

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Extraction et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles des deux plantes médicinales (*Salvia officinalis*, *Origanum majorana*)

Présenté par :

- Mme : RAMI Houria
- Mme : HADJ DAOUED Narimane

Soutenu le : 19-09-2022

Devant le jury composé de :

Président

Dr. Hassani Maya

MCA Université SAIDA

Examineur

Dr. Chalane Fatiha

MCA Université SAIDA

Rapporteur

Dr. Ghaouti Dalila

MCA Université SAIDA

Année universitaire 2021/2022

Dédicaces

C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que j'ai achevé ce modeste travail que je
dédie:

À mes chers parents

À mes sœurs: Halima, Wassila

A mes frères: Abd Elkarim, Nour Alddine

À tous les membres de ma famille, petits et grands

À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation

À mes amis et mes collègues : Ikram, Wafaa, Houda.

À ceux qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse dans mes études

À ma binôme: Narimane

Houria

Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser
ce travail que je dédie :

À mes très chers parents pour leurs innombrables sacrifices

A mon cher mari

A mes frères Bachir, Habib, Yacine, Anes

À toute ma famille

A tous ceux qui me connaissent de près et de loin

À ceux qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse

À ma binôme: Houria

Narimane

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous avons donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, Nous tenons à remercier notre encadrant Dr: Ghouti Dalila.

Nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous avons été précieux à fin de mener notre travail bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils nous ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir
Par leurs propositions.

Je remercie mes très chers parents et tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches.

À tous ces intervenants, nous présentes nos remerciements, notre respect et
notre gratitude

Liste des abréviations

AAR: Activité anti-radicalaire

Abs : Absorbance

Abs BHT : Absorbance du Butylhydroxytoluène

ABTS : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique

ADN : Acide DésoxyriboNucleique

ADPPH : Absorbance de la solution de DPPH.

AS : Absorbance de la solution contenant l'échantillon

ATCC : American Type Culture Collection

BHT : Hydroxytoluène butylé

DO : Densité optique

DPPH : Diphenyl-picrylhydrazyle

DMSO : DiMethyl Sulf Oxide

EAO : Espèce activée de l'oxygène

EC50 (IC50) : Concentration inhibitrice à 50 %.

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter

GSH : Glutathion réduit

GSHPX : Glutathions peroxydases

GSSG : Glutathion oxydé

HE : Huile essentielle

I% : pourcentage d'inhibition

MH : Mueller -Hinton

MRSA : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

O : Origanum

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PDA : Pomme de terre dextrose agar

RACI : Indice de capacité antioxydante relative

ROS : Réactive oxygen species

RSA : Radical scavenger activity

S : Salvia

SOD : Superoxyde dismutase

TBHQ : tetra-butyl hydroquinone

Trolox : L'acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique.

TRAP : Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter

UV : Ultra violet

Liste des tableaux

Tableau II-1: Classification scientifique de <i>Salvia officinalis</i>	6
Tableau II-2: Classification scientifique de <i>Origanum Majorana</i>	10
Tableau VI-1: Résultats des tests phyto-chimiques réalisés sur les extraits de notre plantes étudiée	54
Tableau VI-2: Activité antibactérienne de huile essentielle du <i>Salvia officinalis</i>	55
Tableau VI-3: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l' <i>Origanum majorana</i>	56
Tableau VI-4: Activité antifongique des deux huiles essentielles des deux plantes étudiées	63

Liste des figures

Figure II-1: Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde	7
Figure II-2: La sauge: fleurs	8
Figure II-3: La sauge : feuilles	8
Figure II-4: Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	11
Figure II-5: La marjolaine	12
Figure III-1: Les différentes classes des composés phénoliques.....	17
Figure III-2: Structures de base des principaux flavonoïdes	18
Figure III-3: Structure chimique	19
Figure III-4: Molécule d'isoprène	20
Figure III-5: Exemples de terpènes	21
Figure III-6: Modes d'extraction des huiles essentielles	22
Figure III-7: Appareil d'hydrodistillation.....	23
Figure III-8: Montage d'extraction par distillation a la vapeur d'eau saturé	24
Figure IV-1: Les cycles réactionnels de régénération des antioxydants.....	30
Figure IV-2: L'activité anti-oxydante des flavonoïdes	31
Figure IV-3: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl Hydrazyle).....	34
Figure IV-4: Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl).....	34
Figure IV-5: Schéma sur la réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power).....	35
Figure VI-1: Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH pour l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i>	68
Figure VI-2: Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH pour l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	69

Figure VI-3: Pourcentage d'inhibition du radicale libre **DPPH** pour l'acide ascorbique.....69

Figure VI-4: Valeurs de EC₅₀ des deux HEs (*S.officinalis* et *O.majorana*) et les deux antioxydants du standard (acide ascorbic et Trolox) par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH69

Figure VI-5: Valeurs de l'activité antiradicalaire (1/EC₅₀) des plantes étudiées et des standards (acide ascorbique ,Trolox)..... 70

Liste des photos

Photo V-1: préparation des extraits éthanoliques	42
Photo V-2 : (a) Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur,	46
Photo V-3: Réduction du radical DPPH (de couleur violette) au diphényl picrylhydrazine (de couleur jaune).	48
Photo VI-1: Effet de l'huile essentiel d' <i>Origanum majorana</i> sur le croissance de <i>Escherichia coli</i> (a), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (b), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (c), et <i>Enterobacter</i> (d).	60
Photo VI-2: Effet de l'huile essentiel d' <i>Origanum majorana</i> sur le croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline(b), <i>Listeria monocytogenes</i> (c), <i>Bacillus cereus</i> (d).	61
Photo VI-3: Effet de l'huile essentiel d' <i>Origanum majorana</i> sur le croissance de <i>Escherichia coli</i> (a), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (b), et <i>Enterobacter</i> (c).	62
Photo VI-4 : Effet de l'huile essentiel de <i>Salvia officinalis</i> sur le croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> (a), <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline(b), <i>Listeria monocytogenes</i> (c) , <i>Bacillus cereus</i> (d).	63
Photo III-5 : Effet de l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i> sur le croissance de, <i>Aspergillus niger</i> (a), <i>Aspergillus parasiticus</i> (b), <i>Aspergillus flavus</i> (c), <i>Penicillium</i> (d), <i>Candida albicans</i> (e).	66
Photo VI-6: Effet de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> sur le croissance de, <i>Aspergillus niger</i> (a), <i>Aspergillus parasiticus</i> (b), <i>Aspergillus flavus</i> (c), <i>Penicillium</i> (d), <i>Candida albicans</i> (e).	67

Résumé

Dans un premier temps, cette étude est axée à des testes phytochimique sur deux plantes aromatiques *Origanum majorana* et *Salvia officinalis* de Sidi Amar (Saïda), montrent la présence des flavonoïdes, les tannins, les terpènes, Et grâce à cela nous progressons dans notre étude par l'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur, les résultats donnent des rendements de 1,01% et 0,24% pour *Salvia officinalis* et *Origanum majorana* respectivement.

Dans un second temps, notre travail s'est orienté vers la mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique, en employant la méthode de diffusion sur puits, Les souches bactériennes testées se sont avérées très sensibles à les deux huile essentielle étudiée, dans lequel les zones d'inhibition ont été comprises entre 11 et 37 mm pour l'huile de *Salvia officinalis* et entre 20 et 40 mm pour l'huile d' *Origanum majorana*, les deux huiles essentielles ont été efficaces particulièrement contre les souches *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa*, Concernant l'activité antifongique, les résultats obtenus montre que l' huile essentielle d' *Origanum majorana* attribué une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne supérieure à celle l' huile essentielle de *Salvia officinalis* par des diamètres des zones d'inhibition entre 26 et 40 mm, et des diamètres entre 8 et 20 mm pour *Salvia officinalis*. Les souches les plus sensibles pour les deux huile essentielle sont *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*.

L'activité antioxydante a été établie par Le test de piégeage des radicaux libres DPPH qui a avéré que l'activité d'inhibition de *Salvia officinalis* représenté par une valeur de $IC_{50} = 1,31$ mg/ml, qui est plus élevée par rapport à l'activité d'inhibition de l'*Origanum majorana* par une valeur de $IC_{50}=1,46$ mg/ml Cependant, la capacité antioxydant de l'huile des deux plantes restent moindre par rapport à l'antioxydants synthétiques de référence, la vitamine C et Trolox.

Mots clés: Huiles essentiels, *Salvia officinalis*, *Origanum majorana*, activité antioxydant, activité antifongique, activité antibactérienne.

Abstract

At first, this study is focused on phytochemical tests on two aromatic plants *Origanum majorana* and *Salvia officinalis* from Sidi Amar (Saïda), show the presence of flavonoids, tannins, terpenes, And thanks to this we are progressing in our study by extraction of essential oils by steam distillation, the results give yields of 1.01% and 0.24% for *Salvia officinalis* and *Origanum majorana* respectively.

In a second time, our work was directed towards the demonstration of the antibacterial and antifungal activity, by employing the method of diffusion on well, The tested bacterial strains proved to be very sensitive to the two essential oil studied, in which the zones of inhibition were between 11 and 37 mm for the oil of *Salvia officinalis* and between 20 and 40 mm for the oil of *Origanum majorana*, the two essential oils were effective particularly against the strains *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, Concerning the antifungal activity, the results obtained show that the HE of *Origanum majorana* attributed a capacity to inhibit mycelial growth superior to that of the HE of *Salvia officinalis* by diameters of the zones of inhibition between 26 and 40 mm, and diameters between 8 and 20 mm for *Salvia officinalis*. The most sensitive strains for the two essential oils are *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*.

The antioxidant activity was established by DPPH free radical scavenging test which found that the inhibition activity of *Salvia officinalis* represented by a value of $IC_{50}=1.31\text{mg/ml}$, which is higher compared to the inhibition activity of *Origanum majorana* by a value of $IC_{50}=1.46\text{ mg/ml}$ However, the antioxidant capacity of the oil of the two plants remains lower compared to the reference synthetic antioxidant, vitamin C and Trolox.

Keywords: Essential oils, *Salvia officinalis*, *Origanum majorana*, antioxidant activity, antifungal activity, antibacterial activity.

ملخص

في البداية تركز هذه الدراسة على الاختبارات الكيميائية النباتية للنباتين العطريين *Origanum majorana* و *Salvia officinalis* من سيدي عمر (سعيدة)، التي تظهر وجود مركبات الفلافونويد والعفص والتربينات ، وبفضل هذا نحن نتقدم في دراستنا من خلال استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير بالبخار ، وتعطي النتائج عائد 1.01% و 0.24% ل *S.officinalis* و *majorana.O* على التوالي.

في المرة الثانية ، تم توجيه عملنا نحو إظهار النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات ، من خلال استخدام طريقة الانتشار على الآبار ، أثبتت السلالات البكتيرية التي تم اختبارها أنها حساسة للغاية للزيتين الأساسيين اللذين تمت دراستهما ، بحيث تتراوح مناطق التثبيط بين 11 و 37 مم لزيت *S.officinalis* وبين 20 و 40 مم لزيت *majorana.O* ، وكان الزيتان الأساسيان فعالين بشكل خاص ضد سلالات *cereus.B* و *S.aureus* و *aerogenosa.P* . وبخصوص النشاط المضاد للفطريات ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن *majorana.O* HE من يعزى القدرة على تثبيط نمو الفطريات أكبر من تلك الموجودة في ل *HE S.officinalis* بأقطار من مناطق التثبيط بين 26 و 40 مم ، وأقطار بين 8 و 20 مم ل *S.officinalis* . أكثر السلالات حساسية للزيوت الأساسية هما *flavus.A* و *parasiticus.A*.

تم تحديد نشاط مضادات الأكسدة من خلال اختبار مسح الجذور الحرة DPPH والذي وجد أن نشاط التثبيط ل *Salvia officinalis* يمثل بقيمة $IC_{50} = 1.31$ مجم / مل ، وهو أعلى مقارنة بالنشاط التثبيطي ل *Origanum majorana* بواسطة قيمة $IC_{50} = 1.46$ مجم / مل ومع ذلك ، تظل قدرة مضادات الأكسدة للزيتين النباتيين أقل مقارنة بمضادات الأكسدة الاصطناعية المرجعية ، فيتامين C و Trolox.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ، *Salvia officinalis* ، *Origanum majorana* ،

، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للفطريات ، نشاط مضاد للبكتيريا.

Table des matières

PARTIE I. INTRODUCTION.....	1
PARTIE II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
II.1. Salvia officinalis	6
II.1.1. Position systématique	6
II.1.1.1. Nomenclature.....	6
II.1.1.2. Ecologie et répartition géographique	7
II.1.2. Propriétés botaniques	7
II.1.3. Composition chimique	8
II.1.4. Usage traditionnel	9
II.2. Origanum Majorana.....	10
II.2.1. Position systématique.....	10
II.2.1.1. Nomenclature	10
II.2.1.2. Ecologie et répartition géographique.....	11
II.2.2. Propriétés botaniques	12
II.2.3. Composition chimique.....	13
II.2.4. L'usage traditionnel	13
PARTIE III. LES METABOLITES SECONDAIRES ET LES HUILES ESSENTIELLES	15
III.1. Les métabolites secondaires	16
III.1.1. Définition.....	16
III.1.2. Les principaux groupes des métabolites secondaires.....	16
III.1.2.1. Les composés phénoliques	17
III.1.2.2. Les flavonoïdes.....	18
III.1.2.3. Les Tannins	19
III.1.2.4. Les terpènes	20
III.2. Les huiles essentielles	21
III.2.1. Définition	21
III.2.2. Procédés d'obtention des huiles essentielles.....	22
III.2.2.1. Hydrodistillation simple	22
III.2.2.2. L'entraînement à la vapeur d'eau	23

III.2.2.3. Autre méthodes d'extraction	25
PARTIE IV. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES COMPOSES PHENOLIQUES ET HUILES	
ESSENTIELLES.....	27
IV.1. Activité antioxydants	28
IV.1.1. Le stress oxydant.....	28
IV.1.2. Les antioxydants	28
IV.1.2.1. Les antioxydants enzymatiques	28
IV.1.2.2. Les antioxydants non enzymatiques	29
IV.1.3. Mécanisme d'action des antioxydants	32
IV.1.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant	32
IV.1.4.1. Le test de piégeage de radical DPPH	33
IV.1.4.2. Le test de la réduction de fer FRAP	35
IV.1.4.3. Le test d'inhibition de blanchiment du β -carotène.....	37
IV.1.5. Activité antioxydant des composés phénoliques et huiles essentielles.....	37
IV.2. L'activité antimicrobienne des composés phénoliques et huiles essentielles ...	38
IV.3. Activité antibactériennes	39
PARTIE V. MATERIELS ET METHODE	41
V.1. Matériel végétal	42
V.2. Screening phytochimique	42
V.3. Extraction des huiles essentielles.....	45
V.3.1. La procédure d'extraction	45
V.3.2. Mode opératoire.....	45
V.4. Détermination des activités biologiques in vitro.....	46
V.4.1. L'activité antioxydant:.....	46
V.4.1.1. Activité de piégeage du radical DPPH	46
V.4.1.2. Mode opératoire	47
V.4.2. Activité antibactérien	48
V.4.2.1. Méthode des puits de diffusion sur gélose	49
V.4.3. Activité antifongique.....	50

PARTIE VI. RESULTATS ET DISCUSSION	52
VI.1. Rendements des huiles essentielles	53
VI.2. Analyse phyto-chimique.....	54
VI.3. Activité antibactérienne.....	55
VI.4. Activité antifongique	63
VI.5. Activité antioxydants	67
PARTIE VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	73
PARTIE VIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	76
PARTIE IX. ANNEXES	97

PARTIE I. INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacopée naturelle et pragmatique pour l'homme. Personne ne cherchait savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (Schauenbergue, 2010) l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité structure chimique possédant un très large éventail d'activités biologiques.

L'Algérie est considérée comme un pays riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (Quézel et Santa, 1963). Un grand nombre d'espèces appartenant à la famille des Lamiaceae représentent une source d'une grande variété de métabolites secondaires, tels que les huiles essentielles, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les terpènes phénoliques. Ces composés sont largement reconnus pour leurs activités biologiques (Trivellini et al., 2016).

La famille des Lamiaceae est importante dans la flore Méditerranéenne et Algérienne. Plusieurs genres sont utilisés traditionnellement en tant que remèdes contre diverses pathologies et infections (les troubles digestifs, la grippe, les maux de tête, les maladies inflammatoires etc) et les radicaux libres sont à l'origine de ces pathologies. (Sharififar et al., 2009; Ehivet et al., 2011).

De plus, les extraits et les huiles essentielles des espèces de la famille des Lamiaceae se sont avérées posséder une large variété de propriétés pharmacologiques, représentées essentiellement par l'activité antioxydante

(**Yazdanparast et Ardestani, 2009; Tepe et al., 2011**). Cette dernière a été attribuée aux composés antioxydants présents dans les extraits et les huiles essentielles. De nombreux auteurs ont considéré les composés phénoliques et les huiles essentielles comme antioxydants puissants des Lamiaceae (**Ben khedher et al., 2017; Gülçin et al., 2019**). C'est pourquoi les huiles essentielles commencent à attirer beaucoup d'attention en tant que source potentielle de molécules bioactives naturelles (**Chikhoun 2007**), C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse, généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides, sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur (**Wang et al., 2008**). De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques (**Essawi et Srour, 2000**). Suite à cette préoccupation, il semble donc important de trouver une alternative. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces phénomènes de résistance bactérienne et d'oxydation des aliments. Dans ce contexte et dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de notre pays, nous nous sommes intéressés à étudier les espèces *Origanum majorana* et *Salvia officinalis*, les deux appartenant à la famille des Lamiacées. Le choix de ces deux plantes est basé sur leurs utilisations fréquentes dans nos traditions locales médicinales.

A cet effet un criblage phytochimique des deux plantes, l'extraction des huiles essentielles et leurs caractérisations ainsi que l'évaluation des activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante) ont été réalisés. Ces travaux

sont décrits dans le présent manuscrit qui est composé de deux parties après une introduction général :

La première partie consacrée à l'étude bibliographique qui nous éclaire sur les espèces végétales étudiées, les huiles essentielles et composés phénoliques ainsi leurs activités biologiques, en l'occurrence l'effet antioxydant et antimicrobien attribuées aux huiles essentielles.

La deuxième partie est une étude expérimentale subdivisée en deux chapitres : un chapitre sur les matériels et méthodes utilisés dans ce travail et l'autre chapitre sur les résultats obtenus suivie des discussions.

Enfin, une conclusion générale résumant les différents résultats obtenus de cette étude et dégageant les principales perspectives d'élargissement de ce travail.

PARTIE II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. *Salvia officinalis*

II.1.1. Position systématique

La classification de *Salvia officinalis* est la suivante

Tableau II-1 : Classification scientifique de *Salvia officinalis* (Loïc. F. 2009)

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Cormophytes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i> L

La famille des Lamiaceae (labiées) du latin (labia) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Couplan., 2000).

Les Lamiaceae ou Labiatae sont une famille de plantes avec une distribution cosmopolite contenant environ 236 genres et a été déclaré contenir 6900-7200 espèces (Tamokou et al., 2017). Les plus grands genres sont *Salvia* (900 espèces).

II.1.1.1. Nomenclature

Plusieurs appellations ont été données à *Salvia officinalis*. En français elle s'appelle la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment "essalma". En Espagne, elle est appelée "salbia" par les botanistes. Les Algériens lui confèrent l'expression "souek ennebi" comme synonyme de Salème et la nomment aussi mayramia. (Longarayet al., 2007, Maksinovic et al., 2007).

II.1.1.2. Ecologie et répartition géographique

Salvia officinalis est une plante vivace originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croît de manière spontanée et en culture le long de tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie et dans le nord de l'Afrique.

Comme beaucoup de Lamiaceae la sauge est particulièrement abondante sur les versants calcaires ensoleillés de la cote dalmate (Croatie et Monténégro), ainsi qu'en Albanie, en Hongrie, en Allemagne et en France (Maatoug. H, 1990).

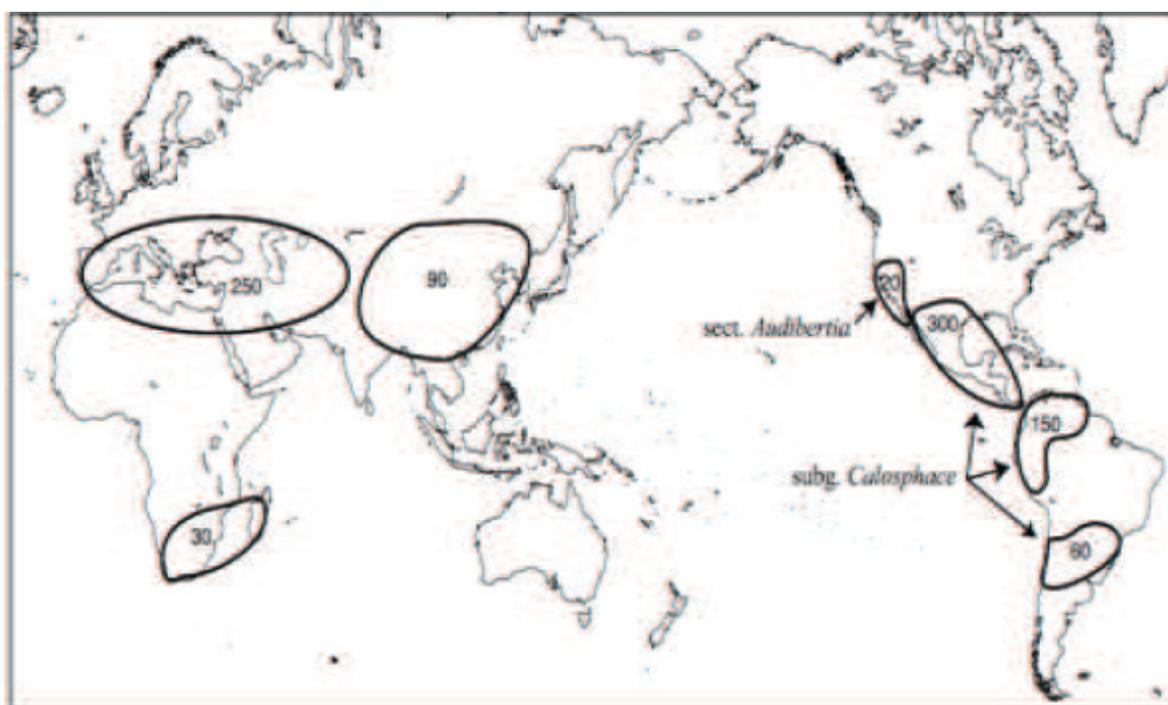


Figure II-1 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (Walker, et al 2004)

II.1.2. Propriétés botaniques

La sauge (*Salvia officinalis*) est une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiaceae. C'est une famille cosmopolite d'arbres contenant environ 31 genres et 2700 espèces. En Algérie, 30 espèces végétales sont

répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques.

