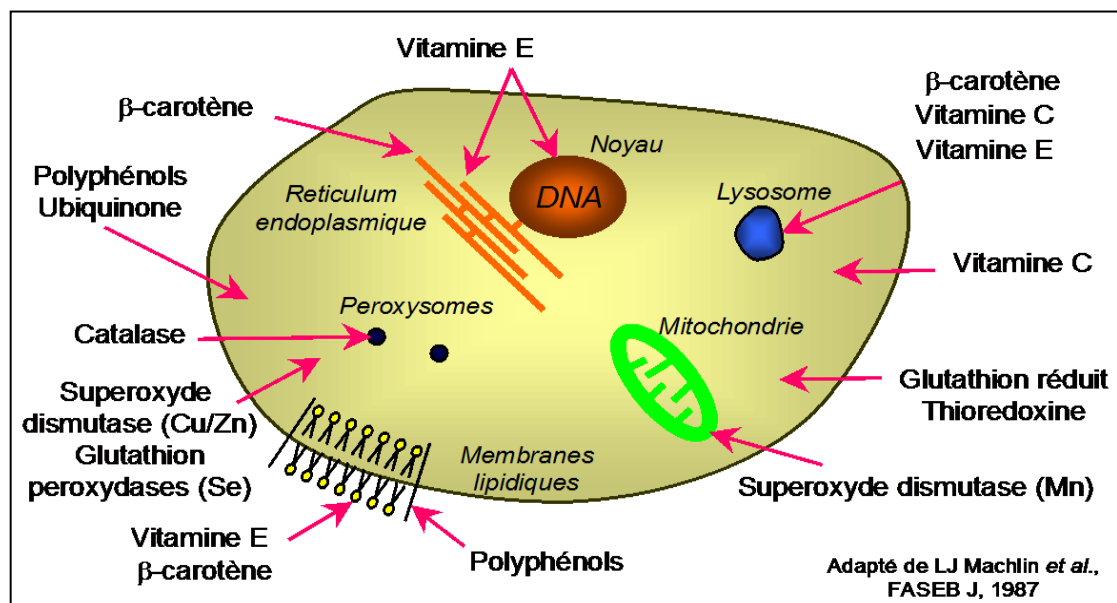


Figure 07: Schématisation des molécules intervenant dans les protections cellulaires (adapté par (Machlin *et al.*, 1987).

II.3.2.1.2. Les antioxydantes non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols (KANOUN, 2011).

A. La vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes O_2^- , du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , des radicaux hydroxyles $HO\bullet$, et de l'oxygène singlet 1O_2 . Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, avant qu'ils initient la peroxydation lipidique le produit formé étant le radical ascorbyle. La vitamine C protège ainsi les biomembranes et les lipoprotéines. (Bouldjadj, 2009).

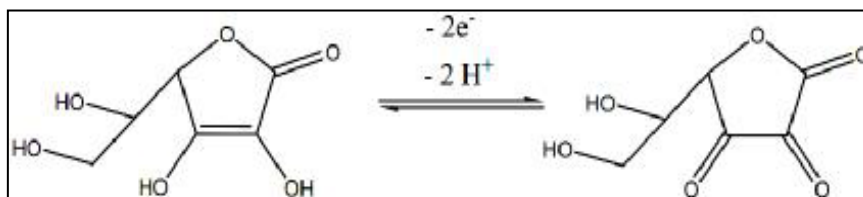


Figure 08 : Oxydation de l'acide ascorbique

B. vitamine E

La vitamine E regroupe de nombreux composants, les α -, β -, γ - et δ -tocophérols et tocotriénols (Ohrvall *et al.*, 1996).

Le vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique. (Figure 3) (Evans, 2002 ; Packer *et al.*, 1997 ; Goussard, 1999).

En protégeant ainsi les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement. La vitamine E joue un rôle important dans l'agrégation de la β -amyloïde ($A\beta$), d'ailleurs, les données cliniques ont prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E. Il a été déterminé que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus biodisponible que la vitamine E synthétique (Burton et Ingold, 1986).

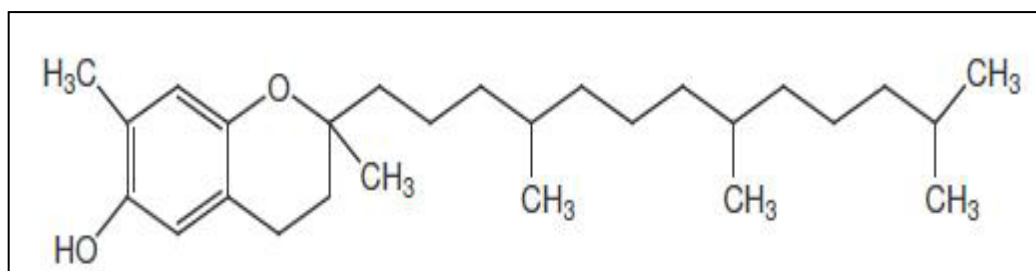


Figure 09 : Structure de la vitamine E

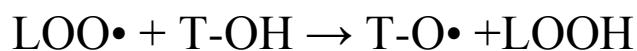


Figure 10 : Mécanismes d'action antioxydante de la vitamine E sur les radicaux $\text{LOO}\cdot$

C. La β -carotène

Le β -carotène, précurseur de la vitamine A, est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante en s'opposant à la génotoxicité de nombreux agents (Allard *et al.*, 1994).

L'activité antioxydante de ceux-ci est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux $\text{ROO}\cdot$, $\text{HO}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$, $\text{R}\cdot$ par simple addition électrophile et transfert d'électron (Valko *et al.*, 2006).

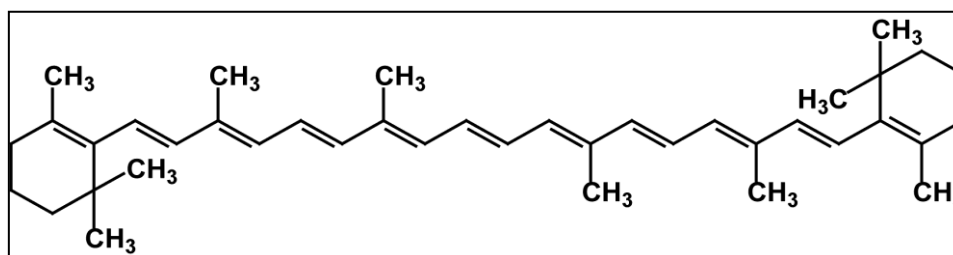


Figure 11 : Structure de La β -carotène

D. Glutathion

Le glutathion est agent antiradicalaire composé de 3 acides aminés : cystéine, acide glutamique et glycine. Les deux derniers acides aminés sont produits rapidement par l'organisme mais la cystéine est un acide aminé semi-essentiel, qui doit donc être présent dans notre alimentation. Le glutathion joue un rôle majeur dans

la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation (Stamler et Slivka, 1996 ; McCall et Frei, 1999 ; Masella *et al.*, 2005 ; Delattre *et al.*, 2005). Le rôle protecteur et détoxifiant de glutathion résulte principalement de sa fonction comme coenzyme de glutathion peroxydase (GSHPX).

De plus il a des interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E (Gerard- Monnier et Chaudière, 1996 ; Nakazawa *et al.*, 1996 ; Nakazawa, Genka, *et al.*, 1996).

E. Les oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Ces oligoéléments jouent le rôle de cofacteur pour maintenir l'activité catalytique des enzymes antioxydantes (Garait, 2006).

Ainsi, le sélénium (Se) joue un rôle clé dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire. Cette fonction est due à sa présence dans le site actif des glutathions peroxydases sélénodépendantes, et à l'activité biologique anti radicalaire des scléroprotéines (Lhuillier, 2007).

Le zinc (Zn) et le Cu jouent un rôle dans le fonctionnement de SOD. Le zinc protège les groupements thiols (SH) des protéines contre l'oxydation induite par le fer, en empêchant la formation de ponts disulfure intramoléculaires (Bouldjadj, 2009).

F. Polyphénols

Les polyphénols, représentés par les flavonoïdes, les acides phénolique, les tannins, coumarines, stillibènes et les lignanes, suscitent un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs (Beecher, 2003 ; Williams et Grayer, 2004; Kueny-Stotz, 2008). Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication, probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardio-vasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (Hemingway, 1992 ; Rock., 2003 ; Boizot et Charpentier, 2006 ; Bassas *et al.*, 2007).

Tableau 05: Principaux nutriments antioxydants et leur sources alimentaires (Mohammedi, 2013).

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre et dans les œufs et les noix
β-carotène	Légumes et fruits orangés et vert foncés
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales et volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres et produits laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes et thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies et cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins et vin
Métabolisme de cystéine, glutathion	Caséine, Lactalbumine (petit-lait), produits laitiers Brocoli, chou, œufs, poissons et viandes

II.3.2.2. Les antioxydantes synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels.

Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Lisu *et al.*, 2003). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu *et al.*, 2000). En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomaux du foie et des organes extra-hépatiques (Barlow, 1990). Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat (Ito *et al.*, 1985).

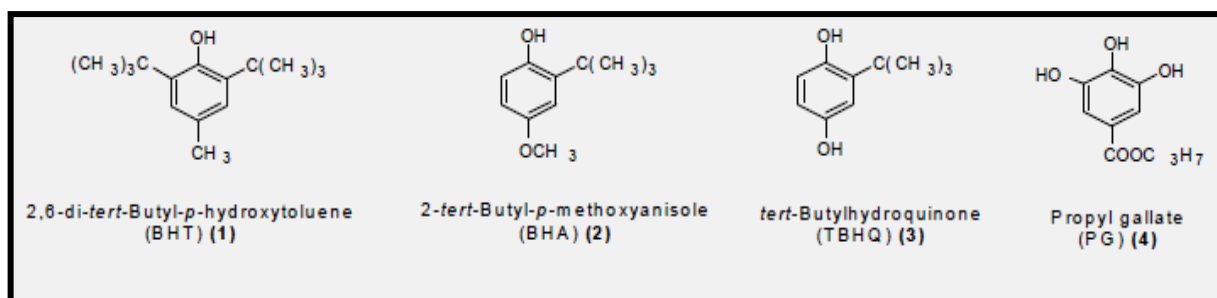


Figure 12: Structures chimiques de quelques antioxydants synthétiques

Chapitre III

*Evaluation de
l'activité antioxydant
et antiradicalaire*

CHAPITRE III : Evaluation de l'activité antioxydante et antiradicalaire

1. Introduction

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydant par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphenyl-picrylhydrazyle). Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants a la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydant peut être mesuré quantitativement d'une façon bien précise (Cristina *et al.*, 2009).

Le plus souvent, il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydant de l'échantillon a tester (Cristina *et al.*, 2009).

2. Les tests de l'activité antioxydante et antiradicalaire

2.1. Piégeage du radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

Cet essai évalue la capacité d'un produit à capturer un radical libre, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Ce radical est généré *in vitro* par le système hypoxanthine/xanthine oxydase.

Dans cette méthode, le radical réduit le NBT₂⁺ (Nitro-Blue Tétrazolium) de couleur jaune, en bleu de formazan de couleur pourpre qui absorbe à 560 nm.

Ainsi, un composé antioxydant capable de capturer l'anion superoxyde empêchera la formation du bleu de formazan et la solution restera jaune. Les absorbances obtenues permettent de calculer un pourcentage de la réduction du NBT₂⁺ par rapport à un témoin constitué du milieu réactionnel dépourvu de composé antioxydant. On peut ensuite tracer une courbe représentant le logarithme du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en composé testé, et

déterminer la CI50 (concentration inhibant 50% de radicaux libre) (Parejo *et al.*, 2002).

2.2. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV.

Comme la concentration de H₂O₂ diminue par les composés piègeurs, la valeur d'absorbance de ce dernier à 230 nm diminue également. Néanmoins il est tout à fait normal que les échantillons absorbent également à cette longueur d'onde, exigeant ainsi l'exécution d'une mesure blanche (Malgalhaes *et al.*, 2008).

