

**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie des populations et organismes**

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

Option BPV

Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante et la détermination de la
teneur des polyphénols et des flavonoïdes des extraits aqueux de
Oiganum vulgare L. récoltée dans deux régions différentes**

Présenté par :

Oumellal Yamina

Et

Chachou Meriem

Devant le jury :

soutenu le
30/09/2020

Présidente :	Mme Chabane	MAA	UDB1
Examinatrice:	Mme Benassel	MAA	UDB1
Encadreur :	Mme Benmanssour	MCA	UDB1

Année Universitaire 2019-2020

Remerciements

Nous rendons grâce au bon DIEU, pour nous avoir accordé santé et courage jusqu'à l'aboutissement de nos études et l'accomplissement de ce modeste travail.

*On tiens à remercier tendrement notre encadrante **Mme Benmanssour** , un exemple vif du courage et de patience, notamment pour sa douce compréhension et son aide.*

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

Un grand merci pour notre très chère Mme Chérif Hamida chef d'option Biologie et Physiologie Végétale.

*On voudrais également remercier tous les enseignants qui ont veillé à notre formation, en particulier Mme **Zerkaoui**, Mme **Takarli**, Mme **Bradea**, Mme **Teouaibia**, Mme **Benaasel**, Mlle **Amejkouh**, Mme **Faidi**, Mme **Amara***

*Mme Chabane, Mme **Bensalah**, Mr **Rouibi**, Mr **Guedioura**,
Est surtout Mme **Kebas** lah yerhamha malgré que notre rencontre était courte mais tu es dans nos cœur repose en paix.*

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, en guise de reconnaissance, on tient à témoigner nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Enfin, sans oublier de remercier tout le corps professoral du département de Biologie pour le travail énorme qu'il effectue pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

Dédicace

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

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et matériel tout au long de ma vie, dans les moments difficiles et dans mes années d'études, ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma réussite.

Que Dieu te procure une bonne santé et une longue vie mon très cher Papa
Mohamed.

*A lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a transmis le courage et l'amour, pour sa tendresse et pour ses encouragements durant mon parcours, à ma très chère Maman **Amel** que j'adore.*

*A mon adorable frère : **Oumellal Hamza***

*A mes très chères sœurs : **Oumellal Fatima et Inès***

A mes grands-mères et ma grand père paternels et maternels que dieu leur procure bonne santé et longue vie, et à toute ma famille paternels et maternels

*A mes chères amies et mes confidentes : **Ikram, Rofaida, Nassima, Selma, Anissa, Amina***

A toute la promotion 2019/2020. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible.

A mes enseignants et professeurs de primaire à l'université

Yamina

Dédicaces

C'est avec un grand plaisir et une grande émotion, que je dédie ce modeste travail à mon père, pour son soutien pendant toutes mes études, et ses conseils inoubliables et sa compassion tout au long de ma vie.

Je dédie ce mémoire à la plus belle créature que dieu a créé sur terre...à la source de tendresse, de patience et de générosité ...à ma chère mère, que dieu la préserve, une longue vie heureuse et pleine de bonheur.

*A mes très chers frères **Abdelkader** et **Salman** ma plus grande source de bonheur.*

*A mon adorable sœur **DR : Bouhraoua Imène**, et ma chère sœur **Mebarki Rayane** qui non pas cessée de me soutenir et encourager tout au long ma vie.*

*A mon cher ami **Dr : Rahim Abdelkader** merci énormément pour ton soutien plus que précieux, merci pour ton grand cœur toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer.*

*A mon binôme **Oumellal Yamina** qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail, je te souhaite une vie pleine de prospérité et de réussite.*

*A mes valeureux amis(e) : **Dr : Hasrouf Abdelkader, Belraka Rahim, Belamine Ryma, Brahami Khaoula, Menai Lynda, Krichi Yasmine.***

Meriem

Résumé

Origanum vulgare, est une plante originaire d'Afrique du nord et européenne. Elle présente plusieurs vertus médicinales. Ainsi elle est aux vues de notre étude considérée comme une plante antioxydante et anti-radicalaire.

Les résultats phytochimique préliminaire ont mis en évidence la richesse l'extrait de feuille d'*O.vulgare*. En métabolite secondaire tels que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les anthraquinones.

Les teneurs en polyphénols ont été déterminées en utilisant le réactif de folinciocalteu dans différents articles par (132.3 -168.87-105.5) mg EAG/g de MS. les flavonoïdes ont été évalué par la méthode de chlorure d'aluminium ALCL₃, les teneurs de ces articles sont estimés à (41.58-55.65-31.7) mg QE/g de MS.

Les résultats obtenus dans les travaux antérieurs pour l'activité anti-radicalaire révèlent que l'extrait possède un grand pouvoir de piège ce radical DPPH avec une IC₅₀ de l'ordre de (1852.76 ± 55.749 ; $785,38 \pm 9,04$; 0.300 ± 0.01 ; 72.0 ± 4.4 ; $18,30 \pm 0,31$ mg/ml) mais relativement différents à celui de l'acide ascorbique (vitamine C et E) qui est de l'ordre de (1.04 ± 0.1361 ; $27,20 \pm 0,17$; 0.020 ± 0.001 ; 55.1 ± 2.9 ; $28,01 \pm 0,66$ mg/ml)

L'extrait des feuilles de *d'O.vulgare* est riche en composés phénoliques notamment en polyphénols, et présente une bonne activité antioxydante. De ce fait elle possède un bon pouvoir d'adaptation au stress oxydatif.

Mots clés : *Origanum vulgare*., polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante

الملخص

O. vulgare، هو نبات أصلي في شمال إفريقيا وأوروبا. لها العديد من الخصائص الطبية. وبالتالي فإنه من وجهة نظر دراستنا يعتبر نباتاً مضاداً للأكسدة ومضاداً للجذور.

أظهرت النتائج الكيميائية النباتية الأولية ثراء مستخلص أوراق *O. vulgare* كمستقلب ثانوي مثل الفلافونويد والعفص والقلويدات والأنثراكينونات.

تم تحديد محتويات البوليفينول باستخدام كاشف فولينسيوكالتيو في مواد مختلفة بمقدار (105.5-168.87- 132.3) مجم / EAG جم من DM. تم تقييم مركبات الفلافونويد بطريقة كلوريد الألومنيوم ALCL3 ، وقدرت محتويات هذه المواد بـ (55.65-41.58-31.7) ملجم / QE جم DM.

كشفت النتائج التي تم الحصول عليها في العمل السابق للنشاط المضاد للجذور الحرة أن المستخلص لديه قدرة كبيرة على حبس جذور DPPH مع IC50 بترتيب (1852.76 ± 55.749 ؛ 785.38 ± 9.04 ؛ 0.300 ± 0.01 ؛ 72.0 ± 4.4 ؛ 18.30 ± 0.31 ملجم / مل) ولكنها تختلف نسبياً عن حمض الأسكوربيك (فيتامين ج و هـ) الذي يتراوح من (1.04 ± 0.1361 ؛ 27.20 ± 0) ، 17 ؛ 0.020 ± 0.001 ؛ 55.1 ± 2.9 ؛ 28.01 ± 0.66 mg / ml مستخلص أوراق *O. vulgare* غني بالمركبات الفينولية ، على وجه الخصوص البوليفينول ، وله نشاط جيد كمضاد للأكسدة. هذه الحقيقة لديها قوة جيدة للتكيف مع الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية : *O. vulgare* ، Polyphenols ، flavonoids ، نشاط مضاد للأكسدة

Abstract

Origanum vulgare, is a plant native to North Africa and Europe. It has several medicinal properties. Thus, in view of our study, it is considered as an antioxidant and anti-radical plant.

Preliminary phytochemical results demonstrated the richness of *O. vulgare* leaf extract. As a secondary metabolite such as flavonoids, tannins, alkaloids and anthraquinones

The polyphenol contents were determined using the folinciocalteu reagent in different articles by (132.3 -168.87-105.5) mg EAG / g of DM. the flavonoids were evaluated by the ALCL3 aluminum chloride method, the contents of these articles are estimated at (41.58-55.65-31.7) mg QE / g DM.

The results obtained in previous work for the anti-free radical activity reveal that the extract has a great power to trap this DPPH radical with an IC50 of the order of (1852.76 $\pm$ 55.749; 785.38 $\pm$ 9.04; 0.300 $\pm$ 0.01; 72.0 $\pm$ 4.4; 18.30 $\pm$ 0.31mg / ml) but relatively different from that of ascorbic acid (vitamin C and E) which is of the order of (1.04 $\pm$ 0.1361; 27.20 $\pm$ 0 , 17; 0.020 $\pm$ 0.001; 55.1 $\pm$ 2.9; 28.01 $\pm$ 0.66 mg / ml)

The extract of the leaves of *O.vulgare* is rich in phenolic compounds, especially polyphenols, and has good antioxidant activity. As a result, it has a good capacity to adapt to oxidative stress

