

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة امحمد بوقرة – بومرداس

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES



Faculté des Sciences

Département de Biologie

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

Master académique

Domaine : Science de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Screening phyto-chimique et évaluation de deux activités biologiques
des huiles essentielles de la plante médicinale « *Origanum vulgare* L.»**

Présenté par :

Melle AMERANE Imane

Melle BOUGHELAF Fella

Soutenu le / / 2021 devant le jury composé de :

. Mr DAHMANI M.M.	Maître de conférences B	UMBB	Président
. Mr BENMOULOU A.	Maître de conférences B	UMBB	Examineur
Mr BOUDJEMA K.	Maître de conférences A	UMBB	Promoteur
Mme Ourak S.	Attachée de recherche	CRD,Saidal	Co-promotrice

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer ce mémoire.

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mr Boudjema.k**, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous exprimons nos respectueuses reconnaissances à **Mme Fazouane.F** pour Ses aides techniques et ses orientations.*

Nos sincères remerciements vont aussi aux membres de jury pour l'honneur qu'ils auront fait en acceptant de juger ce travail;

*À **Mr Dahmani M.M** et à **Mr Benmouloud A** qui a consacré leur temps pour présider et examiner de ce travail.*

*A **Mme Halli L** Cadre dans le Centre de Recherche et de Développement, SAIDAL pour son aide, sa disponibilité, son soutien sans faille et sa sympathie.*

*A **Mme Ourak S**, responsable de laboratoire de microbiologie, SAIDAL pour son aide ses conseils, sa disponibilité.*

*Sans oublier, nous tenons à remercier L'ingénieur de notre laboratoire de Biochimie appliquée **Melle Kamilia** pour leur orientation et leur innombrable service.*

Nous tenons de remercier tout les enseignants de la Faculté des Sciences pour tout le savoir que nous avons acquise à eux durant notre cursus universitaire.

C'est avec un réel plaisir que nous adressons nos sincères reconnaissances et nos profondes gratitude à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour réaliser cette étude.

Je dédie ce modeste travail:

A la femme la plus courageuse, sensible généreuse, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, mais celle qui a toujours montré affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.

A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les diverses valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père que j'aime.

A mes grands-parents **DJABALLAH. Ammar** et **mbarka haciane**, plus profonde gratitude pour l'éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse leur offrir.

A ma sœur KENZA et mon frère Abd El Azize.

A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom **BOUGHELAF** et **DJABALLAH.**

A ma chère amie avant d'être binôme **Imene** pour sa sympathie.

A mes très chers amis: **BELKADI YASMINE** et **BELOUCHE SIHEM.**

A tous mes amis de promotion de 2^{ème} année Master en Biochimie appliquée.

fella



Avec l'expression de ma reconnaissance ,je dédie ce modeste travail à ceux qui ,quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu , qui doit ma vie ,ma réussite et tout mon respect :mon cher père le seigneur a pitié.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir , qui n' j'amaï dit non àmes exigences et qui n' épargné aucun effort pour me rendre heureuse :mon adorable mère Halima.

A mi chère frère *Mehamed ,Nabile, walid* , et ma sœur khadija.

A mon fiancé *Abderahmane* qui n'ont pas cessée de me conseiller,encourager et soutenir tout au long de mes études.que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.et a ma belle mère Nacira .

A mon adorable petite nièce *RANIM* qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes très chers amis: **BELKADI YASMINE** et **BELOUACHE SIHEM.**

IMENE

Table des matières

Liste des tableaux	
Listes des figures	
Liste des abréviations	

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1- Matière végétale	3
I.1.1-Plantes médicinales	3
I.1.2 -Généralité sur la famille lamiaceae.....	3
I.1.3- <i>Origanum vulgare</i> L.....	4
I.1.4-Description botanique.....	5
I.1.5-Classification botanique	5
I.1.6-- Répartition géographique	5
I.1.7-Utilisation en médecine traditionnelle.....	5
I.2-Les huiles essentielles	6
I.2.1-Historique	6
I.2.2- Définition.....	6
I.2.3-Répartition et localisation.....	6
I.2.4-Propriétés physico-chimiques.....	7
I.2.5- Rôle	7
I.2.6-Composition chimique des huiles essentielles.....	8
I.2.6.1-les composés terpéniques.....	8
I.2.6.2-les composés aromatiques dérivés du phénylpropane	10
I.2.6.3-les composés d'origines diverses	11
I.2.7-Les facteurs influençant de la variabilité de la composition chimiques des huiles essentielles	11
I.2.8.-Domaine d'utilisation	12
I.2.8.1 Secteur médecine	12
I.2.8.2.Secteur parfumerie	12

I.2.8.3.Secteur alimentaire	12
I.2.9-Toxicité des huiles essentielles.....	12
I.2.10-Procèdes d'extraction	13
I.2.10.1-Hydro-distillation	13
I.2.10.2-Entrainement à la vapeur d'eau	13
I.2.10.3-Hydro-diffusion	13
I.2.11- Autres méthodes	14
I.2.11. 1-Extraction par solvant	14
I.2.11.2-Extraction par micro-onde sou vide.....	14
I.2.11.3-Extraction par CO ₂ super-critique	14
I.3-Les activités biologiques.....	15
I.3.1.Activité antioxydante.....	15
I.3.1.1Définition	15
I.3.1.2Les radicaux libres	15
I.3.1.3Stress oxydatif	15
I.3.1.4-Les antioxydants	16
I.3.1.5-Type d'antioxydants	16
I.3.1.5.1.Sources synthétiques.....	16
I.3.1.5.2.Sources enzymatiques.....	16
I.3.1.6.Mode d'action d'un anti-oxydant.....	17
I.3.2.-Activité antimicrobienne.....	18
I.3.2.1-Les principales substances anti-microbiennes.....	18
I.3.2.1.1. Les antibiotiques	18
I.3.2.1.2. Les huiles essentielles	18
I.3.2.2-Mécanismes d'action des agents antimicrobiens.....	18
I.3.2.2.1.Contre les bactéries	18
I.3.2.2.2.Contre les champignons	19
I.3.2.3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	19
I.3.2.3. 1.Méthode de contact direct.....	19
I.3.2.3. 2.Méthode de diffusion sur gélose.....	19
I.3.2.3. 3. Méthode de dilution sur milieu liquide.....	20
I.3.2.3. 4. Micro atmosphère	20

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1-Matériel	20
II.1. Matériel non biologique	20
II.2. Matériel biologique	20
II.2.1. Matériel végétal	20
II.2.2. Souches microbiennes et milieux de culture	21
II.2-Méthodes	22
II.1-Screening phyto-chimique	23
II.2.Extraction des huiles essentielles	25
II.2.1.Extraction par hydro-distillation	25
II.2.2. Détermination du rendement d'extraction.....	26
II.2.3.Conservation des huiles essentielles	27
II.3.Evaluation des activités biologiques	27
II .3.1..Etude de l'activité anti-oxydante	27
II .3.2.Etude de l'activité antimicrobienne	29

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Screening phytochimique	33
III.2.Rendement d'extraction	37
III.3.Evaluation des activités biologiques	38
III.3.1.Activité antioxydante	38
III.3.2.Activité antimicrobienne	40
conclusion	42

Référence Bibliographie

Annexes

Résumé



Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractéristique des souches.

Tableau02 : Test phyto-chimique de la partie aérienne d'*Origanum vulgare*.

Tableau 03 : L'activité sacavenger du radical DPPH par l'HE d'*O.vulgare*
L., l'acide ascorbique.

Tableau 4 : Résultats de l'aromatogramme.

Liste des figures

- Figure 01. Dessin d'*O. vulgare* ssp *vulgare* d'après Ietswaart (1980)
- Figure 02 : Structure chimique de l'isoprène.
- Figure 03 : Exemple de quelques monoterpènes.
- Figure 04 : Exemple de quelques sesquiterpènes.
- Figure 05 : Exemple de composés aromatiques.
- Figure 06: Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielle.
- Figure 07 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR .
- Figure 08: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène.
- Figure 09 : Sites d'action antibactérienne des huiles essentielles .
- Figure 10 : *Origanum vulgare*.
- Figure 11: Diagramme représentant les différentes étapes de l'extraction ainsi que les analyses effectuées sur l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.
- Figure 12 : Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle de laboratoire.
- Figure 13 : Réduction du radical libre (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle).
- Figure14: Photo des suspensions microbiennes
- Figure 15: Schéma de la méthode des aromatogrammes sur boite de pétri .
- Figure 16 : H.E d'*Origanum.vulgare*.
- Figure 17: Activité anti-radicalaire de A.A.
- Figure18 : Activité anti-radicalaire de H.E.
- Figure 19 : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus*.
- Figure 20 :Observation microscopique de *Bacillus sphaericus* .
- Figure21 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Figure 22: Observation microscopique d'*Escherichia coli* .
- Figure 23 : Test de l'huile essentielle contre les bactéries.
- Figure 24 : Test de huile essentielle contre les levures.



Liste des abréviations

AA: Acide ascorbique.

ATCC: American Type Culture Collection.

BHT: Hydroxytoluène butylé.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

ERN: Espèces réactives d'azote.

ERO: Espèces réactives oxygénée.

ERS : Espèces réactives de soufre.

HE : Huiles essentielles.

IC₅₀ : Inhibitory Concentration₅₀.

GN : Gélose nutritive.

MH : Muller Hinton.

Rd : Rendement de la plante en huile essentielles.

SAB: Sabouraud.

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et par fois dans ses rites religieux.

L'utilisation des plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus grandes civilisations de l'orient et de l'occident. Comme témoignent les textes rédigés plusieurs millénaires avant notre époque, les sumériens, les égyptiens, les chinois et les indous, possédaient toute une panoplie de remèdes à base des plantes (Clément, 2005).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte des nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997).

De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont démontré un large spectre d'activités biologiques. Parmi eux, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales qui se sont avérées avoir divers effets pharmacologiques: comme antispasmodiques, carminatives, hépato-protecteurs, antiviraux, anticancéreux et antioxydants (Vida-Maros et al. 2011). En outre, les huiles essentielles ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments (Lahlou, 2004).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant plusieurs familles botanique dont 15% sont endémiques (Quez el et Santa, 1963). Ce potentiel des plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles.

Au cours de ces derniers années, l'Algérie est considérée comme un pays qui assiste à un regain d'intérêt des consommateurs en plante aromatique et médicinal telle que *Origanum vulgare* susceptible d'être utilisée pour les propriétés thérapeutiques. Il est utilisé comme remède contre plusieurs maladies dont le syndrome grippal qui occupe la première place, aidant à éliminer les toxines du corps, fièvre, et il est même utilisé contre les douleurs rhumatismales et articulaire.

Durant ce travail, nous nous sommes intéressé d'une part, sur le screening phytochimique de l'infusé de la plante *Origanum vulgare* d'origine de la région de Jijel et d'autre part, sur l'extraction des huiles essentielles et évaluation de leurs activités biologiques (anti oxydante et antimicrobienne).

Introduction

Cette étude comporte deux grandes parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, qui est constituée de trois chapitres ; généralité sur la plante, les huiles essentielles et leurs activités biologiques.
- La seconde partie concerne la partie expérimentale, qui comporte deux chapitres, l'un sur matériel et méthodes de travail. Le deuxième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion présentant une synthèse des meilleurs résultats obtenus avec les perspectives envisagées.

I.1.1-Plantes médicinales

Ces dernières années, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine thérapeutique. En effet, les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits (Amarti *et al.*, 2011).

Par ailleurs le continent africain est doté de la plus riche biodiversité dans le monde, avec beaucoup de plantes utilisées comme herbes, aliments naturels et à des fins thérapeutiques (Khia *et al.*, 2014).

I.1.2-Généralité sur la famille lamiaceae

La famille des Lamiaceae (labiées) du Latin (Labia) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (Couplan, 2000 ;Naghibi *et al.*, 2005), c'est une importante famille de plantes dicotylédones dans la flore Algérienne, qui comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (Naghibi *et al.*, 2005). D'où notre plantes étudié fait partie: *Origanum vulgare*.

Cette famille comporte aussi de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (Judd *et al.*,2002).

D'après Taalbi, (2016), les Labiées sont caractérisées par :

- Une tige a section carrée.
- Des feuilles opposées et dentées.
- Des fleurs irrégulières : calice à cinq pétales coudés, corolle en tube se terminant par deux lèvres écartées, quatre étamines (deux grandes et deux petites) ; ovaire à quatre loges, chacune un ovule.

I.1.3-*Origanum vulgare* L.

Le terme origan provient du latin *Origanum* , lui-même issu de grec *Origanom*. Le terme français apparait au XIIIème siècle. En le décomposant étymologiquement, on trouve *oros*, lamontagne et *ganos*, éclat, aspect riant, d'où la signification « *qui se plait sur la montagne* ». En effet, l'Origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté.(Dubois *et al.*, 2005).

Le genre *Origanum* comprend environ 70 espèces, sous-espèces, variétés et hybrides, caractérisés par une extrême variabilité dans leurs caractères morphologiques (longueur de la

Tige , arrangement, nombre et longueur des branches, formes des feuilles,...) (**Kintzios, 2002**).

Les membres du genre sont principalement distribués le long de la région de la Méditerranée .Tandis que 75 % d'entre eux sont limités à la Méditerranée orientale, seulement quelques espèces existent dans la partie occidentale de la Méditerranée (**Skoula et al., 1999**).

Origanum vulgare L. (Origan) étant l'espèce la plus répandue et la plus connue de la famille des Lamiacées (**Spada et Perrino, 1996**), l'une de ses sous espèces *Origanum vulgare* sp.glandulosum (Desf.) Ietswaart, synonyme d'*O. glandulosum* Desf. fera l'objet de notre étude.

I.1.4-Description botanique

L'origan est généralement considéré comme une herbe vivace , c'est une plante persistante de 30 à 60 cm de haut très répondeu dans le tell. d'aspect sec, d'un vert rougeâtre et totalement recouverte d'un fin duvet.