2.3. Piégeage du radical hydroxyle (HO•)

La capacité des substances à piéger le radical hydroxyle est souvent évaluée par le pourcentage d'inhibition de la réaction du radical OH• avec une molécule détectrice. (Clement et Armstrong, 1972). Les molécules détectrices utilisées dans la littérature, sont nombreuses. On peut citer le désoxyribose (Halliwell *et al.*, 1987), la dopamine (Slivka et Cohen, 1985), la thymine (Hicks et Gebick, 1986), la 4-nitrosodiméthylaniline (Kraljic et Yrumbore, 1965), etc...

Le radical hydroxyle est produit par réaction entre le fer (Fe²⁺/EDTA) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence d'acide ascorbique. Le désoxyribose, par action du radical hydroxyle, va être dégradé en malon-dialdéhyde (MDA) (Cheeseman *et al.*, 1988) dont l'apparition est suivie par réaction avec l'acide thiobarbiturique (TBA). Le produit ainsi formé est détectable par une mesure d'absorbance à 532 nm. La capture du radical (HO•) par la substance à étudier, se fait par compétition avec le désoxyribose. Ainsi une diminution de la quantité du chromogène formé est observée se traduisant par une diminution de l'absorbance (Read et Randat, 1988).

2.4. Piégeage du radical peroxyde (ROO•) par la méthode de TRAP et ORAC

La mesure de l'activité antiradicalaire par ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity) développée par Cao *et al.*, (1993) est une méthode simple et reproductible permettant d'évaluer la capacité antioxydante de différentes molécule.

La β -PE (β Phycoérythrine) est une protéine fluorescente extrêmement sensible au stress oxydatif. En présence d'AAPH [(2,2'-azobis (2-amidinopropane) dichloride), qui est un donneur du radical peroxy], la structure tétramérique de la β -PE est modifiée, elle se dimérise. Cette dimérisation dépendante de la concentration en radicaux peroxydes du milieu réactionnel. Et peut être suivie en mesurant la décroissance de la fluorescence de la β - PE en fonction du temps. Cette cinétique de décroissance de la fluorescence, est directement reliée à la concentration de radicaux libres présents dans le volume réactionnel.

Dans le test TRAP (total radical trapping antioxidant potential), l'AAPH est solubilisé en milieu aqueux avec l'antioxydant et un indicateur qui devient luminescent lorsqu'il est oxydé à 37°C, comme le luminol. La capacité des antioxydants à bloquer l'oxydation de l'indicateur est comparée à celle du Trolox (témoin) (Schlesier *et al.*, 2002).

2.5. Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al.*, 1995).

La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517nm provoquée par la présence des extraits phénoliques. Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits (Molyneux, 2004).

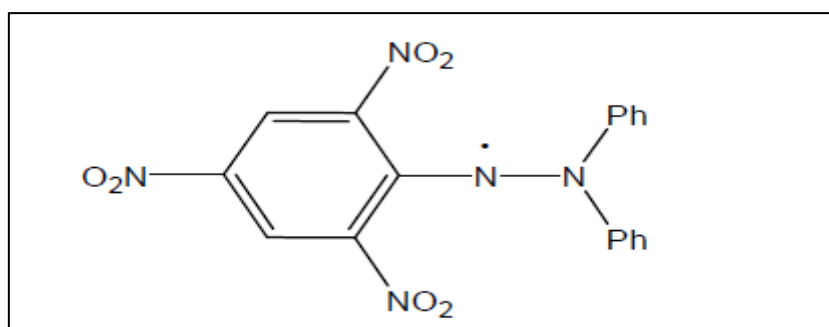


Figure 13 : Structure du radical stable DPPH° (Molyneux, 2004).

2.6. Piégeage du ABTS (2,2'-azynobis-[3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonic acid])

Dans la méthode TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), l'activité antioxydant totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical $ABTS^{\bullet+}$, obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique)) comparativement à un antioxydant de référence : le Trolox® (acide 6- hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique), dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E. L'obtention du radical cation résulte en contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation.

Le radical $ABTS^{\bullet+}$, en contact avec un donneur de H^{\bullet} conduit à l' $ABTS^+$ et à la décoloration à 734 nm de la solution (Lien *et al.*, 1999).

D'autres auteurs utilisent l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ou $ABTS^{\bullet-}$, à la place de son sel d'ammonium et analysent l'inhibition du radical $ABTS^{\bullet-}$. La cinétique de réaction de l'antioxydant étudié doit être examinée préalablement pour déterminer la fin de réaction. La capacité antioxydante en équivalent Trolox® (TEAC) correspond à la concentration (mmole/l ou mg/l) de Trolox® ayant la même activité qu'une même concentration unitaire de substance à tester, jus de fruit par exemple (Miller et Evans, 1997).

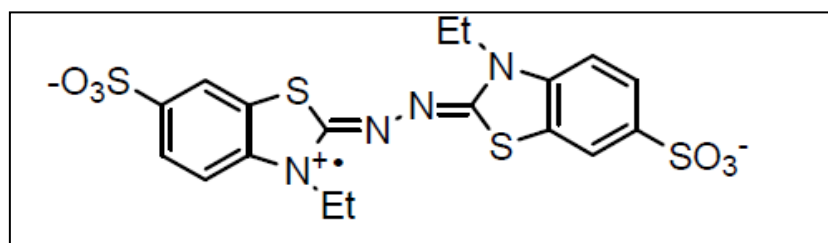


Figure 14 : Structure du radical-cation $ABTS^{\bullet+}$ (Miller et Evans, 1997).

2.7. Réduction de fer par test de FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)

Comme son nom l'indique, cette technique a été développée pour mesurer la capacité du plasma à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. Le Fe^{2+} à un pH faible forme un complexe avec la 2,4,6-tris(2-pyridyl)-1,3,5-s-triazine (TPTZ) de couleur bleue qui a une absorption maximale à 594 nm. Ainsi, la formation de ce

complexe indiquera un pouvoir réducteur qui détermine la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant.

Les valeurs sont obtenues sont comparées avec l'absorbance d'un témoin qui est l'acide ascorbique usuellement (Benzieet et Strain, 1996 ; Pulido *et al.*, 2000).

2.8. Blancissement de la bêta-carotène (β -carotene bleaching method)

Cette technique spectrophotométrique développée par (Marco, 1968), puis légèrement modifiée par (Miller, 1971). Consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du β -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β -carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique. L'addition d'antioxydants purs (Von Gadow *et al.*, 1997) ou sous forme d'extraits végétaux (Moure *et al.*, 2000 ; Koleva *et al.*, 2001) induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple.

Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince (Pratt et Miller, 1984). Après séparation chromatographique, un mélange de β -carotène et d'acide linoléique est pulvérisé sur la plaque, celle-ci étant alors exposée plusieurs heures à la lumière du jour ou aux UV jusqu'à décoloration du fond jaune. Les bandes où la couleur jaune persiste, indiquent la présence de substances antioxydants.

Cependant, l'oxydation induite par voie thermique est non contrôlée et donc non spécifique, ce qui conduit bien souvent à une variabilité des résultats. Pour contourner ce problème, certains auteurs ont remplacé la chaleur par des agents oxydants conduisant à des résultats plus reproductibles, comme l'AAPH (Parejo *et al.*, 2003) ou la lipoxygénase de soja (Chaillou et Nazareno, 2006). Cette méthode est sujette au parasitage de composés absorbants dans la fenêtre spectrale du β -carotène. Frankel, (1998) a également critiqué l'utilisation d'acides gras libres qui ne représentent pas des modèles lipidiques réalistes. Enfin, l'interprétation des données n'est pas aisée car le β -carotène est lui-même un antioxydant, sensible à l'oxygène. L'ensembles des test, se leur mécanicem sont regroupés dans le tableau 06.

Tableau 06 : Les principaux caractéristiques de quelques tests d'évaluation de l'activité antioxydante

Tests	DPPH	ABTS ou TEAC	FRAP	ORAC
Mécanismes réactionnels	-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	-CI 50 et /ou en mg μ mol équivalent trolox®	-CI 50 et /ou μ mol équivalent trolox®	-en mg μ mol équivalent Fe ⁻²	CI 50 et /ou μ mol équivalent trolox®
Avantages	-très faciles à mettre en œuvre -peu couteux	-très faciles à mettre en œuvre -cinétique de la réaction très rapide -peu couteux	-très faciles à mettre en œuvre - peu couteux	-faciles à mettre en œuvre - couteux (nécessite d'un fluorimètre)
Inconvénients	-encombrement stérique de molécules à haut poids moléculaires -interférences possible à 515 -forte décondense au PH et au solvant -radical inexistant <i>in vivo</i>	-produit de dégradation antioxydant -radical inexistant <i>in vivo</i>	-PH utilisé non physiologique - interférences possibles à 595nm	- mécanismes de génération des ROO° non physiologique - interférences possibles des protéines
Référence	(Brand-William <i>et al.</i> , 1995 Pinelo <i>et al.</i> ,2004)	(Awika <i>et al.</i> ,2003 ;Arts <i>et al.</i> ,2004 ;Osman <i>et al.</i> ,2006)	(Benzie et Strain,1996 ;Ou <i>et al.</i> ,2002)	(Ou et al ,2001 ;Lopez et al.,2003)

Partie
Expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

Partie II. ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I. Matériels et méthodes

1. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Ouargla est située au sud est du pays à environ 800 km de la capitale Algérienne, au fond d'une cuvette très large de la ville d'el-oued M'ya. La wilaya d'Ouargla couvre une superficie de 1 63 233km². Elle est limitée au nord par les wilayas de Djelfa et d'el oued, au sud par les wilayas de Tamanrasset et Illizi, à l'est par la Tunisie et à l'ouest par la wilaya de Ghardaïa

La wilaya comporte actuellement 21 communes regroupées en 10 Daïras pour une population de 544.367 habitants soit une densité de 3.953 habitants par km² (D.P.A.T 2004).Benzine I., 2009).

2. Matériels biologique

2.1. Echantillonnage

Le matériel végétal qui est constitué d'un mélange d'épices a été acheté chez trois herboristes différents dans région d'Ouargla.

Il a été demandé à chacun d'eux de peser chaque épices rentrant dans la composition de « Ras el hanout ». En veillant sur l'odeur forte et la couleur éclatante caractéristique de chacune des épices étudiée.

Les proportions exactes des épices constitutions du mélange « Ras el hanout » ont été déterminée au laboratoire, en évaluant le pourcentage de chaque épices dans le mélange.




2.2. Classification systématique des épices constitutives de ras el hanout

Les classification des caractéristique des différent épices constituant le mélanges « Ras el hanout » sont courigés dans tableau 08.