Salvia officinalis est un arbuste vivace de 30 à 60 cm de hauteur, à tiges ligneuses formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure. Cette plante se caractérise par une odeur aromatique et de petites fleurs bleu violettes qui s'épanouissent en Juin ou Juillet (figure II-2) (Benkherara et al., 2011).



Figure II-2: La sauge : fleurs (Anonyme, 2002)



Figure II-3: La sauge : feuilles (Anonyme, 2002)

II.1.3. Composition chimique

Salvia officinalis contient un grand nombre de molécules ayant des intérêts multiples à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en

pharmacologie qui peuvent être divisés en monoterpènes, diterpènes, triterpènes et composants phénoliques.

❖ Polyphénols de *Salvia Officinalis*

Des études plus récentes sur la sauge ont révélé la présence d'un grand nombre de diterpénoïdes et des acides phénoliques tels que: Acide gallique, acide caféique, acide saugerinique, acide rosmarinique...etc. (Lu et Foo, 2002). Et des Flavonoïdes et dérivés (apiginin, luteolin, et leurs dérivés, cirsimaritrine, 7- glucoside ...etc.) (Santos-Gomes et al.,2002; Amin et Hamza, 2005).

❖ Huiles essentielles

Plus de 50 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de tiges et de feuilles de la plante *Salvia officinalis* (Santos-Gomes et Fernandes-Ferreira, 2001).

La teneur en huiles essentielles des feuilles sauvages séchées est entre 1,5 et 3,5% (Raal et al., 2007).

II.1.4. Usage traditionnel

Les plantes de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et en préparation culinaire (Longaray et al., 2007, Maksinovic et al., 2007).

En médecine traditionnelle, *Salvia officinalis* a été utilisée par les grecs, les romains et les arabes comme tonique et en compresses contre les morsures de serpent et comme des cigarettes contre l'asthme (Anonyme, 2002).

Cette plante est employée en tant que stimulant pour les gens anémiques et aussi pour les personnes stressées et déprimées. Les feuilles en infusion constituent des gargarismes astringents contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi et Nacef, 2004). Elle est alors principalement appliquée pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine, les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux. Elle est ainsi très souvent

proposée aux femmes ménopausées, afin de réduire les sueurs nocturnes (Radulescu et al., 2004).

Cette herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son goût puissant, légèrement amer et camphré (Laghouti et al 2020).

II.2. Origanum Majorana

II.2.1. Position systématique

Classification d'après Deysson 1967 (Figueredo, 2007) :

Tableau II-2: Classification scientifique d'Origanum Majorana

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Série	Superovariées tétracycliques
Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Népétoïdées
Genre	Origanum
Espèce	Origanum Majorana

II.2.1.1. Nomenclature

Anglais: Marjoram, Sweet marjoram, Hindi: Murwa-Sathra, Kannada:Maruga, Ourdou Marwa-marzanjosh, Arabie saoudite:Doash ,Portugais: Manjerona-Mangerona-Manjarona, Espagnol: Dulce mejorana, Français :Marjolaine, Allemand: Majoran, italie: Maggiorana, arabe: merdgouche -berdgouche-merdgoucha.(Tripathy et al., 2017)

II.2.1.2. Ecologie et répartition géographique

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par Ietswaart en 1980. Le genre *Origanum* pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires et, fleurit de mai à octobre. C'est une plante hémicryptophyte. Les plantes hémicryptophytes sont des plantes vivaces dont les bourgeons de renouvellement sont situés au niveau du sol. En effet, les parties aériennes meurent pendant la mauvaise saison, et la plante peut donc repartir à partir des bourgeons de renouvellement (Caillaud, 2013).

Il est largement présent des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante



Figure II-4 : Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

Certaines espèces sont endémiques à un pays. Par exemple *O.saccatum*, *O.boissieri*, *O.hypericifolium*, *O.sipyleum*, *O.acutidens*, *O.haussknechtii*, *O.brevidens*...etc sont particulières à la Turquie, pays qui est considéré comme le centre génique du genre *Origanum* puisqu'il en possède 16 espèces

(Baser, 1995). De plus la Turquie est aussi un important centre génique de la famille des Lamiaceae.

II.2.2. Propriétés botaniques

C'est une espèce herbacée vivace très proche de l'origan à tiges dressées. Plante d'environ 30 cm de haut, ligneuse à la base, pubescente. Racine pivotante tortueuse plus ou moins ramifiée. Tige à section quadrangulaire, dressée, ramifiée, de coloration rougeâtre. Feuilles simples, opposées, pétiolées, ovales, allongées, à bords lisses, mesurant environ 2 cm de long sur 1 cm de large, recouvertes d'un duvet blanchâtre. Inflorescences en épis globuleux, axillaires et terminaux, groupés par 3. Fleurs zygomorphes, petites, blanches ou rosées, enveloppées à la base par de larges bractées en forme de coquille. Calice gamosépale, bilabié, à 5 pièces. Corolle gamopétale, à 5 pièces, formant une lèvre supérieure échancrée et une lèvre inférieure trilobée. Etamines au nombre de 4, dont 2 plus longues, présentant des anthères rougeâtres à lobes écartés. Ovaire formé de 2 carpelles biovulés surmontés d'un style à stigmate bifide (Ietswaart, 1980).



Figure II-5 : La marjolaine (Aggoun F; 2020)

II.2.3. Composition chimique

L'Origanum majorana contient des coumarines, flavonoïdes, sucre, tannins, stéroïdes et des huiles essentielles (**Hafaidia et al 2020**).

D'après Triantaphyllouk (2001), L'huile essentielle de marjolaine est particulièrement riche en terpinéol. Elle a un aspect liquide, limpide, une couleur jaune pâle à foncé et une odeur douce, fine, chaude et délicate. La composition de l'huile essentielle de marjolaine est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des monoterpénols, des monoterpènes, des sesquiterpènes et des esters terpéniques (**Aggoun F; 2020**).

II.2.4. L'usage traditionnel

La plante a des propriétés médicinales. La fin du XVI^e siècle, on la prescrivait «contre les affections dues au refroidissement du cerveau et de la tête». Ses propriétés furent étudiées au XVII^e siècle par le Danois Simon Paulli (**Gérard et François., 2009**).

La marjolaine était à l'origine utilisée par Hippocrate comme agent antiseptique. Pour les anciens Grecs, c'était «Amarakos». Aristote a rapporté que c'était un antipoison. Elle était utilisée pour désinfecter et conserver la nourriture et son huile a été massée sur le front et dans les cheveux dans le vieux Egypte. Traditionnellement, les feuilles de la marjolaine sont utilisées pour soigner le diabète, l'insomnie, catarrhe, asthme et nervosité (**Cano et Volpato., 2004**).

Elle est aussi utilisée pour le traitement de troubles gastro-intestinaux, toux, les maladies bronchiques, comme un bain de bouche pour l'hygiène buccale et également appliqué localement pour soulager les symptômes de rhume, comme la congestion nasale (**Bruneton, 1999**). C'est une maison remède pour infection de la poitrine, toux, mal de gorge, douleurs rhumatismales, troubles nerveux, cardiovasculaires épilepsie, insomnie, soins de la peau, flatulences et troubles de l'estomac (**Yazdanparast et Shahriyary., 2008**).

On l'emploie également en cas de migraine. Elle est un excellent antiseptique général, tant interne qu'externe. Très bon antispasmodique, la marjolaine est utilisée contre les mauvaises digestions d'origine nerveuse, les coliques et les flatulences. En usage externe, elle a depuis longtemps fait ses preuves contre le torticolis et la sciatique (**Gérard et François.,2009**).

Cette herbe s'emploie sous forme de feuilles fraîches ou séchées, seule ou en mélange avec d'autres herbes, pour aromatiser de nombreuses préparations culinaires. Son huile essentielle est connue pour sa propriété antiseptique (**Chung, 2001**), mais il est à éviter en usage interne pour le risque de la toxicité (**Gérard et François., 2009**)

**PARTIE III. LES METABOLITES
SECONDAIRES ET LES
HUILES ESSENTIELLES**

III.1. Les métabolites secondaires

III.1.1. Définition

Les plantes utilisent des molécules organiques pour vivre et se développer «matériaux de construction» issus de leur métabolisme. On distingue métabolisme primaire et métabolisme secondaire. Le métabolisme primaire, universel dans le monde animal et végétal, fournit les éléments de base à la vie: protéides, glucides, lipides et acides nucléiques (**Deschepper, 2017**).

Les métabolites secondaires sont un large éventail de composés actifs présente chez un organisme et qui ne participent pas directement au processus de base de la cellule, et sont issus de la biosynthèse des métabolites primaires. Ils sont plus limités dans leur distribution dans le règne végétal. Ils varient en qualité et en quantité pour une espèce végétale donnée poussant à différents endroits. Ils sont souvent accumulés en plus petites quantités (**Jain et al., 2019**).

Ces métabolites qui peuvent être néfastes pour certains animaux, ou microorganismes, ce qui vient étayer la croyance selon laquelle ces composés jouent un rôle primordial dans la lutte contre les maladies. La plupart de ces métabolites jouent probablement le rôle de défense chimique contre des prédateurs ou des agents infectieux. Ils sont produits en très faible quantité, et présentent une grande variété structurale (**Hartmann, 2007**) (**Breitling et al., 2013**) (**Jain et al., 2019**).

III.1.2. Les principaux groupes des métabolites secondaires

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- Les composés phénoliques
- Les saponines
- Les alcaloïdes et composés azotés
- Les composés terpéniques.

III.1.2.1. Les composés phénoliques

Les métabolites de groupe un représentent polyphénols secondaires complexes et exclusivement synthétisent dans le règne végétal (Collin et Crouzet, 2011). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter, 1993) et contribuant ainsi à la survie de l'organe dans son écosystème (Achat, 2013)

Ces composés manifestent une grande diversité de structures : quinones, coumarines, acides phénoliques, flavonoïdes, tanins, stilbénoides, lignanes et xanthones (Stalikas., 2007). Ces structures peuvent être diversement substituées (glycosylées, estérifiées, acylées...)

Plus de 8000 structures ont été identifiées à partir de simples molécules comme les acides phénoliques, jusqu'aux les substances hautement polymérisées comme les tanins (Dai et Mumper, 2010)

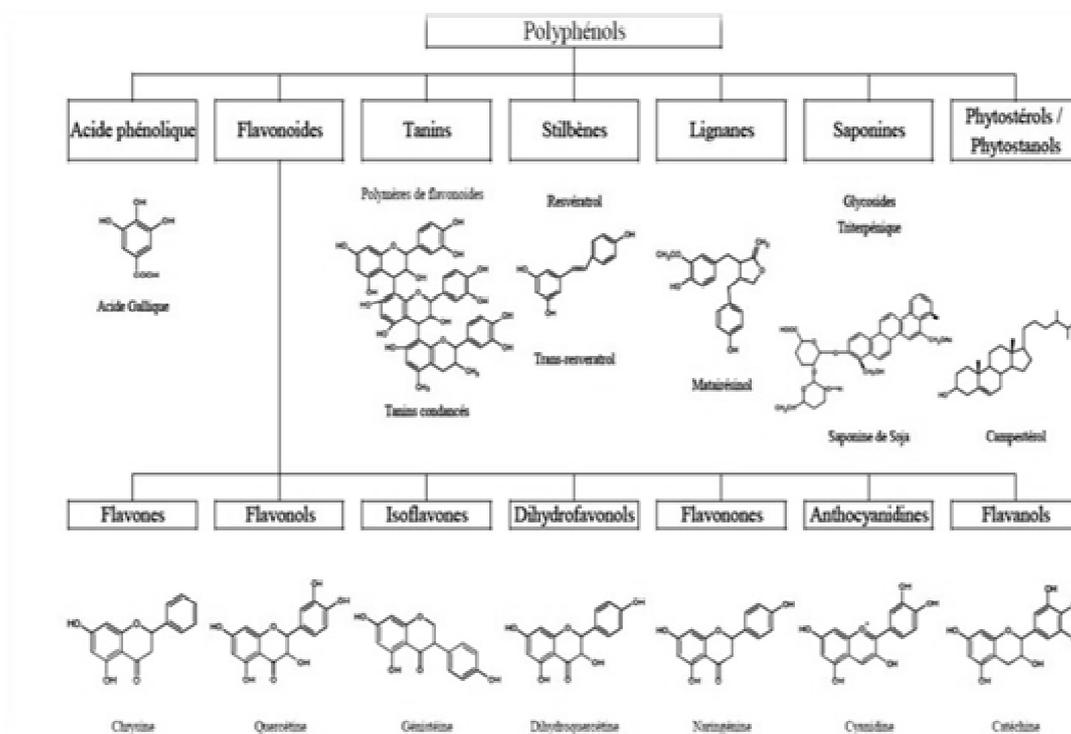


Figure III-1: Les différentes classes des composés phénoliques (Hamid, 2013)

III.1.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, souvent responsable de la coloration des fleurs, et des fruits, ils dérivent tous de la flavone (ou 2-phénylchromone) et existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétéroside : les flavonosides (Gazengel et orechioni, 2013).

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes De carbone constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Collin et Crouzet, 2011).

Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les ultra violet, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies par exemple.(Chira et al, 2008)

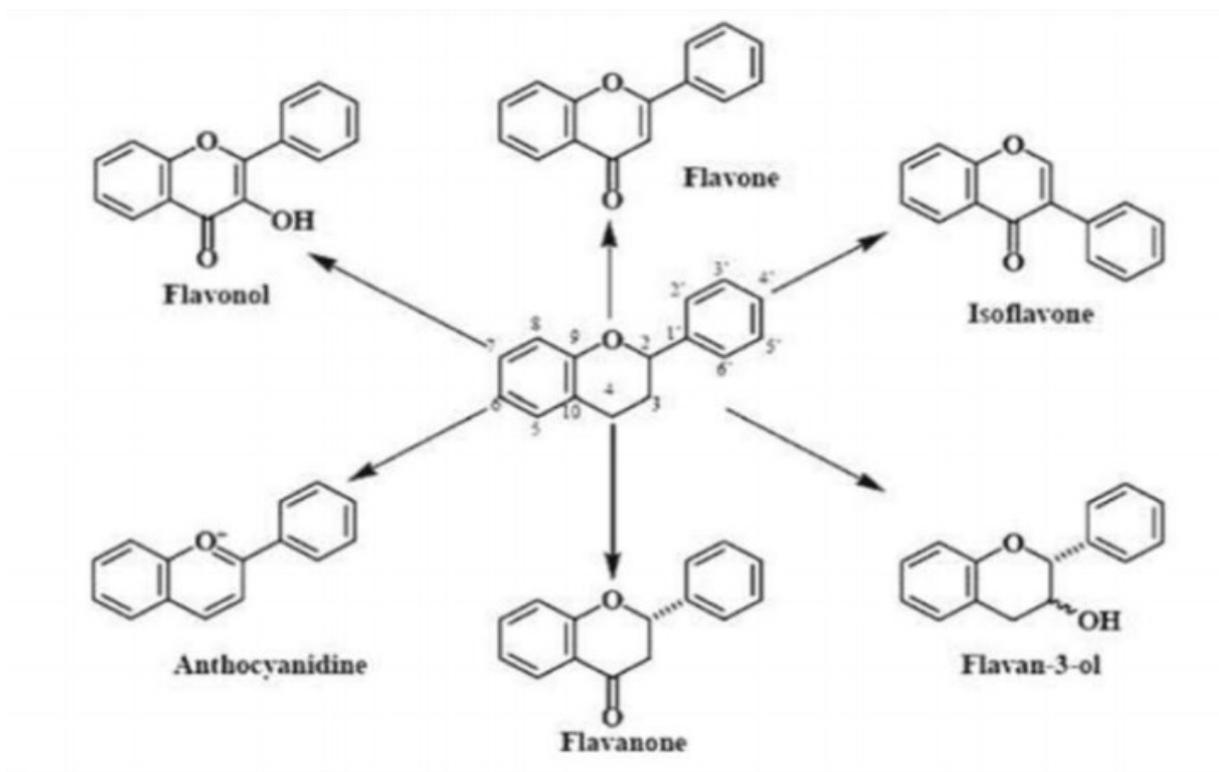


Figure III-2: Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira et al., 2008)

III.1.2.3. Les Tannins

Les tannins représentent un groupe de polyphénols solubles dans l'eau, (Xiuzhen et al., 2007) à poids moléculaire élevé, et sont présents dans les écorces des fruits de quelques plantes (Gulçin et al., 2010), généralement trouvés complexes avec alcaloïdes, polysaccharides et protéines, en particulier ces derniers, Sur la base des caractéristiques structurales il y a deux groupes, les gallotannins et les ellagitannins de tanins hydrolysables (Xiuzhen et al., 2007)

Les tanins hydrolysables : ce sont des hétérosides polyphénoliques issus de la combinaison d'un sucre estérifié par un nombre variable de molécules d'acides phénoliques (acide gallique, acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés) (Berregioua, 2016).

Les tannins condensés : donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines. Ces tannins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils se transforment en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes (Ghnimi,2005).

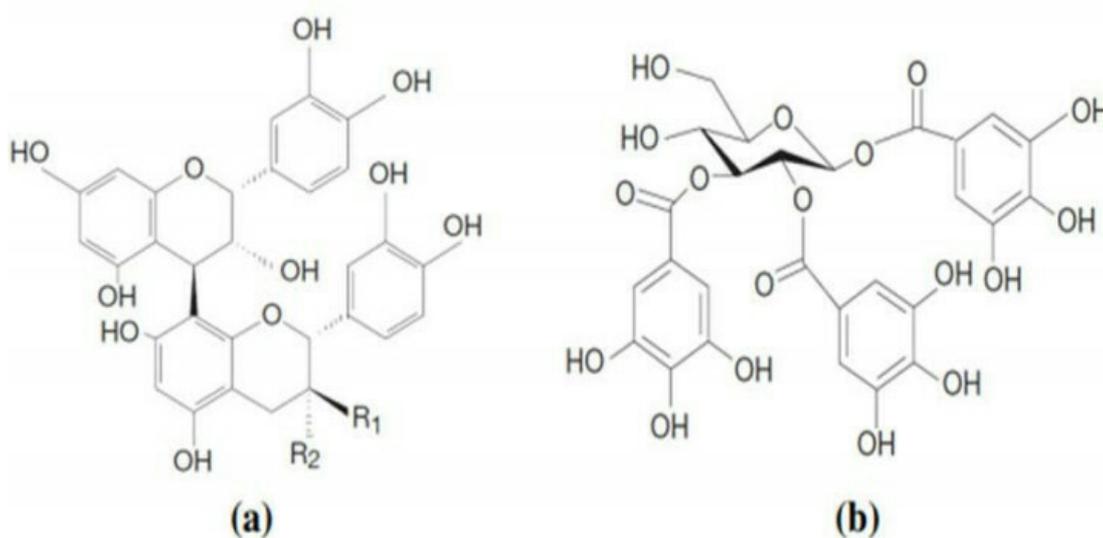


Figure III-3 : Structure chimique (Achat, 2013)

(a): d'un tanin condensé (proanthocyanidine)

(b): d'ungallotanin (1,2,3-tri-O-galloyl-β-D-glucose)

III.1.2.4. Les terpènes

Les terpènes (= Terpénoïdes) sont des constituants habituels des cellules végétales, ils constituent entre autre le principe odoriférant des végétaux (Klaas et al., 2002). Ces molécules se présentent en forme des huiles essentielles, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (Hopkins, 2003). Ils sont des constitués d'unités d'isoprène à 5 carbones (C₅H₈) comme élément de base, ils ont pour formule de base (C₅H₈)_n. Leur squelette de carbone est constitué d'unités isopréniques reliées entre elles, Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles (Chouhan, 2017) (Mahizan et al., 2019).

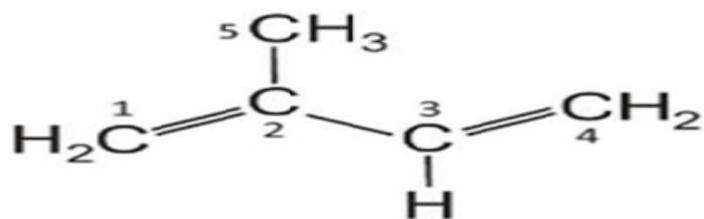


Figure III-4: Molécule d'isoprène (Hillier et al.,2019)

Les terpènes, principaux constituants des huiles essentielles, et sont produits et sécrétés par des tissus végétaux spécialisés (Guimaraes et al., 2019).

Les terpènes sont trouvés dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou graines (Touafek , 2010).