Key words: *Origanum vulgare*., Polyphenols, flavonoids, antioxidant activity

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Localisation et texture du sol des deux stations d'étude	28
Tableau 02	Screening phytochimique	36
Tableau 03	présentation du matériel végétal utilisé par les différents équipes scientifique dans le screening phytochimique	41
Tableau 04	présentation du matériel végétal utilisé par les différents équipes scientifique dans l'activité antioxydante	41
Tableau 05	présentation du matériel végétal utilisé par les différents équipes scientifique dans le dosage des polyphenols et flavonoides	42
Tableau 06	Présentation du matériel végétal utilisé par les différentes équipes scientifiques dans le rendemenet des huiles essentiels	42
Tableau 07	Résultats quantitatifs de l'extraction de l'HE <i>d'O.vulgare</i>	44
Tableau 08	Criblage phytochimique <i>d'Origanum glandulosum</i>	49
Tableau 09	Criblage phytochimique <i>O. vulgare</i>	49
Tableau 10	Résultats du screening phytochimique de <i>l'ORIGANUM VULGARE</i>	50
Tableau 11	Les rendements d'extraction et les résultats de la quantification résultats pour les phénoliques totaux et les flavonoïdes et les composés individuels phénoliques et les flavonoïdes d'origine de <i>l'origanum vulgaris</i>	52
Tableau 12	Contenus en polyphénols totaux et en flavonoïde des extraits	53
Tableau 13	Effets <i>d'Origanum vulgare</i> ssp. Extrait de méthanol vulgare, huile essentielle et contrôle positif BHT sur le piégeage des radicaux libres in vitro (DPPH)	55
Tableau 14	Valeur d'IC50 des extraits testés et acide ascorbique	60
Tableau 15	l'activité scavenger du radical DPPH par l'HE <i>d'O.vulgare</i> L ,l'acide ascorbique et le BHT	62
Tableau 16	Taux de précipitation de la région de Blida (2011 à 2019)	69
Tableau 17	Taux de précipitation de la région de Tlemcen (2000-2011)	69
Tableau 18	Taux de température de la région de Blida (2010-2019)	69
Tableau 19	Taux de température de la région de Tlemcen (2000-2011)	69

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 01	Classification selon APGIII (angiosperme phylogeny group) (2009)	07
Figure 02	Carte de répartition géographique mondiale de la famille des <i>lamiaceae</i> (pirani et prado, 2012)	07
Figure 03	fleur de <i>l'Origanum vulgare</i>	10
Figure 04	Dessin d' <i>O. vulgare ssp vulgare</i> d'après Ietswaart (1980)	14
Figure 05	Aire de distribution du genre <i>Origanum</i> (Ietswaart, 1980).	15
Figure 06	Structures des différentes classes de flavonoïdes (Bakkali et al., 2008)	19
Figure 07	La molécule d'isoprène	20
Figure 08	Structure chimique de base des anthocyanidines	20
Figure 09	La localisation géographique des échantillons prélevés dans la région Chrea (Wilaya Blida)	27
Figure 10	La localisation géographique des échantillons prélevés dans la région Sebdou (Wilaya Tlemcen)	27
Figure 11	Précipitation moyenne mensuelle en (mm) de la station de Tlemcen (2000-2011)	28
Figure 12	Précipitation moyenne mensuelle en(mm) de la station de Blida (2010-2019) (donnes obtenues d'office nationale de la météorologie de dar el Beida Alger)	29
Figure 13	Variation des températures de la station de Tlemcen (2000-2011)	30
Figure 14	Variation des températures de la station de Blida (2010-2019) (données obtenues D'office Nationale de la Météorologie de Dar El Beida, Alger)	30
Figure 15	Dispositif d'extraction de type de Clevenger	33
Figure 16	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	37
Figure 17	courbe d'étalonnage de la quercétine.	38
Figure 18	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	39
Figure 19	Représentation des rendements des huiles essentielles d' <i>Origanum glandulosum</i> extraites de différentes régions : Nechmaya (espèce étudiée), Jijel (Berrehal et al., 2010), Zighoud Youcef (Semra et al., 2013), Sétif (Sahraoui et al., 2007) et Tlemcen (Bendahou et al., 2008)	48

Figure 20	Représentation graphique des résultats de screening phytochimique d' <i>Origanum vulgare</i>	51
Figure 21	Représentation graphique des extraits de polyphénols totaux et tanins d' <i>Origanum vulgare</i>	52
figure 22	Extrait de vulgare et huile essentielle définis comme pourcentage d'inhibition dans le dosage de l'acide b-carotène-linoléique	56
figure 23	L'activité antibactérienne des extraits (MeOH : méthanol, EtOH : éthanol, EtOAc : acétate d'éthyle et n-hexane) contre <i>Escherichia coli</i> (A), <i>Staphylococcus aureus</i> (B), <i>Listeria monocytogenes</i> (C) et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (D). La densité bactérienne est approximativement de 10 ⁶ UFC/ml. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) produits autour des puits après l'ajout de 50 µl d'extrait (25 mg/l)	59
Figure 24	Pourcentage du piégeage du radical DPPH de standard (acide ascorbique) et des extraits	61
Figure 25	Test d'identification saponosides	69
Figure 26	Test d'identification alcaloïdes	69
Figure 27	Test d'identification des tanins	70
Figure 28	Test d'identification des mucilage	70
Figure 29	Test d'identification des flavonoides	71
Figure 30	Test d'identification des coumarins	71

Table des matières

I.	Chapitre I : Généralité sur la famille des lamiacées et le <i>Genre Origanum</i>	4
I.1	Généralités sur la famille des lamiacées :	5
I.2	Classification :	5
I.2.1	Ancienne classification :	6
I.2.2	Classification selon l'APG (Angiosperm Phylogeny Group)	6
I.3	Répartition géographique :	7
I.4	Généralités sur le genre origanum :	7
I.4.1	Répartition géographique :	7
I.4.2	Caractéristiques botaniques du genre origanum :	7
II.	Chapitre II : Espèce étudié <i>Origanum vulgare</i>	9
II.1	Définition	10
II.2	Historique	10
II.3	Aspect botanique	11
II.4	Origine et Répartition géographique	15
II.4.1	Distribution géographique du genre <i>Origanum</i> en l'Algérie	16
II.5	Propriétés et utilisation	16
II.6	Effets nocifs de la plante	17
II.7	Composition	17
II.8	Stress hydrique	21
II.8.1	Notion de stress	21
II.8.2	Stress hydrique	21
II.8.3	Stress oxydatif	22
III.	Chapitre III : Matériels et Méthodes	26
III.1	Choix, localisation et climatologie des deux stations d'étude :	27
III.2	Matériel biologique	31
III.3	Méthodes	31
III.3.1	Extraction par hydro distillation des huiles essentielles :	31
III.3.2	Préparation de la poudre	33
III.3.3	Préparation des extraits	34
III.3.4	Screening phytochimique	35
III.3.5	Caractérisation quantitative des extraits	37
III.3.6	Activité anti-oxydante (in vitro)	38
III.3.7	Anatomie des feuilles de <i>origanum vulgare</i> L	40
IV.	Chapitre IV : Résultats et discussion	46

IV.1	Huiles essentielles de <i>l'Origanum vulgare</i> :	47
IV.1.1	Rendement des huiles essentielles :	47
IV.2	Screening Phytochimique :	49
IV.3	Dosage des polyphénols et des flavonoïdes :	52
IV.4	Activité antioxydante de l'extrait aqueux de l'origanum vulgare :	54
IV.4.1	Détermination d'IC50	58

Abréviations

APG	Angiosperm Phylogeny Group
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazylDPPH 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
HE	Huile Essentielle
UV	ultra-violet
Mg	micro gramme
EM	extrait méthanolique
Eaq	extrait aqueux
Na ₂ CO ₃	carbonate de sodium
AlCl ₃	chlorure d'aluminium
Nm	nanomètre
ENSA	ecole national superieur agronomique

Introduction

Introduction

De type méditerranéen, le climat algérien se caractérise principalement par la variabilité intra et interannuelle des précipitations et du régime thermique. Les stress climatiques, comme le déficit hydrique, les températures extrêmes, deviennent très communs à mesure qu'on pénètre à l'intérieur du pays. Un déficit hydrique est le résultat d'une diminution temporaire de la disponibilité en eau pour les plantes **(Chaves et Oliveira 2004)**.

Selon **(Casals ,1996)**, la sécheresse peut être définie correctement en considérant la disponibilité et les besoins en eau de la plante. Les plantes sont souvent soumises à des graves déficits hydriques dus à une chute brutale de l'humidité ou à une augmentation de la température, la rareté des pluies ou des pluviosités. Beaucoup d'espèces peuvent également induire un stress hydrique du fait de la diminution de la quantité d'eau dans le sol. Le déficit hydrique induit également un stress oxydatif avec la formation de radicaux libres, le stress oxydant peut-être étudié soit par la mesure des oxydants comme les radicaux libres et les peroxydes (mesures directes ou indirectes) ou soit par la mesure des défenses antioxydantes **(Lavoie 2012)**

Pour éviter les conséquences du stress oxydant, il est obligatoire de rétablir l'équilibre oxydant / antioxydant de l'organisme dont les antioxydants sont des substances naturelles produites par le corps ou bien apportées par l'alimentation qui retardent, empêchent ou réparent les dégâts oxydatifs **(Halliwell et Gutteridge, 2000 et 2008)**.

L'Algérie est considérée comme un pays riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes **(Quézel et Santa, 1962)**

Les plantes aromatiques ont l'aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires en réponse aux stress biotique et abiotique qu'elles peuvent subir. Ces métabolites secondaires possèdent diverses propriétés biologiques. Les huiles essentielles et les polyphénols font partie de ce groupe de métabolites **(Bouhadouda 2015)**

L'*Origanum vulgare* compte Parmi les plantes aromatiques et endémiques les plus abondantes du Nord-Est algérien. Elle produit des métabolites secondaires bioactives (polyphénols, tanins. etc.) Et des HEs riches en dérivés phénoliques carvacrol et thymol Peu d'études sont élucidé sur l'étude de l'effet du stress hydrique et l'activité antioxydante de la plante *Origanum vulgare* ce qui nous a incité de faire ce travail pour évaluer la qualité, la quantité des métabolites secondaires (plus particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes) et l'activité antioxydante

Notre recherche est devisé en deux parties : Une partie bibliographique portant sur une synthèse des données relatives à notre thématique ,la deuxième partie expérimentale qui décrit la méthodologie du screening photochimique, le dosage des métabolites secondaires (les poly phénols et les flavonoïdes) ,les huiles essentielles, l'activité antioxydante des extraits de *l'Origanum vulgare* , ensuite les résultats et les discussions apporté sur notre étude et enfin une conclusion avec l'essentiel des résultats .