Tableau 08 : Classification systématique des épices constitutives de ras el hanout

Epices	Classification systématique	Caractéristique botanique
<p>(<i>Coriandrum sativum</i> L) Coriandre</p> 	<p>Règne : plantae Classe : dicotyledones Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : coriandru Espèce : <i>coriandrum sativum</i> (Quezel et Santa, 1963).</p>	<p>Plante annuelle pouvant atteindre 0,8 m de hauteur, la racine est pivotante et fuselée, la tige est ronde, grêle, finement striée et ramifiée dans la partie supérieure. Les feuilles sont vert clair, Glabres et alternes, les fleurs sont radiales, régulières, Le fruit est un diakène (Paloma, 2012). C'est une plante glabre et luisante, (Aouadhi , 2010)</p>
<p>(<i>Cuminum cyminum</i>) Cumin blanc</p> 	<p>Règne : Plantae Classe : Magnoliophyta Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : <i>Cuminum</i> Espèce : <i>Cuminum cyminum</i> L (Quezel et Santa ,1963).</p>	<p>Le cumin est une plante herbacée annuelle, avec un mince ramifié tige de 20 à 30 cm de hauteur. Les fleurs sont petites, blanches ou roses, et le fruit est fusiforme contenant une seule graine. Les graines de cumin sont similaires à fenouil et d'anis en apparence, mais sont plus petites et de couleur plus foncée (Muhammad et Asad ,2012).</p>
<p>(<i>Carum carvi</i>) Carvi</p> 	<p>Règne : plantae Classe : Magnoliophyta Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : <i>Carum</i> Espèce : <i>Carum carvi</i> (Paloma , 2012)</p>	<p>Le carvi est une plante bisannuelle, ou pluriannuelle pouvant atteindre 0,3 à 1 m de hauteur. La racine est longuement pivotante, fuselée et charnue (Brigitte et al,2008). Les feuilles sont alternes, pétiolées, glabres et Les fleurs sont de petite taille, radiales, Les fleurs sont de petite taille, radiales, Et fruit est un diakène ovoïde ou oblong.</p>
<p>(<i>zingiber officinal</i>) Gingembre</p> 	<p>Règne : Plantae Classe : Liliopsida (Monocotylédones) Ordre : Scitaminales ou zingibérale Famille : Zingiberaceae Genre : <i>Zingiber</i> Espèce : <i>Zingiber officinale</i> (Quezel et Santa, 1963)</p>	<p>Le gingembre est une grande plante herbacée, d'environ 1,30 m, vivace par son rhizome. Les tiges stériles et fertiles, sans fleur (Daovy, 2009). Les feuilles persistantes sont lancéolées, longues et odorantes. Les fleurs sont blanches jaune ponctuées de rouge. renfermant les graines noires enfermées dans des capsules trivalves apparaît au bout d'une tige couverte d'écailles (Aouadhi, 2010) La partie utilisée est le rhizome (Daovy, 2009).</p>

<p>(<i>Curcuma domestica</i>) Curcuma</p> 	<p>Régne : Plantae Classe : Monocotylédones Ordre : Scitaminales ou zingibérales Famille : <i>Zingiberaceae</i> Genre : Curcuma Espèce : <i>Curcuma domestica</i> (Wichtl et Anton, 2003)</p>	<p>le curcuma est une plante vivace pouvant atteindre un mètre de hauteur (Didier Le Bail 2009) Les rhizomes principaux de forme ovoïde fournissent le curcuma rond Epais (partie utilisée). Ses feuilles, très longues, oblongues à elliptiques, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. Les gaines des feuilles forment une pseudo-tige courte (Hombourger, 2010)</p>
<p>(<i>Pimpinella anisum</i>) Anis vert</p> 	<p>Régne : plantae Classe : Magnoliopsida Ordre : Apiales (bouderdara, 2013.) Famille : Apiaceae Genre : <i>Pimpinella</i> Espèce : <i>Pimpinella</i> (Paloma, 2012)</p>	<p>L'Anis vert est une plante annuelle et très aromatique, sa racine est fusiforme et porte une tige ronde, cannelée qui se ramifie au sommet. L'anis peut atteindre de 20 à 50 cm de hauteur (Aouadhi, 2010). Les feuilles de couleur vert pâle, sont composées de folioles* cordiformes* et lobées, les fleurs sont petites, blanches, radiales. Le fruit (grains) est un diakène comprimé au niveau de la face dorsal (Paloma, 2012).</p>
<p>(<i>Foeniculum Mill</i>) graine de fenouil</p> 	<p>Règne : plantae Classe : Magnoliopsida Ordre : Apiales Famille : Apiaceae Genre : <i>Foeniculum</i> Espèce : <i>Foeniculum Mill</i> (Reduron ,2007)</p>	<p>Herbacée annuelle ou bisannuelle de 1,25 à 2,5 m de hauteur et à longue racine fuselée, La tige est cylindrique et rameuse à la fois souple et tubuleuse. les feuilles supérieures sont sessiles, glabres, à limbe bi- ou tripennatiséqué, découpé en lanières filiformes et très allongées. longuement pédonculées Les fleurs sont régulières, radiales Le fruit est un diakène formé de 2 méricarpes . (Paloma, 2012)</p>
<p>(<i>Cinnamomum cassia</i>) Cannelle</p> 	<p>Régne : <i>plantae</i> Classe : <i>Dicotyledonae</i> Ordre : <i>Magnoliales</i> Famille : <i>Lauraceae</i> Genre : <i>Cinnamomum</i> Espèce : <i>cinnamomum cassia</i> (Girre, 2001)</p>	<p>La cannelle est un petit arbre de 10-15m de hauteur aux feuillages persistants. L'écorce (partie utilisée) est grise à l'extérieur et rougeâtre à l'intérieur. Les grandes feuilles coriaces, longues de 10 cm de couleur vert foncé brillant. Les fleurs de couleur blanche jaunâtre son petites et toutes velues en grappes longues Les fruits sont des petites baies brun rouge (Aouadhi Samia, 2010)</p>

<p>(<i>Piper nigrum</i>) Poivre noir</p> 	<p>Règne : plantae Classe : Magnoliopsida Ordre : Piperales Famille : Piperaceae Genre : Piper Espèce : pipre <i>nigrum</i></p> <p>Nom commun : Poivre noir</p>	<p>Le système racinaire de <i>Piper nigrum</i> est de trois à six racines principales d'où émergent un réseau de racines latérales (Maistre, 1964). Les tiges sont des lianes grêles, pouvant dépasser dix mètres de hauteur (Maistre, 1964) (Teuscher et al, 2005) les sont sphérique de trois à huit millimètres, d'abord verte puis jaune, enfin rouge à maturité (Swahn,1993).</p>
<p>(<i>Rosa canina</i> L) Eglantine</p> 	<p>Règne : plantae Classe : Magnoliophyta Ordre : Rosidae Famille : Rosaceae Genre : Rosa Espèce: <i>Rosa canina</i> (Juss, 1789)</p>	<p><i>Rosa canina</i> est Un petit arbre d'escalade, vivaces de 1 à 2 m de hauteur dont les tiges sont très crochus qui épaississent à la base. Les feuilles sont imparipennées composé de à 5à 7 folioles dentées. Les fruits sont ovales, et quand rouge matures. La floraison a lieu entre mai et juin. <i>Rosa canina</i> est une espèce extrêmement polymorphe (Ghrabi, 2001).</p>
<p>(<i>Myristica fragans</i>) Noix muscade</p> 	<p>Régne : plantae Classe : dicotylédones Ordre : Magnoliales Famille : Myristicacées Genre : Myristica Espèce : <i>Myristica fragans</i> Nom commun : noix de muscade</p>	<p>La noix de muscade est le fruit qui comprend 300 espèces réparties en 19 genres. Le <i>Myristica fragrans</i> est un arbre pouvant atteindre jusqu'à 10 mètres voire même 20 mètres de hauteur, ses branches sont nombreuses, avec des feuilles de 10 cm de long</p> <p>Arbre vivace à feuillage persistant humides .Le fruit rond, jaune pâle strié de rouge et vert a la taille d'un abricot (Doucet-leduc, 1993) le muscadier pousse dans les régions tropicales chauds (Aouadhi , 2010).</p>

3. Méthodes

3.1. Extraction des principes actifs

3.1.1. Principe et la méthode d'extraction

L'extraction des principes actifs est effectuée par la macération, qui est une opération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant (méthanol) pour en extraire les principes actifs, est une extraction qui se fait à température ambiante.

Après collecte, le matériel est bien nettoyé, lavé rapidement dans l'eau de robinet puis dans de l'eau distillé. Puis essuyé et séché dans un endroit aéré et frais et à l'abri de soleil. Après séchage les épices sont broyées grossièrement dans un moulin électrique.

L'extrait brut des épices étudiées est obtenu par macération. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant. La séparation se fait par filtration. Elle est utilisée couramment dans l'extraction des terpènes, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des acides gras, des amines.....etc (Penche, 2010; Lumbu *et al*, 2005).

Les poudres des épices étudiées sont mises à macérer pendant 24 heures à température ambiante, dans un mélange éthanol-eau (80:20 V/V). L'extraction est refaite 3 fois avec renouvellement du solvant. Les macéras sont réunis et filtrés sur papier filtre. Le solvant est éliminé du filtrat sous vide à 40°C à l'aide d'un Rotavapor. Le principe de l'appareil consiste à évaporer le solvant sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation, le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite (40°C), évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide (Penche, 2010). Après l'évaporation du solvant, l'extrait sec est solubilisé dans le méthanol (figure 15).

Les différentes étapes de notre expérimentation sont représentés dans la figure

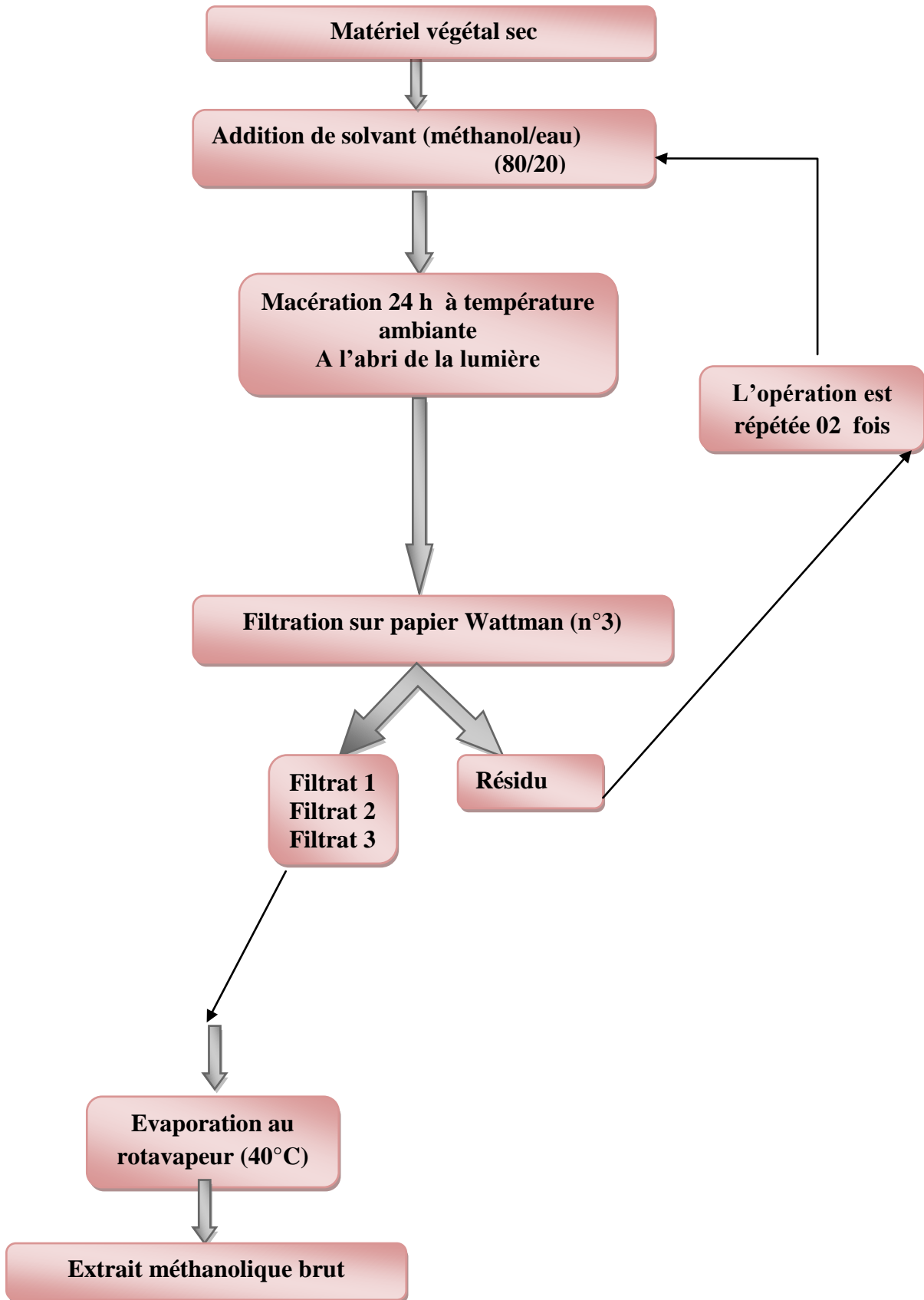


Figure 15 : Protocole d'extraction

3.1.2. Rendement de l'extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé *via* l'équation :

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

R(%) : Rendement en %

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1998)

3.2. Evaluation de l'activité antioxydant

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé deux différents tests chimiques à savoir : le test Feric Reducing Antioxydant Power assay (FRAP) qui mesure les pouvoir de réduction des ions de fer. et l'effet (scavanger) d'un antioxydant sur le radical 2,2diphényl1-1-picryl-hydrazyl (DPPH).