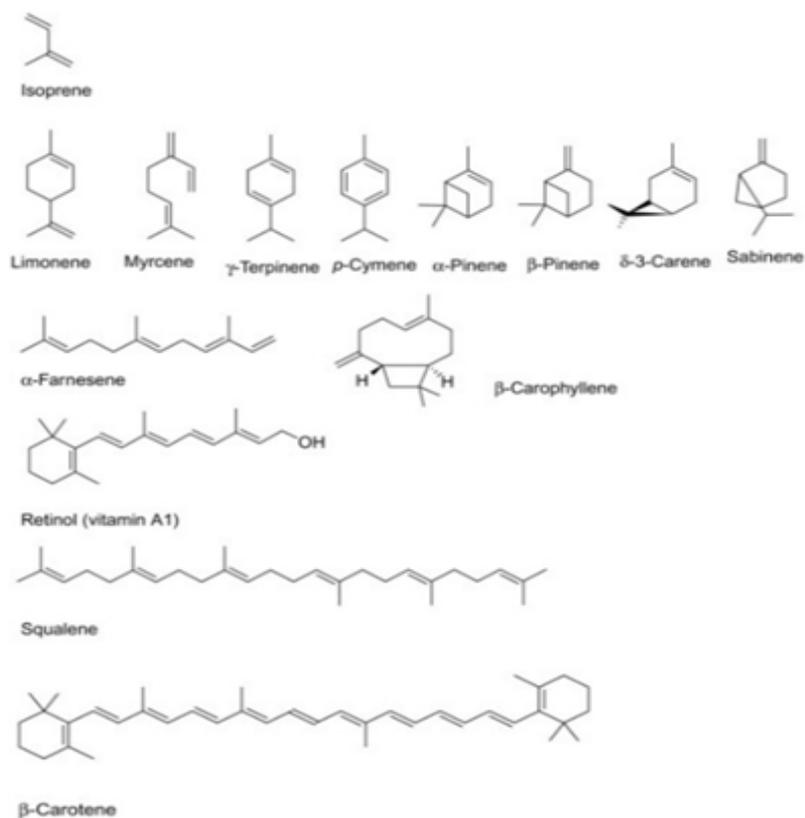


Figure III-5: Exemples de terpènes (Rubulotta et Qadrelli, 2019).

III.2. Les huiles essentielles

III.2.1. Définition

Les huiles essentielles ou parfois «essence végétale») (Burt, 2004) est un mélange de substances aromatique volatiles de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actif (Lahlou, 2004).

Les huiles essentielles sont des produits généralement de Composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (pengelly,2003).

Les huiles essentielles sont localisées le plus souvent dans des organes sécréteurs. Leurs stockages se fait au niveau des fleurs, feuilles, fruits, tiges, bois, écorces et parties souterraines (racines, rhizomes) à proximité de la surface. Bien que toutes les parties d'une plante puissent contenir des essences, leurs compositions chimiques varient d'un organe à un autre, mais

la plus importante concentration se trouve au niveau des fleurs et des feuilles (Benbouali, 2006) Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance de la nouvelle branche de la phytothérapie : l'aromathérapie (El Haib, 2011).

III.2.2. Procédés d'obtention des huiles essentielles

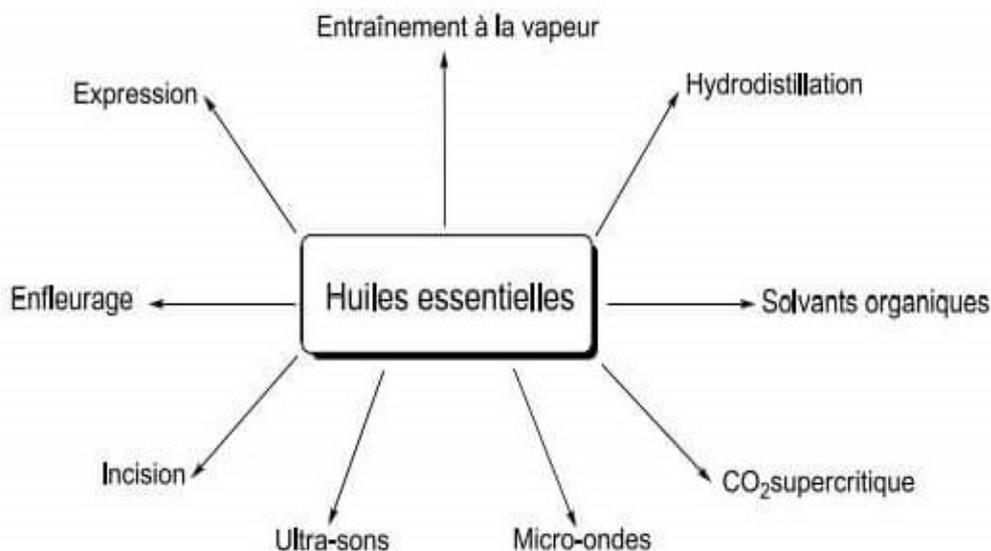


Figure III-6: Modes d'extraction des huiles essentielles

III.2.2.1. Hydrodistillation simple

Cette méthode est la plus simple et la plus anciennement utilisée. Elle se produit dans l'appareil de Clevenger.

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal (rameaux, feuilles...) dans un bain d'eau, l'ensemble est porté à ébullition, pour briser les cellules végétales et libérer les molécules aromatiques volatiles qui constitueront finalement l'huile essentielle de cette plante.

Les constituants volatils sont entraînés par la vapeur d'eau et sont condensés dans un réfrigérant (dans le serpentin, long et fin tube de verre hélicoïdal plongé dans de l'eau froide) On recueille enfin l'eau chargée de principes actifs dans un récipient spécial appelé «vase florentin», les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité pour l'obtention de

2 couches huiles essentielles et hydrolat (**Benyadah, 2008**). La distillation est relativement rapide (1heure 30 suffit généralement pour extraire la majeure partie des composés volatils d'une plante) (**Piollet, 2010**).

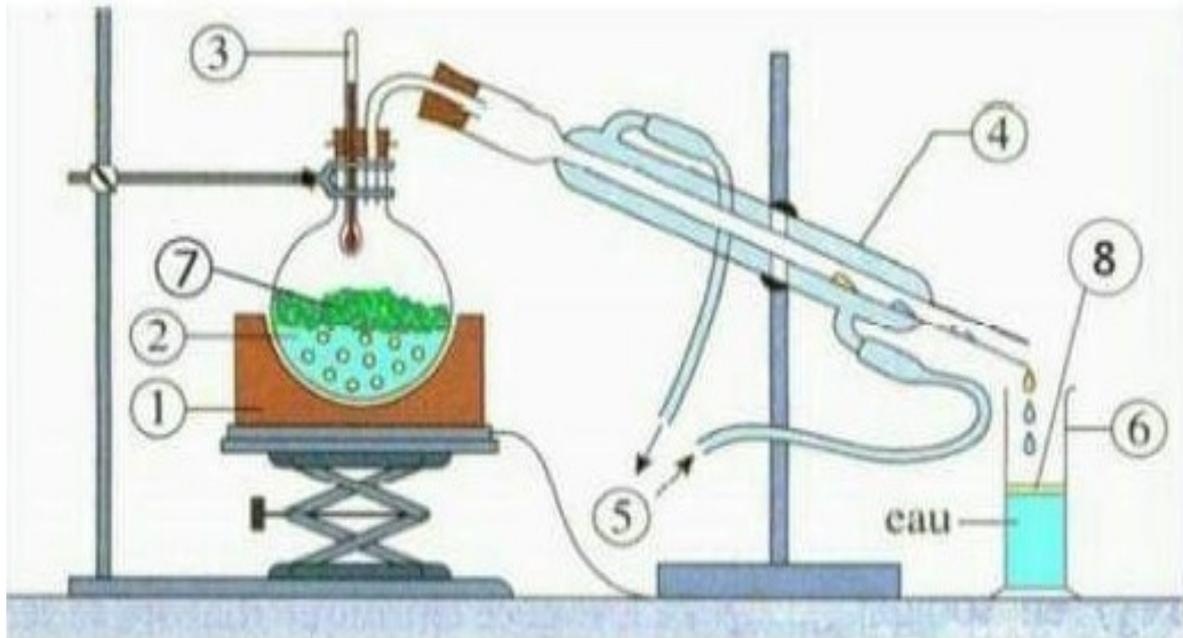


Figure III-7: Appareil d'hydrodistillation (**Benchachoua, Simoud, 2021**)

- 1) Chauffe-ballon
- 2) Eau en ébullition
- 3) 3-thermomètre
- 4) Réfrigérant à eau
- 5) Arrivée et sortie d'eau
- 6) Eprouvette graduée
- 7) Matériel végétal
- 8) Huile essentiel ou essence

III.2.2.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, Le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau. Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau (**Benyadah, 2008**).

Les plantes sont placées dans un alambic, puis chauffées avec de la vapeur d'eau. La chaleur intense fait exploser les petites poches qui contiennent les huiles, et celles-ci se répandent dans la vapeur d'eau. Elles sont ensuite canalisées dans un condensateur et réfrigérées pour se liquéfier à nouveau. A la sortie, un essencier ou «séparateur florentin» sépare le produit de la distillation en deux phases distinctes, phase aqueuse et phase organique: l'huile et l'eau condensées que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Belaiche, 1979).

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes anciennes pour l'obtention des huiles essentielles, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (Bego, 2001). C'est la méthode la plus largement utilisée et la mieux adaptée pour obtenir les huiles essentielles les plus pures.

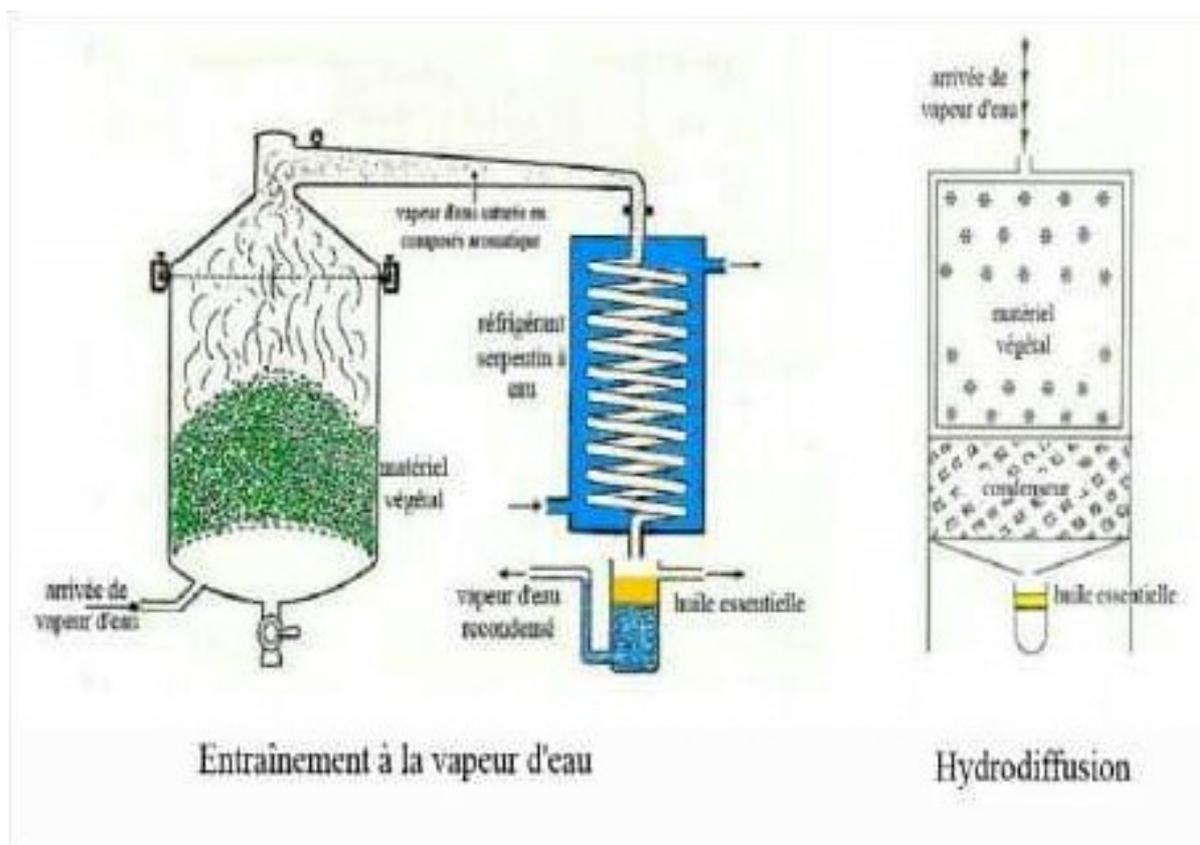


Figure III-8: Montage d'extraction par distillation à la vapeur d'eau saturé (Mehani, 2015)

III.2.2.3. Autre méthodes d'extraction

Distillation par les solvants organiques

Certaines huiles essentielles ont une densité voisine de l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être dans ce cas utilisé. Le principe consiste à faire macérer la plante dans le solvant afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant.

Solvants issus du pétrole

Ce moyen met en œuvre des solvants organiques comme le pentane, l'hexane, l'heptane,... Il est réservé aux huiles essentielles ayant une densité voisine de celle de l'eau.

Forane 113

Le forane 113 ($F_2CCl-CCl_2F$) permet d'extraire un mélange d'huile essentielle et d'huile lipidique en même temps, ce qui permet de valoriser doublement la plante.

Dioxyde de carbone

Dans l'extraction par le dioxyde de carbone liquide ou supercritique, un courant de CO_2 à forte pression fait éclater les poches à essence. Cette méthode est meilleure que l'hydrodistillation en termes de coût, d'économie d'énergie, de rendement et de qualité du produit obtenu du fait que le dioxyde de carbone est incolore, inodore, ininflammable et non toxique (Pellerin et al, 1991).

Distillation assistée par micro-ondes ou ultrasons

Ces techniques récentes offrent plusieurs avantages significatifs par rapport aux techniques classiques. En effet, elles nécessitent un volume moindre de solvant et un temps de chauffage réduit ce qui évite la perte et la dégradation des composés volatils et thermosensibles. Ainsi, elles conduisent à des rendements plus élevés (Luque de Castro, 1999) (Lucchesi, 2004).

Extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes consiste à chauffer l'extractant (eau ou solvant organique) mis en contact avec la plante sous l'énergie micro-ondes ce qui permet un chauffage homogène. Ce nouveau procédé d'extraction permet des gains de temps et d'énergie considérables (**Pourmortazavi et al, 2007**).

Extraction par ultrasons.

Le matériel végétal mis en contact avec le solvant (eau ou solvant organique) est immergé dans un bain à sonication maintenu à une agitation constante (**Kimbaris et al, 2006**).

Enfleurage

L'enfleurage est une technique assez difficile. Elle date de l'antiquité égyptienne et est basée sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses. Elle est réservée principalement aux organes fragiles que sont les fleurs (violette, tubéreuse, jasmin,...). Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques de verre enduites d'une mince couche de graisse et l'on superpose ces plaques sur des châssis de bois. Les substances volatiles diffusent et sont absorbées par la couche de graisse. Ensuite ces graisses sont épuisées à l'alcool. Ce procédé a tendance à disparaître car il nécessite une forte main-d'œuvre (**Seu-Saberno, 1984**).

Expression

L'expression ou pression à froid est spécifique à l'extraction des huiles essentielles des agrumes : citrons, oranges, mandarines, etc...C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement par abrasion les poches à essence localisées au niveau de l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu (**Willem, 2004**).

Incision

C'est une opération peu fréquente. Il suffit de fendre l'écorce des arbres pour en recueillir le suc comme par exemple le caoutchouc de l'arbre hévéa.

PARTIE IV. ACTIVITES
BIOLOGIQUES DES
COMPOSES PHENOLIQUES ET
HUILES ESSENTIELLES

IV.1. Activité antioxydants

IV.1.1. Le stress oxydant

Le stress oxydatif dénommé également stress oxydant se définit comme étant un déséquilibre de la balance «pro-oxydants–antioxydants» en faveur des oxydants tels que les espèces activées de l'oxygène (EAO). C'est le résultat de certain dommage des constituants cellulaires : des lipides, des protéines, des ADN (**Sergent et al., 2001**). Il peut causer des maladies chroniques tell que diabète, athérosclérose et cancer (**Sarmadi et al., 2010**). En effet, une production excessive des radicaux libres ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (**Favier, 2003**) (**Zoreik, Issolah, 2020**).

IV.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (**Favier A. 2003**).

Selon, **Kokalis-Burelle et Rodríguez-Kábana, 1994**; les plantes peuvent synthétiser de nombreuses substances chimiques qui sont des métabolites secondaires. Ces dernières interviennent dans les mécanismes de défense de la plante qu'elle produit contre les agents phyto-pathogènes ainsi que les ravageurs. (**Benchachou, Simoud,2021**)

IV.1.2.1. Les antioxydants enzymatiques

1) Les superoxydes dismutases (SOD):

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-

SOD₁ cytosolique, la Mn-SOD₂ mitochondriale et la Cu/Zn-SOD₃, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD₃ est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Haleng et al., 2007).

2) Les catalases :

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier. Elles sont quantitativement moins efficaces que le système suivant : les glutathion peroxydases (Goudable et Favier, 1996).

3) Les glutathions peroxydases (GSHPX) :

Les GSHPX réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Goudable et Favier, 1996).

IV.1.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs. Le taux de ce système de défense dans l'organisme est essentiellement assuré par un apport alimentaire. Parmi les antioxydants naturels de faible poids moléculaire, on peut citer les plus connus et les plus importants ci-dessous :

1) Acide ascorbique (vitamine C)

Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger/neutraliser à des concentrations très faibles les espèces réactives de

l'oxygène (Carr, Frei, 1999). Elle est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les -tocophéro (Greff, 2011)

2) Tocophérols (dont la vitamine E)

Il est présent dans les membranes des cellules et les organites cellulaires, où il joue un rôle important dans la suppression de la peroxydation des lipides et il s'accumule sur ces sites au sein des cellules dans lesquelles la production des radicaux d'oxygène est plus grande (DUTTA-ROY,1999).

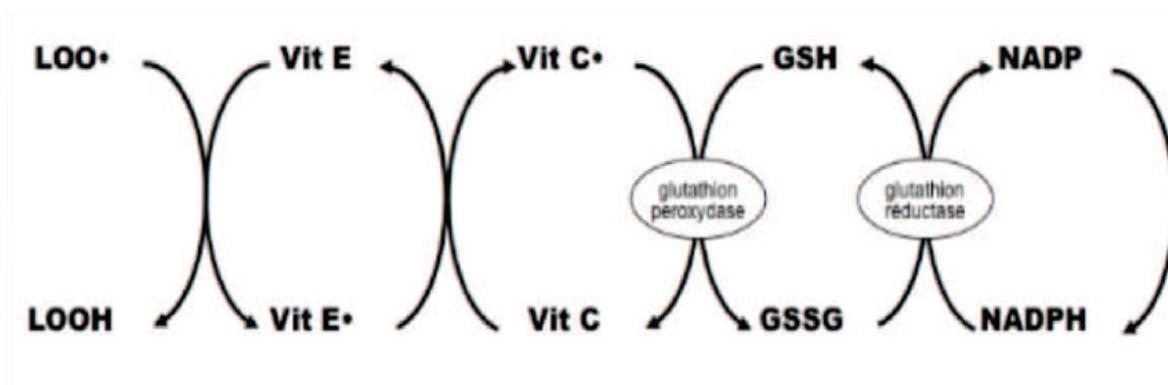


Figure IV-1: Les cycles réactionnels de régénération des antioxydants (Lacraz, G.2009)

3) Polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants complexes avec une importance croissante de la santé publique, en particulier dans les domaines de la nutrition, et de l'épidémiologie. En fonction de leur structure et les caractéristiques physico-chimiques, leurs effets bénéfiques (par exemple, anti-oxydante, anti-inflammatoire et anti-tumoraux) peuvent varier (Bruneton J. 1999).

4) Les flavonoïdes

Les relations structure-activités anti-oxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité anti-oxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (Diallo A, 2005).

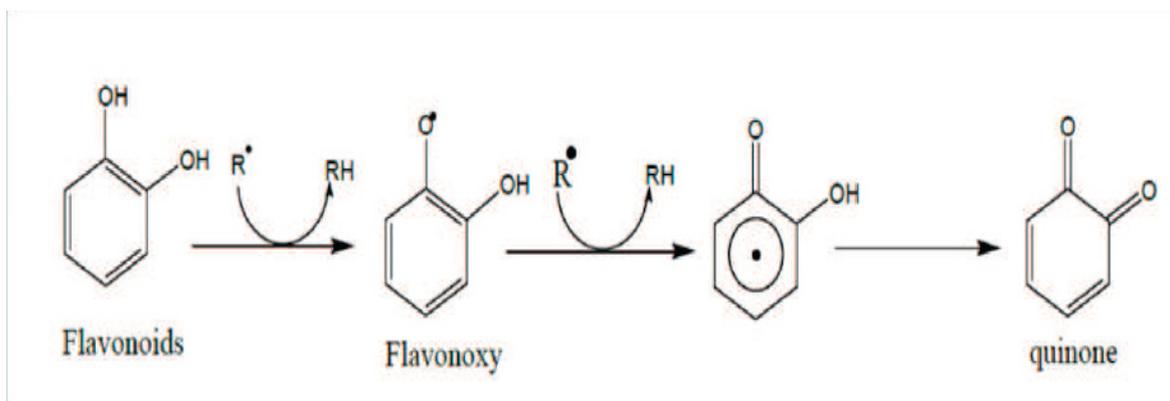


Figure IV-2 :L'activité anti-oxydante des flavonoïdes (Marfak A,2003)

5) Les tanins

Les tanins sont des polyphénols qu'ils ont des propriétés antiradicalaire inhibent la peroxydation lipidique, Lors de la peroxydation les tanins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi, des radicaux taniques stables sont formés. Ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique (**Ekoumou C, 2003**). Ils jouent aussi un rôle dans la prévention contre les deux formes de mort cellulaire connues, apoptose et nécrose, diminuant ainsi les dommages causés dans l'ADN lors de ces deux dernières (**Ray et al, 2000**).

6) Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques d'origine végétale, azotées et à caractère alcalin, ils représentent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales (**Omulokoli, 2000**). L'étude de leur mécanisme d'action a conduit à les employer comme des antioxydants (**Roué, 2011**), les alcaloïdes sont utilisés comme anti-cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (**Iserin, 2004**).

7) Les saponosides

Les saponosides parfois encore appelés saponines (**William G, 2003**). Ils sont des glycosides à poids moléculaire élevé, regroupant un ensemble complexe et chimiquement très diversifié de molécules triterpéniques ou stéroïdes. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique

hydrophile (**Wallace R, 2004**). Les saponines sont connues pour leurs Activités anti-tumorales, Antiinflammatoires, Immunostimulants, Anti-microbiennes, Insecticide (Antileishmanien) (**Djahra, 2013**) (**Bouaouina et al 2017**)

IV.1.3. Mécanisme d'action des antioxydants

L'activité antioxydant des polyphénols se résume en trois actions principales :

Piégeage des radicaux libres : Les polyphénols, sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants en capturant directement les électrons non appariés, générant ainsi des espèces moins réactifs. Les flavonoïdes piègent les radicaux libres pour générer la radicale flavine, qui est beaucoup moins réactif (**Ibrahim, 2013**).

Chélation des métaux de transition : Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation des métaux de transition tels que le fer (Fe^{3+}) et le cuivre (Cu^{+}). Les flavonoïdes présentent une capacité antioxydante très élevée dans la peroxydation induite par les ions métalliques que dans la peroxydation induite par le radical peroxy (**Ibrahim, 2013**).

Modulation des enzymes : Les polyphénols peuvent stimuler les enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, la catalase et la superoxydedismutase, et inhiber l'expression des enzymes impliquées dans la génération des radicaux libres telle que la xanthine oxydase (**Xu et al., 2009**)

IV.1.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

Ces dernières années, l'intérêt porte aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (**Marc et al., 2004**)

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène

(provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$) (**Bartosz et al., 2003**).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes $\text{ROO}\cdot$ par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) (**Ricardo da Silva et al., 1991**); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) (**Benzie and strain 1996**); ou les radicaux $\text{ABTS}\cdot$ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (**Re et al., 1999**), ainsi que la méthode utilisant le radical libre $\text{DPPH}\cdot$ (diphényl-picrylhydrazyle) (**Sharma-Om et al., 2009**).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (**Tabart et al., 2009 ; Hua et al., 2008**).

IV.1.4.1. Le test de piégeage de radical DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (á,á-diphénylâ picrylhydrazylâ) 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**). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote (**Popovici et al., 2009**).

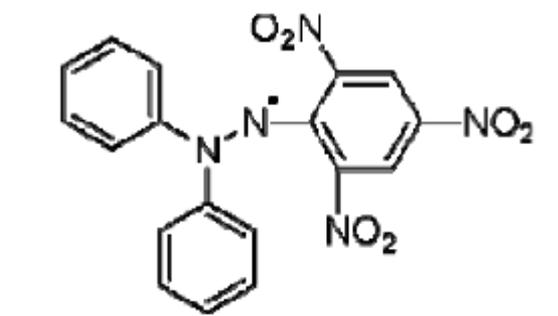


Figure IV-3: Structure chimique du radical libre DPPH (2,2 DiPhenyle-1-Picryl Hydrazyle) (Popovici et al., 2009)

Principe

La réduction du radical libre DPPH[•] (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui et al., 2006)

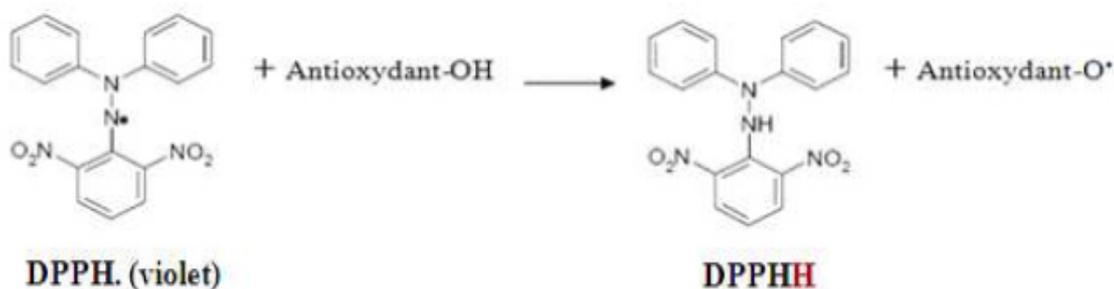


Figure IV-4:Réaction de test DPPH (2.2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) (Congo, 2012).

Dosage

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par LOPES-LUTZ et al. (2008)(Athemena et al., 2010). 50 μ l de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanoïque du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 μ l de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un

blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration (**Bougandoura, 2013**).

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Abs Échantillon} - \text{Abs Contrôle négatif})] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité anti-radicalaire (AAR%).

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif (**Meddour, 2013**).

IV.1.4.2. Le test de la réduction de fer FRAP

Principe

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par OYAIZ (1986) (**Bougandoura, 2013**). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (**OU et al., 2001**).

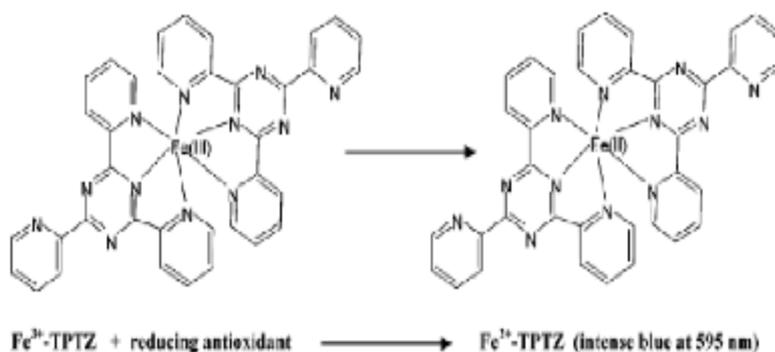


Figure IV-5: Schéma sur la réaction de test FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (**Prior et al. 2005**).

TPTZ: ferric2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

Fe²⁺ : Ions ferreux.

Fe³⁺ : Ions ferriques (PRIOR et *al.*, 2005).

Dosage

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton et Rossi, 1965).

Le pourcentage de pouvoir réducteur de fer est calculé par la réaction suivant :

$$\text{Pouvoir réducteur de fer (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100.$$

A₀: est l'absorbance de FeCl₃.

A₁: est l'absorbance de FeCl₃ solution en présence de l'extrait (Ghaisas et *al.* 2008).

IV.1.4.3. Le test d'inhibition de blanchiment du β -carotène

Principe

Dans ce test l'activité antiradicalaire des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par KARTAL *et al* (2007) (**Kouamé et al. 2009**).

Dosage

Brièvement 2 mg de β - carotène ont été dissous dans 1 ml de chloroforme. La solution obtenue a été introduite dans un ballon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène ont été ajoutés avec agitation vigoureuse. 2.5 ml de la solution obtenu est mélangée avec 350 μ l de chaque extrait (2g/l) et du témoin BHT. L'absorbance a été immédiatement mesurée pour le BHT à 490 nm. Les autres lectures sont mesurées à différents intervalles de temps (2h, 4h, 6h, 12h, et 48h) (**Tepe et al., 2006**).

L'activité anti-oxydante relative après 48 heures est calculée selon la relation suivante :

$$\text{AAR} = (\text{Abs Échantillon} / \text{Abs BHT}) \times 100$$

AAR : activité anti-oxydante relative.

Abs Échantillon : absorbance de l'échantillon après 48 heures.

Abs BHT : absorbance du BHT après 48 heures (**Athamena et al. 2010**)

IV.1.5. Activité antioxydant des composés phénoliques et huiles essentielles

Les composés phénoliques ont reçus beaucoup d'attention pour leurs propriétés antioxydantes efficaces, et leurs effets bénéfiques. Ces

antioxydants naturels ont la capacité d'améliorer la qualité et la stabilité des aliments et peuvent également agir comme nutraceutiques de mettre fin à des réactions en chaîne des radicaux libres dans les systèmes biologiques. Donc ils peuvent offrir des avantages supplémentaires pour la santé humaine et aider à réduire le risque de nombreuses pathologies (**Zhao et al., 2014**).

Le pouvoir antioxydant de l'huile est développé comme substitut dans la conservation alimentaire, ce sont surtout les flavonoïdes et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir, (**Benchachou, Simoud, 2021**).

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont actuellement massivement étudiées. Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants. Le thymol et le carvacrol sont les composés les plus actifs. (**Edris, 2007**).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques tels le linalool, le 1,8-cineole, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes tels l' α -terpinène et l' β -terpinolène (**Edris, 2007**).

IV.2. L'activité antimicrobienne des composés phénoliques et huiles essentielles

Les polyphénols, des flavonoïdes, des acides phénoliques et des tannins ont reçu plus d'attention en raison de leurs activités antimicrobiennes. La plupart de ces composés sont capables de supprimer un certain nombre de facteurs de virulence microbiens comme l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhérence ligands-hôte, et la neutralisation des toxines bactériennes et montrent un synergisme avec des antibiotiques. Ces propriétés ont été utilisées soit pour développer de nouveaux agents de conservation des aliments à la place des conservateurs synthétiques, ou de développer des thérapies innovantes pour le traitement des maladies infectieuses, compte tenu de l'augmentation de la résistance microbienne aux antibiotiques conventionnels, (**Daglia, 2012**).

Une des fonctions incontestées des flavonoïdes et des composés phénoliques, est leur rôle dans le fait de protéger les plantes contre l'invasion microbienne. Cela implique non seulement leur présence aux plantes comme des agents constitutives mais aussi leur accumulation comme phytoalexines en présence à l'attaque microbienne (**Belkhir, 2009**).

A cause de leur capacité étendue d'inhiber la germination des spores pathogènes des plantes, ils ont été proposés aussi pour être utilisées contre les pathologies fongiques de l'homme. Il y a un grand intérêt dans l'utilisation des flavonoides des plantes pour le traitement des maladies humaines et surtout pour contrôler le virus d'immunodéficience qui est l'agent causatif de sida (**Harborne et Williams, 2000**).

Les vertus antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus leur conférant ainsi diverses indications thérapeutiques (**Lakhdar, 2015**).

IV.3. Activité antibactériennes

L'utilisation des huiles essentielles comme agents antibactériens semble être une alternative intéressante pour contrôler la présence des bactéries pathogènes dans les aliments, (**Ghasemi Pirbalouti et al., 2010**).

Généralement, les huiles essentielles ont un plus grand effet contre les bactéries pathogènes à Gram positif que les bactéries à Gram négatif, car les composés hydrophobes qui peuvent traverser les structures lipopolysaccharidiques de la bactérie Gram négatif sont limités en raison de leur membrane externe recouvrant la paroi cellulaire (**Omonijo et al., 2018**).

Les composés possédant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols: le thymol, le carvacrol et l'eugénol. Le carvacrol est le plus actif de tous reconnu pour être non toxique. Il est utilisé comme agent de conservation et comme arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol est l'ingrédient actif des rince-

bouches. L'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires et dentaires. Ces composés ont un effet antibactérien contre un large spectre de bactérie est elles: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium jejunii*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (**Fabian et al., 2006**).

Les alcools monoterpéniques viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité antibactérienne. Les plus connus sont: le géraniol, le linalool, le thujanol, le myrcénol, le terpinéol, le menthol et le pipéritol.

Les aldéhydes monoterpéniques sont également quelque peu bactéricides, les plus couramment utilisés sont le néral, le géraniale, le citronellal et le cuminal (**Cherigui et zaibet, 2014**).

PARTIE V. MATÉRIELS ET MÉTHODES

V.1. Matériel végétal

Les deux espèces végétales utilisés dans cette pratique appartenant à la famille des lamiacées sont : *Salvia officinalis*, et *Origanum majorana*. La partie aérienne de La Sauge est récoltée au niveau de la région de sidi amar (Saïda) ($35^{\circ} 1' 31''$ Nord, $0^{\circ} 6' 26''$ Est) au mois de fevrier 2022, d'ailleurs la marjolaine (*Origanum majorana*) a été achetée chez un herboriste à saida Étant donné que cette plante ne pousse pas dans l'Algérie sauf que rarement Les feuilletts fraîchement récoltés du *salvia officinalis*, sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante, jusqu'à stabilisation de son poids (environ 15j) Une fois séchée, une partie des deux plante a été broyée en une poudre fine, pour être soumise à des tests phytochimiques.

V.2. Screening phytochimique

Pour connaître la composition chimique du matériel végétal, nous avons fait un dépistage phytochimique. Celui-ci est basé sur des essais de solubilité, sur des réactions décoloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette. Nous avons caractérisé les différents groupes chimiques (tanins, flavonoïdes, anthocyanes, coumarines, composés réducteurs, amidon, stérols et stéroïdes, alcaloïdes) en faisant référence aux techniques décrites par (Paris et al., 1969, Trease et Evans,1996) avec quelques modifications.



Photo V-1: Préparation des extraits éthanoliques

A. Flavonoïdes

Pour chaque 5 ml d'extrait, on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (HADJ MOUSSA ,A, 2012)

B. Tanins

Un volume de 2 ml de chacun des deux extraits, est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl₃ à 1%. Après quelques minutes d'incubation, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre (présence de tannins cathétiques) ou bleu-noirâtre (tannins galliques) (Boukezata.A, 2014)

C. Les composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec de l'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffer.

Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Trease et Evans, 1987).

D. Alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec le réactif de Dragendorff. Introduire 2 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle 50ml de H₂SO₄ dilué au 1/2 avec de l'eau distillée est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Nous avons filtré le mélange et rincé à l'eau de manière à obtenir 50ml de filtrat. Ensuite nous avons pris deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit 1ml du macéra. Nous avons ajouté dans le tube n° 1, 5 gouttes de réactif de Mayer et dans le tube n° 2, 5 gouttes de réactif de Wagner.. L'apparition d'un précipité, révèle la présence d'alcaloïdes (Aziz, 2012)

E. Les coumarines

Une masse de 1gramme de poudre végétale est placée dans un tube en présence de quelques gouttes d'eau distillée.

Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous ultra-violet (**Rizk, 1982**).

F. Stérois et triterpénés

Deux essais ont été effectués :

► **Essai 1** : Test pour les stérois et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C) (**Trease et Evans, 1987**).

► **Essai 2** : Test pour les hétérosides stéroïques et triterpéniques :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydre acétique/chloroforme (5/5: V/V); puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Liebermann-Burchardt).

Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïques et triterpéniques (**Trease et Evans, 1987**).

G. L'amidon

On chauffe 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaOH saturée dans un bain marie jusqu'à l'ébullition. Ajouter ensuite le réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacé (**Bruneton, 1999**).

H. Les anthocyanes

Un volume de 2ml d'infusé aqueux est additionné à 2ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (**Debray et al., 1971; Paris et al., 1969**).

V.3. Extraction des huiles essentielles

V.3.1. La procédure d'extraction

La procédure d'extraction l'extraction de l'huile essentielle des feuilles des deux plantes a été effectuée à l'aide d'un hydrodistillateur par entraînement à la vapeur. C'est la méthode la plus commune et la plus douce, qui permet d'obtenir les huiles essentielles d'excellentes qualité et dans leur quasi-totalité.

L'hydro-distillateur est constitué D'une cuve (ici de 30L) muni d'une grille dans lequel on place les végétaux, et D'un ensemble de verrerie composée d'un triangle surmonté d'un réfrigérant à boules, le tout permettant la condensation des vapeurs et la séparation de l'huile essentielle et de l'hydrolat.

V.3.2. Mode opératoire

Les feuilles ont été nettoyées et débarrassées de tous éléments étrangers, cela consiste à introduire 500g de matériel végétal sec dans la cuve contenant de l'eau distillée (2L). L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 3 heures, l'huile essentielle obtenu séparé à l'hydrolat par seringue stérile, puis stockée dans l'obscurité à température ambiante. Dans des petits tubes en verre, entourés du papier aluminium et fermés hermétiquement, pour une utilisation ultérieure.



(a)

(b)

(c)

Photo V-2 : (a) Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur, (b) huile et l'hydrolat, (c) huile obtenu de *Salvia*

Remarque :

La méthode d'extraction est une opération importante qu'il faut mener avec soin, par ailleurs, la collecte, le séchage, le stockage-tributaires à l'extraction influencent largement sur le rendement ainsi que la qualité des extraits (Benjilali, 2005). La méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes. Selon (Balansard, 2007), la date de récolte de la plante a une grande influence sur sa composition chimique et par conséquent sur son activité biologique.

V.4. Détermination des activités biologiques in vitro

V.4.1. L'activité antioxydant :

V.4.1.1. Activité de piégeage du radical DPPH

Principe

Le piégeage des radicaux libres est le principal mécanisme suivant lequel les antioxydants agissent dans les aliments.

Le 2,2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazil (DPPH) est un radical libre stable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène devient stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leurs capacités à lui donner un atome d'hydrogène. La réduction de DPPH est déterminée par le changement de couleur du violet vers le jaune (**Atoui et al 2005**). L'absorbance est mesurée par spectrophotomètre dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antioxydant (**Molyneux , 2004**)

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation ci-dessous:



Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Brand-Williams et al, 1995**).

L'activité de piégeage des radicaux (RSA) est calculée en pourcentage, en utilisant l'équation:

$$\text{RSA}\% = [(\text{ADPPH-AS}) / \text{ADPPH}] \times 100,$$

Où : **AS** est l'absorbance de la solution contenant l'échantillon

ADPPH est l'absorbance de la solution de DPPH.

La concentration inhibitrice (IC₅₀) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydant (en %) en fonction de différentes concentrations de l'extrait testée. Une faible valeur du IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piégeur du DPPH.

V.4.1.2. Mode opératoire

On prépare des dilutions à différentes concentrations à partir d'une concentration de solution mère à 6mg / ml (première dilution ½) des huiles des deux plantes (les dilutions se font dans l'éthanol).

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 50 μ L de la solution de différentes concentrations et on lui ajoute 1,95 ml de la solution DPPH (0.0012g de DPPH +60 ml de méthanol). Les tubes sont placés à l'obscurité, est à température ambiante pendant 30 min. La mesure de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515 nm avec 3 lectures à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (de type Anadéo) (Gulcine, 2011).



Photo V-3: Réduction du radical DPPH (de couleur violette) au diphenyl picryl-hydrazine (de couleur jaune).

V.4.2. Activité antibactérien

L'activité antimicrobienne des huiles des deux plantes est testée contre l'ensemble des souches de différentes espèces bactériennes, dont quatre sont des bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus*, et *Staphylococcus aureus*) et quatre bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter*, et *Pseudomonas aeruginosa*) et une levure (*Candida albicans*).

Ces souches bactériennes proviennent du Laboratoire d'hygiène de saïda. Elles sont conservées dans le milieu MHB (Muller Hinton Broth) additionné de 10% (V/V) de glycérol à -20°C.

Mode opératoire

Ce test est réalisé par la méthode des puits de diffusion sur agar (**Rahal, 2005**).

Les souches bactériennes sont cultivées pendant 18 heures à 37 ° C sur la gélose Mueller Hinton (MHA). A partir de ces cultures jeunes des suspensions bactériennes sont préparées dans un eau physiologique stérile (1ml pour chaque suspension), Puis ces suspensions sont ajustées au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ 10^8 UFC/ ml (CA-SFM, 2010). A partir de ces suspensions, les souches bactériennes sont étalées par écouvillonnage sur des milieux MHA dans des boites de Pétri (**Rahal, 2005**).

V.4.2.1. Méthode des puits de diffusion sur gélose

Après l'étalement des souches sur les plats MHA , des puits de 6 mm de diamètre sont coupés à partir des géloses inoculées et remplis d'un volume de 20 µl de différents concentrations des huiles solubilisé dans le DMSO en cinq concentrations (à partir de 6mg/ml jusqu'à 0,375mg/ml). Après 24 heures d'incubation à 37 ° C, les diamètres des zones d'inhibition produites par les différents concentrations sont mesurés en millimètres (**Sokmen et al. 2004**)

Expression des résultats

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance bactérienne autour des puits contenant la substance inhibitrice testée (**Boumaza. 2011**). La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'une règle (mm). Le diamètre de la zone d'inhibition montre la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (**Benkiki , 2006**).

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm

Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm

Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm

V.4.3. Activité antifongique

Les huiles des deux plantes sont testés contre quatre champignons filamenteux: *Aspergillus flavus* MNHN 994294, *Aspergillus niger* MNHN 994294, *Aspergillus parasiticus* MNHN 994294, et *Penicillium* sp. Les champignons sont activés sur des milieux de pomme de terre dextrose agar (PDA) à 28 ° C pendant 07 jours. Pour la détermination de l'activité antifongique, la méthode de diffusion sur gélose en utilisant les puits. En bref, des suspensions fongiques sont préparées à partir des cultures précédentes. A partir de ces suspensions, les souches sont étalées sur des milieux solides (Saboraud) par écouvillonnage. Des puits de 06 mm de diamètre ont été coupés à partir des milieux inoculés ensuite remplis de 20 µl de huile dilué en 05 concentrations (de 6mg/ml à 0.37mg/ml) pour donner 05 doses: 0.12 mg/puits, jusqu'à $7,4 \cdot 10^{-3}$ mg/puits, Toutes les boites ont été incubées à 25 ° C et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres 2 fois: après 48 heures et après 05 jours.