Elle est reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée , épicée et chaude (**Arvy et gallouin,2003 ;Teuscher et al,2004**). à un tige dressé, rougeâtre et velue couvert de feuilles opposées, ovales et petite taille.les fleurs blanches ou violacées se regroupent au sommet de la tige en inflorescences. (**KADDEM ,1990**). Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, et dépassant le calice. Ce calice est lui-même en tube gamosépale et persistant. La corolle, plus grande que le calice, est quant à elle bilabée à tube saillant à la base et gamopétale. Le fruit est constitué d'akènes. La floraison se prolonge de mai à octobre **Figure 01** (**Baba Aissa, 1990 ; Teuscher et al., 2004 ; Figueredo, 2007**).

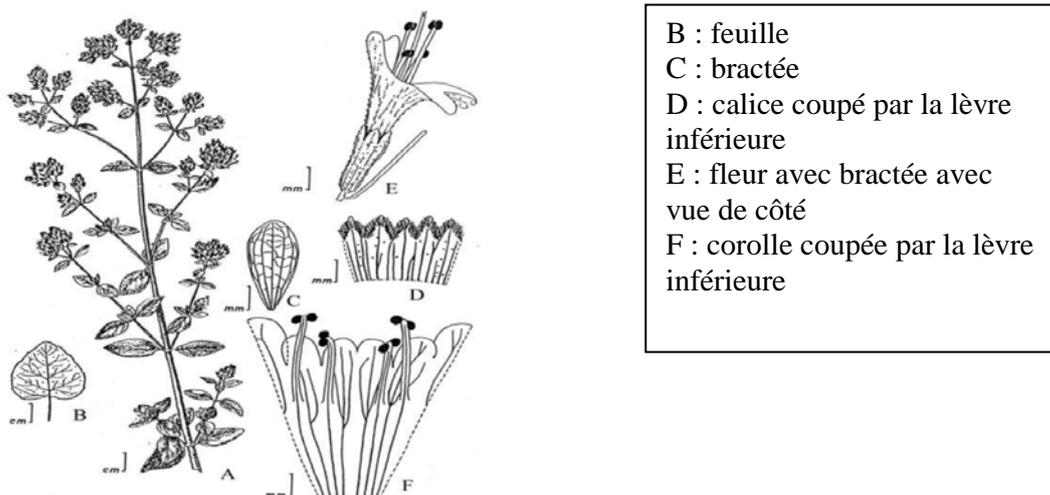


Figure 01. Dessin d'*O. vulgare* ssp *vulgare* d'après **Ietswaart (1980)**.

I.1.5-Classification botanique

D'après **Guignard (1996)**, la systématique d'*Origanum glandulosum* est la suivante :

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Origanum*

Espèce: *Origanum vulgare*

Sous espèce: *Origanum vulgare* ssp. *Glandulosum*.(**Bouhaddouda Nabila**).

I.1.6- Répartition géographique

Le genre *origanum* est principalement réparti autour du bassin Méditerranéen. 81% (35 sur 43 espèces) des espèces se trouvent exclusivement dans l'Est Méditerranéen, essentiellement en Turquie, en Grèce et au Moyen Orient. L'espèce *O. vulgare* est aussi largement retrouvée en Euro-asie et en Afrique du Nord. L'aire géographique de l'*Origanum* s'étend jusqu'aux Açores, îles Canaries, Bretagne, Scandinavie et Chine et Taiwan (**Taylor et al.,2002**).

I.1.7-Utilisation en médecine traditionnelle

En Algérie, communément appelé « zaâter », l'Origan est une plante essentiellement médicinale qui jouit d'une grande ferveur populaire (**Baba Aissa, 1990**). La sous-espèce *glandulosum* est utilisée comme tisane par la population locale pour guérir plusieurs maladies telles que : rhumatismes, toux, rhume et troubles digestifs (**Mahmoudi , 1990 ; Erdogan et Belhattab, 2010**).

En raison de la variabilité de la composition chimique , les plantes d'*Origanum* sont largement utilisées comme herbe culinaire, pour aromatiser les produits alimentaires et les boissons alcoolisées et pour leurs propriétés pharmacologiques, compris antibactériennes, antioxydantes, antithrombines et antihyperglycémique (**Khalfi et al .,2008**) .

I.2.1-Historique

Les huiles essentielles sont connues depuis des millénaires pour leur action bénéfique sur l'homme. Quatre mille ans avant J.C, Les égyptiens utilisaient déjà les huiles essentielles comme parfum dans les momifications des corps (**Lamaty et al., 1997**).

Selon **Ntezurubanza (2000)**, l'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des huiles essentielles, peut se résumer en quatre époques suivantes :

- L'époque au cours de laquelle étaient utilisées des plantes aromatiques telles qu'elles ou sous forme d'infusion ou de décoction.
- Celle dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante.
- La troisième correspond à la recherche de l'extraction de cette substance odorante. Apparaît alors le concept d'une huile essentielle qui aboutit à la création et au développement de la distillation.
- La dernière époque qui est la période moderne dans laquelle la connaissance des composants des huiles essentielles intervient et explique les effets physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques et de voies électroniques des arômes végétaux.

I.2.2- Définition

Les HES sont des métabolites secondaires produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages, ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes. (**Chiasson et Belosine, 2007**).

(**Padrini et Lucheroni, 1996**), définissent les HES comme étant des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentent sous forme de minuscules gouttelettes dans les différentes organes de la plante (les feuilles, les branches, la peau des fruits, les bois, la résine), elles sont odorantes et très volatiles.

Les HES sont présentes sous forme liquide concentré, très complexe et hydrophobe. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie. (**Möller, 2008**).

I.2.3-Répartition et localisation

Les HES sont largement réparties dans le règne végétal. Certaines familles en sont particulièrement riches : Conifères, Myrtacées, Umbellifères, Labiées, Composées (**Sauvage, 1974 ; Boulos, 1983**). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, rhizomes, fruit, bois,....etc. Dans une même plante, elles peuvent être

présentes dans différents organes. La composition des **HEs** peut alors varier d'un organe à l'autre (**Paris et Hurabielle, 1981**).

Les HE sont localisées le plus souvent dans des organes sécréteurs. Leur stockage 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**).

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des HEs sont très divers les poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées ; les canaux sécréteurs des Apiécées ou des Astéracées et les poils sécréteurs des Lamiacées, et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées) (**Paupardin, 1990**).

I.2.4-Propriétés physico-chimiques

Les HEs sont constitués des molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Elles sont liquides à température ambiante mais aussi sont volatiles, ce qui les oppose I aux "huiles fixes" ou huiles végétales cette volatilité explique leur caractère odorant. elles sont liposolubles et solubles dans les alcools à titre élevé et pour la plupart des solvants organiques et un peu soluble dans l'eau (**Afssaps, 2008**). Elles présentent une densité on général inférieure à celle de l'eau et un indice réfraction élevé (**Desmares et al., 2008**). Leur coloration varie de l'incolore ou brun Claire, à l'exception de celle d'azulène qui est bleu, celle de cannelle qui est rougeâtre et de l'absinthe qui est verte .Elle sont altérable et sensibles à l'oxydation ,par conséquent leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (**Couic-Marinier et al., 2013**).

I.2.5- Rôle

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, leur rôle dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs (**Deroin., 1988**).

- Les huiles essentielles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums. Des propriétés antiseptiques pour les poumons ou comme bain de bouche. Elles possèdent d'autres fonctions cités par **Daniel (2006) ; Hüsnü et Buchbauer (2010)** telles que :

- Dépuratives, cicatrisantes, analgésiques et anti-inflammatoires.
- Des activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et antihelminthiques et aussi des propriétés anti oxydantes.

- Un effet anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales.
- Effet stimulant sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication.
- Effet sur le système nerveux central, en exerçant des effets sédatif, relaxant et déstressant.
- Effet anticancéreux, en stimulant l'apoptose des cellules tumorales.

I.2.6-Composition chimique

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandue dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone à la formule générale $(C_5H_8)_n$ reconnue par Wallach dès 1887 **Figure 02 (Lamarti et al., 1994)**.

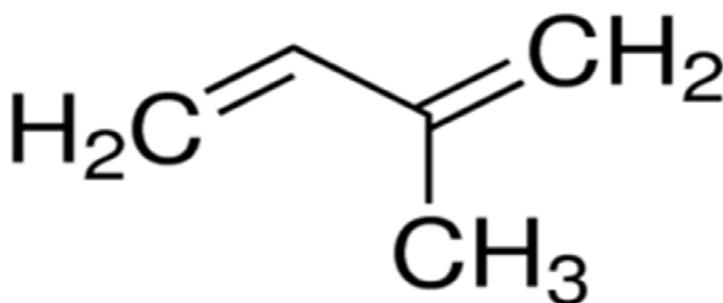


Figure 02 : Structure chimique de l'isoprène

Cet isoprène est à la base du concept de la «règle isoprénique» énoncée en 1953 par Ruzicka. Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires.

Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (**Lamarti et al., 1994**). Le terme

« terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène (**Baser et Buchbauer, 2010**).

Ainsi, on distingue selon le nombre de carbone: les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C 15), et moins fréquemment les diterpènes (C 20), les triterpènes (C 30) et les tétraterpènes (C 40). Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999**) et leurs confèrent un caractère volatil et des propriétés olfactives (**Pibiri, 2006**).

a. Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les H.E (90%) (**Paduaet al.,1999**). Ils comportent deux unités isoprène (C₅H₈), selon le mode de couplage « tête –queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (Figure 3).

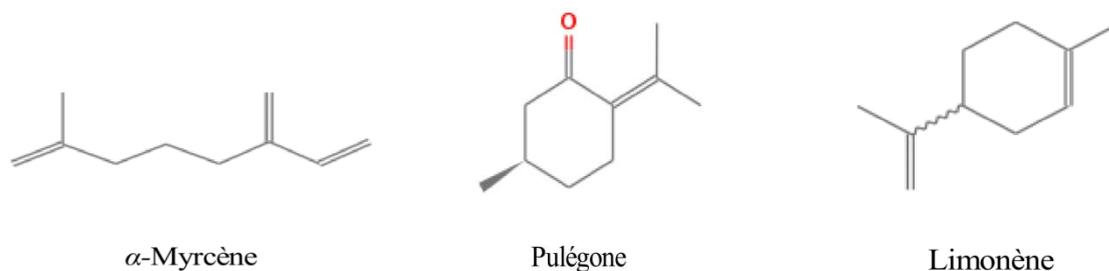


Figure 03 : Exemple de quelques monoterpènes. (**Bruneton1999**)

b. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes comportent trois unités d'isoprène, leur formule est C₁₅H₂₄ (**Belaiche, 1979**). Ils peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β -artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Figure 04) (**Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004**).



Figure 04 : Exemple de quelques sesquiterpènes.(Bruneton 1999)

2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (Paris et Hurabielle, 1981). Bruneton (1999) considère que ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées mais aussi de celles du Girofle (eugénol), de la Muscade (safrol, eugénol), de l'Estragon (eugénol), du Basilic (eugénol), de l'Acore (asarones) ou des Cannelles (cinnamaldéhyde eugénol safrol). Nous pouvons également selon le même auteur, rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C6-C1 comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle. Les lactones dérivées des cinnamiques (par exemple les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (Figure 4).

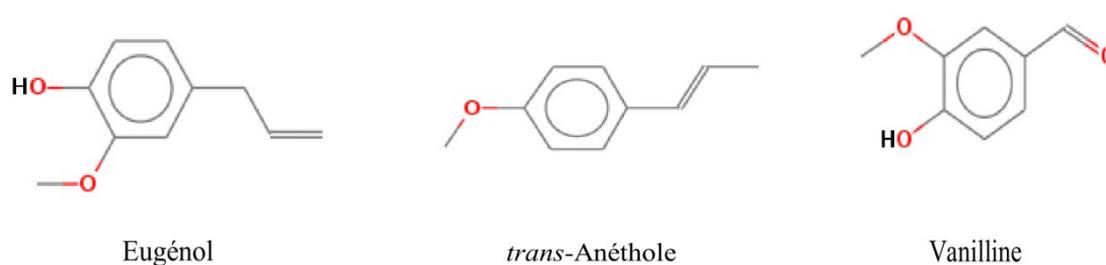


Figure 05 :Exemple de composés aromatiques.(Bruneton 1999)

3. Les composés d'origines divers

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phénylpropanes, diterpènes, etc... **Figure 06 (Bruneton, 1999).**

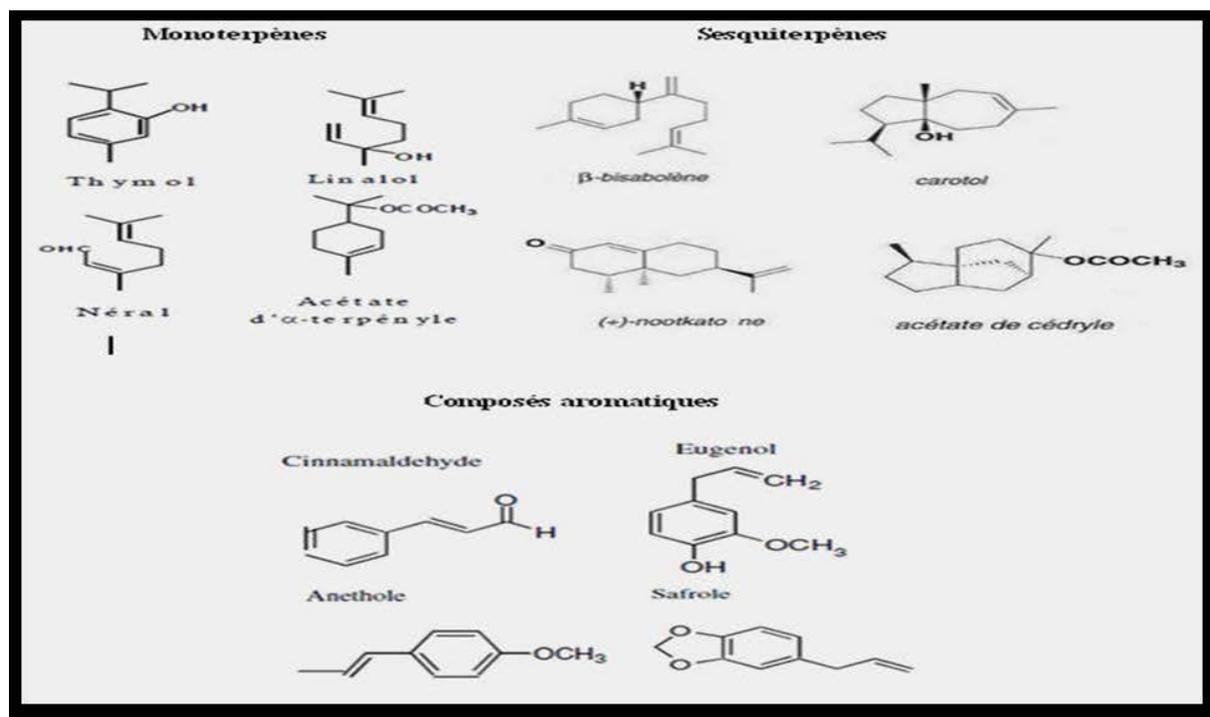


Figure 06 : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

I.2.7-Les facteurs influençant de la variabilité de la composition chimiques des huiles essentielles

La présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs (le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante) (Djibo et al., 2004). En effet, l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité (Palà-paul et al., 2001), l'altitude et la nature du sol (Oliveira et al., 2005), sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite. Certains auteurs se sont préoccupés d'autres facteurs tels que le cycle végétatif (Juteau et al., 2002), l'âge et l'organe végétal (Skoula et al., 1996), la période de récolte (Angelopoulou et

al., 2002), les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Smallfield, 2001) qui influent sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient également en fonction de la méthode d'extraction (Sefidkon *et al.*, 2007). La durée de séchage affecte aussi bien le rendement que la composition (Yayi *et al.*, 2004).