Première Partie

Bibliographique

Chapitre I :

Généralité sur la famille des lamiacées
et le *Genre Origanum*

I.1 Généralités sur la famille des lamiacées :

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), comprend environs 6970 espèces réparties en 240 genres (Meyer et al., 2004).

Ce sont généralement des plantes herbacées vivaces odorantes, à tiges quadrangulaires, feuilles en général opposées sans stipules. Le plus souvent hermaphrodites, les fleurs pentamères (Meyer et al., 2004) sont généralement réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis de fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne (Messelli, 1995).

Cette famille est caractérisée aussi par quatre étamines dont deux plus longues (didynames), soit en deux étamines soudées au tube de la corolle ou à la zone périgyne et alternant avec les lobes. Ces caractères varient selon les genres : corolle presque régulière (*Mentha*) ou unilabiée (*Teucrium*); deux étamines (*Salvia*) (Quezel et santa, 1963; ozenda, 1977)

La famille des *Lamiaceae* est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (Quezel et Santa, 1963). Elles sont surtout des plantes méditerranéennes (Carrubba et al., 2006), qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues (Ozenda, 1977).

I.2 Classification :

La famille des *lamiacées* possède une distribution cosmopolite et des caractères morphologiques.

En 1789 de Jussieu a nommé la famille *lamiacées*, la classification de la majorité des sous-familles a été faite par Bentham en 1876 et la révision a été présentée par briquet en 1895. La classification de ce dernier a longtemps été la plus utilisées pour cette famille de plantes. En 1992, 21 genres de verbénacées ont été transférés aux lamiacées (Cantino,1992).

I.2.1 Ancienne classification :

Embranchement : spermaphytes (plantes à graines)

Sous embranchement : angiospermes (plantes à ovaire)

Classe : dicotylédones

Sous-classe : gamopétales (pétales soudés)

Série : superovariées tetracycliques (ovaire supère, 1 seul verticille d'étamines)

Ordre : *lamiales*

Famille : *lamiacées (lamiaceae)*

Cependant, les rapports récents de la biologie moléculaire et le développement de la systématique moléculaire basée sur l'analyse des séquences des gènes, ont bouleversé les classifications usuelles et ont proposé en 1998 une nouvelle classification ordinaire des plantes (**APG.,1998**).

I.2.2 Classification selon l'APG (Angiosperm Phylogeny Group)

Règne : plantae

Sous-embranchement : angiospermes ou magnoliophyta

Euangiospermes

Eudicotylédones

Eudicotylédone

supérieurs gamopétales : Astéridées

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

I.3 Répartition géographique :

La famille des *Lamiacées* est une partie importante des plantes dicotylédones et est répartie sur l'ensemble de la surface de la planète, bien qu'elles soient plus présentes en climats tempérés et surtout dans le pourtour méditerranéen (JUDD et al., 2000).

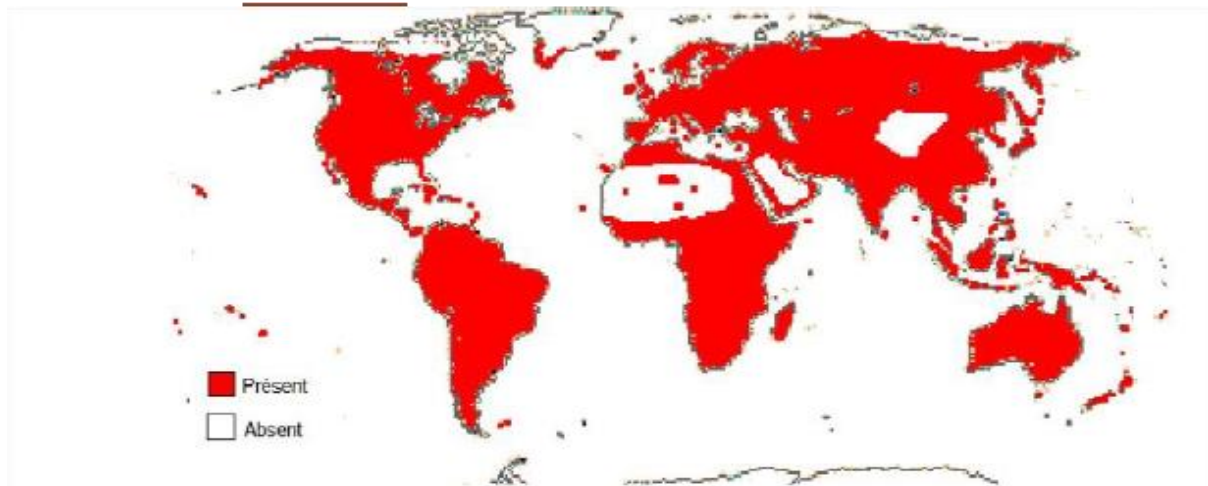


Figure 02 : Carte de répartition géographique mondiale de la famille des *lamiaceae*

I.4 Généralités sur le genre *Origanum* :

L'origan, dont le nom signifie parure des montagnes, est une plante médicinale majeure. L'origan *vulgare*, compact, de Grèce, **kaliteri**, ou encore marjolaine des jardins : derrière le genre *Origanum* se cachent des profils botaniques et médicaux bien différents. Très efficace contre les virus, leur puissance n'est en effet pas la seule marque de ces *lamiacees*.

I.4.1 Répartition géographique :

Origanum, est une plante spontanée endémique qui pousse au nord de l'Afrique (Algérie et Tunisie) (Ietswaart, 1980). Très commune dans les endroits secs et ensoleillés tel que le Tell, elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires (Baba Aissa, 1990).

I.4.2 Caractéristiques botaniques du genre *Origanum* :

L'origan est une herbacée vivace de 30 à 60 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Arvy et Gallouin, 2003 ; Teuscher et al., 2004).

Chapitre I : Généralité sur la famille des lamiacées et le Genre *Origanum*

Les tiges dressées, souvent rougeâtres et velues, portent les feuilles ovales opposées et espacées. Celles-ci possèdent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes. Les fleurs blanches ou rose sont groupées en inflorescences. 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 (**Baba Aissa, 1990 ; Teuscher et al., 2004 ; Figueredo, 2007**).

Chapitre II :

Espèce étudiée *Origanum vulgare.L*

I.5 Définition

Le terme origan provient du latin *Origanum*, lui-même issu de grec origanon. Le terme français apparaît au **XIII^{ème}** siècle. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît 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**).



Figure 03 : fleur de l'*Origanum vulgare* (Creapharma.ch, Fotolia.com)

I.6 Historique

Issu d'Europe, l'origan s'est très bien exporté au Moyen-Orient. Connu et reconnu par les peuples de l'Antiquité pour son goût prononcé et ses vertus médicinales. L'origan était reconnu pour deux propriétés, un rôle protecteur mais aussi un philtre d'amour : quelques feuilles dans le repas de l'élue de son cœur.

A. Classification botanique selon APGIII (tela botanica 2016)

Règne : végétale

Sous règne : Plantes vasculaire

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Sous-famille : Népétoïdées

Genre : *Origanum*

I.7 Aspect botanique

Les caractères distinctifs du genre *Origanum* sont d'après **Ietswaart, (1980)** :

- les tiges : les portions les plus basses sont en général ligneuses et persistantes. On trouve plusieurs tiges dressées ou ascendantes portant des branches latérales.
- les étamines peuvent être de forme et de taille très différente et sont a Sur le quart ou la moitié supérieure, de longueur très variable de 10 à 60 cm ; la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simples, sauf pour *O. dictamnus* (poils ramifiés).
- les feuilles sont sessiles, subsessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques. Les feuilles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine couche de cire.

Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles.(figure 04)

- Les inflorescences sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert. De nombreuses variations sont possibles dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent entre autres de différencier les sections.
- Le calice est la partie la plus variable, dans le genre *Origanum* il possède 5 dents plus ou moins soudées ou il est formé par une ou 2 lèvres plus ou moins dentées. La classification en différentes sections fait également intervenir les caractères distinctifs du calice
- Généralement la corolle en forme de tube est dressée avec 2 lèvres de 3 à 14 mm, sa couleur est blanche, rose ou pourpre, adaptées à la pollinisation par les insectes.
- Les étamines peuvent être de forme et de taille très différente et sont a Sur le quart ou la moitié supérieure, de longueur très variable de 10 à 60 cm ; la plupart des tiges portent des poils, au moins à la base dans toutes les espèces ; les poils sont simples, sauf pour *O. dictamnus* (poils ramifiés).
- Les feuilles sont sessiles, subsessiles ou pétiolées surtout au niveau des nœuds inférieurs ; le pétiole atteint le quart ou la moitié de la dimension du limbe, les poils portés par les feuilles et les tiges sont identiques. Les feuilles peuvent être aussi plus ou moins glabres, dans ce cas elles sont presque toujours glauques car recouvertes par une fine couche de cire.
- Les feuilles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées. Ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges, bractées, calices et corolles.
- Les inflorescences sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches, les bractées sont arrondies, ovales ou lancéolées ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent pourpres ou de couleur jaune-vert. De nombreuses variations sont possibles dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent entre autres de différencier les sections.
- Les fruits sont des akènes ovoïdes, bruns, mesurant 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large. Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section.

Chapitre II : Espèce étudié *Origanum vulgare*

Les parties utilisées pour obtenir l'huile essentielle sont les sommités fleuries récoltées en période estivale. Cette huile est peu utilisée en médecine traditionnelle, toutefois l'origan possède diverses propriétés thérapeutiques. Ainsi, en usage externe, il pourra être utilisé comme bactéricide et antiseptique, stimulant et antispasmodique des voies respiratoires comme l'a démontré Baratta (Baratta et *al.*, 1998).