3.2.1. Test de réduction du fer : FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm (Oyaizu, 1986). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

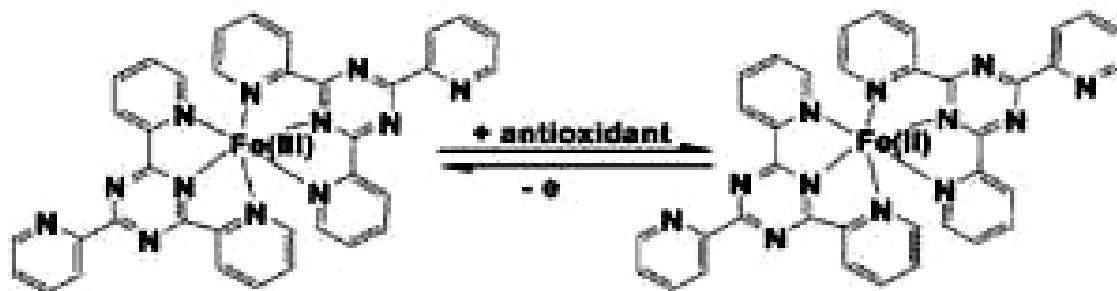


Figure16 : Réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} .

3.2.1.1. Mise en œuvre pratique :

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu (1986)**. En effet, 2,5 ml de différentes concentrations de chaque extrait (4,7, 2,35, 1,17, 0,58, 0,29 mg/ml) dilué dans le méthanol est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 7.4) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. après, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml $FeCl_3$ (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

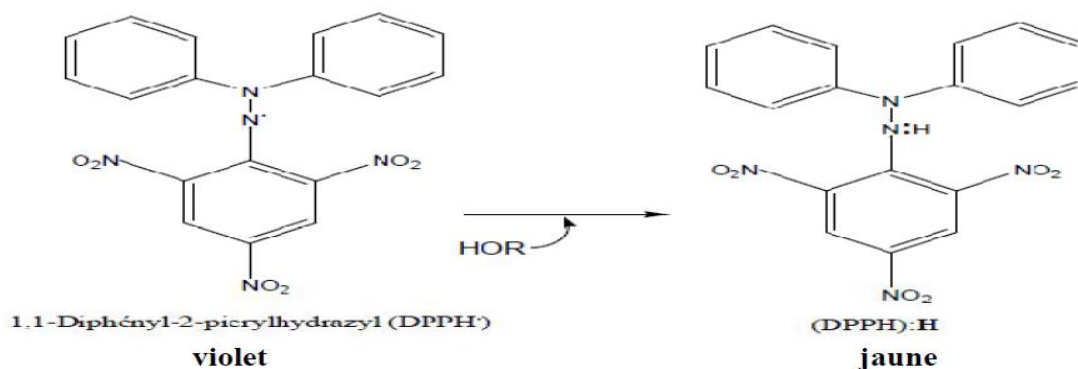
L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

3.2.1.2. Expression des résultats

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour les différentes fractions des extraits étudiés. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

3.2.2. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH[•] (2,2-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH[•] est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Parejo *et al*, 2002) .



3.2.2.1. Mise en œuvre pratique

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou *et al.*, (2007).

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,024 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

3.2.2.2. Expression des résultats

3.2.2.2.1. Calcul des pourcentages d'inhibitions

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I \% = ((AC-AT)/AC) \times 100$$

AC : absorbance du contrôle négatif

AT : absorbance du test effectué

3.2.2.2.2. Calcul des concentrations efficaces IC₅₀

Le IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH[•]. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées

3.2.2.2.3. Calcul de l'activité anti radicalaire

APR ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à l'EC₅₀ (concentration d'inhibition)

$$APR = 1/EC_{50} \text{ (Prakash et al, 2007).}$$

Chapitre II

Résultats et discussion

Chapitre II. Résultats et discussion

II.1 Résultats

II.1.1 Concentration des épices

Tableau 08 : les épices constitutives de ras el hanout

Quantité	Echantillon 1		Echantillon 2		Echantillon 3		Moyenne	
La noix de muscade	6,06	1.06	9,09	1.93	10,93	1.93	11,22	5.11
Poivre noir	24,63	4.31	17,28	3.67	17,48	3.67	23,79	11.38
Cannelle	20.75	3.63	31.65	6.73	24.35	6.73	23.52	12.04
Curcuma	27.46	4.81	25.45	5.41	23.06	4.94	24.88	14.71
Gingembre	27.22	4.76	31.57	6.73	20.03	3.9	27.94	15.39
Anix vert	22.61	3.96	26.15	5.56	22.70	4.42	31.46	13.91
Cumin blanc	20.51	3.59	37.82	8.05	21.96	2.27	34.21	15.91
graine de fenouil	20.36	3.56	16.78	3.57	25.81	5.02	24.83	12.15
Absinth	11.43	2	/		14.21	2.76	13.04	
Coriandre	328.36	57.2	234.78	49.97	298.07	58.06	239.89	165.55
Piment N	/		21.76	4.63	/		/	
Rose	12	2.10	14.36	3.05	6.32	1.23	10.13	6.38
Carvi	28.89	5.06	24.87	5.29	26.19	5.1	34.34	15.45
<i>Cardamomum</i>	5.43	0.95	/		9.31	1.81	/	
Girofle	4.63	0.81	/		11.83	2.30	/	
Al kondes	/		/		/	3.93	/	
Piment	/		/		20.22		/	
Cubèbe	/		14.74	3.13	/		/	
Laurier	/		/		2.19	0.42	10.59	
	570.79		469.8		513.3		506.45	

Selon le tableau (08) il apparait que le mélange « Ras el hanout » est constitué majoritairement de coriandre (165.55%), de carvi (15.45%), de cumin (15.91) et de fenouil, (12.15), l'anis vert (13.91)

II.1.2. Rendement des extraits :

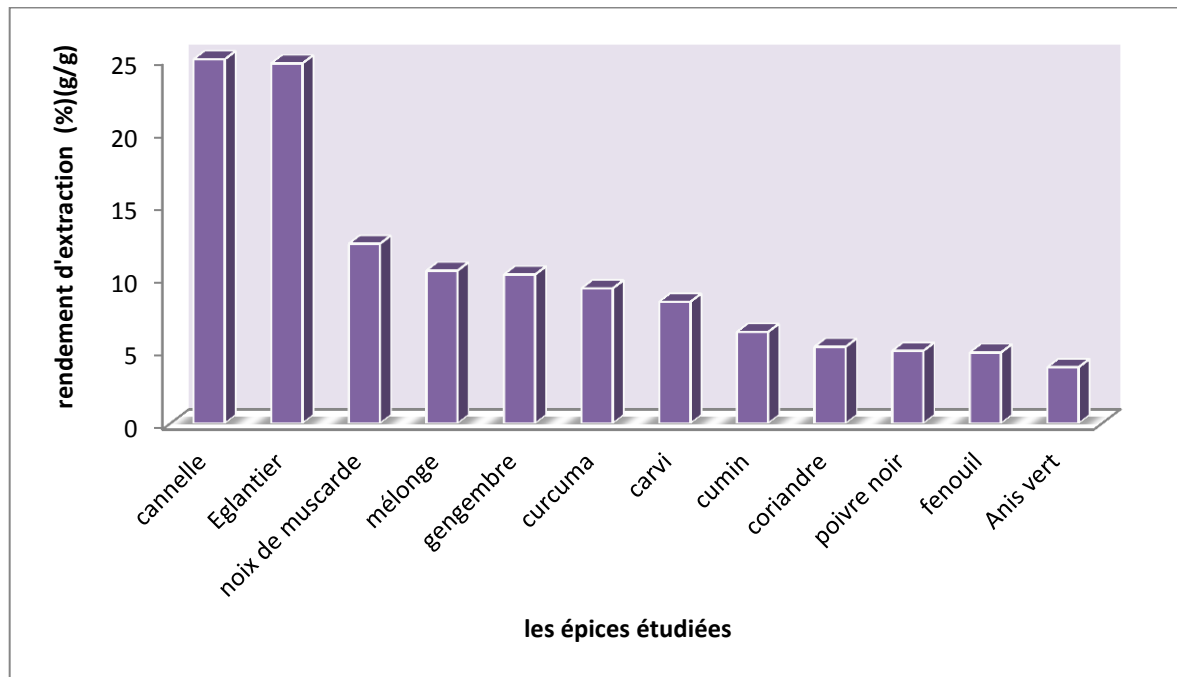


Figure 18: Rendement des épices

Les rendements d'extraction du noix de muscade (12,31 %), du mélange « Ras el hanout » (10,47 %) et du gingembre (10,02%), sont les plus importants. Les plus faibles rendements d'extraction des extraits bruts sont ceux de l'extrait d'anis vert (3,85%), du poivre noir (4,97 %) et de la coriandre (5,25%). (Figure 18)

II.1.3. Evaluation de l'activité antioxydant et antiradicalaire

II.1.3.1. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

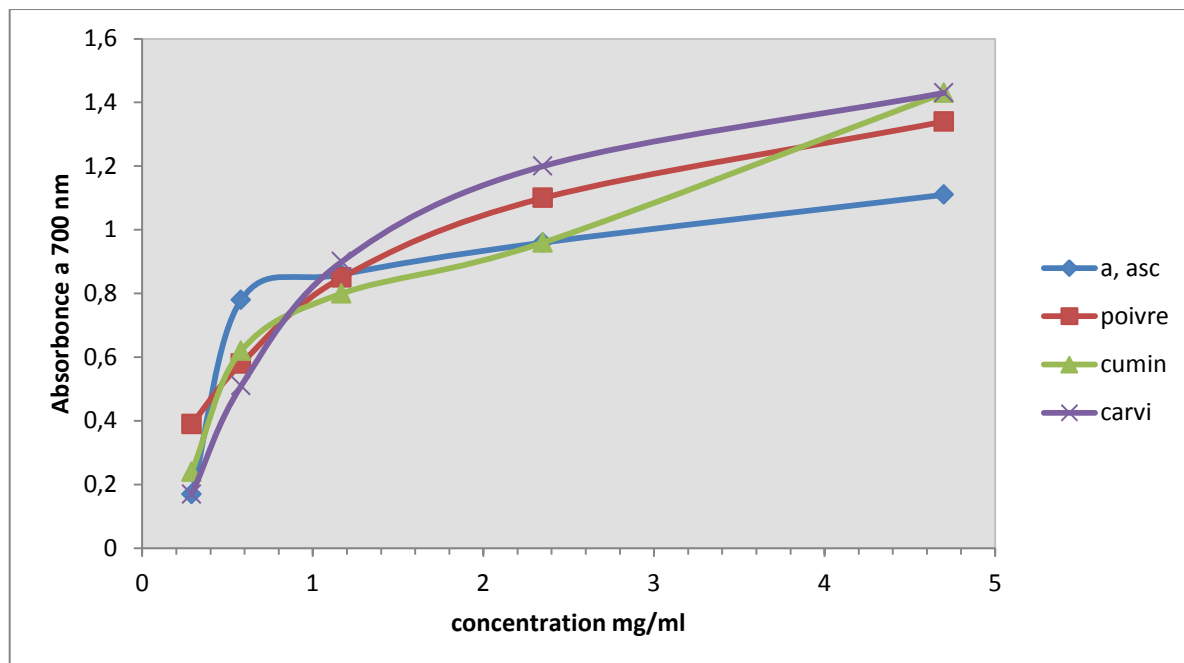


Figure 19 : Pouvoir réductrice des épices (cumin, carvi,poivre noir) et ac ascorbique