I.2.8-Domaine d'utilisation

Les HEs, une fois produites, elles peuvent servir d'intrant à la fabrication de plusieurs produits : elles sont destinées en effet à trois grands secteurs industriels.

I.2.8.1 Secteur médecine

Les huiles à utilisation médicinale peuvent être vendues pures en petit flacon ou sous forme de vaporisateur, de pastilles, de bonbons...

Ces huiles, peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge.

I.2.8.2.Secteur parfumerie

La parfumerie a également recours aux huiles essentielles pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques. Par exemple la citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que l'endroit a été fraîchement lavé.

I.2.8.3.Secteur alimentaire

L'industrie alimentaire utilise les HEs pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Dans ce secteur, les volumes d'HEs est très importants. L'HE la plus utilisée dans le monde est l'HE d'orange (Grunwald et Janicke, 2006).

I.2.9-Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des HE est liée à l'action de l'un de ses composants, et à certains métabolites issus des biotransformations de ces composés. Elles peuvent présenter de très graves dangers d'une utilisation aléatoire autonome. Quelques HE doivent être évités durant la grossesse, ou interdites aux personnes souffrant d'hypertension ou d'affections dermatologiques, ou pour les enfants de moins de 3 ans (Festy, 2015).

Bien qu'accessibles à tous, les HE sont très concentrées en substances chimiques actives et peuvent représenter certains dangers pour la santé. En effet, le centre suisse d'information toxicologique signale chaque année des problèmes de santé dus à l'utilisation d'HE (Blkheir, 2011). Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées du cancer (Pibiri, 2006).

I.2.10. Procèdes d'extraction

L'extraction a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal. Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation. L'entraînement par la vapeur ou l'hydro-distillation de la plante fraîche ou sèche reste les techniques la plus utilisée. On distingue les procédés suivants :

1. Hydro-distillation

Le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux (**Chemat, 2009**).

2. Entraînement à la vapeur d'eau

Le but de cette méthode est d'emporter avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale). Nous recueillons alors un mélange de composition défini de ces deux produits (**Dastmalchi et al., 2009**).

3. Hydro-diffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (**Chemat, 2009**).

I.2.11- Autres méthodes

1. Extraction par solvant

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (**Chemat, 2009**)

2-Extraction par micro-onde sou vide

Dans ce procédé la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement de micro onde dans une enceinte dont la pression est réduite de façons séquentielle. L'huile est entraînée dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traité, ce procédés est a l'avantage : très rapide, peu consommateur d'énergie. Ce procédés fournit un produit de qualité et de quantité supérieur à ce lui obtenu de l'hydro-distillation (**Bruneton, 1999**).

3-Extraction par CO₂ super-critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (**Chemat, 2009**).

I.3.1. Activités anti-oxydantes

I.3.1.1. Définition

L'activité anti-oxydante 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 anti-oxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH) et superoxydes (O₂) (**Rice-Evans et al., 1995 ; Bartosz, 2003**).

I.3.1.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont omniprésents dans notre corps et sont générés par des processus physiologiques normaux y compris le métabolisme aérobie et de réponses inflammatoires, pour éliminer les microorganismes pathogènes envahisseurs. Les radicaux libres sont des espèces très réactives compte tenu de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (**Govindarajan et al., 2005**). Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (**Hussain et al., 2003**).

Ces radicaux libres comprennent les espèces réactives oxygénées (ERO), les espèces réactives d'azote (ERN) et les espèces réactives de soufre (ERS) (**Taofiq et al., 2016**).

I.3.1.3 .Stress oxydatif

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (**Aravodis, 2005**).

Les maladies cardiovasculaires, arthrose, le diabète, chute de cheveux et le vieillissement (**Pastre et Priymenko, 2007**).

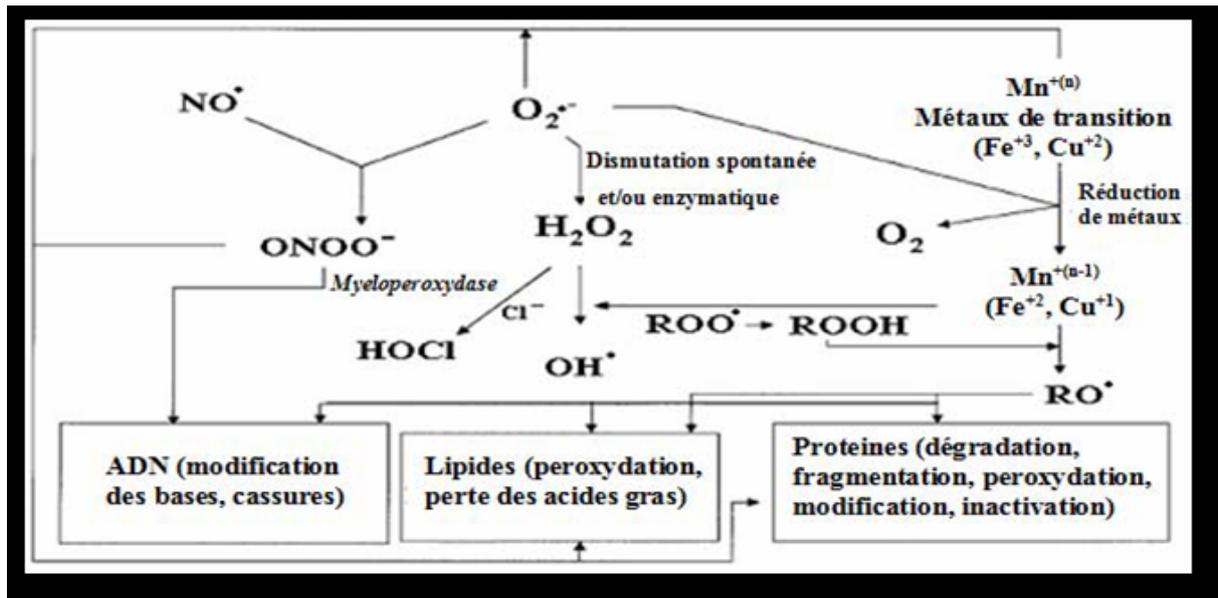


Figure 07 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR
(Kohen et Nyska., 2002).

I.3.1.4. Les antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (Berger, 2006).

I.3.1.5. Type d'antioxydants

Les tissus végétaux contiennent un réseau de composés qui contrôlent d'espèces réactives d'oxygène (Moreno et al., 2006). L'effet oxydatif de ces dernières peut être minimisé par l'utilisation d'antioxydants. Il existe deux sources d'antioxydants :

I.3.1.5.1. Sources synthétiques: Ils constituent une source importante d'antioxydants comme l'hydroxytoluène butylé (BHT) et l'hydroxyanisole butylé (BHA) (Mechergui et al., 2010).

I.3.1.5.2. Sources enzymatiques: Les antioxydants d'origine alimentaire sont nombreux, certains sont liposolubles comme le tocophérol; β carotène; lycopène, d'autres sont hydrosolubles comme l'acide ascorbique; et d'autre sont plus hydrosolubles que liposolubles comme les polyphénols (Moreno et al., 2006).

les antioxydants synthétiques sont nocifs et concérogènes : pour cette raison, l'application d'extraits de plantes naturelles comme antioxydants enzymatiques dans l'industrie alimentaire devient de plus en plus importante (Wollinger et al., 2016).

En outre, il a été rapporté que l'utilisation d'antioxydants naturels peut protéger les effets nocifs des radicaux libres induits chez le corps humain (Niki, 2012). Dans ce contexte, les huiles essentielles et leurs composants ont été intensément criblés pour leurs activités antioxydantes dans les industries alimentaires, en raison de leur état de sécurité relative et de leur large acceptation par les consommateurs (Mothana et al., 2012).

I.3.1.6. Mode d'action d'un antioxydant

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés de phénols (Zieliński et al., 2012).

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de position appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (Cillard et al., 2011).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras .tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (Cillard et al., 2006).

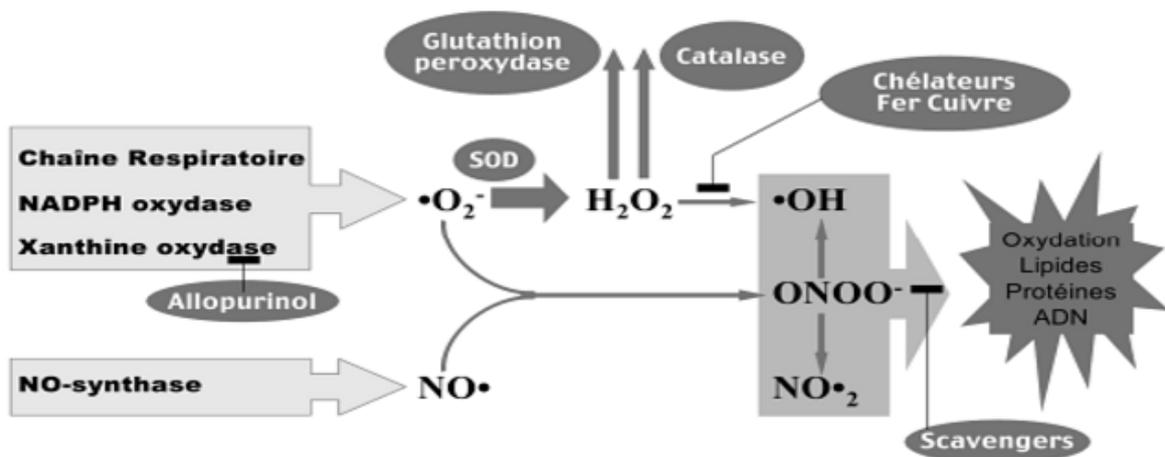


Figure 08: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Boubekri, 2014).

I.3.2. Activités antimicrobienne

Les plantes possèdent un système de défense naturel très efficace, basé sur la biodiversité de leurs métabolites secondaires. Cette diversité des groupes structuraux et fonctionnels, permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Les plantes synthétisent, de manière constitutive ou induite, à titre d'exemples de molécules antimicrobiennes contenus dans les plantes, nous citerons les huiles essentielles et les extraits qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter des pathologies, et pour améliorer la santé (Jones et Dangl, 2006 ; Gibbons, 2008).

I.3.2.1. Les principales substances antimicrobiennes

I.3.2.1.1. Les antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des substances antibactériennes d'origine biologique, c'est à dire élaborés par des microorganismes (des champignons ou des bactéries), mais on inclut généralement parmi elles les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques qui sont capables d'inhiber la multiplication ou détruire les microorganismes (Yala et al., 2001).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995).

I.3.2.1.2. Les huiles essentielles

Les vertus antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues et bien documentées. 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. Les huiles essentielles antimicrobiennes présentent une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques contre les pathologies infectieuses. Beaucoup de groupes de recherche ont étudié, par exemple, l'effet de l'huile essentielle de *Melaleuca altemifolia* contre la souche *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline «methicillin-resistant *Staphylococcus aureu* » (Carson et al., 1995 ; Chan et al. 1998 ; Dryden et al., 2004).

I.3.2.2. Mécanismes d'action des agents antimicrobiens

I.3.2.2.1. Contre les bactéries

Les agents antibactériens sont classés selon leurs cibles bactériennes. Il s'agit de cinq mécanismes: le blocage de la synthèse de la paroi bactérienne ; l'inhibition de la synthèse des

protéines ; l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques ; l'altération du fonctionnement de la membrane cytoplasmique ; l'inhibition de la synthèse de divers métabolites
Figure 08 (Bergogne-Bérézin et Dellamonica, 1999).

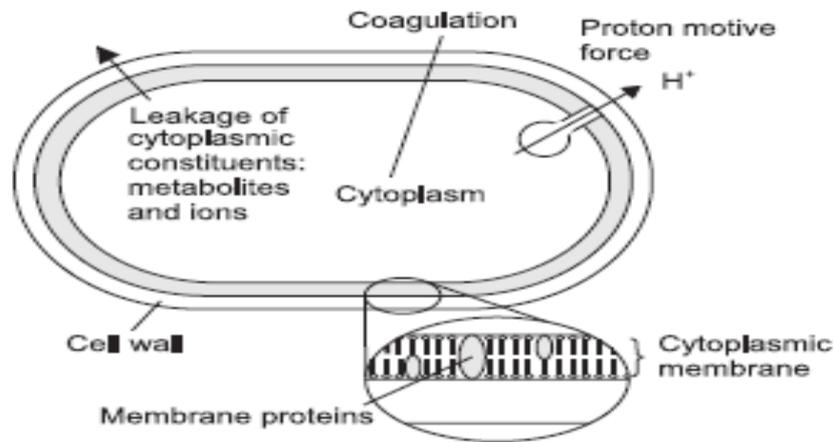


Figure 09 : Sites d'action antibactérienne des huiles essentielles (Burt, 2004).

I.3.2.2.2. Contre les champignons

L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (**Rasooli et Razzaghi Abyaneh, 2004**). L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de champignon (**Cox et al., 2000**).