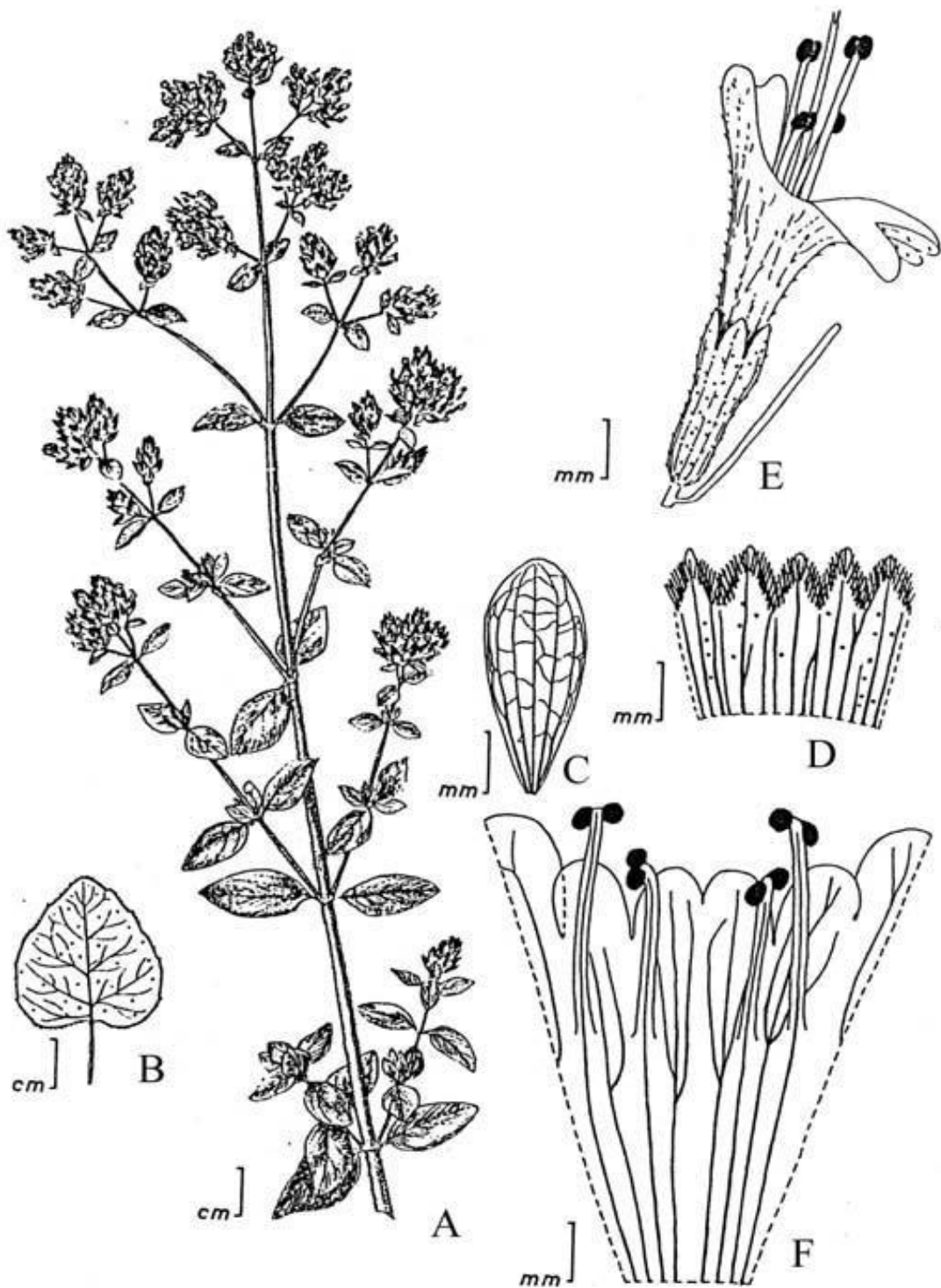


Figure 04 : Dessin d'*O. vulgare ssp vulgare* d'après Ietswaart (1980)

B : feuille C : bractée D : calice coupé par la lèvre inférieure E : fleur avec bractée avec vue de côté F : corolle coupée par la lèvre inférieure

I.8 Origine et Répartition géographique

Le genre *Origanum* a été particulièrement étudié par **Ietswaart en 1980**. Il reconnaît 3 groupes, 10 sections, 38 espèces, 6 sous-espèces, 3 variétés et 16 hybrides (Tableau 01). Le genre *Origanum* est largement présent des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie. On peut le rencontrer aussi en culture à Cuba ou dans l'île de Réunion, mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante s arabes et même dans le langage populaire (**Baba aissa, 2000**).

Certaines espèces sont endémiques à un pays. Par exemple *O. saccatum*, *O. boissieri*, *O. hypericifolium*, *O. sipyleum*, *O. acutidens*, *O. haussknechtii*, *O. brevidens*, etc.... sont particulières à la Turquie, pays qui est considéré comme le centre génique du genre *Origanum* puisqu'il en possède 16 espèces (**Baser, 1995**). De plus la Turquie est aussi un important centre génique de la famille des *Lamiaceae* ; cette famille est représentée par 45 genres, 546 espèces et 730 taxons. Les espèces endémiques représentent 44,2 % (**Baser, 1993**). La Grèce compte 11 espèces tandis que la Crète en compte 5 (**Greuter, 1986**). Il faut souligner que la distinction entre marjolaine et origan n'est pas toujours très claire dans la littérature et dans la pratique commerciale ; de nombreuses dénominations sont utilisées pour désigner les huiles essentielles d'origan et il y a souvent confusion entre genre et espèce.



Figure 05. Aire de distribution du genre *Origanum* (**Ietswaart, 1980**).

I.8.1 Distribution géographique du genre *Origanum* en l'Algérie

Le genre *Origanum* est une plante répandue en Algérie (**Chokhoune., 2007**), elle est représentée par trois espèces spontanée phylogénétiquement proche *Origanum majorana* et *Origanum vulgare ssp glandulosum Desf* endémique algérotunisienne et *Origanum floribundum* endémique algérienne (**Daoudi-Merbah., 2013**).

I.9 Propriétés et utilisation

A. Utilisations traditionnelles

L'origan freine les fermentations intestinales. En effet, il est riche en substances aromatiques qui font un petit nettoyage dans les bactéries et les levures que l'on absorbe avec la nourriture. Et si vous avez une digestion lente de nature, les aliments vont stagner dans votre tube digestif. Mais voilà, stagnation + bactéries = fermentations. L'origan réduit ce phénomène de ballonnements. Ensuite, il est antispasmodique. Lorsqu'il y a des spasmes, des crampes digestives donc, il va relaxer les muscles lisses et donner un peu de répit. Vous avez différentes manières de le prendre. D'abord sous forme d'une petite infusion sur la digestion, pas trop de liquide non plus pour ne pas trop diluer les sucs digestifs. Ou sous forme de teinture, c'est-à-dire une macération alcoolique, dans un peu d'eau. On pourrait aussi se fabriquer une petite liqueur digestive d'origan, ça peut être sympathique

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**).

B. Utilisations actuelles

L'origan est de plus en plus populaire comme remède naturel. Son utilisation comme plante bénéfique pour la santé remonte à des siècles. La science moderne en confirme les raisons. Elle contient des quantités élevées d'oméga-3, de fer, de manganèse, de vitamine K et d'antioxydants.

L'huile essentielle d'origan est bien connue dans les communautés de santé naturelle pour ses propriétés antibactériennes. Elle est même étudiée par la communauté médicale dominante pour ses bienfaits potentiels pour la santé.

Selon une étude réalisée en 2013, l'origan et d'autres herbes de la famille des *lamiacées* peuvent aider à stimuler le système immunitaire. Ceci pourrait expliquer l'utilisation traditionnelle de l'origan pour le traitement des maladies. Mais l'origan est plus qu'un stimulateur immunitaire. Une étude publiée dans Cancer Letters a révélé qu'un composé dans l'origan semblait prometteur en tant que tueur potentiel de cellules cancéreuses dans les cancers de la prostate, du sein, de la peau, de la leucémie et du colon.

L'Agence française du médicament reconnaît l'efficacité de l'origan dans les traitements symptomatiques des troubles digestifs tels que les ballonnements épigastriques, la lenteur à la digestion, les flatulences mais également au cours des affections bronchiques aiguës bénignes. Les propriétés antibactériennes de l'origan et de son huile essentielle ont été démontrées sur les bactéries *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. L'huile essentielle est également efficace contre plusieurs parasites intestinaux.

I.10 Effets nocifs de la plante

L'origan est déconseillé aux personnes souffrant d'hypertension en raison de son action tonifiante. Il est également déconseillé aux personnes sous traitement anticoagulant à cause de sa teneur en vitamine K, et aux personnes sous trithérapie ou chimiothérapie.

Théoriquement, l'origan pourrait abaisser le taux de glucose dans le sang. Les patients diabétiques ne doivent donc pas trop consommer de produits à base d'origan.

I.11 Composition

Origanum vulgare comportent les flavonoïdes, les terpènes, les tanins catéchiques, les anthocyanes et les saponosides (Bouhadouda., 2016).

A. Aspect phytochimique

A.1.Flavonoides

Les flavonoïdes au sens large sont des pigments quasiment universels des végétaux (Rice-Evans et al.,1996). Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, Les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces diverses structures se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes

vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Les flavonoïdes sont surtout abondants chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles : Polygonacées, Rutacées, Légumineuses, Ombellifères et Composées (**Paris., 1980**).

La présence de flavonoïdes chez les algues n'a pas, à ce jour, été démontrée. S'ils sont fréquents chez les Bryophytes (Mousses et Hépatiques), ce sont toujours des flavonoïdes stricto sensu. Majoritairement des O et C-Hétérosides de flavones et des dérivés O-uroniques. Ils sont Présents dans les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes ; les feuilles et les boutons floraux (**Paris., 1980**).