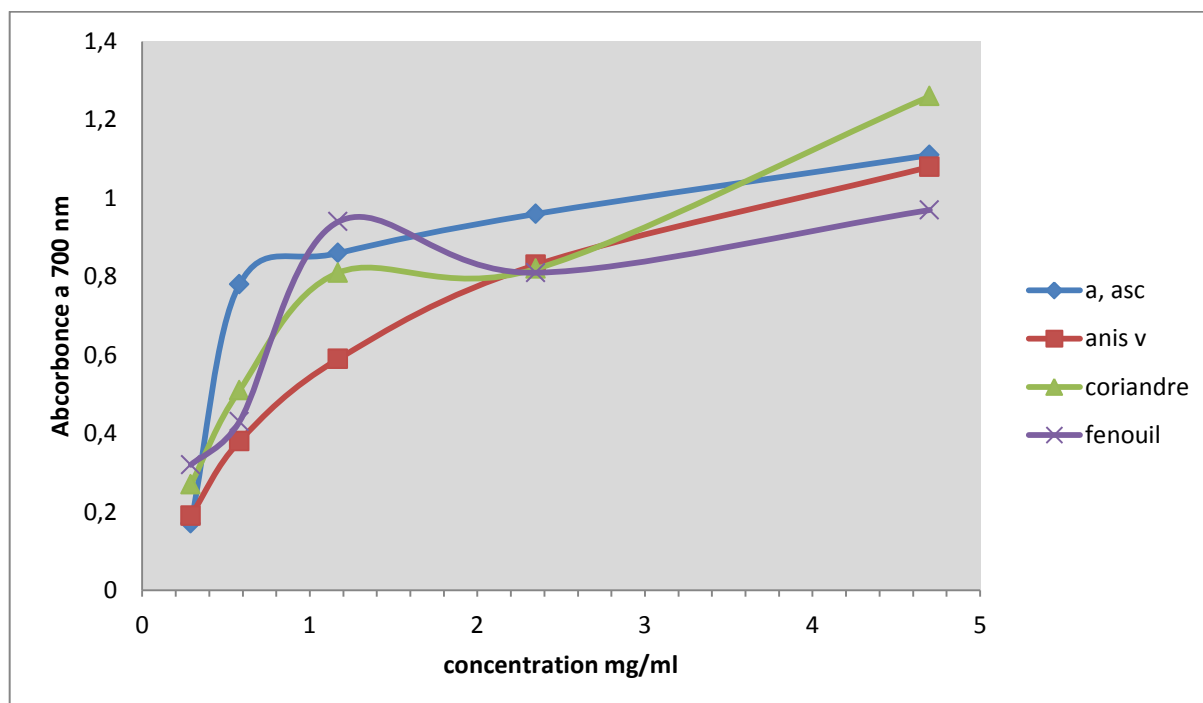


Figure 20 : Pouvoir réductrice des épices (coriandre, fenouil, anis vert) et Ac ascorbique

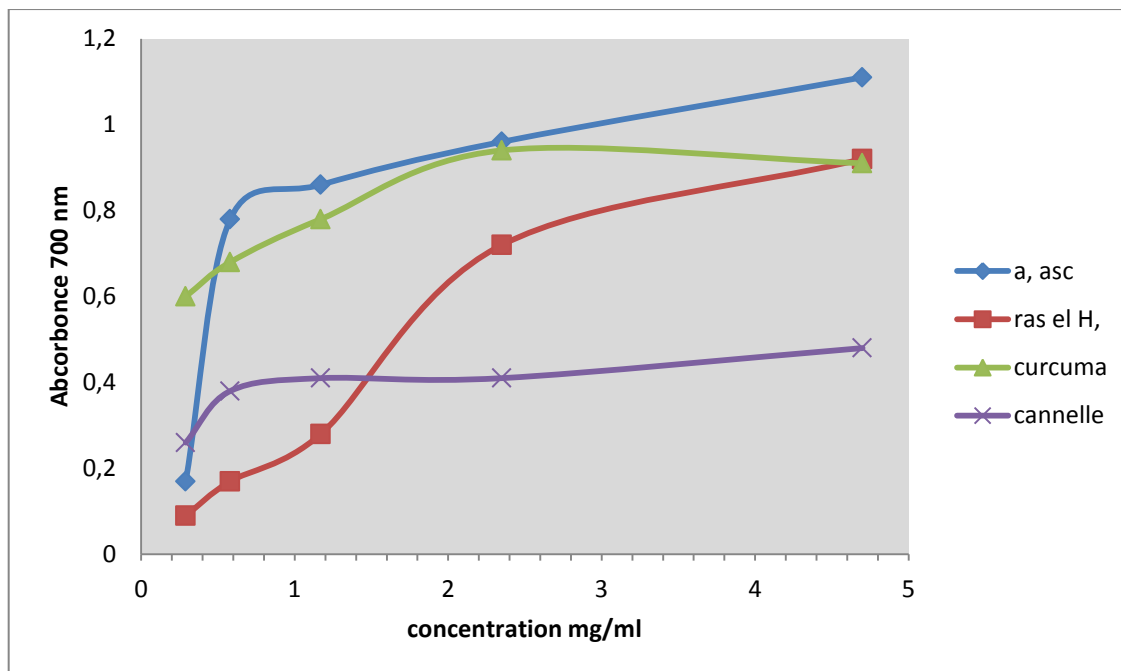


Figure 21 : Pouvoir réductrice des épices (curcuma,cannelle,mélange) et ac ascorbique

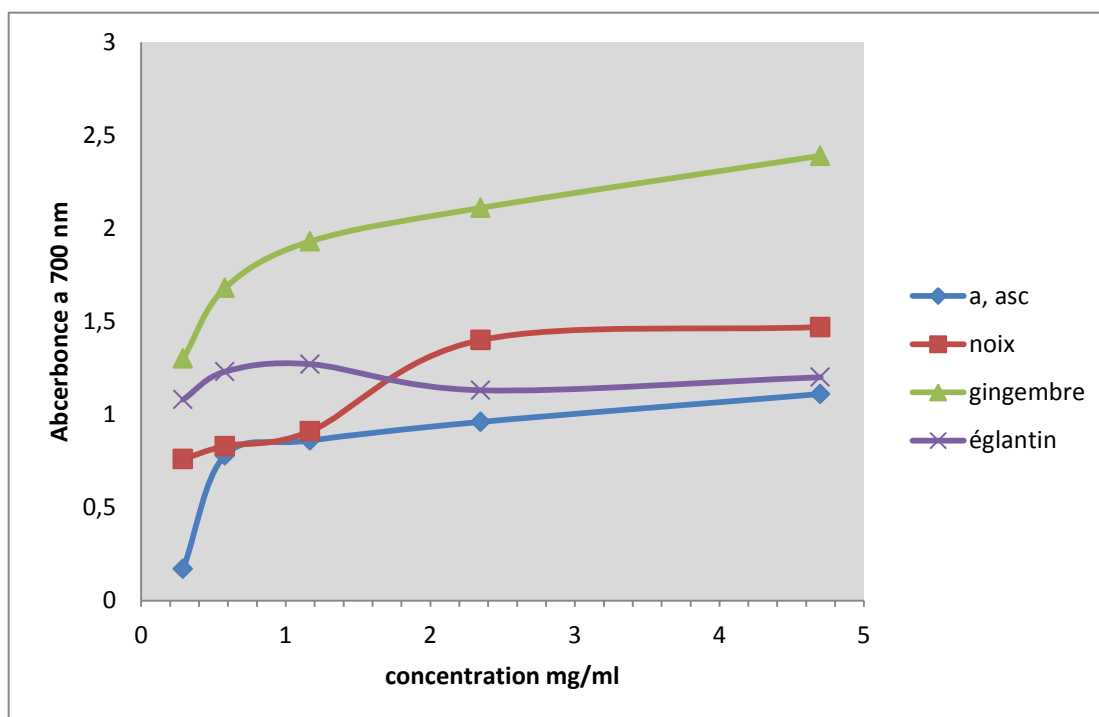


Figure 22 : Pouvoir réductrice des épices (gingembre, églantin, noix de muscade) et ac ascorbique

L'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer est une méthode facile et reproductible, pour cela elle est très utilisée pour distinguer les extraits les plus actifs (LI et *al*, 2007). L'acide ascorbique est un puissant antioxydant, il est utilisé comme témoin.

Pour tous les extraits et le témoin, des dilutions en cascade allant de 0.29 à 4,7 mg/ml, sont préparées, les pouvoirs réducteurs sont mesurés à 700 nm.

On assiste à une augmentation de la densité optique du témoin à partir de la concentration de 0.58 mg /ml cette absorbance continue à augmenter proportionnellement à la concentration de la solution jusqu'à la fin de l'expérimentation et la noix de muscade présente des absorbances plus importantes que celle du témoin.

Il ressort des résultats obtenus que la majorité des extraits d'épices ont des activités comparables (figure 19, 22) . En effet, les courbes représentent l'absorbance des différents extraits en fonction de leur concentration dans le milieu réactionnel est la même tendance de type logarithmique que celle du témoin (Acide ascorbique).

Ces courbes mettent ainsi en évidence une relation proportionnelle entre l'augmentation de la concentration et la réduction de l'absorbance dans les échantillons étudiés

Seuls le gingembre, l'églantine et la noix de muscade présentent des absorbances plus importantes que celle du témoin.

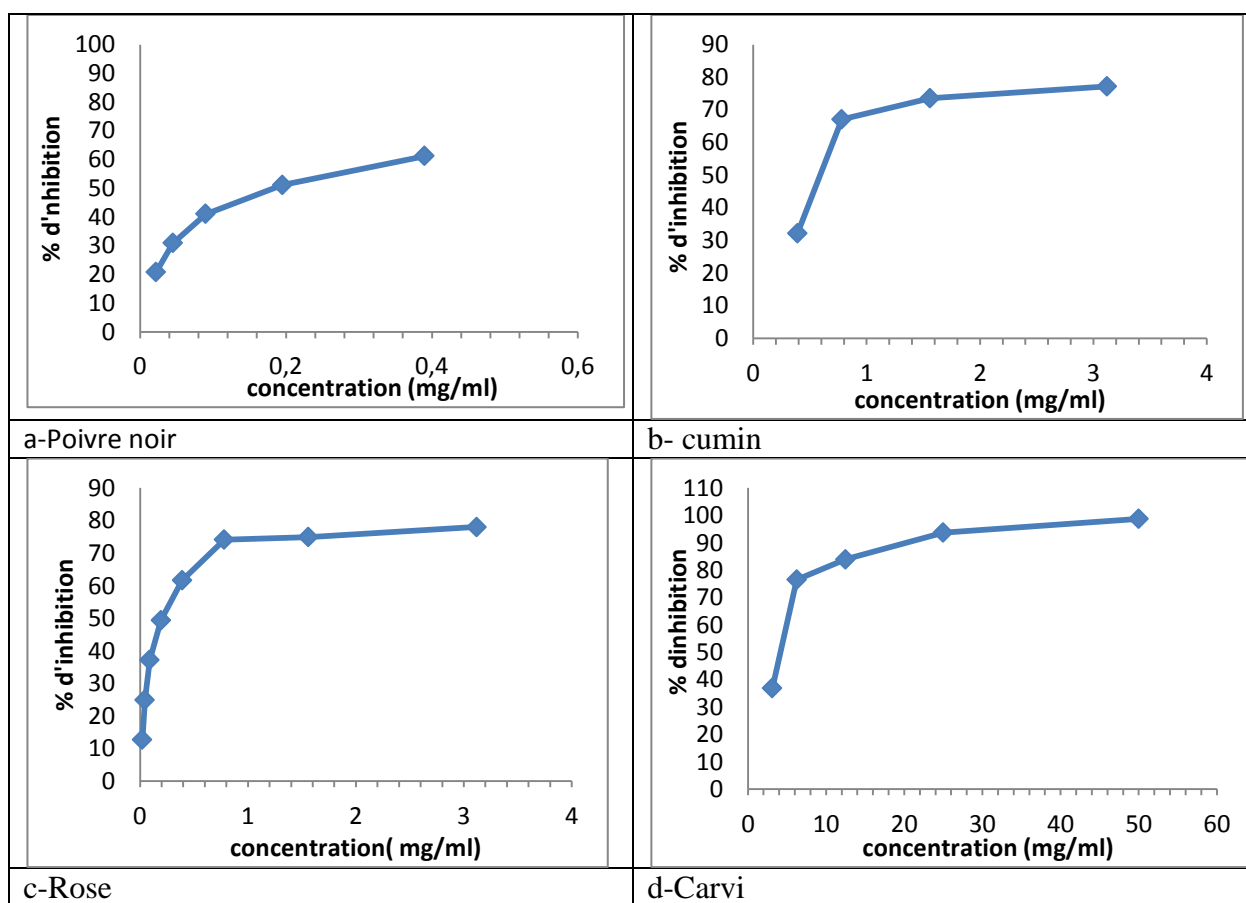
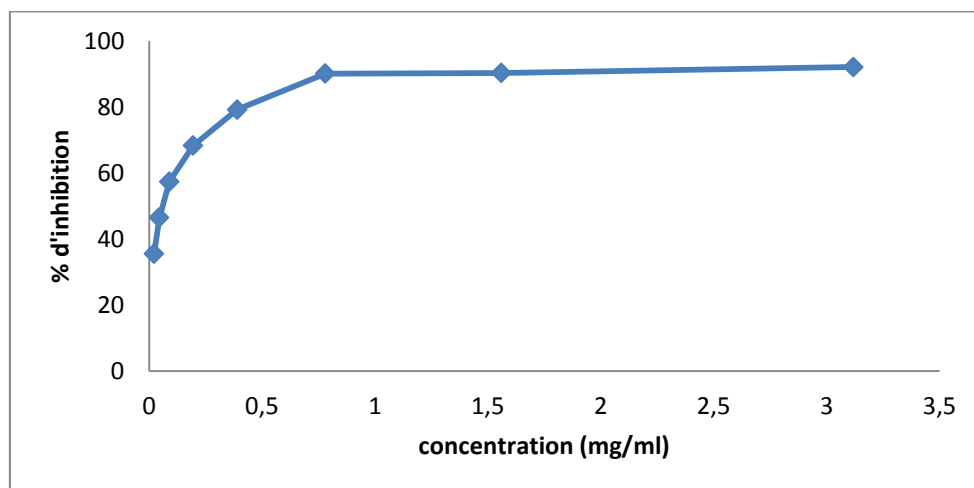
À 0.29 mg/ml d'extrait des trois épices présentent une absorbance allant de 0.76 à 1.30 mg/ml nettement plus importante que celle du témoin (0.17). Ces valeurs tendent à augmenter proportionnellement à la concentration de l'églantine et l'absorbance diminue au-delà de 1.17 mg/ml (figure 22).