I.3.2.3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Le pouvoir antimicrobien des extraits des plantes peut être estimé par deux méthodes principales: technique de l'aromatogramme (en milieu solide ou liquide) et technique de micro-atmosphère.

I.3.2.3. 1. Méthode de contact direct

Cette technique consiste à mettre en contact l'extrait et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé (milieu solide) ou dans un bouillon (milieu liquide).

I.3.2.3. 2. Méthode de diffusion sur gélose

C'est une méthode ancienne mais toujours d'actualité. Elle permet l'estimation qualitative de l'effet de l'extrait. Ce dernier est déposé à l'aide de disques de cellulose imprégnés d'une quantité connue d'extrait. Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues sur gélose ensemencée.

I.3.2.3. 3. Méthode de dilution sur milieu liquide

Cette technique permet de donner au clinicien un chiffre correspondant à la dose minimale bactéricide de l'extrait. Son principe consiste à faire agir en phase liquide des dilutions croissantes de l'extrait, après adjonction d'un tensioactif sélectionné (**Audhoui et Belaiche, 1979**).

I.3.2.3. 4. Micro atmosphère

Dans cette méthode, les disques imprégnés par l'extrait sont déposés au centre du Couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience (couvercle en bas). Cette méthode est appelée « Méthode de microatmosphères ». Le disque n'est donc plus en Contact avec le milieu gélosé. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance (**Baser et Buchbauer., 2010**).

II. Matériel et méthodes

Dans le but de valoriser et d'exploiter les plantes poussant en Algérie et qui sont réputées par leurs vertus médicinales, nous avons choisi *Origanum vulgare* en raison de sa large utilisation par la population locale

Ce travail a été effectué au Centre de Recherche et de Développement (CRD-SAIDAL) d'Alger et au laboratoire de Biologie de la Faculté des Sciences, Université de Boumerdes.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

Les milieux de culture, ensemble de réactifs, de produits chimiques, verreries, appareillages, solutions ainsi que les solvants utilisés au cours de la réalisation de ce travail sont cités dans l'Annexe 1.

II.1.2. Matériel biologique

II.1.2.1. Matériel végétal : Le matériel végétal qui a servi comme matière première dans notre étude est représenté par la partie aérienne de la plante *Origanum vulgare*, cette dernière a été récoltée au niveau de la région de Jijel (figure 10).

- a) **Récolte :** La récolte de la plante *Origanum vulgare* a été réalisée dans la région de Jijel, durant la période durant le mois d'avril 2021.
- b) **Séchage :** La matière végétale a été séchée dans l'étuve pendant 2 à 3 jours ou à l'aire libre pendant à 15 jours dans le but d'enlever l'eau qu'elle renferme et d'empêcher les contaminations par les insectes ou le développement des champignons à cause du taux d'humidité élevé.
- c) **Broyage :** Il permet de rompre les membranes cellulaires et la matrice extracellulaire afin d'augmenter le contacte solvant échantillon et optimiser l'extraction des substances bioactives. Après le séchage, la partie aérienne de la plante a été broyée à l'aide d'un moulin électrique jusqu'à l'obtention presque d'une poudre, qui sera conservée dans des flacons en verre hermétiquement fermé jusqu'à son utilisation.



Figure 10 : *Origanum vulgare* .

II.1.2.2.Souches microbiennes et milieux de culture

Les souches qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne de H.E de l'*Origanum vulgare* (l'annexe2), sont les suivants :

. Ils ont tous été fournis par laboratoire de microbiologie du CRD-SAIDAL El Harrach .Leurs caractéristiques sont regroupées dans le tableau 01.

Tableau 01 : Caractéristique des souches

Nom de la souche	Références	Gram	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	+	Staphylococcaceas
<i>Bacillus substillis</i>	ATCC6633	+	<i>Bacillaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	-	<i>Pseudomonadaceae</i>
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	/	<i>Cryptococcaceae</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763	/	<i>Saccharomycetaceae</i>

- Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les suivants:

- La gélose nutritive (GN) pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- La gélose Muller Hinton (MH) pour l'étude de la sensibilité des bactéries vis à vis H.E
- La gélose Sabouraud (SAB) pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité vis à vis HE .

II.2.Méthodes

L'ensemble des méthodes et des étapes de ce travail sont résumés à travers le diagramme porté par la figure suivante :

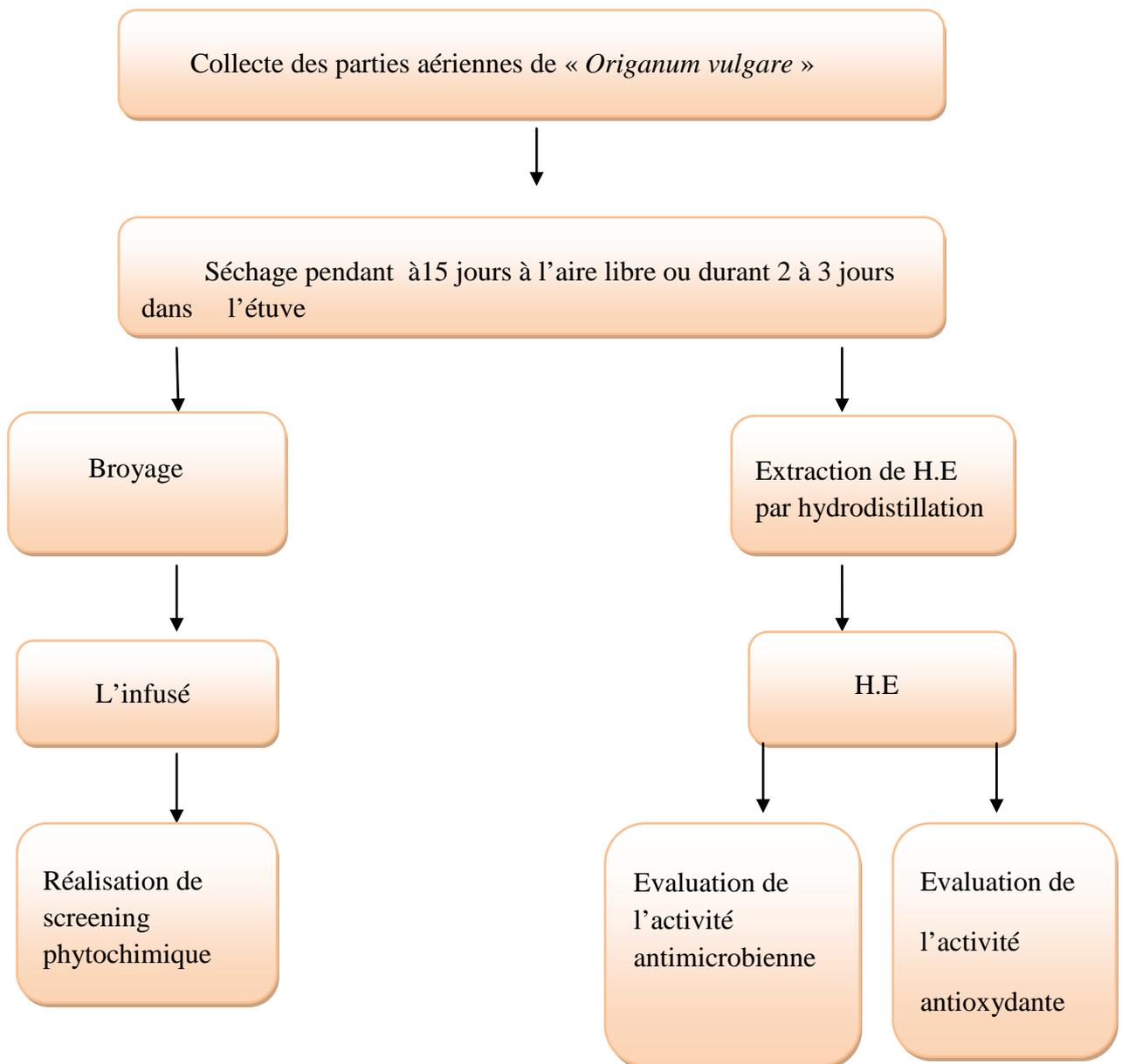


Figure 11: Diagramme représentant les différentes étapes de l'extraction ainsi que les analyses effectuées sur l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*.

II.2.1. Screening phytochimique

Ce screening a été réalisé sur l'infusé de la plante *Origanum vulgare*, en se référant aux méthodes décrites par **Bruneton (1999)**.

II.2.1.1. Préparation de l'infusé

10g de la poudre végétale sont infusés dans 100 ml d'eau bouillante et gardés au repos pendant 30 min, puis ils sont filtrés sur une gaze. Le filtrat ainsi obtenu est l'infusé à 10% (p/v).

II.2.1.2. Recherche des métabolites secondaires

- *Recherche des polyphénols*

➤ Les flavonoïdes libres

Quelques gouttes de HCl concentré et quelques milligrammes de Mg sont ajoutés à 1 ml de l'infusé. La réaction donne une coloration rouge orangé en présence des flavonoïdes.

➤ Les anthocyanes

L'identification des anthocyanes a été faite en ajoutant 10 gouttes d'ammoniaque à 5ml d'infusé. La réaction donne une coloration bleu verdâtre.

➤ Les leuco anthocyanes

Nous avons introduit 2 g de la poudre végétale dans 20 ml d'un mélange de propanol /acide Chlorhydrique (v/v) puis la solution ainsi obtenue est placée dans un bain marie (100°C) pendant quelques minutes. Une coloration rouge se développe en présence des leucoanthocyanes.

- **Recherche des tanins**

➤ Les tanins totaux

Nous avons pris 5 ml de l'infusé. Aux quels, nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 5%. La réaction donne une coloration bleu noire ou verdâtre en présence des tanins.

➤ **Les Tanins galliques**

Nous avons introduit à l'aide d'une pipette graduée 5 ml d'infusé dans une fiole puis nous avons ajouté quelques gouttes de FeCl_3 à 1%. Après agitation, une coloration bleu foncée apparaît en présence des tanins galliques.

➤ **Les tanins condensés**

Cinq millilitres de l'infusé ont été ajoutés à 2g d'acétate d'ammonium plus 3 gouttes de chlorure ferrique à 1%, puis agiter. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence des tanins catéchiques.

- **Recherche des quinones libres**

Dans un bécher, nous avons humecté 2 g de la poudre par 2 ml d'acide chlorhydrique 1N qui a été mis en contact avec 20 ml de chloroforme pendant 3 heures. Le mélange a été filtré puis agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2). L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des quinones libres.

- **Recherche des composés réducteurs**

Vingt gouttes du réactif de Fehling (**Annexe 3**) ont été ajoutés à 1 ml d'infusé à 10 % et 2 ml d'eau distillée. Une réaction positive est caractérisée par l'apparition d'un précipité de couleur rouge brique.

- **Recherche glycosides cardiaques**

Deux millilitres de l'infusé ont été dissous avec 2 ml de chloroforme et l'acide sulfurique concentré a été ajouté avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée de couleur brune à l'interface de l'anneau stéroïde indique la présence de glycosides cardiaques.

- **Recherche des alcaloïdes**

Nous avons mélangé 5 ml d'infusé, 2 ml de HCl et 1 ml du réactif de Dragendorff (**Annexe 3**). Ce mélange donne un précipité rouge ou orange en présence des alcaloïdes.

- **Recherche des coumarines**

Nous avons révélé la présence des coumarines après l'ajout de 5 ml de l'infusé avec 0,5 ml de l'ammoniaque à 25%, Nous avons observé une fluorescence sous une lampe Ultra Violette (UV) à 365 nm.

- **Recherche des saponosides**

Nous avons introduit séparément 5 ml d'HCl 0,1N et 5 ml de NaOH 0,1N dans deux tubes à essai. Ensuite, ces tubes sont agités après l'addition de quelques gouttes de l'infusé. La formation de mousse indique la présence des saponosides.

- **Recherche des hétérosides**

- **O-hétérosides**

Nous avons ajouté 5ml d'eau distillée et 0,5 ml de HCl aux résidus de la poudre végétale épuisée précédemment par CHCl_3 . Puis, nous avons chauffé le mélange pendant 15 min. Après refroidissement sous courant d'eau froide et filtration, nous avons ajouté 2,5 ml de CHCl_3 et soutirés la phase organique ainsi formée. Il y aura l'apparition d'une coloration

- **C-hétérosides**

Nous avons ajouté 10 ml d'eau distillée et 1 ml de la solution de FeCl_3 à 10% à la phase aqueuse obtenue précédemment avec les O-hétérosides. Ce mélange a été chauffé pendant 30 min au bain-marie puis refroidi sous courant d'eau froide. La phase organique a été séparée après agitation avec l'addition de 5 ml de NH_4OH dilué à 50%. L'apparition d'une coloration rouge plus au moins intense indique la présence de C-hétérosides.

Recherche des stérols et triterpènes

Cinq millilitres de l'infusé ont été ajoutés à 5 ml d'anhydride d'acétate, ensuite 1 ml d' H_2SO_4 a été ajouté au fond du tube sans agitation. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et d'une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et des triterpènes.

II.2.2.Extraction des huiles essentielles

II.2.2.1.Extraction par hydro-distillation

Principe

Le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la

vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux (**Chemat, 2009**).

. Mode opératoire

100g de la plante d'origan introduit dans le ballon du Clevenger rempli avec 700 ml d'eau distillé. L'ensemble est porté à l'ébullition à l'aide de chauffe ballon pendant 2h. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube verticale puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur d'huile essentielle obtenue est récupérée par décantation à l'aide de l'empoule à décanter où s'effectue la séparation des deux phases non miscibles (phase aqueuse et phases organique). Cette dernière contient les huiles essentielles qui se séparent de l'eau par différence de densité (figure 12).



Refroidissement

Ballon

Chauffe ballon

Figure 12 : Dispositif de l'hydrodistillation à l'échelle de laboratoire.

II.2.2.2 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement des extraits est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec et la masse de la matière végétale sèche (**Falleh et al., 2008**), il est exprimé en pourcentage par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{éch}}) \cdot 100$$

Où :

R : Rendement en % (g/g).

M ext : Matière d'extrait sec (g).

M éch : Masse de la matière végétale sèche (g).

II.2.2.3. Conservation des huiles essentielles

Les HEs sont récupérées et conservées au réfrigérateur à 4°C. à l'abri de la lumière dans des flacons en verre opaque hermétiquement clos pour éviter toute dégradation.