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, hydrosolubles, s'accumulent dans des vacuoles et, selon les espèces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophile (mais ces deux tissus peuvent accumuler spécifiquement des substances différentes. Comme cela a été démontré chez certaines Céréales, dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques (**Bruneton., 1999**).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune ce qui explique le fait qu'ils possèdent le même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3. Ils peuvent être regroupés en plusieurs classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central les hétérosides flavonoïdiques, les anthocyanes, les iso flavonoïdes et les flavonoïdes au sens strict comprenant les flavones, les flavonols, les dihydroflavonols, les flavanones ainsi que les aures et les chalcones (**Bruneton,1999**).

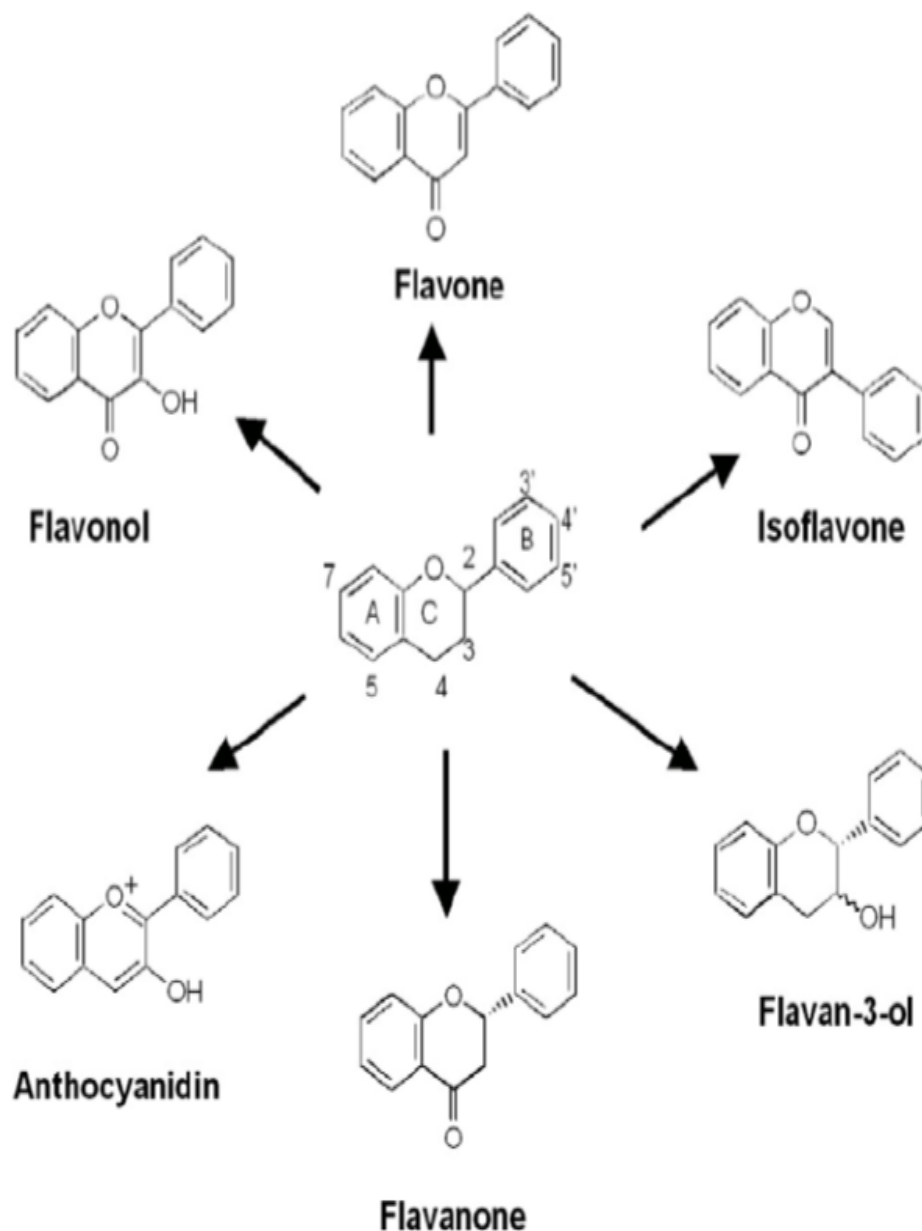


Figure06 : Structures des différentes classes de flavonoïdes (Bakkali et al., 2008)

A.2.Terpenes :

Dans le règne végétal, les terpènes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène (à 5 atomes de carbone). A ce jour, avec plus de 30 000 molécules identifiées, les terpènes constituent l'une des plus polymorphes et des plus grandes familles de composés naturels : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tetraterpènes (C₄₀) et polyterpènes (Harkati 2011)

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est (C_5H_x) n dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 .

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) (Malecky 2008)

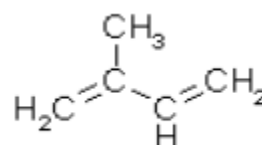


Figure 07 : La molécule d'isoprène

A.3.les anthocyanes :

Leur structure de base est constituée de deux cycles benzéniques reliés par un ion flavylum généralement glycosylé en C3 (Figure 08). Les cinq anthocyanidines, aglycones, rencontrées dans le genre *Vitis* sont la malvidine, la paeonidine, la delphinidine, la pétunidine et la cyanidine se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation du cycle B. L'aglycone est le groupement chromophore du pigment. Les anthocyanines sont estérifiées par des sucres en position R3 ou R5, ces sucres étant eux-mêmes estérifiés en position 5 par des acides aliphatiques (acide acétique) ou aromatiques (acide para-coumarique ou caféique). La glycosylation et la méthylation participent à la stabilisation des anthocyanes en les protégeant de l'oxydation (Lacampagne 2010)

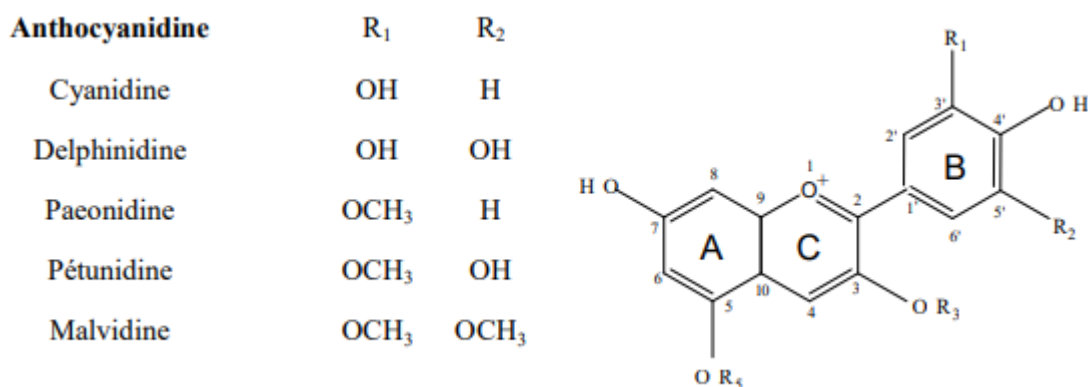


Figure 08 : Structure chimique de base des anthocyanidines.

A.4. Les saponosides :

Les saponosides sont des composés, pour la plupart, très polaires et sont souvent retrouvés sous forme de mélanges complexes dans la plante. Ils possèdent en outre un large spectre de propriétés biologiques et pharmacologiques notamment des propriétés immunomodulatrice, immunoadjuvante, cytotoxique, antitumorale et hypocholestérolémiant. Les chaînes oligosaccharidiques greffées sur l'aglycone sont soit linéaires, soit branchées et peuvent renfermer jusqu'à 11 monosaccharides. (**boutaghane 2013**)

Le saponoside (ou saponine) est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine, possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides, largement distribués chez les plantes supérieures, leurs propriétés tensio-actives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former des solutions moussantes colloïdales par agitation (**Tyler et al., 1981**). Ils sont capables d'agir par la perméabilité des membranes cellulaires.

I.12 Stress hydrique

I.12.1 Notion de stress

Selon les définitions. Selon Jones, un stress désigne à la fois l'action d'un agent agresseur et les réactions qu'il entraîne dans l'organisme agressé, une force qui tend à inhiber les systèmes normaux (**Tsimilli-Michael et al., 1998**). D'autre part, les stress environnementaux nés de la fluctuation des facteurs abiotiques (sécheresse, salinité, température) affectent les conditions de croissance, le développement et le rendement des plantes (**Madhava Rao et al., 2006**).

I.12.2 Stress hydrique

Le déficit hydrique est une contrainte permanente de la production agricole dans de nombreux pays au climat de type méditerranéen. Elle est à l'origine des pertes de production agricole dans de nombreuses régions. Les risques du manque d'eau sont et deviendront de plus en plus fréquents et persistants, à l'avenir, par suite des changements climatiques causés par l'effet de serre (**Witcombe et al., 2009**). En effet, on assiste à un stress hydrique lorsque la demande en eau dépasse la quantité disponible pendant une

certaine période ou lorsque sa mauvaise qualité en limite l'usage (**Madhava Rao et al., 2006**).

A. Mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique

La résistance d'une plante à une contrainte hydrique peut être définie, du point de vue physiologique, par sa capacité à survivre et à s'accroître et du point de vue agronomique, par l'obtention d'un rendement plus élevé que celui des plantes sensibles (**Rao et al., 2006**). La résistance globale d'une plante au stress hydrique apparaît comme le résultat de nombreuses modifications phénologiques, anatomiques, morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires qui interagissent pour permettre le maintien de la croissance, du développement et de production (**Hsissou, 1994**).

B. Stratégies de résistance

Classiquement, ces stratégies ont été groupées en trois catégories à savoir l'échappement, l'évitement et la tolérance (**Levitt, 1972**). Pourtant, ces stratégies ne sont pas mutuellement exclusives. En effet, les plantes peuvent combiner tout un ensemble de réponses (**Ludlow, 89**).