PARTIE VI. RESULTATS ET DISCUSSION

VI.1. Rendements des huiles essentielles

L'hydrodistillation des parties aériennes de *Salvia officinalis* et de *Origanum majorana* a donné respectivement une huile liquide visqueuse limpide de couleur jaune pâle caractérisée par une odeur agréable, avec un rendement moyen de 1,01% pour la première, et une huile liquide limpide de couleur jaune foncée avec une odeur aromatique agréable, d'un rendement faible de 0,24% pour la deuxième.

Le rendement de *Salvia officinalis*, trouvé dans notre étude est plus élevé que ceux rapportés dans les études de (Djeddi, 2012; Ameziane, Alimarina, 2007) de l'ouest et de l'est de l'Algérie qui sont obtenus respectivement des rendements de 0,08% et 0,20% et en Tunisie (Bouaziz et al, 2009) de 0,72%, et en Syrie (Rami, Zheng-Guo, 2011) de 0,52%, et en Pakistan (Hussain et al, 2011) de 0,46%.

(Chalchat et al 1998), ont montré que le rendement d'extraction des H.E de la sauge officinale obtenues par distillation pendant quatre heures dans un appareil Clevenger est relativement élevés que le nôtre: France (2,05%), Hongrie (2,50%), Portugal (2,90%), Roumanie (2,30%).

Le rendement en huile essentielle de *Origanum majorana* est très faible par rapport à ceux obtenus dans la plus part d'autres travaux notamment en Algérie (Safsaf, 2016; Bauras et Hachemi, 2019) avec des rendements respectivement de 1.1% et 2,34%, en Tunisie (1,85%)(Hajlaoui et al 2016), Inde (1,7%)(El-akhal et al, 2014), et en Canada (0,66%)(Kahouli, 2010). et en Turquie (1,86%)(Gürkan et la, 2018), Ces variations ont une corrélation significative avec certains facteurs édaphiques (pH, teneur en K_2O , texture du sol) (Aboukhalid et al., 2017). ainsi, La concentration en huile essentielle des plantes aromatiques et médicinales varie significativement avec le mode et la durée de séchage .

VI.2. Analyse phyto-chimique

Les tests phyto-chimiques est une analyse qualitative qui nous permet à mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires que contienne les extraits préparés à partir de la partie aérienne d'*Origanum majorana* et de *Salvia officinalis*.

Tableau VI-1: Résultats des tests phyto-chimiques réalisés sur les extraits de notre plantes étudiée

Groupes chimiques	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Origanum majorana</i>
Flavonoïdes	+	+++
Tannins cathétiques	+	++
Tannins galliques	-	-
Triterpènes	-	+
Stérols	-	+
Alcaloïdes	-	-
Amidon	++	+++
Composés réducteurs	-	-
Coumarine	+	+
Anthocyanes	-	-

Selon les résultats du Tableau III-1, les composés chimiques suivants: les flavonoïdes, les tannins cathétiques, les coumarines et l'amidon, sont présents dans les deux plantes sauf que quelques composés sont présents de plus chez l'*Origanum* que *salvia* et l'absence des stérols et triterpènes dans ce dernier, alors qu'il est présente chez l'*Origanum*.

Et une absence des composés suivants: les alcaloïdes, les composés réducteurs, et les anthocyanes, dans les deux plantes.

Ces résultats sont en accord avec ceux de (Al - Howirini, 2009), qui montrent la présence et l'absence des mêmes groupes chimiques dans la plante étudiée. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de plante étudié explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante en médecine traditionnelle par la population locale. Effectivement, les tanins, les flavonoïdes, possèdent plusieurs propriétés bénéfiques pour la santé notamment les propriétés antioxydante, (Bouhaddouda, 2016).

VI.3. Activité antibactérienne

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de notre plantes par méthode de diffusion sur puits sur milieu solide (Muller-hinton) a été estimé en termes de diamètres des zones d'inhibition autour des puits contenant les huiles à tester vis-à-vis de 8 souches bactériennes pathogènes.

Les résultats obtenus sont illustrés au niveau des tableaux suivants. Les résultats testés du DMSO comme solvant, montre que ce dernier n'a présenté aucune zone d'inhibition donc aucune activité sur bactéries testées.

Tableau VI-2: Activité antibactérienne d'huile essentielle du *Salvia officinalis*.

		diamètre des zones d'inhibition (mm) (y compris le diamètre du disque de 6 mm)						
Concentration(mg/ml)		6	3	1,5	0,75	0,375	Gentamycin(30µg)	DMSO
G+	<i>S.aureus</i> (ATCC25922)	25	12	8	9	6	17	6
	MRSA	14	6	6	6	6	-	6
	<i>B.cereus</i> (ATCC11778)	37	12	6	6	6	18	6
	<i>Listeria.monocytogenes</i> (ATCC15313)	23	14	11	9	6	-	6
G-	<i>E. coli</i> (ATCC25922)	13	12	10	6	6	19	6
	<i>K.pneumoniae</i> (ATCC 700603)	11	8	6	6	6	16	6

	<i>Enterobacter</i>	20	15	8	10	6	-	6
	<i>P.aerogenosa</i> (ATCC 27853)	22	6	6	6	6	16	6

(-): non-testé

Tableau VI-3: Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Origanum majorana*.

		diamètre des zones d'inhibition (mm)(y compris le diamètre du disque de 6 mm)						
Concentration(mg/ml)		6	3	1,5	0,75	0,375	Gentamycin(30µg)	DMSO
G+	<i>S.aureus</i> (ATCC25923)	30	22	21	10	12	17	6
	MRSA	21	20	23	09	06	-	6
	<i>B.cereus</i> (ATCC11778)	40	38	25	20	08	18	6
	<i>Listeria.monocytogenes</i> (ATCC15313)	20	25	25	17	08	-	6
G-	<i>E.coli</i> (ATCC25922)	35	38	29	13	08	19	6
	<i>K.pneumoniae</i> (ATCC700603)	20	20	21	08	06	16	6
	<i>Enterobacter</i>	28	33	25	16	06	-	6
	<i>P.aerogenosa</i> (ATCC 27853)	37	19	18	09	08	16	6

Ces résultats indiquent que l'huile de *Salvia Officinalis* ayant une activité antibactérienne très élevée sur toutes les souches testées avec un diamètre d'inhibition compris entre 11 et 37mm pour la première concentration (6mg/ml) qui représente la première dilution($\frac{1}{2}$). Les souches les plus sensibles (extrêmement sensibles) sont: *B.cereus*, *S.aureus*, *P.aerogenosa*, *L.monocytogenes*, *Enterobacter*, avec des diamètres de l'ordre 37; 25; 22; 22; 20 mm.

L'activité la plus faible est notée contre les souches: MRSA, *E.coli*, *Klebsella*, avec un diamètre de zone d'inhibition de l'ordre 14,13, et 11mm. Ainsi, les bactéries Gram positives sont plus sensibles que les Gram négatives.

Les souches testés contre un standard (Gentamycin) montrées une sensibilité a l'huile de *S.officinalis* plus que le Gentamycin, sauf que *E.coli* qui montre une sensibilité plus que a Gentamycin par un diamètre de 19 mm.

Ces résultats sont en accord avec se obtenu par **Alizadeh et Shaabani (2012)**, qui montrent que l'huile essentielle de *S. officinalis* présente d'importantes activité contre les deux micro-organismes testés: *candida albicans* et *Staphylococcus*.

Et selon l'étude de **Hafsa et Fatiha, 2019**, La plus grande zone d'inhibition a été observée chez *Staphylococcus aureus* résistant au méticilline de 20 mm de diamètre. La zone la plus faible a été observée chez *Pseudomonas aeroginosa* avec un diamètre de 10 mm, et pas de zones d'inhibition claires chez *Escherichia coli* avec une zone de 07 mm de diamètre.

Et pareil pour **Bouajaj et al, (2013)** qui ont rapporté que l'huile essentielle de la sauge exerce une faible inhibition vis-à-vis d'*Escherichia coli* avec 07mm de diamètre de zone d'inhibition.

Et dans d'autre étude, Toutes les souches microbiennes testées ont montré un certain degré de sensibilité à l'huile essentielle à l'exception de *Pseudomonas aeroginosa* qui s'est montrée résistante (**Assia et Mariama ,2014**).

Selon, **Alloun.k, 2013**, huile essentiel de la sauge présente une légère activité inhibitrice vis-à-vis de *Bacillus subtilis*, *E.coli* et *Candida albicans*. Une activité inhibitrice modérée dans le cas *Staphylococcus aureus*, alors qu'elle n'a quasiment aucune activité ne contre *Pseudomonas aeroginosa* (la zone d'inhibition est presque inexistante).

L'étude de **Bouaziz et al., 2009**, démontre que les huiles essentielles de *Salvia officinalis*, montrent des effets antimicrobiens sur les bactéries, les levures et les moisissures. Ces effets étaient visibles par les faibles CMI, les

valeurs des MCC et la forte réduction de la viabilité des microorganismes testés. De même, **Delamare et al. (2007)** ont démontré les effets fongicides et bactéricides de l'huile essentielle de la sauge. Alors que l'étude de **Marino et al. (2001)**, a révélé que les huiles essentielles de sauge avaient une capacité bactériostatique mais aucun effet bactéricide.

Selon **Ghania et Dalila, (2019)**, *E. Coli* est la souche la plus sensible à l'huile essentielle par rapport aux autres souches bactériennes, par un diamètre (15mm). La sensibilité de *S.aureus* était la même que celle *Pseudomona* (D= 12mm).

Selon **Benkherara et al. (2011)**, cette activité antimicrobienne des huiles essentielles de la Sauge est due à la richesse des huiles essentielles en substances ; il s'agit probablement des phénols qui sont doués d'une forte activité antimicrobienne. La puissance de cette activité prouve de plus en plus l'efficacité de ces substances face à des bactéries pathogènes.

Concernant l'huile essentielle d'*Origanum majorana*, elle a montré aussi une forte activité plus à celle de *salvia* contre tous les souches bactérienne testés, avec un diamètre d'inhibition compris entre 20 mm et 40 mm pour la première dilution ($\frac{1}{2}$) de la concentration 6mg /ml, Les souches les plus sensibles sont *Bacillus*, *E.coli* et *pseudomonas*, même la quatrième dilution (1/16) montre une activité modérée jusqu'à 20 mm pour la : *B.cereus*.

Tous les souches testés montrés une sensibilité à l'huile d'*O.majorana* plus que le standard (Gentamycin) cela prouve l'efficacité de cette huile.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Kaouther et al, (2021)**, ont signalé que l'huile d'*O.majorana* ayant une activité significativement élevée contre les souches *Staphylococcus*, *Klebsella* ,et *E.coli* par des diamètres de 20 à 39 mm, Ainsi leur résultats ont révélé que l'huile essentielle d'*Origanum majorana* a un effet bactéricide important pour inhiber la croissance de toutes les bactéries Gram positives et Gram négatives testées.

Et Par rapport à l'agent standard (ceftaxidime CAZ30), les diamètres d'inhibition de *Staphylococcus* et *klebsella* sont supérieurs à ceux de la ceftaxidime. De plus le diamètre d'*E.coli* est proche du standard.

Olfa et al. (2016) ont démontré que les bactéries Gram négatives sont plus sensibles que les bactéries Gram positives à l'huile essentiel d'*O.majorana*.

Une autre étude a rapporté celle de toutes les souches Gram positives et Gram négatives étaient inhibées par l'huile essentielle d'*Origanum majorana* avec une zone d'inhibition allant de 12 mm à 16 mm (**do et al, 2009**). En effet, de multiples études ont rapporté le pouvoir antibactérien important de l'huile de marjolaine et sa grande capacité à inhiber la croissance des souches Gram+ et Gram -(**Hussain et al, 2011; Amor et al,2019**).

D'autres travaux ont prouvé également que les agents antibactériens ont une activité bactéricide importante pour les Gram positifs plus que pour les Gram négatifs (**Hajlaoui et al ,2016; Harpaz et al,2003; Hajlaoui et al,2009**), La différence dans les activités antibactériennes est liée à la différence de structure membranaire: la structure à double membrane des souches Gam négatives les rend plus résistantes que les souches Gram positives qui se caractérisent par une structure membranaire unique, ainsi que la concentration et la nature des composés actifs de EO ainsi que la différence de vitesse de pénétration des constituants dans la membrane cellulaire.

Les huile essentiel de notre plantes étudiés surtout d'*Origanum majorana* attirent actuellement beaucoup d'attention parce qu'elles ont montré une activité contre la bactérie pathogène résistant aux méticilline (MRSA), (**Belabbas et Riad 2019**).

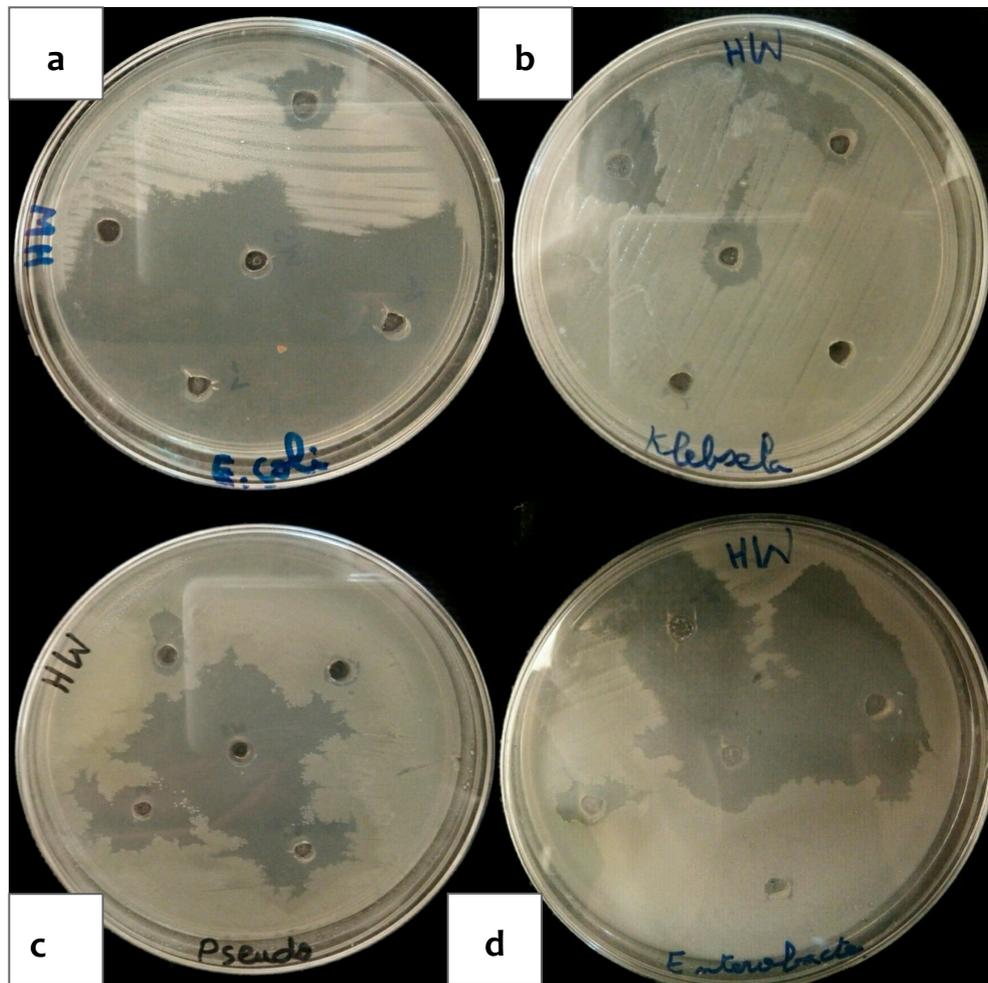


Photo VI-1: Effet de l'huile essentiel d'*Origanum majorana* sur le croissance de *Escherichia coli* (a), *Klebsiella pneumoniae* (b), *Pseudomonas aeruginosa*(c), et *Enterobacter* (d).

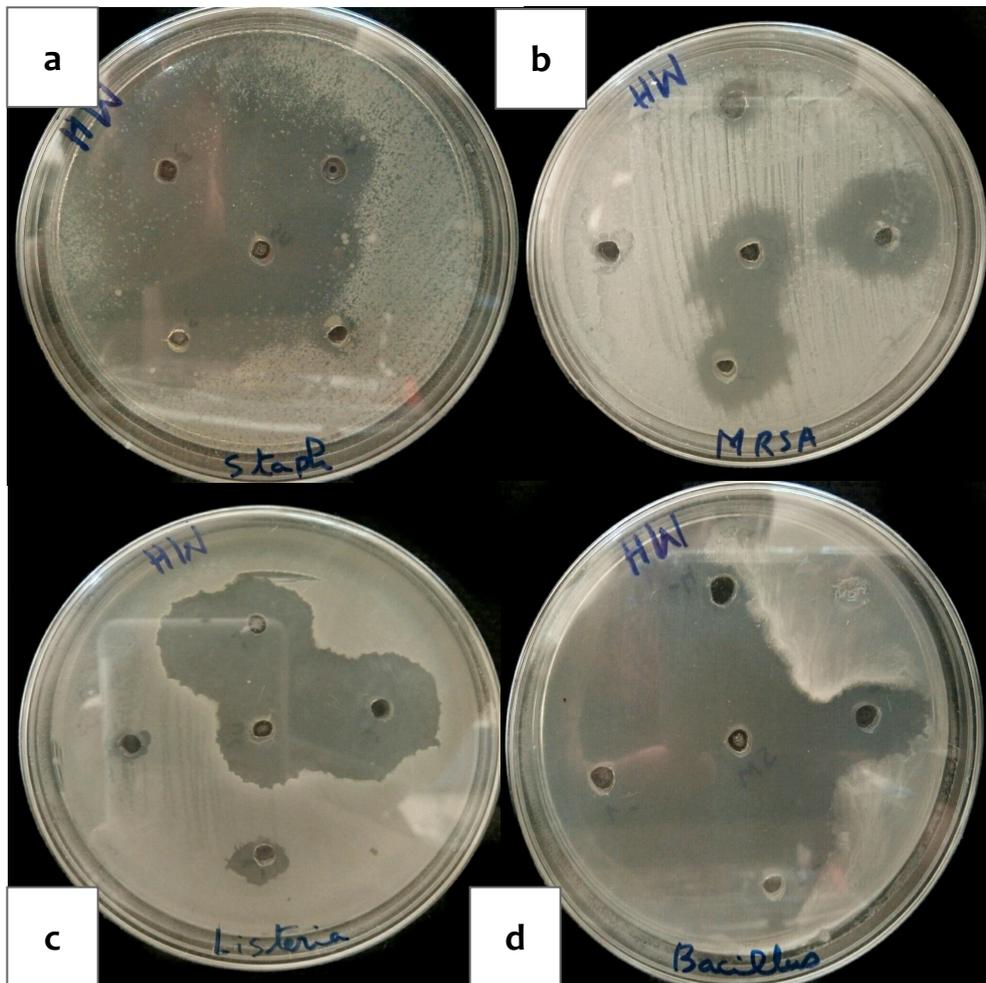


Photo VI-2: Effet de l'huile essentiel d'*Origanum majorana* sur le croissance de *Staphylococcus aureus* (a), MRSA *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline(b), *Listeria monocytogenes*(c), *Bacillus cereus* (d).

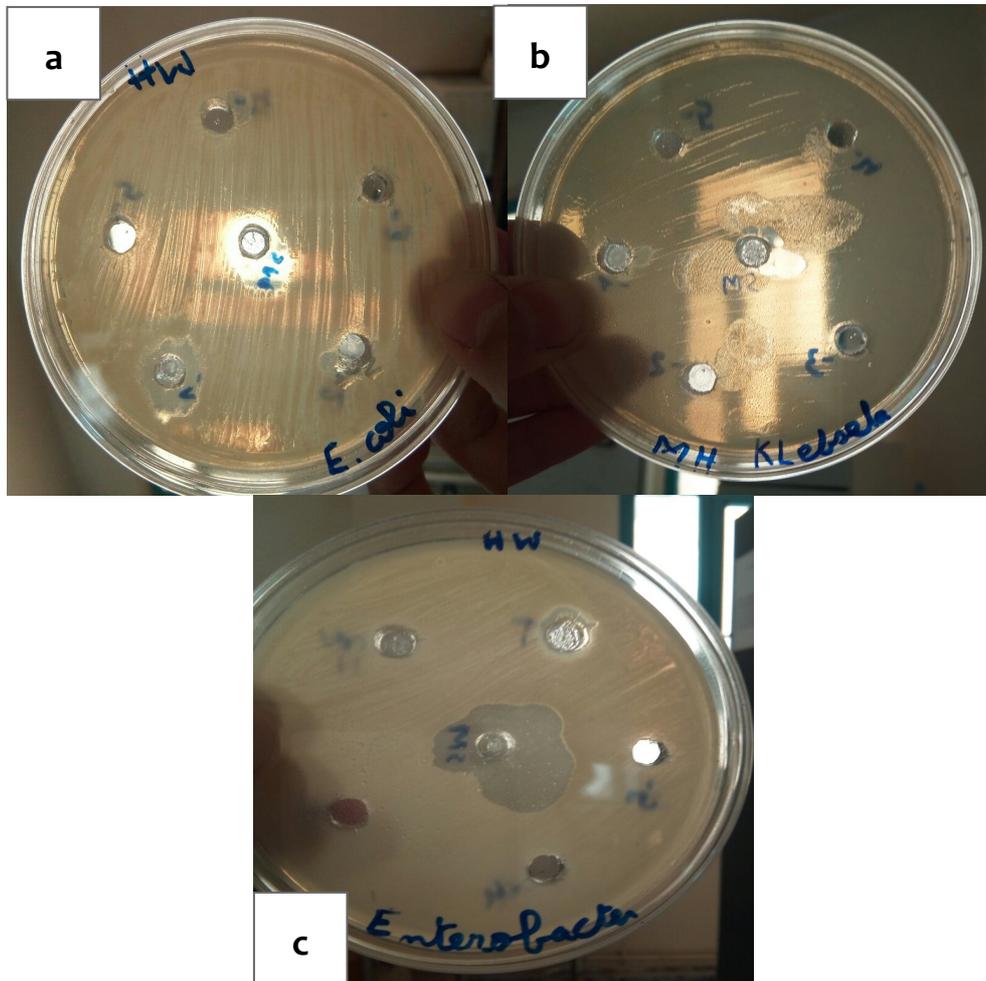


Photo VI-3 : Effet de l'huile essentiel de *Salvia officinalis* sur le croissance de *Escherichia coli* (a), *Klebsiella pneumoniae* (b), et *Enterobacter* (c).