II.3. Evaluation des activités biologiques

II.3.1. Activité anti-oxydante

Principe

Le composé chimique 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante des composés phénoliques (**Takao et al., 1994 ; Brand-Williams et al., 1995**). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (Figure 13). La réduction du radical libre (DPPH) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène (**Burit et Bucar, 2000**). Le DPPH est initialement violet, il se décolore lorsque l'électron célibataire s'appareille (couleur jaune). Cette décoloration est représentative de la capacité des huiles essentielles à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir anti-radicalaire direct de différentes substances des huiles essentielles (**Molyneux, 2004**).

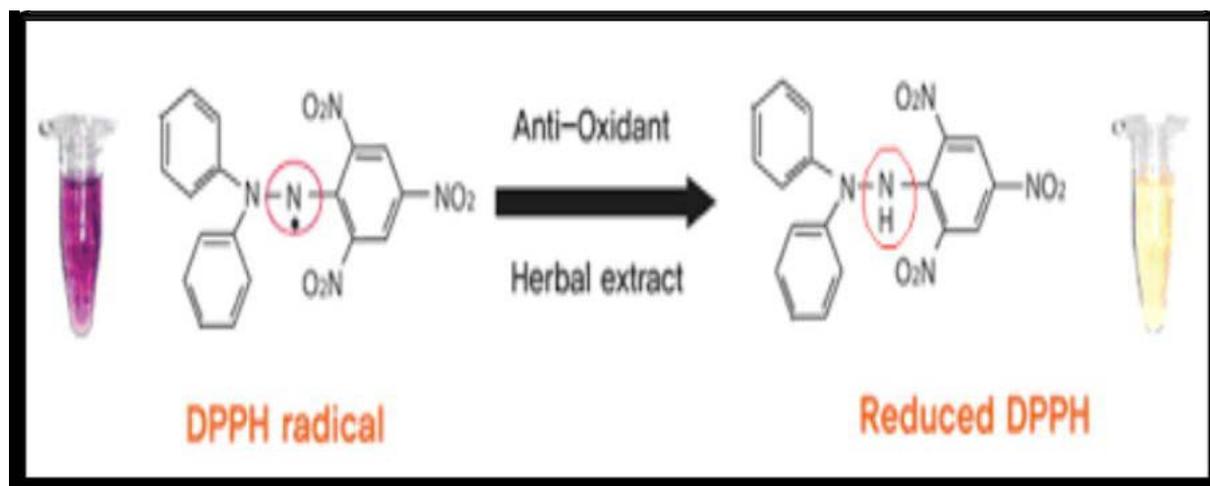


Figure 13 : Réduction du radical libre (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle) (Boubekri, 2014).

La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'IC₅₀, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue, généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (IC₅₀).

Mode opératoire

a. Préparation des solutions

La solution de DPPH à 60 mM est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol puis elle est conservée à 4°C à l'obscurité. Des solutions (1 mg/1 ml de méthanol) de l'huile ou standards (acide ascorbique et BHT) sont fraîchement préparées. A partir de chaque solution mère, une gamme de dilution est préparée (0,8 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml et 0,1 mg/ml).(Annexe 4)

b. Essai au DPPH

Dans chaque tube de dilution déjà préparée, nous avons prélevé 50 µl de l'HE et l'ajouté à 1950 µl de solution méthanolique de DPPH. Après agitation, le mélange réactionnel est incubé dans l'obscurité pendant 30 min à la température ambiante. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre contre le blanc qui est constitué de 2 ml de méthanol.

Le control positif est présenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique (vitamine C) et le BHT don l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon test. (Bouanane et Gamgani).

c. Expressions des résultats :

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\%d'inhibition = (Abs_{control} - Abs_{\text{échantillon}} / Abs_{control}) \cdot 100$$

- Abs contrôle : Absorbance du contrôle (solution de DPPH sans HE).
- Abs échantillon : Absorbance du DPPH en présence des HE.

d. Détermination IC50

La valeur IC50 est la concentration qui assure la réduction de 50% du DPPH, déterminée graphiquement pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration (**Samarth et al., 2008**).

II.3.2. Activité antimicrobienne

L'aromatogramme ou la méthode de diffusion sur milieu gélosé c'est une méthode d'évaluation *In vitro* du pouvoir antimicrobienne des HE .elle s'effectue par un dépôt de disques en cellulose stériles ,imbibés de HE à étudier sur un milieu gélosé préalablementensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne .Après incubation ,l'évaluation du pouvoir antimicrobienne de HE se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition ,qui se traduit par un halo claire autour du disque absorbant (Figure 15) (**Pharmacopée européenne,2002**).

En fonction du diamètre d'inhibition on peut classifier les souches étudiées en souches sensibles ou résistantes.

Mode opératoire

1. Revivification des souches microbiennes

La revivification des souches, une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle a l'état conservé qui a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure. elle se fait en réalisant un repiquage sur la gélose nutritive favorable leur croissance.

Ce dernier consiste à ensemencer quelques colonies des souches conservées en stries a la surface de la gélose préalablement coulée et solidifiée dans les boites de Pétri, il s'agit de **MH**

pour les bactéries et **SAB** pour les levures, les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche microbienne sont incubées à 35°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures (**Pharmacopée européenne,2002**).

2. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir du papier wattman N3 de 9 mm de diamètre, ensuite elles sont mises dans une boîte Pétri, stérilisés à l'autoclave pendant 15 minutes à 120°C, puis stockés à une température ambiante (la boîte Pétri est hermétiquement fermé) (**Pharmacopée européenne,2002**).

3. Préparation des suspensions microbiennes

On prélève quelques colonies 3 à 5 soit des bactéries ou des levures à l'aide d'une pipette pasteur et on les met dans des tubes à essai contenant 5 ml d'eau physiologique stérile, on agite les tubes pendant quelques secondes. La lecture de la densité optique (DO) a été effectuée à une longueur d'onde à 625nm par spectrophotomètre. L'absorbance doit être entre 0,1 et 0,2 pour les bactéries et 0,8 pour les levures (Figure 14) (**Pharmacopée européenne,2002**).

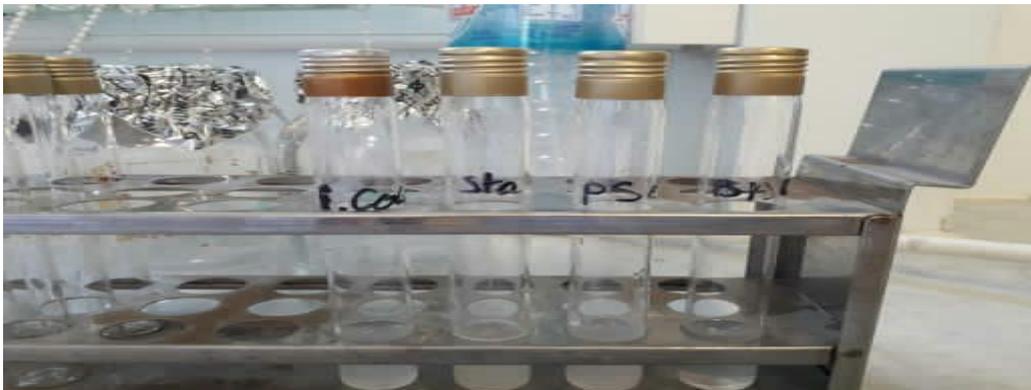


Figure 14: Photo des suspensions microbiennes.

4. Aromatogramme

15 ml de gélose MH en surfusion sont coulés dans les boîtes de Pétri, après refroidissement et solidification sur la paillasse, 200µl de chaque suspension bactérienne de concentration préparée à partir de culture jeune sont étalés à la surface du milieu gélose à l'aide d'une pipette pasteur. Puis avec une pince stérile, des disques de papier Wattman d'environ 6 mm sont prélevés puis imprégnés avec 15 µl de l'huile essentielle pure et sont ensuite déposés sur

la gélose en trois répétitions (Figure 15) (Murray et al., 1995 ; Gulluce et al., 2006). Les boîtes sont fermées avec du parafilm et conservées à 4°C pendant 2h (Karaman et al., 2001). Elles sont mises à l'étuve à température de 37°C pendant 24 heures.

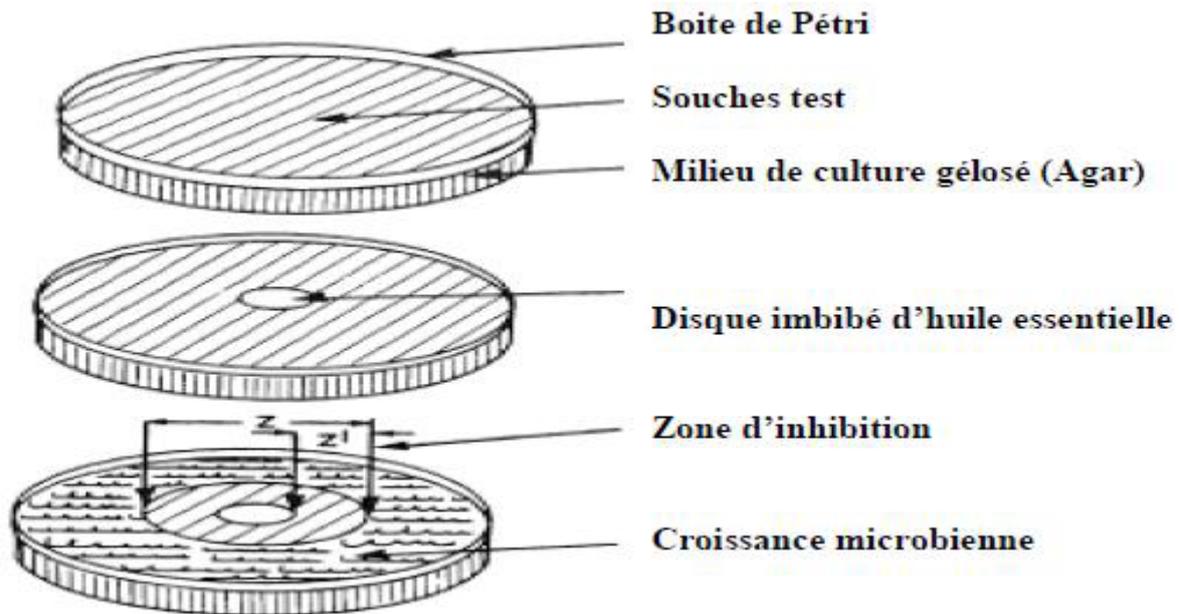


Figure 15: Schéma de la méthode des aromatochromes sur boîte de pétri (Pibiri, 2005).

5. Expression des résultats (lecture)

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (Figure 15) et peuvent être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles (Ponce et al., 2003).

- 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 > 20mm.

6- Etude statistique

1. Moyennes arithmétiques

$$m = \frac{\sum X_i}{n}$$

- m : moyenne de chaque lot.
- n : effectif du lot.
- Xi : Valeurs individuelles de chaque paramètre.

2. Variance et écart type

$$S = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (X_i - m)(X_i - m)$$

S₂ : variance de la variable, donc l'écart type d'une variable x est défini comme suit :

$$S_x = \sqrt{S_2}$$

Remarque : la zone d'inhibition des souches est représentée en $m \pm S_2$.

3. Test de Student

Les résultats sont calculés à l'aide d'un logiciel Excel. « T » calculé est comparé au « T » théorique lue sur la table de Student, Si T_c est inférieure à la valeur lue dans la table « t » pour un degré de liberté d.d.l= N₁ + N₂ - 2 et le risque 5%, la différence n'est pas significative. Dans le cas contraire elle est significative.

Les résultats ont été faits en 3 répétitions. A partir de test de Student par Excel si :

- P>0,05, le résultat est non significatif.
- P<0,05, le résultat est peu significatif .
- P<0,01, le résultat est significatif.
- P<0,001, le résultat est très significatif .
- P<0,0001, le résultat est hautement significatif.

Chapitre III: Résultats et discussion

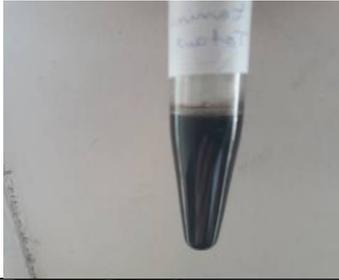
III.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur *Origanum vulgare* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique ainsi que des examens en lumière ultraviolette. Les résultats expérimentaux du criblage phytochimique sont mentionnés dans le tableau 2.

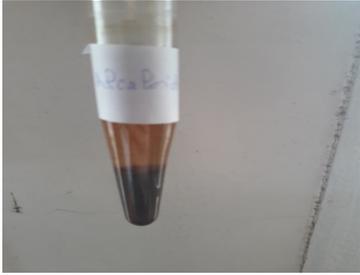
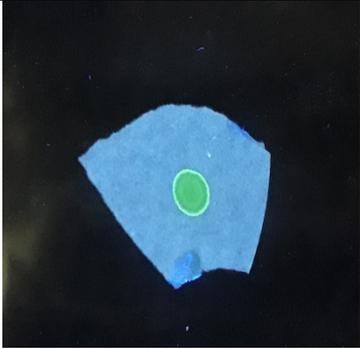
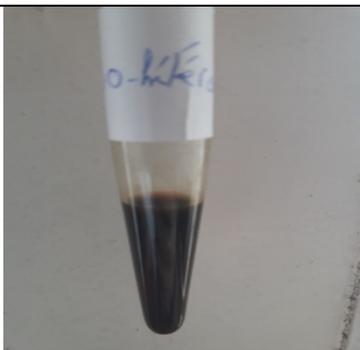
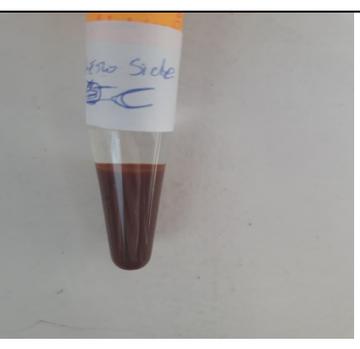
Tableau 02: Tests phytochimiques de la partie aérienne d'*Origanum vulgare*.