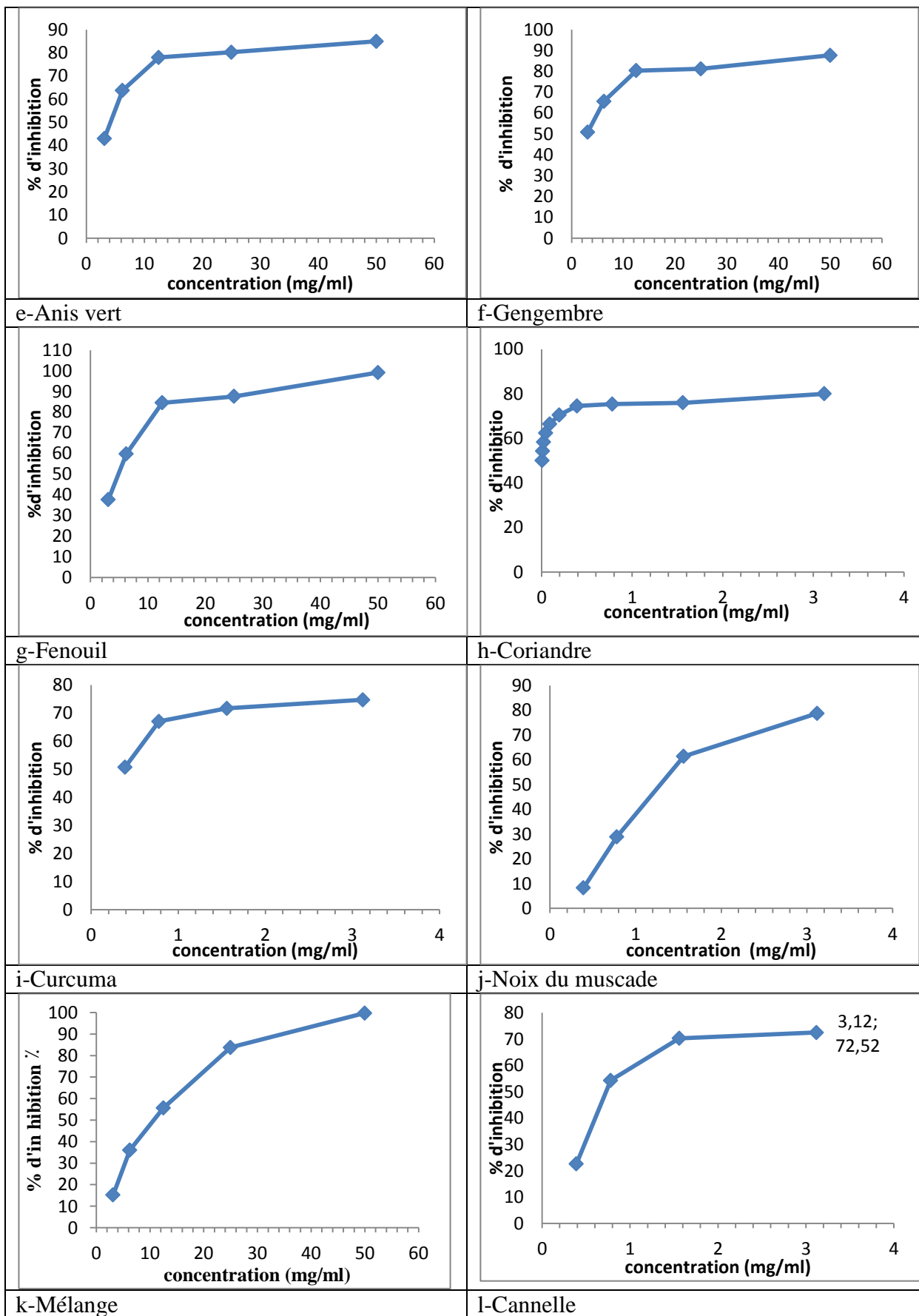
À l'opposé et malgré la tendance de leurs courbes celle du témoin, le curcuma, mélange, cannelle, anis vert, fenouil, coriandre présentent des absorbances moins importantes que celle de l'acide ascorbique si on considère le point de comprimé de ces différents extraits la concentration 0.58 mg/ml. À cette concentration, l'acide ascorbique a donné une absorbance égale 0.8 nm.

II.1.3.2 Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydant des différents extraits des épices étudiée afin de préjuger et localiser l'épice le plus active.

Figure 23 : Les pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique et chaque épices (a- Poivre noir, b- cumin, c-Rose, d-Carvi, e-Anis vert, f-Gingembre, g-Fenouil, h- Coriandre, i-Curcuma, j-Noix du muscade, k-Mélange, l-Cannelle)





Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH· en sa forme non radicalaire. A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi la valeur d'IC50 (EC50) chaque extrait. Plus la valeur de IC50 est petite, plus l'extrait a une forte *Piper nigrum* activité antioxydante. Un autre paramètre calculé à partir de la concentration efficace, c'est l'activité anti radicalaire. Plus ces valeurs ne tendent pas et s'éloignent du zéro, plus la puissance antioxydante augmente. Les valeurs des concentrations efficaces et de l'activité antiradicalaires sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau09 : Valeurs des concentrations efficaces et de l'activité antiradicalaires

épices	Concentration efficace IC50 (mg/ml)	Activité antiradicataire ARP
rose	0.39	2.56
curcuma	0.55	1.81
noix de muscade	1.4	0.71
coriandre	0.0055	181.81
poivre noire	0.17	5.88
cumin	0.49	2.040
anis vert	6.25	0.16
fenouil	6	0.16
carvi	6.25	0.16
gingembre	3.12	0.32
cannelle	0.63	1.58
mélange d'épices	10.00	0.1
AC ascorbique	0.06	16.66

Ainsi l'examen de tableau et des figure laisse constater que le coriandre est une épices très antioxydante car la concentration qui permet d'inhiber l'effet de 50% des radicaux libre égale à 0.005mg/ml avec une activité anti radicalaire de 181,81. Cette activité est nettement plus important que celle du avec une concentration égale à 0.098 mg/mL.

Le *Piper nigrum* et le *curcuma domestica* ont des activités antioxydant voisin. Ceci se traduit par la valeur de leurs IC50 respectives (0.17 et 0.55mg/ml) et de leur activité anti radicalaire.

Une similarité est constatée également au voisinage de *Cuminum cyminum* et *Rosa* ayant une IC50 respective.,

Foeniculum Mill, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, mélange diépices inhibe le radical DPPH par des concentration effectrices relativement respectivement et leur activité antioxydant, leur IC50 sont de 6, 6.25, 6.25, 10.00 mg/ml.

II.2. Discussion

Le choix des épices constitutives de « Ras el hanout » est basé sur une prospection au niveau des herbrist de la région. Le calcul de rendement d'extraction des principes actifs de ces épices révèle un grand écart d'une épice à l'autre. En effet, il est difficile de comparer les valeurs de nos rendements avec d'autres études, car le rendement n'est que relatif et semble être lié aux propriétés génétiques des plants ainsi qu'à leur, l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage et de récolte et aux des conditions dans les quelles l'extraction a été effectuée (LEE *et al.*, 2003).

La capacité antioxydante des extraits de plantes est largement dépendant de la composition de ces extraits ainsi que les conditions de manipulation des tests *in vitro*. L'évaluation de l'activité est donc nécessairement réalisée par au moins deux méthodes différentes (Wong et Koh, 2006).

Le test de FRAP à permis de mettre en évidence activité antioxydante appréciable des épices étudiées. cette activité dépasse pour certains l'activité de l'acide ascorbique, considéré comme un puissant antioxydant.

La concordance constatée entre le test de FRAP et DPPH, c'est que les deux tests retiennent la rose et la noix de muscade comme puissant antioxydant.

L'activité antioxydante des différentes épices pourrait être liée à sa richesse en polyphénols. a les travaux de Tacouri *et al.*, (2013) sur les extraits cannelle, fenouil, ail, curcuma et coriandre. Ainsi que les travaux de Shiney et Ganesh, (2012) et ceux de Shamsuddeen (2009) sur le poivre noir, clou de girofle et gingembre soulignent la richesse des épices décrites en composées phénoliques. Ces derniers sont représentés par plusieurs classes tels que les flavonoïdes les coumarines et les tanins.

La forte activité antiradicalaire et antioxydante de l'extrait de coriandre, est épice majoritaire du mélange « Ras el hanout » a déjà été signalée par Athmena (2010), qui lui trouve une activité plus important que celle du cumin et témoin.

La complexité des extraits bruts en substances polyphénoliques et la synergie entre eux pour une meilleure activité antioxydante a été signalée par Vermerris et Nicholson, (2006).

Boland et Tenhave ont postulé en 1947, que les réactions selon lesquelles les composés phénoliques interfèrent avec l'oxydation des lipides en cédant leurs hydrogènes aux radicaux lipidiques, puis entrent en compétition avec les réactions de propagation (Shahidi et Naczk, 2004).

Les études de Wong *et al.*, (2006) ; Tawaha *et al.*, 2007 ; Perez *et al.*, 2007 sur le cumin ont montré que le coefficient de corrélation entre la teneur des extraits du cumin en polyphénols et l'activité anti-oxydante était fortement significatif, indiquant que 81% de la capacité anti-oxydante d'extraits, soit due à la contribution des composés phénoliques et qu'ils sont les antioxydants dominants dans ces extraits.