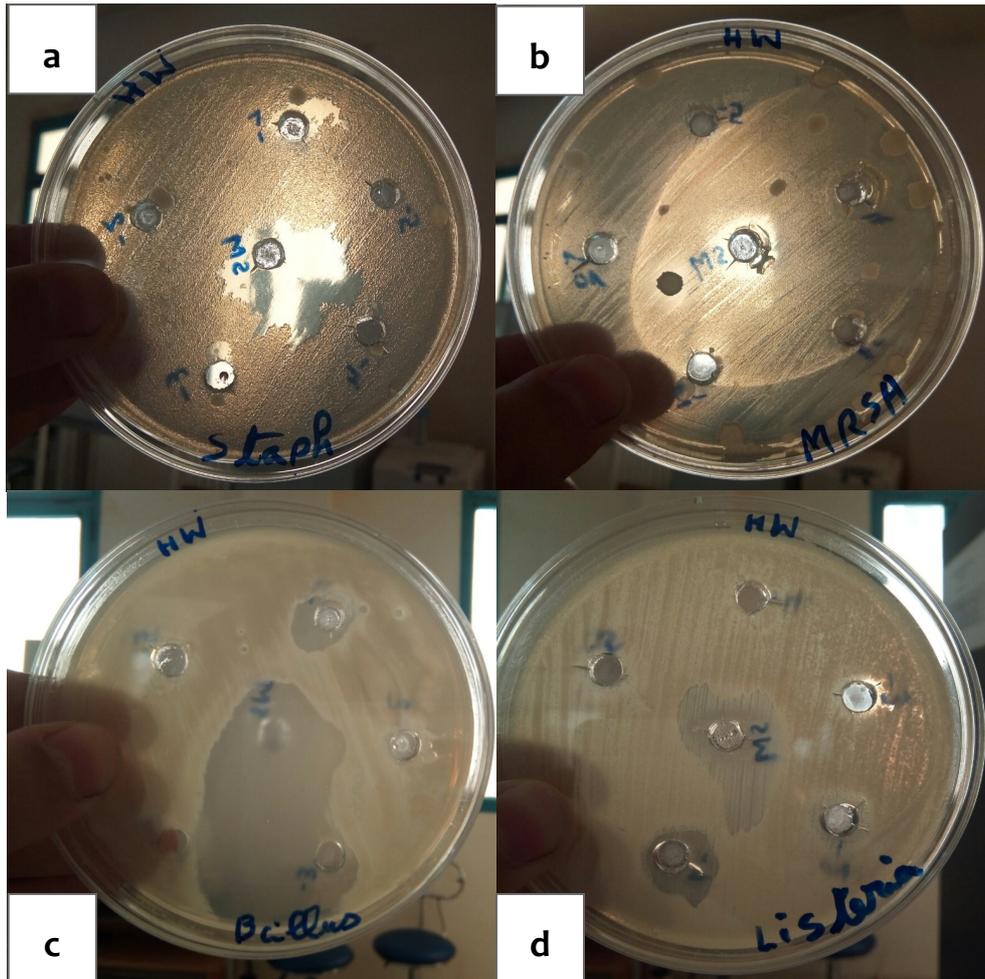


Photo VI-4 : Effet de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur le croissance de *Staphylococcus aureus* (a), *MRSA Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline(b), *Bacillus cereus* (c) , *Listeria monocytogenes* (d).

VI.4. Activité antifongique

L'activité antifongique des deux huiles essentielles sont déterminés après 5 jours d'incubation à 25°C, les résultats sont illustrés au niveau de tableau suivant :

Tableau VI-4: Activité antifongique des deux huiles essentielles des deux plantes étudiées

		diamètre des zones d'inhibition (mm)(y compris le diamètre du disque de 6 mm)				
Concentration(mg/ml)		6	3	1.5	0.75	0.375
S.officinalis	<i>A.flavus</i>	20	18	08	06	09
	<i>A.niger</i>	06	06	06	11	06
	<i>A.parasiticus</i>	19	12	14	13	09
	<i>Penicillium</i>	08	09	06	09	06
Levure	<i>C.albicans</i>	18	08	10	06	09
O.majorana	<i>A.falvus</i>	40	28	17	13	15
	<i>A.niger</i>	30	32	10	09	11
	<i>A.parasiticus</i>	37	30	23	08	8
	<i>Penicillium</i>	ND	ND	ND	ND	ND
Levure	<i>C.albicans</i>	26	23	15	20	11

ND: non-déterminé.

Ces résultats indiquent que l'huile essentielle de *S.officinalis* a une activité variable sur les différents souches fongiques testées, avec un diamètre d'inhibition compris entre 8 et 20 mm pour la première dilution ($\frac{1}{2}$) qui représente la concentration 6 mg/ml, les souches les plus sensibles sont *A.flavus*, *A.parasiticus*, *C.albicans* avec des diamètres d'inhibition de l'ordre 20, 19, 18 mm d'ailleurs que les autre souches *A.niger* et *Penicillium* a montré une résistance a ceu huile par des diamètres de 6, 8 mm lors de la première concentration, Ainsi les deux concentration 3 et 1,5 mg/ml sont montrés certain sensibilité par les deux souches *A.flavus* et *A.parasiticus* avec des diamètres de l'ordre 18, 14 mm.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Nour el houda et Fatima,2019**, dans leur étude montré que l'huile de *S.officinalis* a une activité variable sur les souches filamenteuses testées. *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus* sont les moisissures les plus sensibles à l'huile de salvia. Concernant

Penicillium et *A.parasiticus*, l'huile de *Salvia* a donné des taux d'inhibition inférieur à 10%.

Concernant l'huile d'*O.majorana* elle a montré une activité très élevée vis à vis tous les souches testés avec des diamètres allant de 26 jusqu'à 40 mm pour la première concentration (6mg/ml), ainsi les moins concentration montré une activité modérée, et la souche la plus sensible *A.flavus* qui représente une sensibilité même à la plus faible concentration de 0,375mg/ml par un diamètre de 15 mm.

Selon l'étude de **Raouafi et al, 2021**, les résultats a montré que l'essentiel l'huile d'*Origanum majorana* a été capable d'inhiber la croissance de *Fusarium oxysporum* et de *Candida albicans*, le pouvoir inhibiteur varie selon le microorganisme testé. Il était très actif contre les espèces de *Fusarium oxysporum* avec 100 % d'inhibition; il a un bon effet antifongique contre la croissance du mycélium et il a complètement inhibé la germination des spores, il a également réduit la croissance de *Candida albicans* avec un diamètre de 43mm.

Dans d'autres chercheurs, **Dhaouadi et al, 2018** ont évalué l'activité antifongique de l'huile essentiel d'autres organes d'*Origanum majorana* (tige, collet, racine et feuille) contre onze isolats de *F.oxysporum.sp.melonis* et dix isolats de *F.solani*, il a mentionné que l'inhibition de la croissance de l'huile essentiel des racines était de 100 % tandis que la croissance de l'inhibition pour le reste variait entre 44,84 et 84,13 %. Pour le *F.solani*, le pouvoir inhibiteur de tous les organes d'*Origanum majorana* L. variait de 33 à 74,92 %.. La croissance de *Candida albicans* a été modérément réduite par l'huile essentielle d'*Origanum majorana*: la zone d'inhibition de croissance était de $11,33 \pm 0,57$ mm, Hajlaoui et al, 2016. De plus, il a été montré que l'HE d' *Origanum majorana* n'inhibe pas la croissance de *Candida albicans* (**Ebani et al, 2016**).

Inouye et al, 2001, ont montré que la concentration des composés oxygénés influence directement l'effet antifongique. Un autre auteur comme

Ghada et al, 2017, a montré que le terpinène-4-ol était le principal ingrédient actif pour les tests antifongiques.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de notre plantes étudiés pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à activité antifongique de (DUKE., 2009) tels que: le myristicine, le curcumène, le caryophyllene, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions.

En conclusion, l'activité antifongique de l'huile essentielle dépend de la composition et de la concentration en HEO, (Manganyi et al , 2015).

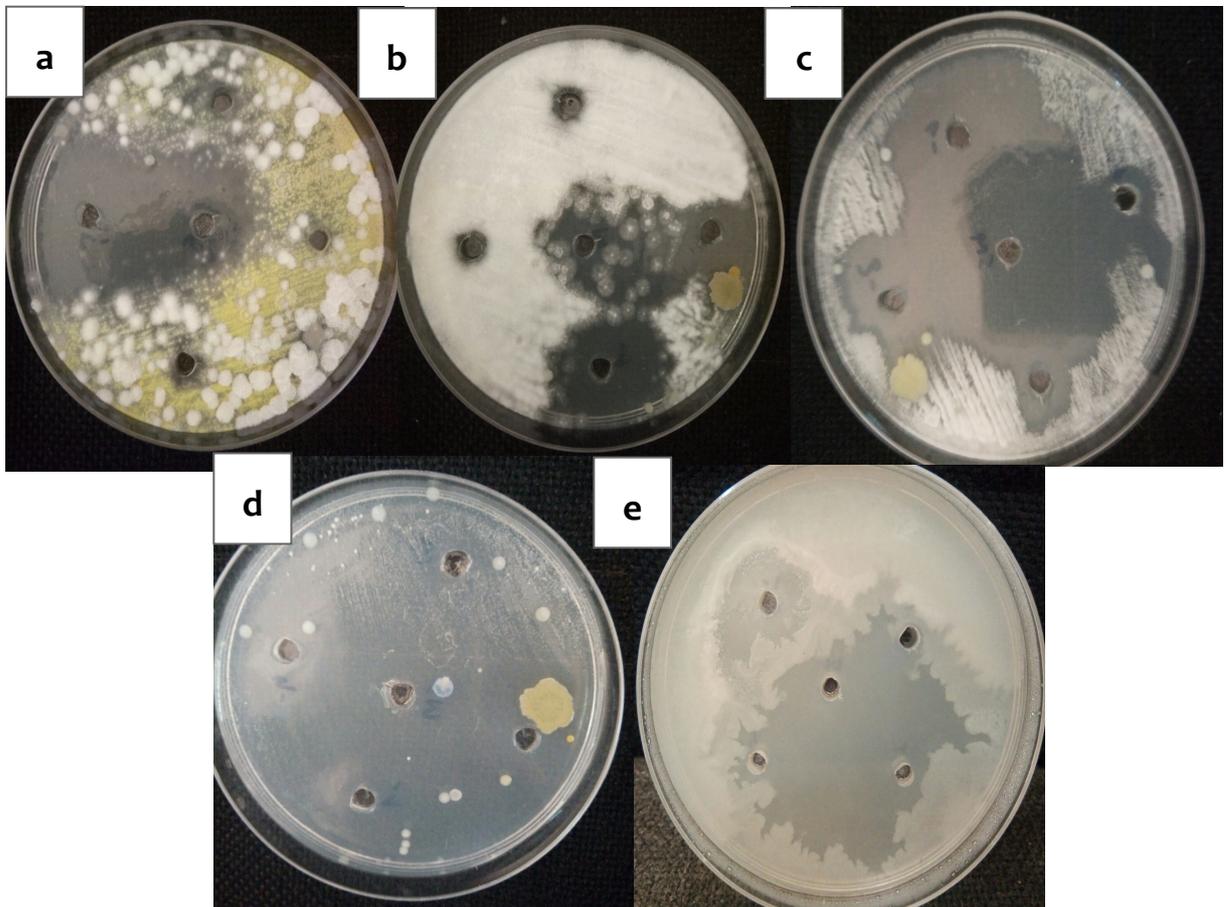


Photo VI-5 : Effet de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* sur le croissance de, *Aspergillus niger* (a), *Aspergillus parasiticus* (b), *Aspergillus flavus* (c), *Penicillium* (d), *Candida albicans* (e).

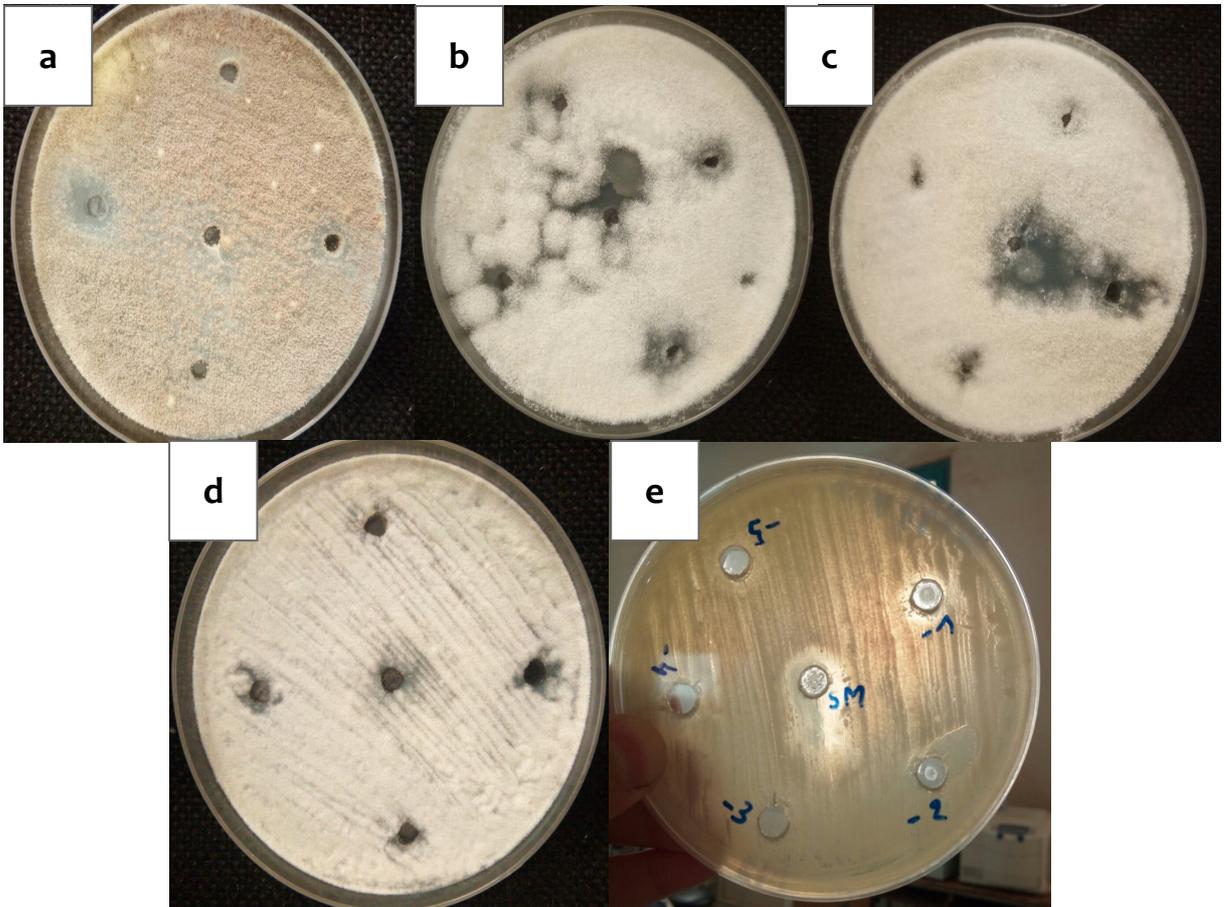


Photo VI-6: Effet de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur le croissance de, *Aspergillus niger* (a), *Aspergillus parasiticus* (b), *Aspergillus flavus* (c), *Penicillium* (d), *Candida albicans* (e).

VI.5. Activité antioxydants

Différentes méthodes sont disponibles pour examiner la capacité antioxydante d'une matrice, les propriétés antioxydantes des HE de notre plantes ont été étudiées en appliquant le test DPPH in vitro, Cette capacité de la réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 515 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition. Ces derniers nous ont permis de tracer les courbes qui

représentent la variation du pourcentage d'inhibition des HE des deux plantes ainsi que l'acide ascorbique et Trolox choisie comme control positif en fonction des différentes concentrations. Les résultats illustrés dans les figures.

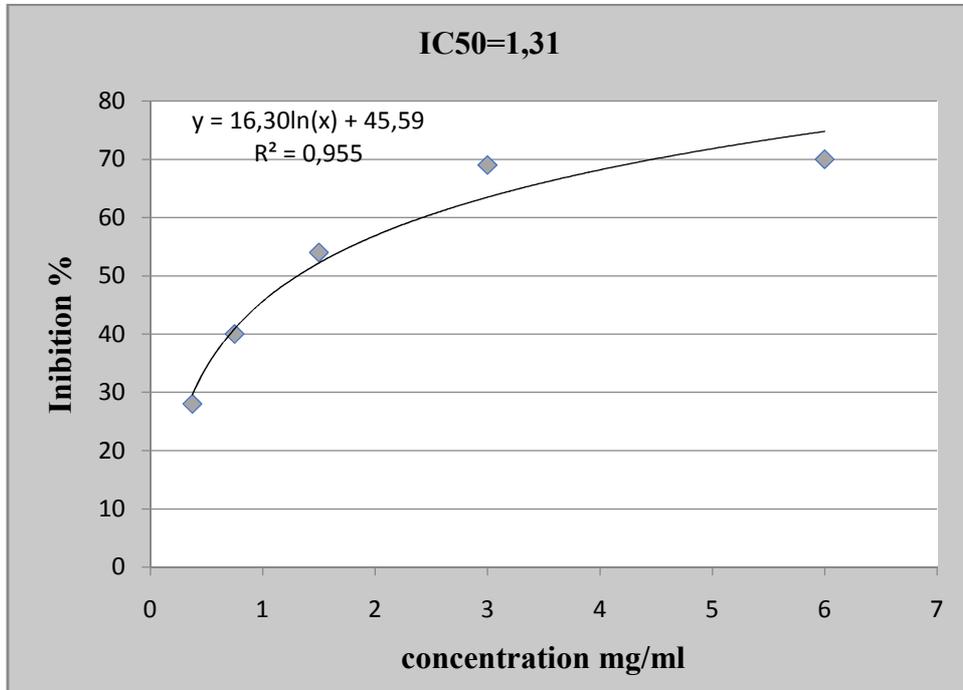


Figure VI-1: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH pour l'huile essentielle d'Origanum majorana.

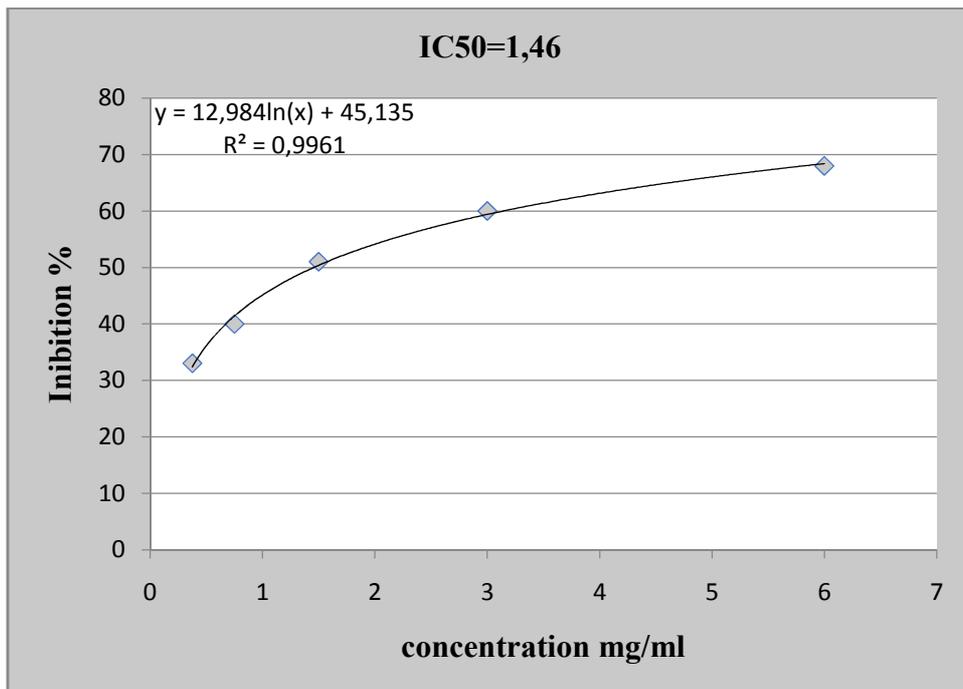


Figure VI-2: Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH pour l'huile essentielle de *Salvia officinalis*.