Métabolites	Réaction chimique	Résultats	Photo
Les flavonoïdes libres	Rouge orangé	+++	
Les anthocyanes	Bleu verdâtre	+++	
Les leuco-anthocyanes	Rouge	-	
Les tanins totaux	Bleu noir ou verdâtre	+++	

Chapitre III: Résultats et discussion

Les tanins totaux	Bleu noir ou verdâtre	+++	
Les tanins galliques	Bleu foncée	++	
Les tanins condensés	Bleu_noir	+++	
Les quinones libres	Rouge	-	
Les glycosides cardiaques	Rougeâtre foncée	-	

Chapitre III: Résultats et discussion

Les alcaloïdes	Rouge ou orange	+++	
Les coumarines	U.V	+++	
Les saponosides	Formation d'une mousse	+	
Les O-hétérosides	Marron	+++	
Les C-hétérosides	Rouge	++	

Chapitre III: Résultats et discussion

Les stérols et triterpènes	Violette	+	
----------------------------	----------	---	---

Les testes phytochimiques réalisés sur la partie aérienne d'*Origanum vulgare* ont révélé la richesse de cette plante en métabolites secondaires telle que : les tanins totaux, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins galliques, les tanins condensés, les composés réducteurs, les coumarines, les alcaloïdes, les hétérosides, les stérols, les triterpènes et les saponosides tandis qu'elles dépourvue des leucoanthocyanes, des quinones libres et des glycosides cardiaques.

Nos résultats sont compatibles avec **Bendifallah et al (2015)** et **(Bouhaddouda et al (2016)** qui ont travaillé sur la même espèce récoltée de la région de Boumerdes où ils ont trouvé les tanins, les anthocyanes, les saponosides et les flavonoïdes.

La présence de ces métabolites secondaires au niveau de la plante étudiée explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle par la population locale.

Effectivement, les tanins catéchiques, les anthocyanes, les flavonoïdes, les saponosides et les terpènes et stérols possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes, antioxydantes, antiinflammatoires, vasculo-protectrices, antiulcéreuses et bien d'autres **(DiCarlo et al., 1999 ; Bruneton, 2009)**.

Ces résultats nous ont permis de nous orienter vers l'extraction et l'étude des huiles essentielles.

Chapitre III: Résultats et discussion

III.2.Rendement d'extraction

L'HE obtenue est de couleur jaune (Figure 16), elle a une saveur fortement piquante et une odeur forte caractéristique des plantes aromatiques. L'extraction de notre échantillon effectuée par hydrodistillation a fourni un rendement de 1,033%.



Figure 16 : Huiles essentielles d'*Origanum.vulgare*.

D'après Derwiche et al (2010), l'extraction de l'HE de la partie aérienne d'*Origanum vulgare* récoltée au Maroc donne un rendement de 1,15%. Les espèces d'*Origanum vulgare* de la Tunisie ont fourni les plus faibles rendements en huiles essentielles variant de 0.1 à 0.7% (**Merchegui et al,2010**).Par contre, **Bouhaddouda et al (2016)** qui ont travaillé sur la même espèce poussant dans deux biotopes différents (Nechmaya,Guelma) donne un rendement plus élevé de 2.52%.

Cette différence entre les rendements d'extraction obtenus est probablement liée aux facteurs suivants: temps hydrodistillation ,la durée de séchage, le rapport eau/matière végétale ,la température de chauffage(**Fadil et al,2014**).Elle peut être liée aussi aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), facteurs géographiques (altitude ,nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétique (croisements naturels) (**Veres et al,2003**).

Chapitre III: Résultats et discussion

III.3.Evaluation des activités biologiques

III.3.1.Activité antioxydante

L'activité anti radicalaire de l'huile essentielle de la plante *Origanum vulgare* est évaluée par la méthode de piégeage du radical DPPH. Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante sont illustrés dans la Figure 18 pour l'huile essentielle et dans la Figure 17 pour l'acide ascorbique ainsi que dans le tableau 03.

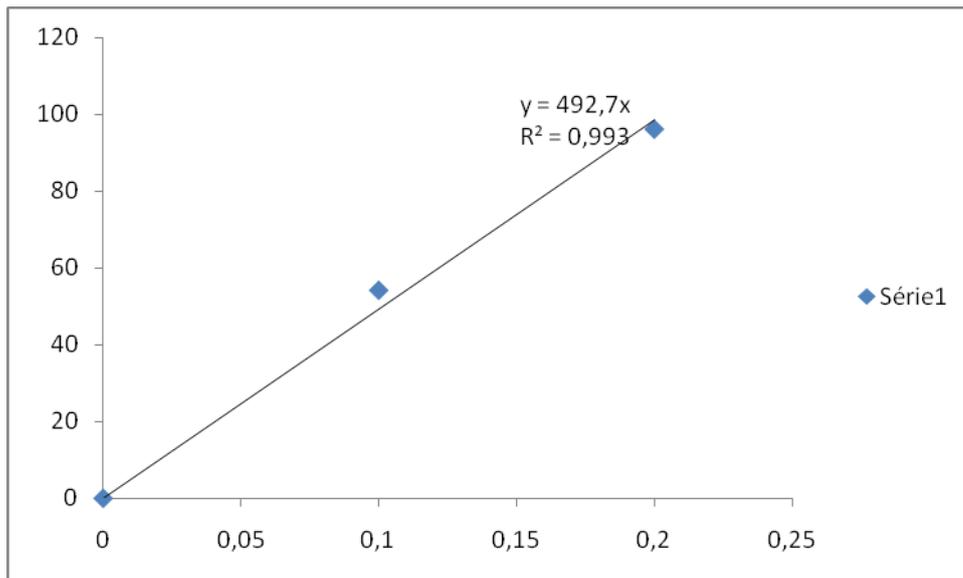


Figure 17: Activité anti-radicalaire de A.A

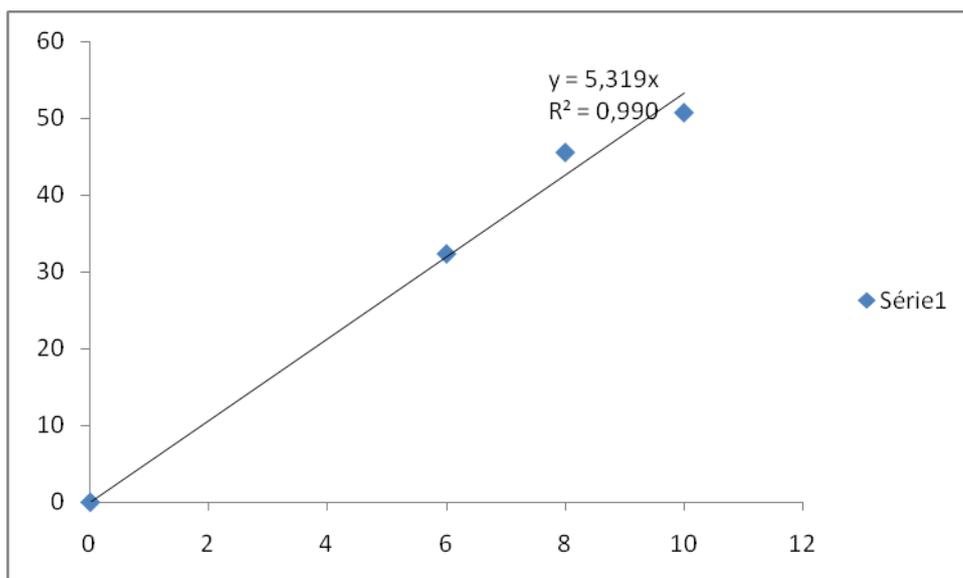


Figure18 : Activité anti-radicalaire de H.E.

Chapitre III: Résultats et discussion

Tableau 03 : L'activité sacavenger du radical DPPH par l'HE d'*O.vulgare*

L., l'acide ascorbique.

<i>Echantillon testés</i>	<i>IC 50 (mg /ml)</i>
Acides Ascorbiques	0 ,10
L'huile essentielle	9,40

Selon les résultats illustrés dans le tableau 03, l'HE d'*Origanum vulgare* exerce une faible activité antioxydante avec une valeur d'IC50 égale à 9.40 mg/ml. Cependant, la capacité antioxydant de l'HE de cette plante reste faible par rapport au standard qui est l'acide ascorbique avec une valeur d'IC50 égale à 0.1mg/ml.

Une étude menée par **Sari et al (2006)** sur différentes espèces d'origan de différentes zones Algériennes (Sétif, Bejaia, Biskra, M'sila et Bordj Bou Arreridj) a révélé la bonne capacité anti-radicalaire des **HEs** qui ont donné des IC50 variant de 16.2 à 26.7 µg/ml. Une autre étude faite aussi sur l'**HE** de la même espèce poussant en Tunisie a enregistré une valeur d'IC50 de 625 µg/ml (**Béjaoui et al., 2013**). Par conte, le travail publié par **Mechergui et al. (2010)** montre que l'**HE** d'origan de deux régions Tunisiennes possède une faible activité antioxydante avec des IC50 de 105.29 mg/L et 142.86 mg/L. L'**HE** extraite d'*O.vulgare* L. du Maroc a montré aussi une faible activité antiradicalaire (IC50 = 60.1 ± 3.3 mg/L) avec la méthode de DPPH (**El Babili et al., 2011**).

En compare notre résultat aux précédents rapports, l'huile essentielle de l'espèce étudiée, *O. vulgare* développe une activité antioxydante basse. une étude sur l'huile essentielle a montré une activité antioxydante faible puisque l'IC50 rapportée s'élève à 1000 µg/ml (**Jnaïd et al ., 2016**) . Le même constat pour l'huile essentielle d'*O.vulgare* d'El- Oued qui s'est avéré posséder une faible capacité antioxydante (IC50 =15.360 mg /ml) (**Benchikha et Menaceur., 2013**). Ceci est comparable à nos résultats. Cependant, une autre étude menée par Hussain et al (2011) ont rapporté une haute activité antioxydante avec une valeur d'IC50 égale à 65.5µg/ml). Ainsi, **Mechergui et al (2015)** réalise une étude sur les différentes populations *O.glandulosum* présentent une activité antioxydante plus élevée .Ceci est non compatible à nos résultats.

Cette différence du pouvoir antioxydant est en forte corrélation avec la composition chimique de la plante (**Oke et al., (2009)**). En plus, **Kerbouche et al., (2013)** ont rapporté que la faible activité anti-radicalaire pourrait être expliqué par la pauvreté en composé phénolique. Il est

Chapitre III: Résultats et discussion

considéré que l'activité antioxydante des composés phénoliques est due à leur potentiel d'oxydo-réduction élevé, ce qui leur permet d'agir comme des agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, et des désactivateurs d'oxygène singlet (Miguel, 2010).

D'autres auteurs tels que Labiod (2016), a signalé que la forte activité antioxydante pourrait être liée à la présence des composés majoritaires ; le piperitone oxide (54,71 %) pour la plante récoltée de la région d'Annaba et le menthone (26,4 %) pour celle de la région de Jijel. Par contre, Cherat et al., (2013) ont attribué cette forte activité à la prédominance du 1,8-Cineole (42,94 %).

III.3.2. Activité antimicrobiennes

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* vis à vis des bactéries et des levures sont résumés dans l'Annexe 4.

L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné de l'huile essentielle étudiée. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à l'autre et d'une levure à l'autre.

Tableau 4 : Résultats de l'aromatogramme.

Les souches testés	Diamètre d'inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	38,25 ± 3,75
<i>Bacillus subtilis</i>	43 ± 1
<i>Escherichia Coli</i>	39,25 ± 0,75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13±0
<i>Candida albicans</i>	35,5 ± 0,70
<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	32,25 ± 2,25

Selon les résultats présentés dans le tableau 04, l'essence des parties aériennes d'*Origanum vulgare* a montré un effet sur toutes les souches testées avec des diamètres d'inhibition compris entre 32.25±2,25 et 43±1mm à l'exception de *Pseudomonas* présentant une faible sensibilité avec une valeur d'inhibition de 13 mm (Annexe 5) .

Nous constatons aussi que les bactéries à Gram + sont plus sensibles que celles à Gram -. D'une manière générale, l'hypersensibilité des souches pourrait être expliquée par la nature des parois de la bactérie. Balentine et al (2006), ont cité que les bactéries à Gram +

Chapitre III: Résultats et discussion

dépourvues d'une membrane externe. La différence de sensibilité de microorganismes renseigne sur un éventuel effet membranaires de ces essences, la paroi des bactéries a Gram – serait moins perméable aux agents antimicrobiens en raison de sa structure complexe. La couche externe formé de lipolysaccharides, de protéines et de lipides agirait comme une barrière à l'entrée de différents agents chimiques (**Cao et al., 1997**).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bejaoui et al (2013)** qui ont montré que les HEs d'*O.vulgare subsp. Glandulosum Dsef* de la Tunisie ont une grande activité antibactérienne contre *Escherichia coli* ATCC 8739 ,*Salmonella typhimurium* ATCC 14028 , *Staphylococcus aureus* ATCC6538 et *Bacillus subtilis*. Également, l'étude de **Özkalp et al (2010)** sur l'activité antibactériens des huile essentielle d'origan contre la croissance d' *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* ,*Candida albicans*, *Salmonella enteritidis* , *Streptococcus pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae* . *Micrococcus luteus* et *Bacillus cereus* a montré que l'huile d'origan possède une forte activité antimicrobienne.

Une autre étude d'**Elhoussine et al (2010)** sur l'activité antibactérienne de l'**HE** d'*O.vulgare* recueillie au Maroc a démontré un fort pouvoir inhibiteur contre plusieurs micro-organismes pathogènes.

Conclusion

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante aromatique, poussant à l'état spontané dans la région de Jijel et qui est très utilisée en médecine traditionnelle pour leur vertus thérapeutiques par la population locale: *Origanum vulgare*.

Notre étude comporte deux objectifs principaux: le premier se focalise sur le screening phytochimique de la partie aérienne de la plante *Origanum vulgare*. le seconde, consiste à l'extraction des huiles essentielles et en évaluations de leurs activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne).

Les résultats du screening phytochimique de notre plante à mis en évidence la richesse de cette plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté l'abondance des flavonoïdes libres, des anthocyanes, des tanins (totaux, gallique, condensés), des composés réducteurs, alcaloïde, coumarines, saponosides, O hétérosides et c hétérosides, des stérotrol et des triterpènes à l'exception des glycosides cardiaques, des Quinones libre et des leucoanthocyane. Toutes ces substances confèrent à ces plantes des propriétés biologiques très importantes.