Cependant, il n'y a pas une corrélation significative entre la teneur des polyphénols et l'activité anti-oxydante des extraits du romarin. Ceci peut s'expliquer par ce qui a été constaté par Dorman *et al.*, (2003). Ces derniers ont montré que la capacité antioxydante des extraits des plantes examinées (origan, romarin, sauge et le thym) n'est pas nécessairement liée à un contenu élevé de composés phénoliques, mais vraisemblablement dépend d'autres composés à activité antioxydante.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Tawaha *et al.*, 2007).

La faible activité antioxydante du mélange d'épice « Ras el hanout » malgré les fortes valeurs dans toutes les épices peut être due au fait que l'attribution exacte de la capacité anti-oxydante à un composé, ou un petit groupe de composants dans un extrait de plante est une tâche difficile, puisque l'activité efficace dépend de plusieurs facteurs, tels que la concentration, les formes isomériques et l'interaction synergique avec d'autres composants (Almela *et al.*, 2006).

Conclusion

Conclusion

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante de quelques épices rentrant dans la composition d'un mélange largement utilisé chez les habitants de Ouargla connu sous le nom de Ras-el-Hanout.

Une prospection au niveau des herboristes de la région, laisse ressortir une recette pour la préparation de mélange « Ras el hanout ». constitué de la coriandre, la cannelle, le gingembre, le poivre noir, le cumin, le curcuma, l'anis vert, le carvi, le fenouil, la noix de muscade et de pétales de Rose avec des proportions déterminées.

L'extraction des principes actifs est effectuée par le hydroalcolique méthanol-eau, dont le rendement montre un grand écart entre *Cinnamomum cassia*, *Rosa damascena* en donnant des valeurs très élevées, par rapport au *Pimpinella anisum* qui se caractérise par un faible rendement.

Les extraits obtenus sont des mélanges de plusieurs composés, avec différents groupements fonctionnels à polarités et comportements chimiques différents. Cette complexité chimique des extraits pourrait mener à des résultats dispersés. Par conséquent, une approche avec des analyses multiples pour évaluer le potentiel nécessaire antioxydant des extraits serait plus instructif, d'où le choix de deux méthodes : méthode de réduction de fer et le balayage du radical libre DPPH.

L'évaluation de l'activité antioxydante de mon extraits par la méthode de réduction de fer (FRAP) a mis en évidence le pouvoir des extraits d'épices à réduire le fer ferrique en fer ferreux. Par ce test, le gingembre, l'églantine et la noix de muscade ont révélé les plus grands pouvoirs antioxydants. Elles se montrent plus actives que l'acide ascorbique. Le *Curcuma domestica*, *Pimpinella anisum*, *Cinnamomum cassia* et le mélange d'épices ont marqué une activité important moins que l'acide ascorbique.

Le test de piégeage de radical libre DPPH laisse constater que le *Coriandrum sativum L* est une épice a une dont l'extait a une activité antioxydant très importante et même plus que le témoin (acide ascorbique) en fixant les radicaux libres avec une concentration efficace très faible (0.0055mg/ml).

Le *Piper nigrum* et *curcuma domestica* sont aussi de puissants antioxydants mais d'une valeur moindre importance que l'acide ascorbique. Les extraits du l'églantine et le cumin ont également mentré une activité antioxydante importante.

Les extraits d'anis vert, de fenouil, de carvi présentent une activité antioxydante moins importante que celles des autres.

Le mélange des épices étudiées montre une faible activité antioxydante car une concentration élevée est nécessaire pour inhiber l'activité de 50% de DPPH. Ceci laisse penser qu'il y a des interrelations moléculaires, peut être antagonistes, entre les différents métabolites des épices constitutives du mélange. Ces interrelations restent à éclaircir.

L'étude de la composition phénolique des différentes épices et leur mélange pourront élucider la cause de la faible activité antioxydante et anti radicalaire du mélange d'épices « Ras el hanout » .

*Références
bibliographique*

Références bibliographique

ANTWERPEN PV., 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myclopéroxydase / Peroxyole d'hydrogène / Clilorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques Bruxelles.

AOUADHI S ., 2010. mémoire de atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle etude de 57 plantes recommandées par les herboristes.Tunisie, pp 13 -27.

ARDESTANI A., YAZDANPARAST R. 2007 . Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem.* 104: 21-29.

ARUOMA O I., 1999. Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr.* **8**: 53-63.

BAHORUN, T., 1997. Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius.* Pp 83-94.

BARLOW S M., 1990. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson . B.J.F. *Food Antioxidants.* pp 253-307.

BELHATTAB R., LAROUS L., KALANTZAKIS G., BOUSKOU D. et EXARCHOU V. ANTIFUNGAL., 2004 .properties of *Origanum glandulosum* Desf. extracts. *Food. Agricul & Envir.* Pp 2: 63-69.

BENHAMMOU, N; ATIK BEKKARA, F; KADIFKOVA, P. 2007. Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences.* pp 29(3) .155-161.

BENZINE I., 2009. La viande cameline. étude de la filière Cas de Ouargla. Département des sciences agronomiques. UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA .p 42.43.44.

- BHAT S., KAUSHAL P., KAUR M ET SHARMA HK ., 2013 .** Coriandre (Coriandrum sativum L) :traitement,aspects nutritionnels et fontionnels .Département de génié et de technologie alimentaires. Sant Insitut Longowal de l'ingénierie et de la technologie(considérées comme être University). Longowal .pp 106-148 .
- BOUDERDARA N., 2013.** Séparation et détermination de structures des métabolites secondaires de Cachrys libanotis L. THESE de DOCTORAT en SCIENCES. Université MENTOURI de Constantine. p7.8.
- BOUHADJRA K., 2011.** étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. thèse pour l'obtention du diplôme de magister. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. P .
- BOULDJADJ R., 2009.** étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'Artemisia herba alba Asso. Université de Constantine p .
- BOURAS F Z., HOUCHI A., 2013,** Mémoire sur étude de l'activité antioxydant de la plantes *rumex vesicarius l*. Université kasdi merbah, Ouargla .p .
- BOURGAUD F., GRAVOT A., MILESI S et GONTIER E., 2001.** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; Plant Science 161, p: 839-851.
- BOZIN B., MIMICA-DURIC N., SAMOJLIK I., GORAN A., IGIC R., 2008.** *Phenolics as antioxydants in garlic (Allium sativum L. Alliaceae).*
- BRENNER N., FRANC O S., KNIGHT E., 1993.** Article de Intoxication par la noix de mucsade N. Tahri, N. Rhalem, R. Soulaymani. Chronic nutmeg psychosis. J Roy Soc Med. p 86 :179-180.
- BRIGITTE S, URSULA., FOTSCH C ET WACKER S., 2008.** Connaissance des herbes. EGK Caisse de Santé 2008.page 2.3.
- CAHUZAC M., 2001.** Article de épices. herbes et aromates : usages culinaires et recettes . picaud , France .Vol

- DA SILVA PINTO M., MARIA LAJOLO F., INNES GENOVESE M., 2008.** Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch). *Food Chemistry* . p107: 1629-1635.
- DAOVY A., 2009.** Fiche Phytothérapie « Le gingembre. *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) »Actualités pharmaceutiques Faculté de pharmacie. Limoges (87). n° 483 p 53.
- DEFRAIGNE J O ., PINCEMAIL J., 2007.** Article Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités *Rev Med Liege*, p 206.
- DELATTRE J., BEAUDEUX ET J.L., D. BONNEFONT., ROUSSELOT 2005.** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques . P 87 .108.
- DIDIER L B., 2009.** CURCUMA :Une épice à l'avenir doré. Compléments alimentaires. *Nutrithérapie*. B.S. N° 115. p 82-84.
- DOUCET-LEDUC H., 1993.** Échec à la contamination des aliments .Montréal. Modulo.
- DRONIOU M., CASSARO., 2012.** Document réalisé par les symposiarques : utilisation médicaments. Désinfectants. Encens. stimulants et même agents aphrodisiaques. P 33.
- DRONIOU-CASSARO., 2012.** Les épices .les symposiarques. pp 2-6 .
- EVANS R J ; REYNHOUT G S. 1992.** Alternates to synthetic antioxidants. *Food Science and human Nutrition*. P 29: 27-42.
- FAVIER A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr* . Mémoire de Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. p 64: 390-396.
- FAVIER A., 2003.** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*. p108-11.
- FILLIAT P., 2012.** Les plantes de la famille des apiacées dans les troubles digestifs. thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état.

Université Joseph Fourier Faculté de Pharmacie de Grenoble. dumas-00740660.
version 1.p 28.29.

FRANKEL E N; MEYER A S. 2000. "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants". *Journal of Science and Food Agriculture*. P 80: 1925-1941.

GHRABI Z., 2001. Rosa canina L. A Guide to medicinal Plants in North Africa .
Sp. Pl., 491. 1753. p 229.

GIRRE L., (2001) .Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments. *Food Chemistry*, 111: 925-929.

GOUDABLE J. ET FAVIER A. 1997. Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Laboratoire de biochimie C. hôpital Edouard. Herriot. Lyon. GREPO. Université de Grenoble. la Tronche.

HALVORSEN B L., CARLSEN M H ., PHILIP K M., BOHEN S K ., HOLTE K ., JACOBS D R., JR AND BLOMHOFF R ., 2006 .Content of redox-active compounds (antioxidants) in foods consumed in the United States *Am J Clin Nutr*. P 84,95-135.

HARBORNE J B., 1998. Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis. Ed 3. CHAPMAN & HALL. p : 202-209.

HATON C., 2005. Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale .Thèse de doctorat de l'université de Paris VI. France. p 43.

HELLAL Z., 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

HUANG D., OU B., PRIOR R L. 2005. "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (6): 1841-1856.

HUBERT A J. 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. école doctorale des Sciences Ecologiques. Vétérinaires. Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments. p 174.

KANOUN K., 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de Magister en Biologie. universite aboubekr belkaid tlemcen. p 30-48.

KAR A., 2007. Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie. Ed 2: NEW AGE INTERNATIONAL PUBLISHERS; p: 1-30.

KARAGOZLER A., ERDAG B., CALMAZ EMEK Y., 2008. Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, p 111: 400-407.

KOECHLIN-RAMONATXO C., 2006. Oxygène, stress oxydant et suppléments anti-oxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*. 20: 165-177.

LAHSISSENE H., KAHOUADJI A., TIJANE M. HSEINI S., 2009. catalogue des plantes medicinales utilisees dans la region de zaër (maroc occidental). lejeunia. *Institut de Botanique, B22, Sart Tilman, B-4000 Liège (Belgique)* BE ISSN 0457-4184. N° 186.P 16.17.

LAHSISSENE H., KAHOUADJI A., TIJANE M. & HSEINI S., 2009. catalogue des plantes medicinales utilisees dans la region de zaër (maroc occidental). Les éditions de lejeunia Institut de Botanique. B22. Sart Tilman. B-4000 Liège (Belgique) . Université Mohammed V-Agdal, Faculté des Sciences. Département de Biologie. B.P. 1014 R.P. Rabat. Maroc. BE ISSN 0457-4184. P 6. 16. 17.

LARSON R A., 1997. Naturally occurring antioxidants . Ed. Boca raton.

LEHUCHER-MICHEL M P., LESGARDS J F., DELUBAC O., STOCKER P., DURAND P., PROST M., 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. La Presse médicale. P 30-1076-1081.

LHULLIER A ., 2007. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia hook*, *F ex Oliver . agauria polyphylla baker*(ERICACEAE). *tambourissa trichophylla baker* (monimiaceae) et *embelia concinna baker* (myrsinaceae). Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat. Ecole doctorale de Toulouse.p .

LINDAU-SEHPARD B; SHAFFER J., 1993. Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free radical Med.* p 8-15-581.

LIUK L., SUN Y., LAURA T., LIANG X., YE H., ZENG X., 2009. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. *Tseng, Food chemistry.* P112: 35-4.

MAISUTHISAKUL P., SUTTAJIT M; PONGSAWATMNIT R., 2007. Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants . *Food Chemistry.* P 100:1409-1418.

MARFAK A., 2011. Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. P 6-7-27-45.

MARFAK A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoides, étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides .Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.

MARFAK A., 2011. Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat Université de Limoges. P 6-7-27-45.