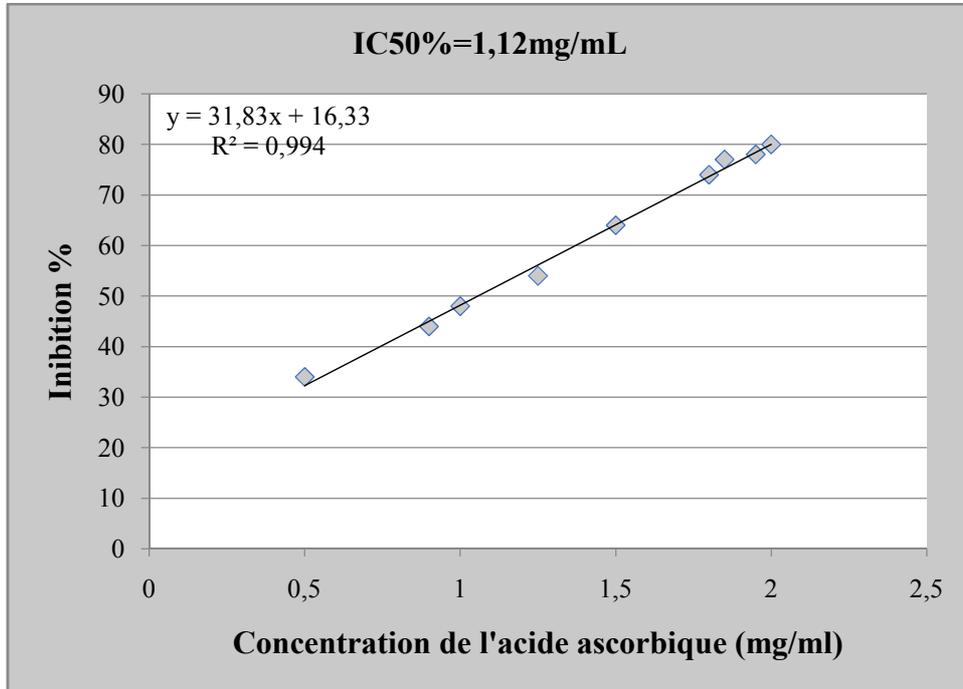


Figure VI-3: Pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH pour l'acide ascorbique.

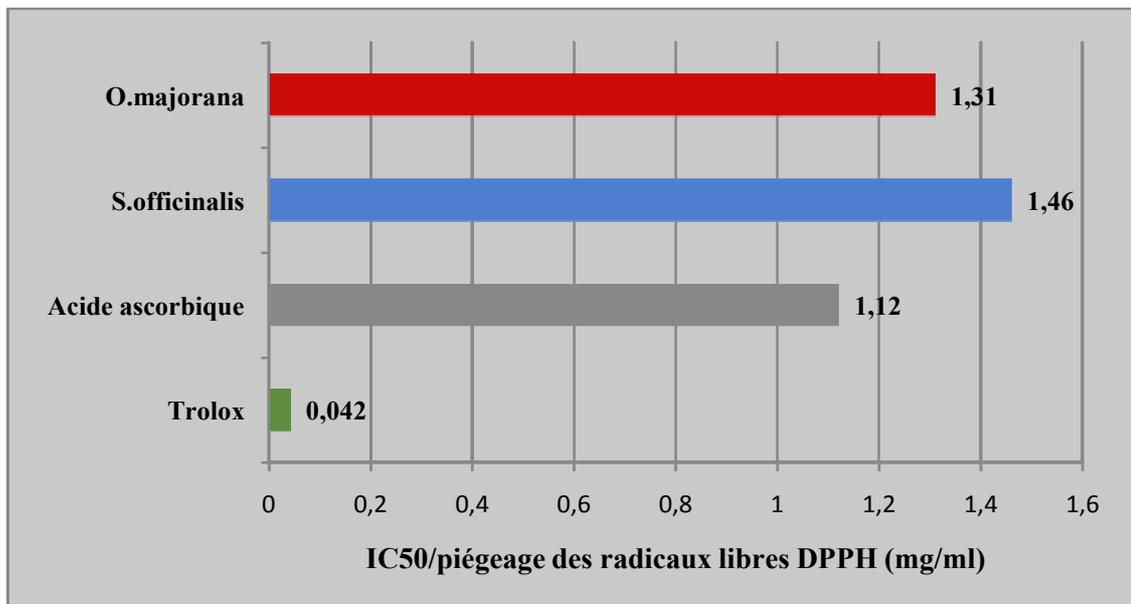


Figure VI-4 : Valeurs de EC₅₀ des deux HEs (*S.officinalis* et *O.majorana*) et les deux antioxydants du standard (acide ascorbic et Trolox) par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH

- Détermination d'IC₅₀

D'après ces résultats nous pouvons estimer graphiquement la valeur de IC₅₀ par extrapolation pour I = 50%. En calculant l'inverse des valeurs des IC₅₀ trouvées (Maisuthisakul et al, 2007).

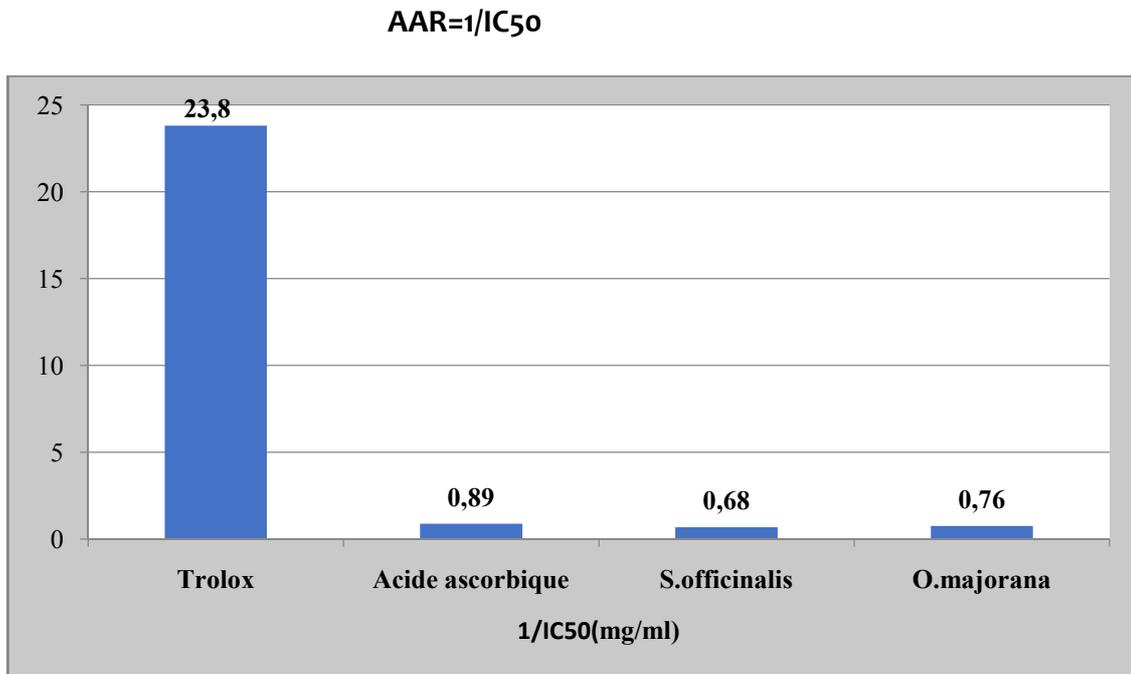


Figure VI-5 : Valeurs de l'activité antiradicalaire (1/EC₅₀) des plantes étudiées et des standards (acide ascorbique ,Trolox).

Les valeurs d'IC₅₀ du S.officinalis, O.majorana, l'acide ascorbique, Trolox est égale respectivement: 1,46; 1,31; 1,12; 0,042 mg/ml. Les deux valeurs d'IC₅₀ de ces derniers est moins que celle obtenu par les HE des deux plantes, pour cela on peut dire que notre huiles essentielles présente une activité antioxydant moins efficace à celle de l'antioxydant standard.

Ghadermazi et al. (2017) ont montré que l'huile essentielle de S. officinalis originaire Iran possède un pouvoir antiradicalaire (IC₅₀=9.40µg/mL) plus important que celui obtenu par **Mekhaldi et al. (2014)** (IC₅₀=62.65µg/mL) en Algérie, et par **Ben khedher et al. (2017)** (IC₅₀ de 6.7mg/mL) de Tunisie. **Khiya et al. (2018)** ont enregistré une très faible activité antiradicalaire (IC₅₀=309.42 mg/mL) en Maroc.

Ben khedher et al. (2017) ont enregistré que les huiles essentielles ont montré une capacité réductrice avec une valeur $IC_{50}=28.4\text{mg/mL}$.

Selon (**Élisa et al, 2021**), L'activité de piégeage des radicaux pour pour HE de *S. officinales* a été calculée et les valeurs IC_{50} étaient de $14,10\mu\text{g/mL}$, D'autre part. Une activité antioxydante de manière a été retrouvée pour toutes les HE du *S.officinalis* de trois régions en Italie (Orsomarse, Civita, Buonvicino) ont montré des valeurs de IC_{50} respectivement de 31,58; 35,33; $32,52\mu\text{g/mL}$, (**Tundis et la, 2020**).

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante par le test du DPPH a montré que L'HE de l'O. majorana a une faible activité antioxydante avec $IC_{50}=30\text{mg/ml}$, en comparaison avec celles de l'acide ascorbique qui a affiché une activité anti-radriculaire élevée (**Ahmed Abd el Malek et Yagoubi, 2017**).

Selon les résultats obtenus par **Bernaoui et Louetri, (2018)** les HES d'*Origanum majorana* exercent une activité antioxydante faible avec un $IC_{50}=6800\mu\text{g/ml}$, qui reste moindre par rapport à l'antioxydant synthétique: la vitamine C avec $IC_{50}=30\mu\text{g/ml}$. Dans une autre étude, **Hussain et al, (2011)** ont évalué l'activité antioxydante de l' huile essentiel d'O.majorana du Pakistan à travers plusieurs tests in vitro. Ils ont montré que, en utilisant le test du DPPH, l'huile essentielle testée a montré une forte activité de piégeage des radicaux avec un fort pouvoir antioxydant et $IC_{50}=89.2\mu\text{g/ml}$, qui était inférieure à celle du témoin positif le BHT.

Guerra-Boone et al, (2015) ont rapporté que l'activité antioxydante de l'huile essentielle étudiée dans le nord-est du Mexique était faible, avec des valeurs de concentration efficace (IC_{50}) $<250\mu\text{g/mL}$. Les résultats de **Hajlaoui et al., 2016**) sur l'activité antioxydante à l'aide de quatre méthodes colorimétriques complémentaires, à savoir le DPPH, l'activité d'extinction des superoxydes, le pouvoir réducteur et les dosages de β -carotène, ont montré que l'huile essentielle d'O.majorana tunisienne présentait une activité antioxydante élevée, en particulier en termes de pouvoir réducteur et de blanchiment au β -carotène, induisant des valeurs IC_{50} supérieures à l'étalon de référence le BHT.

L'effet antioxydant de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* d'Egypte a été évalué par **Mossa et al, (2011)**. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle a présenté des effets inhibiteurs dépendant de la concentration du DPPH, le radical hydroxyle, le peroxyde d'hydrogène, le pouvoir réducteur et la peroxydation lipidique avec des valeurs IC₅₀ de 58,67; 67,11; 91,25; 78,67 et 68,75 µg/ml respectivement. L'activité antioxydante de l'HE d'*O. majorana* de Macapa au Brésil, par la méthode de capture de radicaux DPPH, Les concentrations d'huile essentielle obtenues IC₅₀=16,83µg/mL comparées à l'acide ascorbique qui a montré un IC₅₀=16,71µg/mL (**Chaves et al, 2020**).

PARTIE VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a eu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part, du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances de composés naturels bioactifs et d'autre part, besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

L'Algérie dispose d'une diversité floristique exceptionnelle, plusieurs espèces sont utilisées en pharmacopée traditionnelle comme remède pour soigner les différentes maladies et les infections. Les plantes médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous-exploitées dans le domaine médical.

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation de deux plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle algérienne pour leurs vertus thérapeutiques. *Origanum majorana* et *Salvia officinalis* récoltés dans la région de Sidi Amar (Saïda) en février 2022, ont fait l'objet d'une étude phytochimique, une réalisation d'extraits méthanoliques et une extraction de leurs huiles essentielles, ainsi qu'une évaluation de leur potentiel antioxydant, antibactérien et antifongique.

La première étape est un screening phytochimique pour l'évaluation qualitative de nos plantes étudiées a permis de détecter différents composés notamment les flavonoïdes, les tannins et l'absence des alcaloïdes et les composés réducteurs.

L'extraction des HE de *S.officinalis* et *O.majorana* par hydrodistillation par entraînement à la vapeur, a donné des rendements respectivement de 1,01% et 0,24%.

L'étude de l'activité antibactérienne par la méthode des puits, montre que ces huiles possèdent des activités importantes vis-à-vis de la plupart des souches testées notamment les bactéries gram positif, avec des zones

d'inhibition intéressantes entre 11-37 mm pour l'HE de *S.officinalis* et entre 20-40 mm pour *O.majorana*.

Concernant l'activité antifongique, Les résultats obtenus indiquent que l'HE de *S.officinalis* a une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne inférieure à celle d'*O.majorana*. Des diamètres des zones d'inhibition varient entre 6-20 mm pour *S.officinalis* et entre 26-40 mm pour l'*O.majorana*.

D'après les résultats précédents on peut dire que Le degré d'activité est proportionnel à la concentration de l'huile essentielle et varie en fonction de l'espèce testée.

De l'étude d'activité antioxydant des huile essentiel de nos deux plantes par la méthode des piégeage des radicaux libres DPPH, il ressort que ces deux huile possède un pouvoir antioxydant moyenne présenté par des valeurs d'EC₅₀ de 1,31 et 1,46 mg/ml pour l' huile essentiel d'*Origanum vulgare* et *Salvia officinalis* respectivement, Néanmoins l'activité anti-radicalaire des HE testées resté faible par rapport à celle de l'antioxydant de synthèse (acide ascorbique, Trolox) par des valeurs d'EC₅₀ de 1,12 et 0,042 mg/ml respectivement.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables a réaliser, il serait intéressant d'établir des synergies de différents composés de diverses plantes, De plus, des tests phytochimiques supplémentaires in vivo sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de l'huile, et donner plus de détails sur ses différentes activités biologiques potentielles comme anti-inflammatoires, antivirales et antiparasitaires, antidiabétiques...et ses mécanismes d'action.

PARTIE VIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Achat, S.2013.-Thèse Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Université d'Avignon, p : 5-6-7-8-9-10-11-12 Collin, s.,Crouzet,j.2011.-polyphénols et procédés : p 6,8,11, 12,18 Richter ,G. 1993.- Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande,1:317-339

Aggoun fatma zohra (2020), Etude de la variation de la toxicité et la phytochimie de l'Origanum majorana provenant de deux régions en Algérie, (mémoire Master, Université Saad Dahleb – Blida 1)

Al-Howiriny T., Protective Effect of Origanum majorana L. 'Marjoram' on Various Models of Gastric Mucosal Injury in Rats. Medical and life sciences. Volume: 37, Issue: 3 (2009) pp. 531-545.

Alloun, K. (2013). Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Ruta montana* L.) (Doctoral dissertation).

Alizadeh A., Shaabani M., 2012. Essential Oil Composition, Phenolic Content,Antioxidant and Antimicrobial Activity in *Salvia officinalis* L. Cultivated in Iran.Advances in Environmental Biology. Vol. 6(1), p.p. 221-226.

Ameziane N., Alimarina K., 2007. Extraction des huiles essentielles de la sauge et du romarin, contribution à l'étude de son action sur certain agents pathogènes de l'homme, de la CMI. Mémoire de DES., Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 84 p

Amin, A., & Hamza, A. A. (2005). Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life sciences*, 77(3), 266-278

Arsenijevic, D., Onuma, H., Pecqueur, C., Raimbault, S., Manning, B. S., Miroux, B., ... & Ricquier, D. (2000). Disruption of the uncoupling protein-2

gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production. *Nature genetics*, 26(4), 435-439

Assia .A, Mariama.B. Evaluation in vitro de l'Action Antibactérienne d'Huile Essentielle de Sauge Officinale.L. (*Salvia officinalis*) de la région Nord-ouest de Tizi-Ouzou.

Athamena S., Chalghemi I., Kassah-Laouar A., Laroui S., Kherbi S., 2010. Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*. Vol 11 (1):72p

Balansard G., (2007) Analyse critique des protocoles pharmacologiques utilisés pour la recherche d'extraits et de substances pures d'origine végétale à propriétés Antibactérienne ou antiparasitaire. *Revue ethnopharmacologie*.p4

Bartosz, G. (2003). Total antioxidant capacity. *Advances in clinical chemistry*, 37, 219-292.

Belaiche, P. (1979). *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie: Les maladies infectieuses*. Maloine.

Benbouali, M. (2006).Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de "*Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*".Magister, Génie chimique, Université Hassiba BEN BOUALI –CHLEF

Benchachoua R, Simoud A, 2021. Etude théorique sur l'activité antibactérienne et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis*. Université des Frères Mentouri Constantine, Master

Benjilali B. (2005): le matériel végétal et l'extraction. In: Huiles essentielles, de la plante à l'extraction. Manuel pratique. Edition université de Québec à Chicoutimi, p 61-78.

Benkiki N., 2006- Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes: *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de doctorat, Univ. HaDj Lakhdar, Batna.

Ben Khedher M.R., Ben Khedher S., Chaieb I., Tounsi S., Hammami M. (2017). Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Salvia officinalis* from Tunisia. *Excli journal* 16: 160–173.

Benkherara S., 2011. *Revue des sciences et de la technologie*. Ed. Université Badji Mokhtar- Annaba, N°2 : 72-78.

Benkherara, S., Bordjiba, O., & Djahra, A. B. (2011). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale: *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 23, 72-80

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.

Bernaoui, Y., Louetri, K. (2018). Caractérisation phytochimique du Genre *Origanum* et leur bioactivités. Mémoire de Master Académique en Sciences biologiques. Biochimie appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued.

Berregioua A. 2016. Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae Médicinales Du Sud Algerien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. Thèse de doctorat, Université Aboubakr Belkaid – Tlemcen, Algérie, 201p

Blois M S, 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*. (181) : 1199-1200

Bouajaj S., Benyamna A., Bouamama H., Romane A., Falconieri D., Piras A. & Marongiu B. (2013): Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research*, 27(18): 1673–1676.

Bouaouina et al 2017. L'effet préventif de la plante médicinale Algérienne *Salvia Officinalis* contre la toxicité cardiaque induite par la Doxorubicine. Université des Frères Mentouri Constantine. Master

Bouaziz M., Thabèt Yangui T., Sayadi S., Dhouib A., 2009. Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. Food and Chemical Toxicology. Vol. 47, p.p. 2755-2760

Bougandoura N., Bendimred N., 2013. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. Nature & Technologie. (9): 15p

Bouhaddouda.N, 2016.Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :*Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* .

Bouillon, T. W., Bruhn, J., Radulescu, L., Andresen, C., Shafer, T. J., Cohane, C., & Shafer, S. L. (2004). Pharmacodynamic interaction between propofol and remifentanil regarding hypnosis, tolerance of laryngoscopy, bispectral index, and electroencephalographic approximate entropy. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 100(6), 1353-1372

Boukezata.A, Boulifa K (2014). La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium Incrassatum*), (p. 60). mémoire de magister ., Sétif 1 .: Université Ferhat Abbas,.

Boumaza D., 2011 - Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran. Mémoire de magister, Univ. Mohamed Boudiaf, Oran. 39 p.

Bouras.N, Hachemi.A.2019.Etude préliminaire des activités biologiques (insecticide et antifongique) des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus sp* . et *Origanum sp*.

BoydKing, A., Sharma, O. M., & Stevenson, K. (2009). Localized interstitial pulmonary amyloid: a case report and review of the literature. *Current opinion in pulmonary medicine*, 15(5), 517-520.

Brand, A., Richter-Landsberg, C., & Leibfritz, D. (1993). Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. *Developmental neuroscience*, 15(3-5), 289-298.

Brand-Williams W., Cuvelier M E., Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. (28): 25-30.

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (éd. 3e éd). Lavoisier, Tech & Doc, France

Burt. S.,(2004). Essential oils, their antibacterial properties and potential applications in foods review. *Int .J. Food Microb.*, vol 94 :223-226.

B.B.A. Ahmed Abd El Malek, N., Yagoubi, F. (2017). Etude de l'Activité Antimicrobienne et Antioxydante des Huiles Essentielles de l'Origanum Majorana L de la Région d'Ain Defla. Mémoire de Master en génie des procédés, Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

Caillaud, K. (2013). Vers une gouvernance territoriale de l'environnement?: analyse comparée des politiques départementales de gestion de l'eau destinée à la consommation humaine et des déchets municipaux (Doctoral dissertation, Strasbourg).

Cano, J. H., & Volpato, G. (2004). Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology*, 90(2-3), 293-316.

Carr. A, Frei. B. (1999). Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions *FASEB J*, 13(9), 1007-1024

C. Chalchat, A. Michet, B. Pasquier, *Flavour Fragr J.*, 1998; 13, 68.

Chaves, RdSB., Martins, RL., Rodrigues, ABL., Rabelo, ÉdM., Farias, ALF., Brandão, LB., ... & de Almeida, SSMDs. (2020). Evaluation of larvicidal

potential against larvae of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) and of the antimicrobial activity of essential oil obtained from the leaves of *Origanum majorana* L. *Plos one*, 15(7), e0235740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235740>.

Cherigui et zaibet, 2014. Pouvoir antibactérien et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis* de la région de Bordj Bou Arreridj Université Mohamed El Bachir El-Ibrahimi Bordj Bou Arreridj. Master

Chikhoun A, 2007. Les huiles essentielles d'origan et d'espèces de thym Mémoire magister INA Alger pp 118

Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.

Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. 2017.- Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives. *Medicines* (Basel, Switzerland), 4(3): 58.

Collin, s.,Crouzet,j. 2011.-polyphénols et procédés : p 6,8,11, 12,18

Congo M., 2012. Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliferative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae).Thèse de pharmacie. Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.

Da Silva, J. M. R., Darmon, N., Fernandez, Y., & Mitjavila, S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(9), 1549-1552.

Delamare Longaray APL, Ivete TMP, Artico L, Atti-Serafini L, Echeverrigary S. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil. *Food Chem.* 2007;100:603–8

Deschepper R .2017. Variabilité de La Composition Des Huiles Essentielles et Intérêt de la Notion De Chémotype En Aromathérapie. Thèse de doctorat, Aix Marseille Université , Marseille,143p.

Djahra Ali Boutlelis. (2014-2015)Cours Phytochimie II 2ème Année Master. Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued.