Par ailleurs, l'extraction des HEs par hydrodistillation sur la plante séchée a montré un bon rendement en huile de 1,033 %.

L'activités antioxydante de l'HE d'*Origanum vulgare* évaluée par le teste de piégeage du radical DPPH à donné IC50 égale à 9,40 mg/ml .Ce résultat témoigne bon capacité réductrice.

L'activité antimicrobienne évaluée par les testes *in vitro*, ressort que l'HE possédant un fort pouvoir sur les souches testées. Toutefois, l'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne.

Cependant , des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité d'extrait étudié :

-Identification les principes actifs responsables de ces activités par des techniques analytiques performantes telles que la **GC-MS**.

-Il serait intéresent de complétez l'activité antimicrobienne par la détermination de la cententeation minimale inhibitrice (**CMI**), la centcentration minimale bactérisides(**CMB**).

-Évaluation l'activité anti-inflammatoire.

Références bibliographiques

- **Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., et Chaouch, A. 2011.** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9: 149–157.
- **Angelopoulou, D., Demetzos, C., and Perdetzoglou, D. 2002.** Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistus monspeliensis* L. leaves. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(3), 189-203.
- **Aravodis E., 2005.** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(2), 128-133.
- **Baba Aissa F., 1991.** Les plantes médicinales d'Algérie: identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. Ed. Bouchène et Ad.Diwan, Alger. 121 p.
- **Balentine, C., Crandall, P., O'Bryan, C., Duong, D., and Pohlman, F. 2006.** The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73(3), 413-421.
- **Bartosz, G. 2003.** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9, 5-21.
- **Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010.** Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, Forid, USA. 994p.
- **Béjaoui A., Chaabane H., Jemli M., Boulila A. and Boussaid M., 2013b.** Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare subsp. glandulosum* Desf. At different phenological stages. *Journal of Medicinal Food.*, 16 (12), 1115–1120.
- **Belaiche P. 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris, 204 p.
- **Belkhier M.B. 2011.** Optimisation de procédés d'extractions de l'huile essentielle du thym et activité antimicrobienne. Thèse de magister. Université M'hamed Bougara de Boumerdes. 118p.
- **Benchikha and N Menceur Z B. 2013-** Extraction and antioxidant activity of two species origanum plant containing phenolic and flavonoid compounds. *Journal of Fundamental and Applied Sciences.*, 5(1), 120-128.
- **Bendifallah L., Tchoulak Y., Djouabi M., Oukili M. and Ghezraoui R., 2015.** Phytochemical study and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* L. (lamiaceae) in

Références bibliographiques

Boumerdes mountainous region (Algeria). *Journal of Medical and Bioengineering*, 4(6): 471-474

Berger, M.M. 2006. Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique métabolisme*.20 :48-53.

- **Bergogne-Bérézin, E., and Dellamonica, P. 1995.** Antibiothérapie en pratique clinique .Ed Masson, Paris, 496p.
- **Boubekri C,2014 .** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat, université Mohamed Khider de Biskra,160p.
- **Bouhaddouda, N., Aouadi, S and Labiod, R. 2016.** Evaluation of Chemical Composition and biological activities of essential oil and Methanolic Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Algeria. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(1), 104-112 .
- **Boulos, L. 1983.** Medicinal plants of north Africa, Ed. Reference Publication Inc., 218 St.Clair River Drive,Box344.Algonac,Michigan.48001, 268 p.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M. and Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft &Technologie*. 28(1),25-30.
- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1120 p.
- **Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris ,1292p
- **Burits, M., and Bucar, F. 2000.** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5), 323-328.
- **Burt, S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- **Cao, G., Sofic, E., and Prior, R. L. 1997.** Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(5), 749-760.
- **Carson, C., Cookson, B., Farrelly, H., and Riley, T. 1995.** Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 35(3), 421-424.

Références bibliographiques

- Chan, C.H. and Loudon, K.W. 1998.** Activity of tea tree oil on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of hospital infection* ,39, 244-245.
- **Chemat, F. 2009.** Essential oils and aromas Green Extraction and Applications: Har Krishan Bhalla & Sons. Dehradun, 311p.
 - **Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R., and Laglaoui, A. 2013.** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha Scheele* essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, 221-229.
 - **Cillard, J., et Cillard P. 2006.** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids (OCL)* ,13 (1):24-29.
 - **Couic-Marinier, F., and Lobstein, A. 2013.** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualites Pharmaceutiques*, 52(525), 18-21.
 - **Cox, S., Mann, C., Markham, J., Bell, H., Gustafson, J., Warmington, J., and Wyllie, S. 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170-175.
 - **Daniel, M. 2006.** Medicinal plants. *Chemistry and Properties*. Science Publishers New Delhi, 250p.
 - **Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Oinonen, P. P., Darwis, Y., Laakso, I., and Hiltunen, R. 2008.** Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* , 41(3), 391-400.
 - **Degryse A.C., Delpla I. and Voinier M.A., 2008.** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique. (E.H.E.S.P.). Rennes. France, 94p.
 - **Deroin T. ,1988.** Biologie florale d'une Annonaceae introduite en Côte D'Ivoire : *Cananga* *Diagnosis and Epidemiology of Fungal Infections*. 36 (1), 249-257.
 - **Derwich E., Benziane Z. and Taouil R., 2010.** GC/MS analysis of volatile compounds of the essential oil of the leaves of *Mentha pulegium* growing in Morocco. *Chemical Bulletin of Politehnica University of Timisoara*. 54(68), 85-88.
 - **Desmares, C., Laurent, A., et Delerme C. 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS. Anatole, France*, 18p.
 - **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A. and Capasso F., 1999.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life science*. 65 (4): 337-53.

Références bibliographiques

- **Djibo, A. K., Samaté, A. D., and Nacro, M. 2004.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10), 1033-1037.
- **Dryden, M. S., Dailly, S., and Crouch, M. 2004.** A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *Journal of Hospital Infection*, 56(4), 283-286.
- **Dubois J., Mitterand H., and Dautat A., 2005.** Grand dictionnaire étymologique et historique du français, Larousse, Paris. "*POLITEHNICA*" Univ. (Timisoara). 55(69): 103-106.
- **El Babili, F., Bouajila, J., Souchard, J P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., Moulis, M. and Valentin, A. 2011.** Oregano: Chemical Analysis and Evaluation of Its Antimalarial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities. *Journal of Food Science*. 76(3):C512-8.
- **Elhoussine, D., Zineb, B., Abdellatif, M., Abdellatif, B and Rachid, T. 2010.** Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American Eurasian Journal of Scientific Research* 5(2): 120-129.
- **Erdogan O.I and Belhattab R., 2010.** Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M.astranicum*, *Origanum vulgare subsp. glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32, 566–571.
- **Fadil, M., Farah A., Ihssane, B., Haloui, T and Rachiq, S. 2014.** The application of Plackett and Burman design in screening the parameters acting on the hydrodistillation process of Moroccan rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 8 (1), 372.
- **Falleh H, Ksouri R, Chaieb K , Karray-Bouraoui N.Trabelsi , M Boulaaba and C Abdelly,2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L.organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331 ; 372-397.
- **Festy D.2015.** Les Huiles Essentielles ça marche ! Éditions Leduc , 336 p.
- **Gibbons S., 2008.** Phytochemicals for bacterial resistance - Strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Medica*. 74 , 594-602.
- **Govindarajan, R., Vijayakumar, M and Pushpangadan, P. 2005.** Antioxidant approach to disease management and the role of "Rasayana" herbs of Ayurveda. *Journal of Ethnopharmacology*. 99, 165–178.
- **Guignard J.L., 1996.** Abrégés en botanique. 10 ème Ed. Ed. Masson, Paris. 278 p.

Références bibliographiques

- **Gulluce, M., Aslan, A., Sokmen, M., Sahin, F., Adiguzel, A., Agar, G., and Sokmen, A. 2006.** Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismia tiaglauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicarianylanderiana*. *Phytomedicine*, 13(7), 515-521.
- **Husnu Can başer K and Buchbauer G., 2010.** Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Application. Ed CRC Press; 2eme éditions, 1128p.
- **Hussain, S.P., Hofseth, L.J and Harris, C.C. 2003.** Radical causes of cancer. *Nature Reviews Cancer*. 3, 276–285.
- **Hussain I., Anwar F., Rasheed S., Nigam P., Janneh O and Sarker S. 2011.** Composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan ., *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21 (6), 1-11.
- **Ietswaart, J.H.A. 1980.** Taxonomic Revision of the genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Botanical Series, Vol 4, Leiden University Press, The Hague, Netherlands, 153 p.
- **Jnaid Y., Yacoub R and AL-Biski F. 2016-** Antioxidant and antimicrobial activities of *Origanum vulgare* essential oil ., *International Food Research Journal* 23(4), 1706-1710.
- **Jones J.D Gibbons S., G. and Dangl J.L., 2006.** The plant immune system. *Nature*. 444 , 323-329.
- **Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., and Stevens, P. 2002.** Botanique systématique: une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur. 383p.
- **Juteau, F., Masotti, V., Bessière, J. M., and Viano, J. 2002.** Compositional characteristics of the essential oil of *Artemisia campestris* var. *glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(11), 1065-1070.
- **Kaddem, S. 1990.** Les plantes médicinales en Algérie, identification, description principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes commune en Algérie, 121p.
- **Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., and Ilcim, A. 2001.** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2), 183-186.
- **Kerbouche, L., Hazzit, M., and Baaliouamer, A. 2013.** Essential Oil of *Satureja calamintha* subsp. *nepeta* (L.) Briq. from Algeria: Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 3(4), 266-272.

Références bibliographiques

- **Khalfi O., Sahraoui N., Bentahar F and Boutekedjiret C., 2008.** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil from Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* .88, 1562–1566.
- **Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., Chaouch, A., Amusant, N., et Charrouf, Z. 2014.** Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, 12, 341–347.
- **Kintzios S.E., 2002.** Profile of the multifaceted prince of the herbs. In: Kintzios S.E. *Oregano – The Genera Origanum and Lippia*. Ed. Taylor & Francis, London. 3–8.
- **Kohen R and Nyska A. 2002.** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*.30(6):620-50.
- **Labiod R, 2016.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat. Université de Badji Mokhtar, Annaba. 115p.
- **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., and Carde J .P., 1994.** Biogénèse des monoterpènes, localisation et sécrétion. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*. 133, 69-78.
- **Laouer H., 2004.** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Université Farhat Abbes, Sétif, Algérie.
- **Mahmoudi Y., 1990.** La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Ed. Palais du livre, Blida. 150 p.
- **Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S., and Khouja, M.L. 2010.** Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.)letsvaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *The Journal of the Science of Food and Agriculture* ,90, 1745–1749.
- **Mechergui K ., Jaouadi W., Coelho J., Serra M.C and Khouja M.L .2015.** Biological activities and oil properties of *origanum glandulosum* desf ., lavoisier.,2-8p.
- **Miguel, M. G. 2010.** Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5), 291-312.

Références bibliographiques

- **Möller K., 2008.** La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Ed. UNICO, Paris. 152 p.
- **Molyneux.P, 2004.** The use of the stable free radical diphenyl picryldrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Song klanakarinn. *Journal of Sciences and Technologies* ,26 (2), 211-219.
- **Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., and Vojnov, A.A. 2006.** Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40,223–231.
- **Mothana, R.A., Alsaid, M.S., Hasoon, S.S., Al -Mosaiyb, N.M., Al -Rehaily, A.J., and Al-Yahya, M.A. 2012.** Antimicrobial and antioxidant activities and gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) analysis of the essential oils of *Ajuga bracteosa* Wall.Benth. and *Lavandula dentata* L. growing wild in Yemen. *The Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 3066-3071.
- **Murray PR., Baron EJ., Pfaller MA., Tenover FC and Tenover RH. 1995.** Manual of Clinical Microbiology. sixth Ed. ASM, Washington, DC, USA. 300p.
- **Naghibi,F. Mosddegheh,M. Mohammadi,M.S. et Ghorbani ,A2005.** La biatae family in folk medicine in Iran : from Ethnobotany to Pharmacology Iranian. *Journal of Pharmaceutical Research*,2,63-79.
- **Niki, E. 2012.** Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? *FEBS Letters*. 586, 3767–3770.
- **Ntezurubanza L. 2000.** Les Huiles essentielles du Rwanda, Ed :Laseve, Québec Canada,88p.
- **Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., and Altundag, S. 2009.** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112(4), 874-879.
- **Oliveira, M. J., Campos, I. F., Oliveira, C. B., Santos, M. R., Souza, P. S., Santos, S. C., and Ferri, P. H. 2005.** Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(3), 275-285.
- **Padrini, F., and Lucheron, M. T. 1996.** Le grand livre des huiles essentielles Guide pratique pour retrouver vitalité bien être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec plus de 100 photographies. Ed De Vecchi., 15p.

Références bibliographiques

- **Palá-Paúl, J., Pérez-Alonso, M. J., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paúl, R., Sanz, J., and Conejero, F. 2001.** Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. rosmarinifolia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(7), 663-672.
- **Paris, M and Hurabielle. 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Masson. Paris. France, 339 p.
- **Pastre, J., and Priymenko, N. 2007.** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue de médecine vétérinaire*, 1(4), 180-189.
- **Pibiri, M. C. 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d" huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, 161p.
- **Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat ès science. EPFL, Lausanne, Suisse, 177p.
- **Ponce A.G., fritz R., DEL Valle C and Roura S.I. 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel Wissenschaftund Technology*, 500-508 .
- **RasooliI., and Abyaneh, M. R. 2004.** Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food control*, 15(6), 479-483.
- **Sari M., Biondi D.M., Kaabeche M., Mandalari G., Manuela D'Arrigo M., Bisignano G., Saija A., Daquino C. and Ruberto G., 2006.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*.21, 890–898.
- **Sauvage, C. 1974.** L'état actuel de nos connaissances sur la flore du Maroc. Colloque du CNRS n° 235, la flore du bassin méditerranéen, Paris.131-139
- **Sefidkon, F., Abbasi, K., Jamzad, Z., and Ahmadi, S. 2007.** The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. *Food chemistry*, 100(3), 1054-1058.
- **Skoula, M., Abidi, C., and Kokkalou, E. 1996.** Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(3), 255-260.
- **Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G. and Johnson C.B., 1999.** A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). *Phytochemistry*. 52, 649–657.