MATA A.T., PROENC C., FERREIRA, A R., SERRALHEIRO M.L.M., NOGUEIRA J.M.F., ARAUJO, M.E.M.,2007 . Antioxidant and

antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* **103**: 778-786 .

MEZITI .A., 2007. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Etude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister Université de Batna.p 30-35-49-67.

MILLER N J ; SAMPSON J ; CANDEIAS L P ; ET AL., 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett.* 384 : 240-2.

MOB A., 2006. Inventaire des plantes aromatiques (*tri par nom scientifique*).
opryight - CEBE - Mob asbl & Pragmasoft asbl. Fr.scbd.com /doc/65851/Snv-Master.
p 65

MOHAMMEDI Z., 2005. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et falvonoides de quelques plantes de la région du Tlemcen , Thèse de magistère . Université-Abou Bakr Belkaid-Telemcen. P

MOHAMMEDI Z., 2013.Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen Algérie. p 60.

MOURE A ; CRUZ J.M; FRANCO D; DOMINGUEZ J M., SINEIRO J., 2001. Natural antioxydants from residual sources. *Food Chemistry.* P 72- 145-171.

MUHAMMAD N., ASAD R., 2012 .Cumin (*Cuminum cyminum*) comme une source potentielle d'antioxydants. Institut National des Sciences et technologie des aliments. Université de l'Agriculture. Faisalabad. Pakistan. ISSN: 2226-5899. p 101-107.

NAKAZAWA H C ; GENKA et al ., 1996. Pathological aspects of active oxygens / free radicals. *Japanese journal of physiology* . P 15-32-46.

NAMIKI M., 1990. Antioxidants/Antimutagens in Food. *CRC critical reviews in Food Science and Nutrition.* P 29- 273-300.

Ohrvall M et al., 1996. Tocopherols and heart disease nutrition report: 20/ Gamma. but not alpha. tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients. *Journal of Internal Medicine.* P 239:111-117.

OMAR M., ATROOZ 1 ., 2013. Les effets de la *Cuminum cyminum* L. et *Carum carvi* L. Semence Extraits des droits de l'hémolyse des érythrocytes. Département des sciences biologiques. Université Mut'ah, Jordanie. p

OYAIZU M., 1986. Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44: 307-315.

OZTURK M; AYDOGMUS-OZTURK F; DURU M E; TOPCU G. 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. *Food Chemistry* . P 106: 1264-1270.

PAREJO I; VILADOMAT F; BASTIDA J; ROSAS-ROMERO A; FLERLAGE N; BURILLO J; CODINA C., 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*. 50: 6882–90.

PIETTA P G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*. p 63-1035-1042.

PINCEMAIL J et al ., 1998. Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche didactique. *Vaisseaux, Coeur, Poumon*; 3: 133–8

PINCEMAIL J., BONJEAN K., CAYEUX, K., DEFRAIGNE J O., 2002. Mécanismes physiologiques de la défense anti-oxydante Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 233-239.

POPOVICI C; ILONKA S ; TYLKOWSKI B., 2009. *Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Révisé et accepté le 20 novembre 2009 / Disponible sur Internet le 20 décembre 2009.*

PORTES E., 2008. Synthèse et Etudes de Tétrahydrocurcuminoïdes. Propriétés Photochimiques et antioxydants. Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de doctorat Université Bordeaux I. p 44-46.

- PRASAD, M M., SEENAYYA, G .,2000.** Effect of spices on the growth of red halophilic cocci isolated from salt cured fish and solar salt. *Food Research International*. PP33: 793-798.
- QUEZEL P ; SANTA S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed) .Paris . p 565.
- REDURON J P ., 2007.**Bul letin de la Société Botanique du Centre-Ouest - Nouvelle Série - Numéro spécial - 28 Ombellifèresde France -Tome 3. p 1301.
- RICHARD H., 1987.** épices et herbes aromatiques. E.N.S.I.A.-1. avenue des olympiades-91744VMASSY Cedex. pp 6-9.
- SAGDIC O., OZCAN, M. 2003.** Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*.P14: 141-143.
- SU M S ; SHYU Y T ; CHIEN P J ; 2008.** Antioxydant activities of vtrus herbal product extracts . *Food Chemistry*. P 111: 892-896.
- SVOBODA K. SVOBODA T., 2000.** Secretory structures of aromatic and medicinal plants. Ed: MICROSCOPIX PUBLICATIONS. p: 7-12.
- TOUAFEK O ., 2010.** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algerien. Thèse de doctorat. Université de Constantine. PP 9-12-76.
- VALKO M., RHODES C J B., MONCOL J., IZAKOVIC M., MAZUR M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 160:1-40.
- WICHTL M ; ANTON R., 2003.** Plantes thérapeutiques. 2^e édition, Tec & Doc. Paris. p 692.
- Xavier L., 1996.** Epices et aromates .Magazine 2004, p 21,128

Yaacoub R., 2009. Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. L'intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés. Thèse de doctorat. N° 2009AGPT 0048. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech).

Annexes

Annexe 01: L'étape de macération des échantillons des épices



Annexe 02 : les extraits bruts des épices



Annexe 03: l'appareil de bain-marie



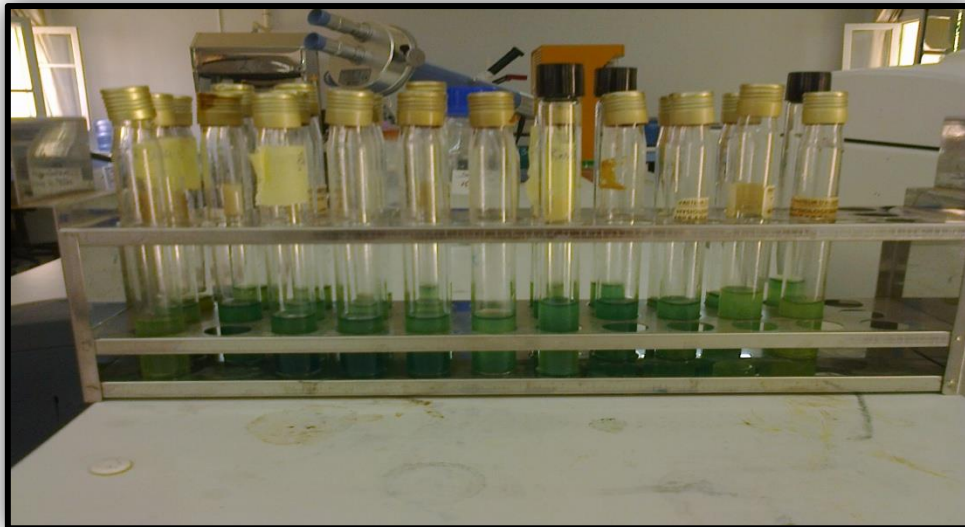
Annexe 04 : l'appareil de spectrophotométrie



Annexe 05: Préparation de tampon phosphate de pH7.4 par pH mètre



Annexe 06 : Les résultats de coloration de test de FRAB



Annexe 07: Les résultats de coloration de test de DPPH



Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout »

Résumé

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antioxydante et antiradicalaire de quelques épices rentrant dans la composition d'un largement utilisé chez les habitants de Ouargla connu sous le nom de Ras-el-Hanout.

Les épices étudiées sont *Coriandrum sativum*, *Cinnamomum cassia*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum*, *Cuminum cyminum*, *Curcuma longa*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Foeniculum Mill*, *Myristica fragrans*, *Rosa damascena* et leurs mélanges préparés à des proportions bien déterminées.

L'évaluation de l'activité antioxydant sur les extraits bruts des différentes épices et leur mélange, est effectuée par la méthode dec fer (FRAB) et la piégeage de radical libre (DPPH)

Le test de FRAP indique la forte activité antioxydant de *Carum carvi*, *Zingiber officinale*, *Cuminum cyminum*, *Piper nigrum*, ces résultats sont confirmés par le test au DPPH, révélant une activité antioxydant considérable cible de ces épices. Mais aussi, la forte activité antioxydant de coriandre non révélée par le test de FRAB (0.0055 mg/ml). Une puissante antiradicalaire de la coriandre a aussi été mise en évidence par le même test.

D'autres épices telles que *Piper nigrum* (5.40 mg/ml), *Curcuma longa* (5.12 mg/ml), *Rosa damascena* (2.56 mg/ml), *Cuminum cyminum* (2.56 mg/ml), ont aussi montré une forte activité antiradicalaire. Le mélange d'épices Ras el hanout n'a montré qu'une faible activité antioxydant est une faible activité antiradicalaire.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence le rôle que peut jouer Ras el hanout dans la conservation des aliments et la prévention de maladies causées par des radicaux libres

Mots clé : épices, activité antioxydante, activité antiradicalaire, DPPH, FRAP

Evaluation of antioxidant and antiradical activities of a mixture of spices "Ras el hanout"

Abstract

The objective of our study was to evaluate the antioxidant and antiradical activity of some spices widely used among people of Ouargla known as Ras-el-Hanout.

Studied spices are *Coriandrum sativum*, *Cinnamomum cassia*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum*, *Cuminum cyminum*, *Curcuma longa*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Foeniculum Mill*, *Myristica fragrans*, *Rosa damascena* and their mixtures at very specific proportions.

The evaluation of different spices and mixing crude extracts of the antioxidant activity is carried out by the iron reduction method (FRAP) and trapping of free radical DPPH method.

These results are confirmed by the DPPH test, revealing a target antioxidant activity of these spices. But also strong antioxidant coriander undisclosed by the test FRAP (0.0055 mg/ml) activity.

A powerful antiradical activity of coriander was demonstrated by the DPPH test.

Other spices such as *Piper nigrum* (5.40), *Curcuma longa* (5.12), *Rosa damascena* (2.56), *Cuminum cyminum* (2.56), also a strong antiradical activity.

Spice mixture Ras el hanout to weak antioxidant activity is low antiradical.

From the results of this study, evidence is given to the role that Ras el hanout plays in the conservation of food and prevention of disease free radicals

Keywords: spices, antioxidant activity, scavenging activity, DPPH, FRAP

تقييم أنشطة المضادة للأكسدة وجذري من خليط من التوابل "راس حانوت"

المخلص

كان الهدف من دراستنا لتقييم النشاط المضاد للأكسدة لبعض التوابل في تكوين وتستخدم على نطاق واسع بين الناس ورقلة المعروفة باسم رأس الحانوت.

التوابل المعنية بالدراسة هي *Coriandrum sativum*, *Cinnamomum cassia*, *Zingiber officinale*, *Piper nigrum*, *Cuminum cyminum*, *Curcuma longa*, *Pimpinella anisum*, *Carum carvi*, *Foeniculum Mill*, *M*

ويتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الخام من مختلف التوابل والاختلاط بها بطريقة ديسمبر الحديد (FRAB) ومحاصرة من الجذور الحرة (DPPH)

يشير اختبار FRAP مضادة للأكسدة ان *Carum carvi*, *Zingiber officinale*, *Cuminum cyminum*, *Piper nigrum*, تأكدت هذه النتائج وفقا لاختبار DPPH، وكشف عن الهدف considerable نشاط مضادات الأكسدة من هذه التوابل. ولكن الكزبرة لديها مضادات الأكسدة القوية غير مكشوفة من قبل اختبار FRAB قوية (0.0055 ملغ / مل). آخر وقد تجلى أيضا من قبل نفس الاختبار.

التوابل الأخرى مثل *Piper nigrum* (5.40 ملغ / مل)، *Curcuma longa* (5.12 ملغ / مل)، *Rosa damascena* (2.56 ملغ / مل)، *Cuminum cyminum* (2.56 ملغ / مل)، وهو أيضا antiradicalaire قوية Mantre النشاط النمل. خليط التوابل راس حانوت n'a Mantre ضعف النشاط المضاد للأكسدة هو انخفاض النشاط antiradical.

سمحت لنا النتائج الدور الذي يمكن أن تلعبه راس حانوت في الحفاظ على المواد الغذائية والوقاية من الأمراض التي تسببها الجذور الحر

الكلمات دالة: التوابل، رأس حانوت، والنشاط المضاد للأكسدة، والنشاط المضاد للجذور الحرة، DPPH، FRAP.