B.1.Stratégie de tolérance

La tolérance des tissus à un potentiel hydrique faible peut impliquer l'ajustement osmotique (**Morgan, 1984**), des parois cellulaires plus rigides et des cellules de petite taille (**Wilson et al, 1980**). Plusieurs espèces d'arbres et d'arbustes dans les régions arides et semi arides combinent une forte concentration des solutés avec une capacité photosynthétique et une conductance stomatique réduites. La plupart de ces adaptations à la sécheresse ne se privent pas d'inconvénients. Par Conséquent, l'adaptation des plantes à la sécheresse doit refléter un équilibre entre l'échappement, l'évitement et la tolérance afin de maintenir une productivité adéquate (**Mitra, 2001**)

I.12.3 Stress oxydatif

Le stress oxydant peut se définir comme un déséquilibre dans la balance entre des producteurs de radicaux libres (pro-oxydants) et protections contre radicaux libres (Antioxydants). Une conséquence des stress environnementaux, comprenant le stress hydrique, est l'apparition d'un stress

oxydatif, c'est-à-dire l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui endommagent les structures cellulaires (**Appel et Hirt, 2004**).

Dans des conditions optimales, les feuilles sont dotées d'enzymes et des métabolites antioxydants suffisants pour faire face aux ROS. De nombreux travaux montrent que des enzymes telles que des superoxide dismutases (SOD), des ascorbates peroxydases (APX), des catalases (CA), des glutathion-S- transférases (GST) et des glutathion peroxydases (GPX)

S'accumulent pendant le stress hydrique (**Flexas et al., 2006**). La capacité du système antioxydant est déterminante pour maintenir l'intégrité du système photosynthétique lors d'une contrainte hydrique. Il existe différents mécanismes d'adaptation des plantes au stress hydrique. Chaque espèce se diffère de sa méthode physiologique et biochimique de synthétiser des différents composés biochimiques : sucre, proline, composés phénoliques.

A. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules produites par différentes réactions du métabolisme cellulaire. Ils peuvent avoir des effets néfastes sur l'intégrité des différentes composantes de la plante à cause de leur forte réactivité. Les radicaux superoxy (oxygène) et hydroxyle (OH) sont extrêmement réactifs, alors que le peroxyde d'hydrogène (l'eau oxygénée) qui est le plus abondant est le moins oxydant.

Depuis longtemps, les radicaux libres ont donc été considérés comme des sous-produits métaboliques indésirables qui doivent être désactivés pour éviter des dommages oxydants non-spécifiques dans les cellules. Cette vue un peu simpliste s'est transformée récemment par les évidences montrant que les radicaux libres peuvent aussi jouer un rôle important en agissant comme des molécules signal impliquées dans la régulation de plusieurs processus biologiques, dont la réponse des végétaux aux stress environnementaux. En effet, une faible augmentation de la concentration des radicaux libres, notamment le l'eau oxygénée, peut induire la tolérance à un stress tandis que de fortes accumulations peuvent activer le processus de mort cellulaire programmée. Ainsi, la balance entre l'acclimatation aux stress ou la mort cellulaire dépend d'interactions complexes entre d'une part la production et l'utilisation du pouvoir réducteur des radicaux libres générés par le flux d'électrons dans les chloroplastes, et d'autre part de antioxydants qui

détoxifient ces radicaux libres et donc influe sur leur pouvoir de signalisation (Foyer et Noctor 2009 ; Mittler et al. 2004)

B. Détoxification des radicaux libres par les composés phénoliques

Lors d'un stress oxydant comme la photo inhibition, il a été proposé que les composés phénoliques pourraient contribuer à détoxifier les radicaux libres (Takahama, 2004). Les composés phénoliques joueraient le rôle de donneurs d'électrons et d'un atome d'hydrogène afin de réduire le peroxyde d'hydrogène pour les scinder en eau et oxygène (Castelluccio et al., 1995 ; Yamasaki et al., 1997). Cette réaction est catalysée par les peroxydases de classe III, le plus souvent dénotée guaiacol peroxydase, qui se retrouvent dans les vacuoles et l'apoplaste (parois cellulaires) (Almagro et al., 2009). L'acide ascorbique pourra être de nouveau réduit à l'aide de l'enzyme de hydroascorbate réductase pour être réutilisé. Si les composés phénoliques ne sont pas régénérés par l'acide ascorbique, ils seront polymérisés et seront responsables du noircissement de l'épiderme observable sous conditions de stress photooxydants (Yamasaki et al., 1997).

Il n'est d'ailleurs bien documenté que la concentration des composés phénoliques augmente dans les végétaux soumis à divers stress environnementaux (Dixon et Paiva 1995), des changements de leurs propriétés d'oxydoréduction causés par les stress environnementaux. Lors de stress chroniques, mais modérés, telles les fortes intensités lumineuses et le stress hydrique, il y a non seulement une augmentation globale de la concentration de composés phénoliques dans les plantes (Dixon et Paiva 1995), mais aussi une accumulation de composés comme la quercétine (Tattini et al., 2004) et les anthocyanines (Gould et al., 2010), réputées comme excellents antioxydants de par leur groupement catéchol (o-dihydroxybenzène)

Deuxième Partie :

Pratique

Chapitre III :

Matériels et Méthodes

I.13 Choix, localisation et climatologie des deux stations d'étude :

A. Choix et localisation :

Le choix de ces deux stations a été basé sur des critères écologiques (climat, sol, précipitations et altitude). Ces derniers ont une influence sur le développement de la plante, sur les métabolites secondaires et sur l'anatomie de la plante sur lesquelles nous avons focalisé notre travail. La première zone d'étude est située dans la région Sebdoou localisée au centre de la wilaya de Tlemcen. Son chef-lieu est situé à 38 km au Sud de Tlemcen.

La localisation géographique avec la texture du sol des deux stations d'étude est donnée dans **tableau01**



Figure09 : la localisation géographique des échantillons prélevés dans la région Chrea (Wilaya Blida)



Figure 10 : la localisation géographique des échantillons prélevés dans la région Sebdoou (Wilaya Tlemcen)

Tableau 1 : Localisation et texture du sol des deux stations d'étude

Station	Texture du sol	Latitude	Longitude	Altitude(m) par rapport au niveau de la mer
Sebdou	S-L	34° 38'22''nord	1° 19' 37''ouest	909m
chrea	S-L	2.87665 36° 25' 32'' nord	2° 52' 36'' Est	1927m

B. Choix climatologie :

B.1 pluviométrie :

La précipitation est la quantité d'eau météorique totale, liquide (Pluie, brouillard, rosée) ou solide (neige, grêle...) qui tombe sur une surface horizontale. L'étude des précipitations est très importante, elle permet de déterminer la part d'eau qui parvient pour l'alimentation des ressources souterraines.

B.1.1. Station de Tlemcen :

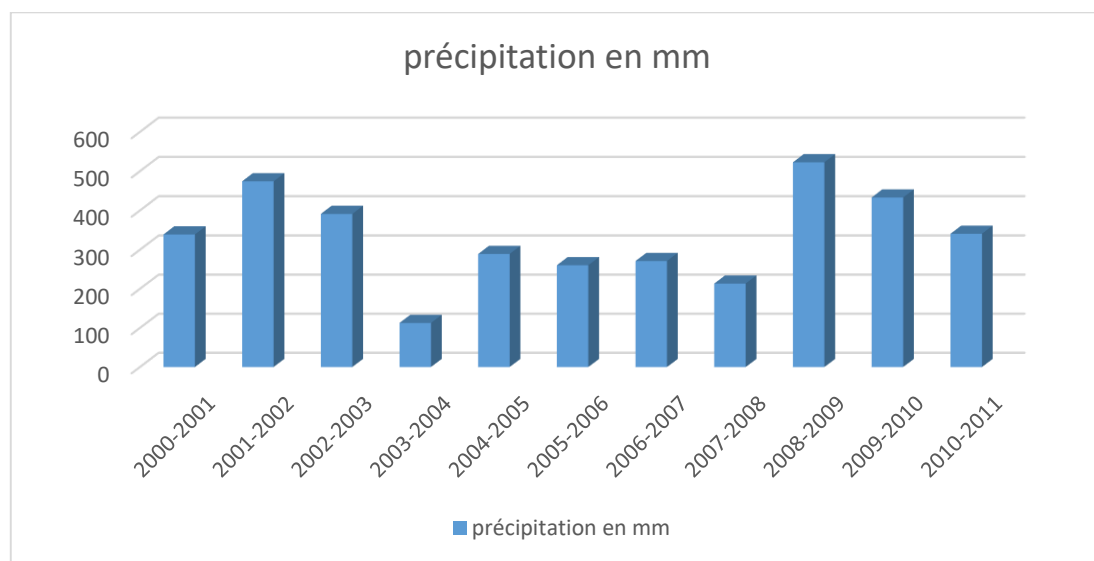


Figure 11 : précipitation moyenne mensuelle en (mm) de la station de Tlemcen (2000-2011)

Selon la **figure 11** la région de Tlemcen est caractérisée par l'année la plus arrosée est l'année (2008-2009) avec des précipitation moyennes mensuelles de 522.8 mm Par contre, l'année la plus sèche correspond à l'année (2003-2004) avec une précipitation moyenne mensuelle de l'ordre de 112.8 mm

B.1.2. Station de Blida :