Références bibliographiques

- **Smarth R.M, Pnawar M, Soni A and Kumar M , 2008.** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract , *Food Chemistry* ,106 ,868-873.
- **Smallfield, B. 2001.** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research* ,45,1-4.
- **pada P. and Perrino P., 1996.** Conservation of Oregano species in national and international collections: an assessment. In: Oregano: proceedings of the IPGRI International workshop on Oregano, 8–12 May. Valenzano, Italy. 14–23.
- **Taalbi A., 2016.** Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrane) de l'ouest algérien. Mémoire de master en chimie, Université Abou Beker Blkaid-Tlemcen, 45p.
- **Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A. and Sakata K., 1994.** A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* . 58(10), 1780-1783.
- **Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M.F., and Ferreira, I.C.F.R.2016.** Antiinflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 193-210.
- **Veres, K., Varga, E., Dobos, A., Hajdu, Zs., Mathe, I., Nemeth, E and Szabo. 2003.** Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare* ssp., *vulgare* L., and *O.vulgare* ssp.*Hitus* (Link) Ietswaart. *Chromatographia*. 57 (12), 95-98.
- **Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., and Kunz, W.2016.** Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim*, 19: 754–765.
- **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D. & Ouar Korich M.N., 2001.** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*. **91**: 5-12.
- **Yayi E., Gbenou J.D., Ahoussi L.A., Moudachirou M. and Chalchat, J.C.,2004.** *Ocimum. gratissimum* (L.), siège de variations chimiques complexes au cours du développement. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10), 1013-1018.
- **Zieliński, H., Zielińska, D., and Kostyra H. (2012).** Antioxidant capacity of a new crispy type food products determined by up dated analytical strategies. *Food Chem*, 130:1098- 1104.

Annexes

Annexe 1 : Liste du matériel non biologique. (Etude présentée)

Réactifs	verreries	Équipement et appareils
Acide chloridrique concentré, (1N), (0.1N)	Eprouvettes	Bain marie
H ₂ SO ₄	Tubes à essai stériles	Plaque chauffante
FeCl ₃ (1 %), (5 %), (10 %)	Entonnoirs	Balance
NAOH (0.1)	Spatules, baguettes	Spectrophotomètre
Mg	Pipettes graduées	Réfrigérateur
Ammoniaque concentré, ½, (25 %), (50 %)	Erlenmeyer	Chronomètre
Ethanol	Fiole jaugée	Embouts pour les
Chloroforme	Ballons	Micropipettes
Méthanol	Verre de montre	Etuve
Acétate de sodium	Flacons en verre	Agitateur
Acétate de plomb	Pince	Vortex
Réactifs de Fehling	Pipette pasteur	Portoir
Réactif de Dragendroff	Ampoule a décanté	Boîtes de pétries
BHT		Disques de papier Wattman
DPPH		Epindoffs
Acide ascorbique		Bécher
Eau physiologique stérile		Ance de platine
		Chauffe ballon
		Hydrodistillateur
		Papier filtre
		Seringue
		Micropipettes
		incubateur

Annexe 2 : Généralités sur les souches microbiennes testées.(Etude présentée)

❖ Bactéries

1. Staphylococcus aureus (le staphylocoque doré)

Cocci à Gram positif, aéro-anaérobies facultatifs, ces cellules bactériennes ont la forme de coques regroupées en amas, ayant la forme d'une grappe de raisin, elles sont immobiles et non sporulées (Avril,1992;Prescott,2010), responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastro-entérites et infection pulmonaires. acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline, à la méthicilline 1 (MRSA), et aux fluoroquinolones mais sensible aux B-lactamines (Perry et al., 2004).



Figure19 : Observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (Institut Pasteur, 2012).

2. Bacillus subtilis:

Bactérie ubiquitaire à gram positif, aérobie pouvant se développer en anaérobiose, mobile par des flagelles péritriches, formant des spores très résistantes.



Figure 20: Observation microscopique de *Bacillus sphaericus* (www.researchgate.net).

3. *Pseudomonas aeruginosa*:

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* autrement connues sous le nom de bacilles pyocyaniques ont été isolées pour la première fois en 1882 par Gessard. Ce sont des bâtonnets à Gram négatif aérobie stricte. Ils sont fins, droits et très mobiles grâce à une ciliature polaire monotriche ou multitriche. Ces souches sont dépourvues de spores et de capsules et apparaissent la plupart du temps isolées ou sous forme de diplobacilles (Schachter, 1999 ;Singleton, 1999).



Figure21 : Observation microscopique de *Pseudomonas aeruginosa* (www.cdc.gov).

Annexes

4. Escherichia coli:

Escherichia coli est l'espèce type des Enterobacteriaceae. Ce sont des bacilles Gram négatif à respiration aérobie-anaérobie, 70% d'entre eux possèdent un flagelle, ils peuvent donc être mobiles ou immobiles. Cette espèce représente un hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud, son établissement dans le tractus s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent la naissance (Avril, 1992 ; Prescott, 2012).

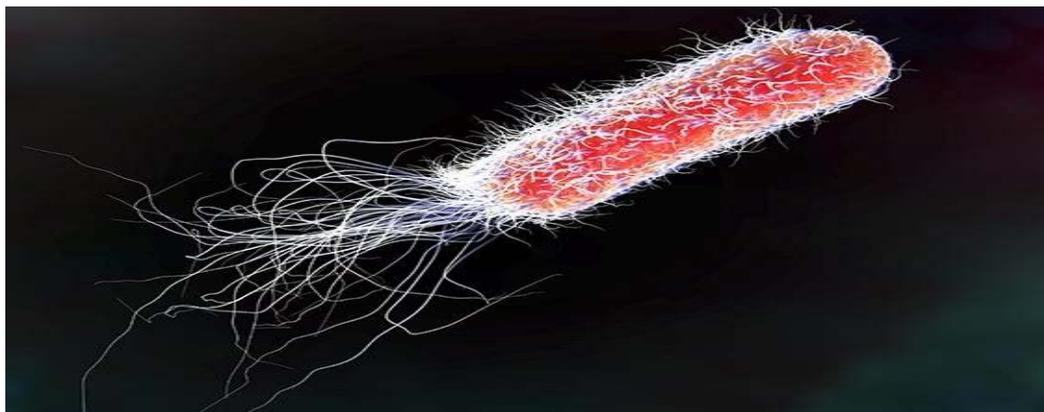


Figure 22 : Observation microscopique d'*Escherichia coli* (www.cdc.gov).

❖ levures:

Candida albicans:

Levures avec colonies grandes et rondes, vivant à l'état normal dans la bouche, le vagin et le tube digestif, responsable d'infections fongiques superficielles (le muguet, des vulvo-vaginites) et systémiques chez des individus immunodéprimés (Art et Shears, 1997).

Annexe 3 : Préparation des réactifs.(Etude présentée)

• **Réactif Drangendroff** : Il s'agit d'un mélange (V/V) de deux solutions A et B.

➤ **Solution A :**

Nitrate de bismuth.....0.85g
Eau distillée.....40ml
Acide acétique.....10ml

➤ **Solution B :**

Iode de potassium.....8g
Eau distillée.....2ml

❖ Nous mélangeons les deux solutions, ensuite nous ajoutons 20ml de l'acide acétique et nous complétons à 100 ml avec de l'eau distillée

• **Préparation de réactif Fehling** : Il s'agit d'un mélange (V/V) de deux solutions

Annexes

A et B.

➤ **Solution A :**

CuSO₄.....35g

Eau distillée.....500ml

H₂SO₄.....5ml

Laisser refroidir et compléter à 1L avec de l'eau distillée

➤ **Solution B :**

Sel de Seignette150g

Eau distillée.....500ml

- ❖ Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonatée puis ajuster jusqu'au 1L avec de l'eau distillée

NB : Mélanger les deux solutions à volume égale au moment de l'emploi.

Annexe 4:(Etude présentée).

❖ **Préparation de la solution mère d'HE:**

La solution a été préparé par l'addition 100 microlitre HE dans un 100ml méthanol.

❖ **Préparation des solutions standards AA:**

➤ **Pour AA:**

Peser 1p mg d'AA et on introduire dans 10 ml eau distillée.

❖ **préparation des dilutions :**

➤ **Pour HE:**

À partir de cette solution mère de concentration 10mg/ml on introduire 0.8-0.6-0.4-0.2-0.1ml HE dans des tubes contenant 200-400-600-800-900microlitre de méthanol respictivement pour avoir les concentrartions 8-6-4-2-1mg/ml.

❖ **Pour les solutions standards:**

Intoduire 1.6-1.2-0.8-0.4-0.2ml des solutions préparés AA ou BHT dans des tubes contenant0.4-0.6-1.2-1.6-1.8ml eau distillée respictivement pour avoir les concentrations de 0.8-0.6-0.4-0.2et 0.1 mg/ml.

Annexes

Annexe 5 : Résultats de l'activité antibactérienne.(Etude présentée)

Test de l'huile essentielle

Pour es bactérie :



Figure23 : test de l'huile essentielle contre les bactéries.

Pour les levures :

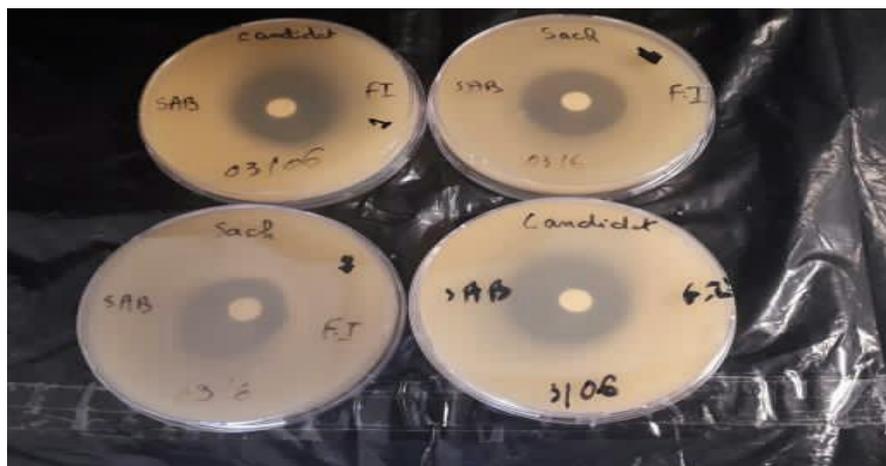


Figure24 : test de l'huile essentielle contre les levures.

Résumé

Résumé

Origanum vulgare est une plante médicinale largement répandue dans la région de Jijel. Elle est utilisée dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et à la préservation de plusieurs produits alimentaires. Le présent travail a porté sur un screening phyto-chimique et l'évaluation de deux activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne) des huiles essentielles de la plante étudiée.

L'étude de screening phytochimique de la partie aérienne d'*Origanum vulgare* a révélé la présence de divers métabolites secondaires. Par ailleurs, l'extraction des huiles essentielles par hydro distillation a permis d'obtenir un rendement de l'ordre de 1,033%.

En outre, l'évaluation de l'activité anti-oxydante par la méthode de DPPH a montré que l'huile essentielle possède une faible activité anti-oxydante avec une valeur d'IC₅₀ égale à 9,40%.

L'activité antimicrobienne est évaluée aussi par la méthode de diffusion sur gélose. Elle a mis en évidence l'efficacité de l'huile essentielle étudiée envers toutes les souches microbiennes testées avec des zones d'inhibition comprises entre 13 et 39,25 mm.

Ces résultats montrent que les huiles essentielles de la plante étudiée possèdent des propriétés antimicrobiennes importantes.

Mots clés : *Origanum vulgare*, screening phyto-chimique, huiles essentielles, activité anti-oxydante , activité antimicrobienne.

Abstract

Origanum vulgare is a medicinal plant widely distributed in the region of Jijel. It is used in the pharmaceutical, cosmetic and preservation industries of several food products. The present work focused on a phytochemical screening and the evaluation of two biological activities (antioxidant and antimicrobial) of the essential oils of the plant studied. The phytochemical screening study of the aerial part of *Origanum vulgare* revealed the presence of various secondary metabolites. In addition, the extraction of essential oils by hydro distillation allowed to obtain a yield of the order of 1.033%. In addition, the evaluation of the antioxidant activity by the DPPH method showed that the essential oil has a low antioxidant activity with an IC₅₀ value equal to 9 , 40%. The antimicrobial activity was also evaluated by the agar diffusion method, which demonstrated the effectiveness of the essential oil studied towards all s microbial strains tested with zones of inhibition between 13 and 39.25 mm These results show that the essential oils of the plant studied have important antimicrobial properties

Key words: *Origanum vulgare*, phytochemical screening, essential oils, antioxidant activity , antimicrobial activity.

ملخص

Origanum vulgare هو نبات طبي منتشر على نطاق واسع في منطقة جيجل ، ويستخدم في الصناعات الدوائية والتجميلية وصناعات الحفظ للعديد من المنتجات الغذائية. وركز العمل الحالي على الفحص الكيميائي النباتي وتقييم نشاطين بيولوجيين (مضاد للأكسدة ومضاد للميكروبات) من الزيوت الأساسية للنبات المدروسة. كشفت دراسة الفحص الكيميائي النباتي للجزء الجوي من *Origanum vulgare* عن وجود مستقلبات ثانوية مختلفة. بالإضافة إلى ذلك ، فإن استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي جعل من الممكن الحصول على محصول 1.033% بالإضافة إلى ذلك ، أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة DPPH أن الزيت العطري له نشاط مضاد للأكسدة منخفض بقيمة IC₅₀ تساوي 9.40%. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات أيضًا بواسطة طريقة نشر الأجار ، التي أثبتت فعالية الزيت العطري الذي تمت دراسته ضد الجميع تم اختبار السلالات الميكروبية بمناطق تثبيط تتراوح بين 13 و 39.25 مم ، وأظهرت هذه النتائج أن الزيوت الأساسية للنبات المدروسة لها خصائص مضادة للميكروبات مهمة.

الكلمات المفتاحية: *Origanum vulgare*، الدراسة الكيميائية النباتية، الزيوت الأساسية، مضاد للأكسدة، مضاد للجراثيم.

Résumé