Djeddi, S. (2012). Les Huiles Essentielles "Des Mystérieux Métabolites Secondaires": Manuel De Formation Destiné Aux Etudiants De Master. Ed. Presses Académiques Francophones Grèce, 64 P

Djerroumi, A., & Nacef, M. (2004). 100 plantes medicinal d'Algérie. *Homa. 1ed. 158p, 128*

Dhaouadi. S, W. Rouissi, A.M. Hamdane, I. Hannachi, B. Nasraoui, Antifungal activity of essential oils of *Origanum majorana* and *Lavender angustifolia* against *Fusarium wilt* and root rot disease of melon plants, *Tunisian Journal of Plant Protection*, 13 (2018) 39-55.

Diallo. A. (2005). Etude de la phytochimie et des activites biologiques de *Syzygium guineense willd. (MYRTACEAE)*. *Thèse de Doctorat*.

Duke J A., Bogenschutz-godwin du cellier M J., et Duke P A K., (2002). *Medicinal Herbs*. Edition CRC Press LLC.P:201.

Dutta-Roy. A. K. (1999). Molecular Mechanism of Cellular Uptake and Intracellular Translocation of α -Tocopherol: Role of Tocopherol-binding Proteins. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 967-971.

Ebani, S. Nardoni, F. Bertelloni, S. Giovanelli, G. Rocchigiani, L. Pistellib, F. Manciantia *Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles contre certaines bactéries et levures pathogènes excrétées par la volaille*, *Flavor Fragr. J*, 31 (2016) 302-309.

Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy*

Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 21(4), 308-323.

Ekoumou. C. (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de cinq recettes traditionnelle utilisés dans le traitement des infections Urinaire et la Cystite. *Thèse Pharmacie*, 145.

El-Akhal F., Lalami A.E., ZoubiY.E., Greche H., Guemmouh R. 2014. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera:Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(9): 746-750

El Haib A., (2011).Volarisation des terpènes Natural issus de plantes marocaines par transformation Catalytique, Université Toulouse, 4-12 p.

Ericsson, M. et Colmsjö, A. *Journal of chromatography A*, 2000, 877, 141;
b) Pourmortazavi, S. M.; Hajimirsadeghi, S.S. *Journal of Chromatography A* 2007, 1163, 2-24.

Essawi T. & Srour M., 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 70: 343–349.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832.

Figueredo, G. (2007). *Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).

Friedlingstein, P., Jones, M. W., O'sullivan, M., Andrew, R. M., Hauck, J., Peters, G. P., ... & Zaehle, S. (2019). Global carbon budget 2019. *Earth System Science Data*, 11(4), 1783-1838.

G. Amor, L. Caputo, A. La Storia, V. De Feo, G. Mauriello, T. Fechtali, T. Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* and *Origanum majorana* essential oils from Morocco, *Molecules*, 24 (2019) 4021.

Gazengel, J. M., & Orecchioni, A. M. (2013). *Le préparateur en pharmacie*. Technique et Documentation.

Ghada. B, R.H. Diaz, J. Labidi, M. Abderrabba, Deterpenation of *Origanum majorana* L essential oil by reduced pressure steam distillation, *Industrial Crops & Products*, 109 (2017)116–122.

Ghadermazi R., KeramatJ.,GoliS.A.H.(2017).Antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata*Thunb), oregano (*Origanum vulgare* L) and sage (*Salvia officinalis* L) essential oils in various model systems.*International Food Research Journal* 24(4): 1628-1635.

Ghaisas M., Navghare V., Takawale A., Zope V., Deshpande A., 2008. In-vitro antioxidant activity of *Tectona grandis* linn. *Pharmacologyonline* . (3): 300p

Ghania.k, Dalila.B .Contribution à l'étude physico-chimique et l'évaluation de l'activité microbiologique et antioxidante de *Salvia officinalis* de la région de Ain Defla

Ghnimi W. 2015. Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxidante et de leur action inhibitrice sur l'activité l'acetylcholinestérase. Thèse de doctorat, Université De Lorraine (France) Et Université De Carthage (Tunisie), France, Tunisie, 224p

Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 11(2), 115-120.

Greff. M. (2011, mars 24 au 27). Post'U FMC-HGE, *Springer Edition*. 39.

Guerra-Boone, L., Alvarez-Román, R., Salazar-Aranda, R., Torres-Cirio, A., RivasGalindo, V. M., Waksman de Torres, N., ... & Pérez-López, L. A. (2015). Antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, and *Origanum majorana* from northeastern México. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 28.

Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. 2019. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 24(13) : 2471

Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M. H., Bilsel, M., & Gören, A. C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2227-2238.

Gulçin. (2011). Antioxydant of food constituent: an over view. *Arch toxicol* 86: 345-391.

Gürkan. S, Aslı.S, Nazime.M, 2018.Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant and antibiofilm activities of four *Origanum* species from southeastern Turkey. 21(1), 194–204.

Gülçin I., Gören A.C., Taslimi P., Alwasel S.H., Kilic O., Bursal E. (2019). Anticholinergic, Antidiabetic and Antioxidant Activities of Anatolian Pennyroyal (*Mentha pulegium*)-Analysis of Its Polyphenol Contents by LC-MS/MS. *Biocatalysis and agricultural biotechnology* 23: 101- 441.

Hafaidia Bochra, Zgaoula Mouna, Missaoui Riheb 2020. Effet cytotoxique de l'extrait hydrométhanolique d'*Origanum majorana* (Test *Allium Cepa*), (mémoire Master, Université 8 Mai 1945 Guelma)

hafsa.B, fatiha.R, (2019). Etude de l'effet antimicrobien des huiles essentielles de *Salvia officinalis* sur les bactéries (*staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) master.

Hajlaoui, H., Mighri, H., Aouni, M., Gharsallah, N., Kadri, A., 2016. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase.

H. Hajlaoui, N. Trabelsi, E. Noumi, M. Snoussi, H. Fella, R. Ksouri, A. Bakhrouf, Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in

the Tunisian folkloric medicine, *World J. Microbiol. Biotechnol*, 25 (2009) 2227-2238.

Hamid Ilham, 2013. Contribution a la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica Granatum L.*): caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais. Thèse de doctorat, ED VENAM/ ED Béni Mellal

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).

Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.

Hillier, S. G., & Lathe, R. 2019.- Terpenes, hormones and life: isoprene rule revisited. *The Journal of endocrinology*, 242(2): 9– 22.

H. Hussain, F. Anwar, S. Rasheed, P.S. Nigam, O. Janneh, S.D. Sarker, Composition antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan, *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn*, 21(2011), 943-952.

Hussain A. I., Anwar f., Iqbal T., Bhatti I. A., 2011. Antioxidant attributes of four lamiaceae essential oils. *Pak. J. Bot. Vol. 43(2)*, p.p. 1315-1321.

Ibrahim (2013). «Antioxydant activity and phenolic content of *Stebulusasper*», *Antioxydant (Basel)*, vol.2, n° 3, p. 2156_66.

Ietswaart, J. H., & Ietswaart, J. H. (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae) (Vol. 4, p. 158). The Hague: Leiden University Press.

Iserin. P, Masson. M, Restellini. J. P. (2007). *Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins* (éd. Larousse). Paris, France.

Kahouli, I., 2010. Effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis L.*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea L.*) dans l'huile de canola chauffée. Thèse de doctorat. Université Laval.

Kang, D. H., Rothman, N., Poirier, M. C., Greenberg, A., Hsu, C. H., Schwartz, B. S. & Strickland, P. T. (1995). Interindividual differences in the concentration of 1-hydroxypyrene-glucuronide in urine and polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in peripheral white blood cells after charbroiled beef consumption. *Carcinogenesis*, 16(5), 1079-1085.

Khiya Z., Hayani M., Gamar A., Kharchouf S., Amine S., Berrekhis F., Bouzoubae A., Zair T., Elhilali F. (2018). Valorization of the *Salvia officinalis* L of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant and anticorrosive activities, *Journal of King Saud University – Science* 31(3): 322-335.

Kimbaris, A.C.; Siatis, N.G.; Daferera, D.J.; Tarantilis, P.A.; Pappas, C.S.; Polissiou, M.G. *Ultrasonics Sonochem.* 2006, 13, 54-60

Klaas C.A., Wagner G., Laufer S., Sosa S., Loggia R.D., Bomme U., Pahl H.L. and Merfort I., 2002 - Studies on the anti-Inflammatory Activity of Phytopharmaceuticals prepared from Arnica flowers. *Planta Med*, 68 : 385-391.

Kouamé J., Gnoula C., Palé E., Bassolé H., Guissou I P., Simporé J., Nikiéma J B., 2009. Etude des propriétés cytotoxiques et anti-radicalaires d'extraits de feuilles et de galles de *Guiera senegalensis* J. F. Gmel (Combretaceae). *Science et technique, Sciences de la santé*. Vol 32 (1 et 2) :14p.

Lacraz, G. (2009). *Relation entre Stress Oxydant et Homéostasie Glucidique au cours du Diabète de Type 2: Adaptation de la Cellule β Pancréatique* (Doctoral dissertation, Université Paris-Diderot-Paris VII).

Laghouati, F., Harrath, L., & charef, N. E. (2020). *Enquête sur l'utilisation de la sauge dans le traitement des maladies infectieuses* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa)

Lahlou M., 2004.- Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 18 : 435-448

Lakhdar, 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: étude in vitro, Faculté de médecine dentaire de RABAT. Doctorat

Loic. F. (2009). Monographie *Salvia officinalis*. *L3 environnementaliste*, 3-5.

Lu, Y., & Foo, L. Y. (2002). Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*, 59(2), 117-140

Luque de Castro, M.D.; Jiménez-Carmona, M. M. et Feràndez-Pérez, V. *Trends Anal. Chem.* 1999, 18, 708.

Maataoui B S., Hmyene A., Hilali S., 2006. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*

Maatoug, H. (1990). Nos plantes médicinales. *Lexiques cliniques des plantes médicinales non toxiques employées en Tunisie*, pp116.

Mahizan, N. A., Yang, S. K., Moo, C. L., Song, A. A. L., Chong, C. M., Chong, C. W., & Lai, K. S. 2019.- Terpene derivatives as a potential agent against antimicrobial resistance (AMR) pathogens. *Molecules*, 24(14): 2631.

Maksimović, M., Vidic, D., Miloš, M., Šolić, M. E., Abadžić, S., & Siljak-Yakovlev, S. (2007). Effect of the environmental conditions on essential oil profile in two Dinaric *Salvia* species: *S. brachyodon* Vandas and *S. officinalis* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(8), 473-478

Manganyi.MC, Regnier.T, Olivier.E, Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles sélectionnées contre les isolats de *Fusarium oxysporum* et leurs biofilms. *Journal sud-africain de botanique*, 99 (2015) 115 121.

Marfak. A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoides: Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. *Thèse de doctorat de l'université de Limoges*, 30-35.

Marino M., Bersani C. et Comi G., 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 67, p.p.187-195.

Mebarka, C., & Hanane, Z. (2014). Pouvoir antibactérien et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis* de la région de BBA (Doctoral dissertation).

Meddour A., Yahia M., Benkiki N., Ayachi A., 2013. Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du capparidacée *Capparis spinosa* L. *Lebanese Science Journal*. Vol 14 (1): 52p

Mehani, 2015 Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla, UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA Doctorat

Mekhaldi A., Bouznad A., Djibaoui R., Hamoum H. (2014). Phytochemical Study and Biological Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). *International Journal of Bioengineering and Life Sciences* 8(11): 1253-1257.

Mossa, A. T. H., & Nawwar, G. A. M. (2011). Free radical scavenging and antiacetylcholinesterase activities of *Origanum majorana* L. essential oil. *Human & experimental toxicology*, 30(10), 1501-1513.

O. Olfa, A. Mariem, A.M. Salah, B.N.A. Mouhiba, Chemical content, antibacterial and antioxidant properties of essential oil extract from Tunisian *Origanum majorana* L. cultivated under saline condition. *Pak, J. Pharm. Sci*, 29 (2016) 1951-1958

Omulokoli. E, Khan. B, and Chhabra. S.C. (2000). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*, 133-137.

OU B., Hampsch-Woodill M., Prior R L., 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (49): 4619-4626.

Paré, J.R.J. 1992, CA Pat. 2055 390; b) Camel, V. Trends in Anal. Chem. 2000, Vol. 19, n°4, 229; b) Lucchesi, M. E.; Chemat, F.; Smadja, J. Journal of Chromatography A 2004, 1043, 323-327.

Pellerin, P. Perfume, Flavor, 1991, 16, (07-08), 37; b) Richard, H. et Loo, A. «La fabrication des extraits: extraction par le dioxyde de carbone, in Epices et Aromates », (Richard, H., Coordonnateur), Tec. et Doc, Lavoisier, Paris, 1992, 139; c) Illés, V.; Daood, H.G.; Perneckzi, S.; Sokonya, L. et Then, M. Journal of Supercritical Fluids, 2000, 17, 177

Pengelly A. (2003). The constituents of medicinal plants, an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine, 2ème édition.

Peyron, L., & Richard, H. (1992). Extraction des épices et herbes aromatiques et différents types d'extraits. *Épices et aromates, Paris: Tec et Doc-Lavoisier, APRIA.*

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel.

Prior R L., WU X., Schaich K., 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements . Agric. Food Chem. (53): 4290-4302.

Quézel P., Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris. P603, 781-793.

Ehivet F.E., Min B., Park M.K., Oh J.H. (2011). Characterization and antimicrobial activity of sweet potato starch-based edible film containing organum (Thymus capitatus) oil. J. Food Sci 76: 178-184

Raal, A., Orav, A., & Arak, E. (2007). Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. Natural product research, 21(5), 406-411

Rahal K. (2005) Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale

Rami K., Zheng-Guo L., 2011. Antibacterial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10(42), p.p. 8397-8402.

Raouafi.K, Nefzi.H, Esghaier.B, Sadfi.N, Abderrabba.M, Ayadi.S, Biological activity and characterization of essential oil of areal part from *Origanum majorana* L. : First report of antifungal activity against *Fusarium oxysporum* and against his biofilm,12(6),746-756.

Ray. S. D, Wong. V, Rinkovsky. A, Bagchi. M, Raje. R. R, and Bagchi. D. (2000). Unique organoprotective properties of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cadmium chloride-induced nephrotoxicity, dimethylnitrosamine (DMN)- induced splenotoxicity and mocap-induced neurotoxicity in mice. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol*, 107, 105-128.

R.do. S.V. Chaves, R.L. Martins, A.B.L. Rodrigues, E.M. Rabelo, A.L.F. Farias, C.M.C.V. Araujo, T.F. Sobral, A.K.R. Galardo, S.S.M.S.de Almeida, Larvicidal Evaluation of the *Origanum Majorana* L. Essential Oil against the Larvae of the *Aedes aegypti* Mosquito, *BioRxiv* (2019).

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Roué. M. (2011). Contribution de la flore bactérienne associée au métabolisme secondaire de l'éponge calcaire *Clathrinaclathrus*. *Doctorat de l'université Pierre et Marie Curie*.

Rubulotta, G., & Quadrelli, E. A, 2019.- Terpenes: A valuable family of compounds for the production of fine chemicals. In *Studies in Surface Science and Catalysis*, 178: 215-229. 97. Sahki, A.

Safsaf.H, 2016.Etude de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle et des extraits de l'espèce *Origanum majorana* (Lamiaceae).

Santos-Gomes, P. C., Seabra, R. M., Andrade, P. B., & Fernandes-Ferreira, M. (2002). Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Science*, 162(6), 981-987

Santos-Gomes, P. C., & Fernandes-Ferreira, M. (2001). Organ-and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6), 2908-2916.

Sarmadi, B. H., & Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 31(10), 1949-1956.

Schauenbergue .P, Paris F., Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Detachaux et Niesilté. (2010).

Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, 49(9), 689-695.

Seu-Saberno, M.; Blakeway, J. « La mousse de chêne, une base de la parfumerie », Pour la sParie, Edition Française de Scientific American, 1984, Mai, 83

S. Harpaz, L. Glatman, V. Drabkin, A. Gelman, Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*), *J Food Prot*, 66 (2003) 410-417.

Sharififar F., Dehghn-Nudeh G., Mirtajaldini M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry* 112: 885-888.

S. Inouye, K. Uchida, H. Yamaguchi, T. Miyara, S. Gomi, M. Amano, Volatile Aroma Constituents of Three Labiatae Herbs Growing Wild in the Karakoram-Himalaya District and Their Antifungal Activity by Vapor Contact, *J. Essent. Oil Res*, 13 (2001) 68–72.

Singleton V L., Rossi J A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. (16) : 144-153.

Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H. A., Daferera D., Tepe B., Polissiou M., Sahin F. (2004) The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15(8): 627-634

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.

Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., & Dommes, J. (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food chemistry*, 113(4), 1226-1233.

Tamokou, J. D. D., Mbaveng, A. T., & Kuete, V. (2017). Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables. In *Medicinal spices and vegetables from Africa* (pp. 207-237). Academic Press.

Tepe B., Sokmen M., Akpulat H A., Sokmen A., 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem.* (95): 200-204.

Tepe B., Degerli S., Arslan S., Malatyali E., Sarikurkcü C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia* 82 : 237-246.

Touafek,O , 2010.- Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens . Thèse Doctorat en chimie organique .p20

Tripathy B., Satyanarayana S., Abedulla Khan K., Raja K. 2017. An Updated Review on Traditional Uses, Taxonomy, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology of *Origanum majorana*. *Int J Pharma Res Health Sci* 5 (4): 1717-1723

Trivellini A., Lucchesini M., Maggini R., Mosadegh H., Villamarin T.S.S., Vernieri P., Mensuali-Sodi A., Pardossi A., 2016. Lamiaceae phenols as multifaceted compounds: bioactivity, industrial prospects and role of “positive-stress”, *Industrial Crops and Products* 83: 241–254.

Tundis.R, Leporini.M, Bonesi.M, Rovito.S, Passalacqua.G. *Salvia officinalis* L. from Italy: A Comparative Chemical and Biological Study of Its Essential Oil in the Mediterranean Context.

Van Haarlem, M. P., Wise, M. W., Gunst, A. W., Heald, G., McKean, J. P., Hessels, J. W., ... & Reitsma, J. (2013). LOFAR: The low-frequency array. *Astronomy & astrophysics*, 556, A2.

Walker. J. B, Kenneth. J, Treutlein. J & Wink. M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Menthae. *American Journal of Botany*, 91 (7), 111.

Wallace. R.J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of Nutrition Society*, 63, 621–629.

Wang W., Wu N., Zu Y.G. & Fu Y.J., 2008. Antioxydative activity of *Rosemarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chem.* 108: 1019-1022.

William G.Hopkins. (2003). *Physiologie végétale* (éd. www.deboeck.com)

Willem, J. P. « Les huiles essentielles, médecine d'avenir », Ed : Estem, Paris, 2004, 318

William G.Hopkins. (2003). *Physiologie végétale* (éd. www.deboeck.com).

Xiuzhen H., Tao S., Hongxiang L.(2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences* 8(9): 950-988

Xu, G.H (2009). « Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of *Thujaorientalis* », *ArchPharmRes*, vol. 32, n°2, p. 275-82

Yazdanparast, R., & Shahriyary, L. (2008). Comparative effects of *Artemisia dracunculus*, *Satureja hortensis* and *Origanum majorana* on inhibition of blood platelet adhesion, aggregation and secretion. *Vascular pharmacology*, 48(1), 32-37.

Zoreik, Issolah, 2020. Synthèse bibliographique sur l'évaluation de l'activité antioxydante de *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis*. Université Mouloud Mammeri de TiziOuzou, Master

PARTIE IX. ANNEXES

IX.1. Annexe 1

Préparation des extraits: (aqueux et éthanolique)

Préparation des extraits (aqueux et éthanolique): 50g de poudre de matériel végétal (partie aérienne) sont mis en contact avec 300ml de solvant (eau\ou éthanol) dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est porté à reflux pendant 1 heure. Le mélange est filtré et soumis aux différents tests.

Préparation de l'infusé aqueux

Une masse de 5g de poudre végétale est mise dans 100ml d'eau bouillante pendant 15 minutes. Nous avons filtré les extraits sur du papier filtre et rincé avec de l'eau chaude de manière à obtenir 100ml (**Paris et al., 1969**).

IX.2. Annexe 2

Préparation des réactives

Réactif de Wagner: Dissoudre 2g de KI et 1,27g d'I₂ dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100ml d'eau.

Réactif de Mayer: Dissoudre 1,358 g de HgCl₂ dans 60ml d'eau et également 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml d'eau.

Réactif d'amidon: Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5g d'iodure de potassium. Chauffer dans un bain marie 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée jusqu'à ébullition.

Réactif de Liebermann-Burchardt: Mélanger 5 ml de la solution à tester avec 5 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter le tout et laisser la solution reposer pendant 30 minutes à 21°C.

IX.3. Annexe 3

Valeurs du piégeage du radical DPPH exprimées en densités optique (DO) et pourcentage d'inhibition %(PI%) par l'HE de *S.officinalis* en fonction des concentrations (mg/ml).

Concentration (mg/ml)	0.375	0.75	1.5	3	6
DO	0.362 ±0,0075	0.325 ±0,0075	0.265 ±0,0083	0.219 ±0,0075	0.172 ±0,0068
PI%	32,96	39,81	50,92	59,44	68,14

IX.4. Annexe 4

Valeurs du piégeage du radical DPPH exprimées en densités optique (DO) et pourcentage d'inhibition %(PI%) par l'HE d'*O.majorana* en fonction des concentrations (mg/ml).

Concentration (mg/ml)	0.375	0.75	1.5	3	6
DO	0.388 ±0,0068	0.323 ±0,0072	0.248 ±0,0068	0.166 ±0,0045	0.161 ±0,0035
PI%	28,14	40,18	54,07	69,25	70,18