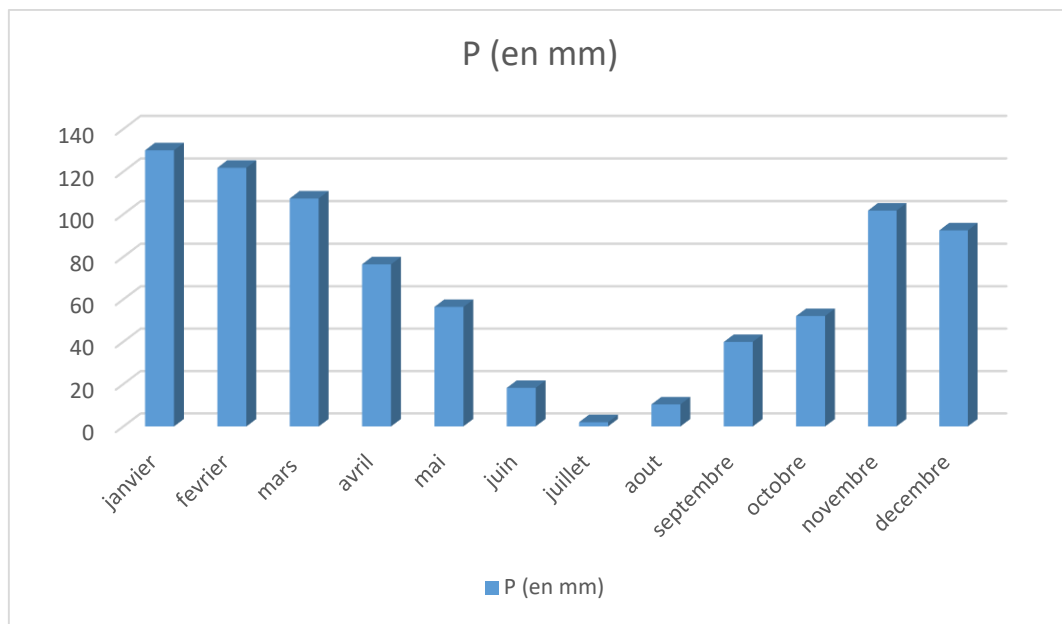


Figure 12 : précipitation moyenne mensuelle en(mm) de la station de blida (2010-2019) (donnes obtenues d'office nationale de la météorologie de dar el Beida Alger)

Selon **La figure 12** la région de Blida est caractérisée par le mois le plus arrosée est le mois janvier avec précipitation moyennes mensuelles de 130 mm Par contre, le mois le plus sec correspond au mois de juillet avec une précipitation moyenne mensuelle de l'ordre de 2mm

B.2 Température :

La température est un facteur important, elle régit l'évaporation et influence ainsi la variation des réserves d'eau souterraine

B.2.1 Station de Tlemcen :

Selon **la figure 13**, la région de Tlemcen est caractérisée par l'année le plus froid est l'année (2008-2009) avec une température moyenne mensuelle de 17°C. l'année (2006-2007) est l'année le plus chaud avec une température moyenne mensuelle de 19.4°C

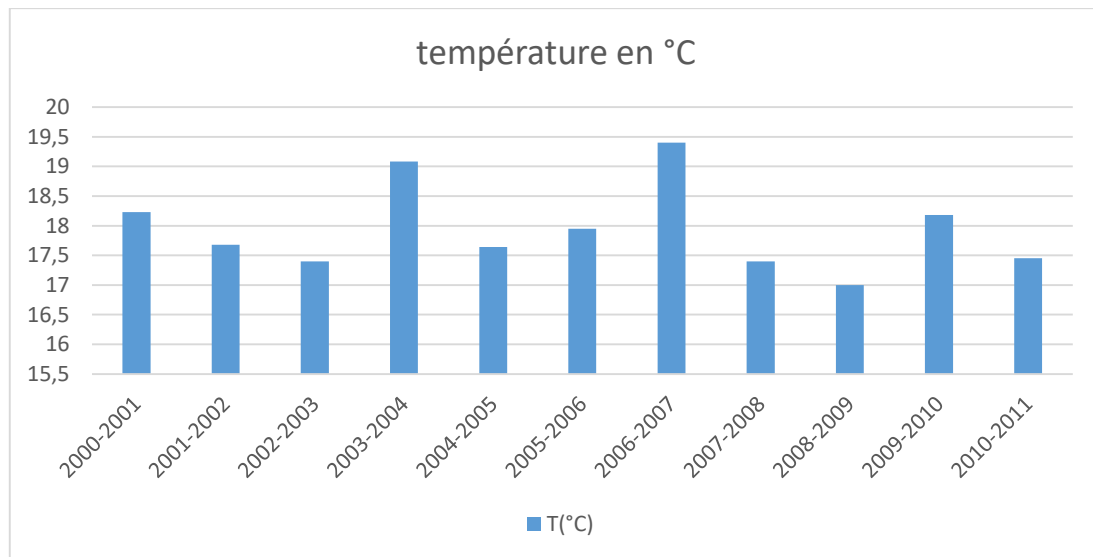


Figure 13 : Variation des températures de la station de Tlemcen (2000-2011)

B.2.2 Station de Blida :

Selon La **figure 12** la région de Blida est caractérisée par l'année le plus froid est l'année 2013 avec une température moyenne mensuelle de 21.7°C. l'année 2017 est l'année le plus chaud avec une température moyenne mensuelle de 23.3°C.

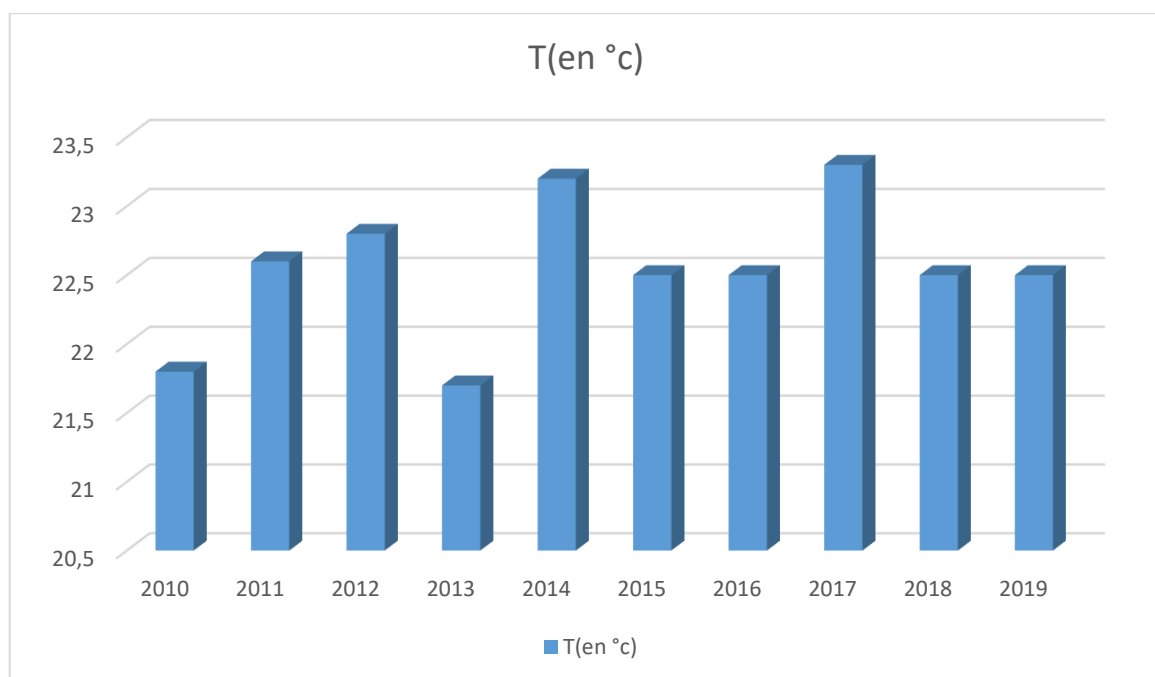


Figure 14 : Variation des températures de la station de Blida (2010-2019)
(données obtenues d'Office Nationale de la Météorologie de Dar El Beida, Alger)

B. Indice d'aridité de DERMARTONNE :

En se basant sur le régime des précipitations et des températures, DEMARTONNE (1923) a défini un indice d'aridité (A)

$$A = P/T + 10$$

P : Précipitation moyennes annuelles (mm).

T : Températures moyennes annuelles (°C).

Dans le cas de Blida, les températures et les précipitations moyennes annuelles sont respectivement : $T = 15.9^{\circ}\text{C}$ et $P = 650$ mm Il en résulte un indice d'aridité de DERMARTONNE de 25.09 On en déduit que le climat de la région de Blida est de type méditerranéen (semi-humide) En ce qui concerne la station de Tlemcen, les températures et les précipitations moyennes annuelles sont respectivement : $T = 18^{\circ}\text{C}$ et $P = 331.7$ mm Il en résulte un indice d'aridité de DERMARTONNE de 28.42. On en conclue que le climat de la région de Tlemcen est de type semi-aride.

I.14 Matériel biologique

La partie aérienne de *Origanum vulgare* a été collectée au début du mois mars 2020 au niveau des rochers calcaires des montagnes de Sebdou. La deuxième a été récoltée durant le mois de Mars 2020 dans la région de Blida plus précisément au sein de Chrea. Seulement la partie aérienne (les feuilles) de la plante est concernée par l'étude.

Après la récolte, les échantillons sont mis dans des sacs bien aérés, puis étalés sur du papier à l'ombre et à l'abri de l'humidité, à la température ambiante, jusqu'à ce qu'ils deviennent complètement secs. Par la suite, nous avons effectué des extractions des huiles essentielles (HE).

I.15 Méthodes

I.15.1 Extraction par hydro distillation des huiles essentielles :

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme, cependant comme dans toute méthode d'extraction, les conditions optimales d'utilisation d'une méthode d'extraction dépendent du rendement en HE. Plusieurs paramètres tels que la quantité du matériel végétal, l'état du matériel végétal, la quantité d'eau introduite, la durée de l'extraction, influent sur le rendement.

Il a été vérifié que le rendement diminue fortement, d'une part quand la charge du matériel végétal augmente, et d'autre part quand on introduit une quantité d'eau trop importante (**Boutedjiret, 1990**).

Dans cette étude, la méthode d'extraction utilisée est l'hydrodistillation. L'extraction des HE a été effectuée au niveau du laboratoire de chimie du département de technologie ENSA El Harache.

-Procédé

d'extraction :

L'étude est réalisée dans sa totalité à l'échelle du laboratoire sur un montage de type « Clevenger ». Ce montage se compose de quatre pallies principales

- Le réacteur, un ballon dans lequel on introduit la matière végétale et l'eau.
- La colonne, un cylindre en verre placé au-dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur.
- Le réfrigérant dans lequel se condensent les vapeurs.
- L'ampoule à décantation, où l'huile se récupère en deux phases, l'un est la phase organique (huile essentielle) et l'autre la phase aqueuse (hydrolat).

L'opération consiste à introduire (70 à 100 g) de l'échantillon dans un ballon en verre de 2 litres, on y ajoute une quantité suffisante d'eau de robinet sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide de chauffe ballon.

C'est au bout d'une demi-heure de chauffage régulier, que commence l'évaporation. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée les vapeurs seront chargées d'eau et de l'huile.

Après condensation, le liquide ainsi obtenu ou le distillat ne s'écoule goutte à goutte et recueilli dans un flacon collecteur, situé à l'extrémité inférieure du tube réfrigérant.

L'extraction dure environ deux heures, jusqu'à ce que les gouttes condensées ne contiennent plus d'huile à leur surface. Par la suite, l'huile essentielle a été séparée par décantation puis récupérée dans des flacons opaques bien scellés, et enfin conservée à température basse (4-5 Co).

- Rendement en HE

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse végétale sèche à traiter (**Carré, 1953**). Le rendement en HE est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Rmt \%} = \frac{M1 \cdot 100}{M0}$$

Rmt : rendement en HE exprimé en pourcentage (%).

M1 : masses-en (g) d'HE.

M0 : masses-en (g) de la matière végétale traitée.

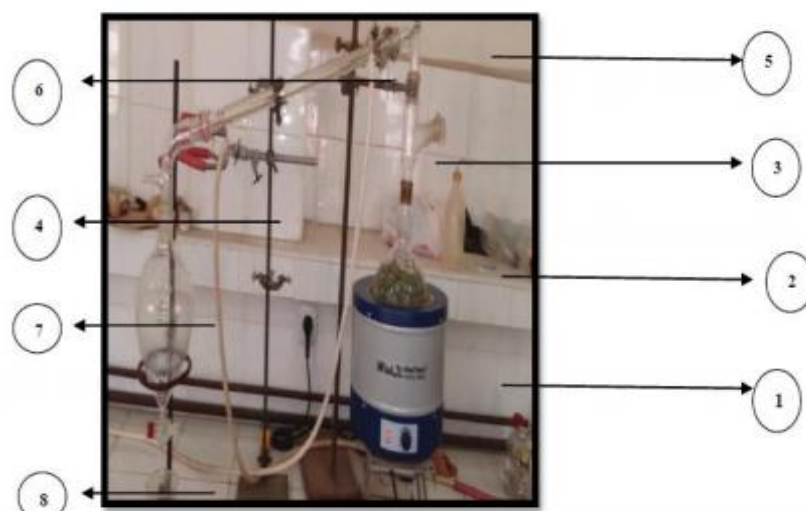


Figure15 : Dispositif d'extraction de type de Clevengr

1-Chauffe ballon. 2-Ballon monocol (Eau + biomasse végétale). 3- sortie d'eau. 4- entrée d'eau. 5-Allongeur. 6-Réfrigérant. 7-empoule à déconté (hydrodistillat). 8- Bicher

I.15.2 Préparation de la poudre

Les feuilles de la plante fraîchement récoltées sont lavées à l'eau de robinet, découpées et laissées sécher à l'ombre dans un endroit sec et bien aéré pendant 20 jours. Après sont pilées dans un mortier propre puis finement broyées à l'aide d'un

broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons en verre stériles hermétiquement fermés.

I.15.3 Préparation des extraits

A-Extrait aqueux

Nous avons mélangé 20g de poudre dans 100ml d'eau distillée bouillie puis laissée 20 min pour infusion avec agitation de temps en temps. L'extrait aqueux obtenu est ensuite centrifugé à 1000 tours/min pendant 10minutes pour débarrasser des débris puis filtré sur papier filtre de type wattman de type wattman N°3. Le filtrat est recueilli dans des petits flacons en verre.

B. Extrait méthanolique

Suivant le protocole d'extraction décrit par (**Owen et al, 2003**) et légèrement modifié. Le matériel végétal broyé (20 g) est soumis à une extraction par macération dans le mélange méthanol / eau (80/20v/v) pendant 72 heures avec renouvellement de solvant chaque 24 heures sous agitation à température ambiante. La solution est ensuite filtrée avec un papier filtre de type wattman n°3. Le marc résiduel a subi une deuxième et une troisième extraction avec le même solvant. Après filtration, les filtrats obtenus sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pendant 60min à une température de 60°C. L'extrait sec est pesé pour le calcul de rendement. Ce dernier est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R \% = (PES / PE) \times 100$$

R % : rendement en pourcentage

PES : poids de l'extrait sec (g)

PE : poids de l'échantillon poudre (g)

I.15.4 Screening phytochimique

Il englobe une série de méthodes colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans la plante à partir de sa poudre ou de l'infusé. Le screening aide à chercher : les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tannins totaux, les irridioïdes, les tannins galliques les tannins cathéchiques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les sénosides, les quinones, les coumarines et les mucilages. Le tableau montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires.

Tableau 02 : Screening phytochimique (Harborne et al., 1998 ; Raaman et al., 2006)

Métabolite secondaire	Méthodes	Résultat attendu
Anthocyanes	5ml d'infusé + quelques gouttes d'HCL.	Coloration rouge
Leuco-anthocyanes	2 g de poudre+ 20 ml de propanol / acide chlorhydrique (1/1). Porter à ébullition au bain Marie.	Coloration rouge
Tanins totaux	5ml d'infusé + quelques gouttes de FeCl ₃	Coloration bleue noire
Irridoïdes	2 ml d'infusé + quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Chauffer un peu.	Coloration bleu
Tanins galliques	1ml d'infusé + 2g d'acétate de sodium+quelques gouttes de FeCl ₃ .	Coloration bleue foncée
Tanins galliques	1ml d'infusé + 2g d'acétate de sodium+quelques gouttes de FeCl ₃ .	Coloration bleue foncée
Alcaloïdes	5g de poudre + 50 ml d'ether : chloroforme 3/1 Filtrer après 24h puis épuiser avec du HCL.	Précipité rouge
Flavonoïdes	À 5 ml d'infusé + 5 ml d'acide chlorhydrique + un coupon de Zinc +1 ml d'alcool iso-amylque	Coloration rouge orangée
Sénosides	2,5 g de poudre + 50 ml d'eau distillée + 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. Chauffer pendant 15 min+40 ml d'éther. La couche étherée est séparée, séchée avec le sulfate de sodium anhydre, évaporée+ 5 ml d'ammoniaque diluée (1/2) au résidu refroidi.	Coloration violette rouge
Quinones	Humecter 2 g de poudre par 2 ml d'acide chlorhydrique+ 20 ml de chloroforme. Après 3 heures, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2).	Coloration rouge
Coumarines	Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'éthanol pendant 15 minutes. 5 ml du filtrat+ 10 gouttes d'hydroxyde de potassium à 10 %+	Formation d'un trouble
Mucilages	quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10 %. 5 ml d'éthanol absolu sont ajoutés à 1 ml d'infusé. Le mélange est incubé pendant 15 minutes.	Précipité floconneux
Saponosides	A 2 ml d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb	Formation d'un précipité blanc

I.15.5 Caractérisation quantitative des extraits

I.15.5.1 Dosage des Poly-phénols et flavonoïdes

A-Poly-phénols

But : La détermination de la teneur en poly-phénols totaux dans l'extrait des racines de *Origanum vulgare L* par la méthode Spectrophotométrie UV-Vis selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (Singleton et al, 1999).

- Principe

Ce dosage est décrit par (Skerget et al.,2005). Basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin- Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro-polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro- polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu.

- Mode opératoire

A 0.2 mL d'EM (avec concentrations convenables : 200µg/mL, 20µg/mL et 2µg/mL) est ajouté 0.8 mL de la solution de Na₂CO₃ (75 mg/mL dans l'eau distillée), après agitation, 1mL de la solution de FolinCiocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 760 nm contre un blanc sans extrait. Le taux de poly-phénols totaux dans l'extrait, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=a \cdot x+b$), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-0,5 g/l) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en gramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de poudre.

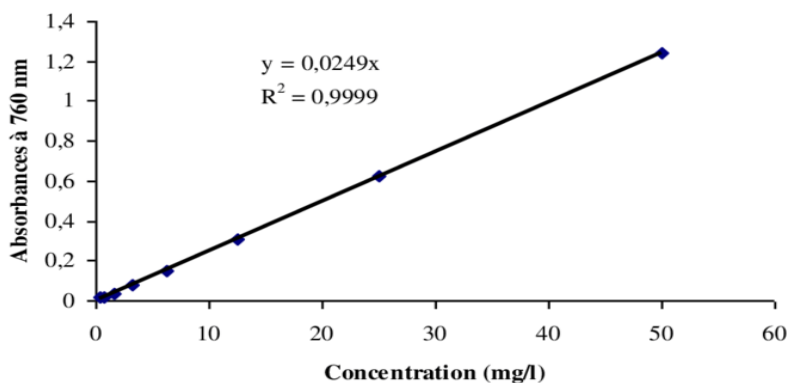


Figure 16 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

B. Flavonoïdes

But : Détermination de la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait des feuilles d'*Origanum vulgare* L par La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ décrite par (Yi et al., 2007).

- Mode opératoire

1 ml de chaque concentration obtenue par dilutions de l'Eaq de (10mg/mL, 8mg/mL, 6mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL) est ajouté à 1mL de la solution d' $AlCl_3$ (2% dans le méthanol), le mélange est vigoureusement agité. Après 10 min d'incubation, l'absorbance est lue à 430 nm. Une courbe d'étalonnage ($y=a \cdot x+b$) établie par la quercétine (0-350 $\mu\text{g/ml}$), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en gramme d'équivalent de quercétine par gramme de poudre.

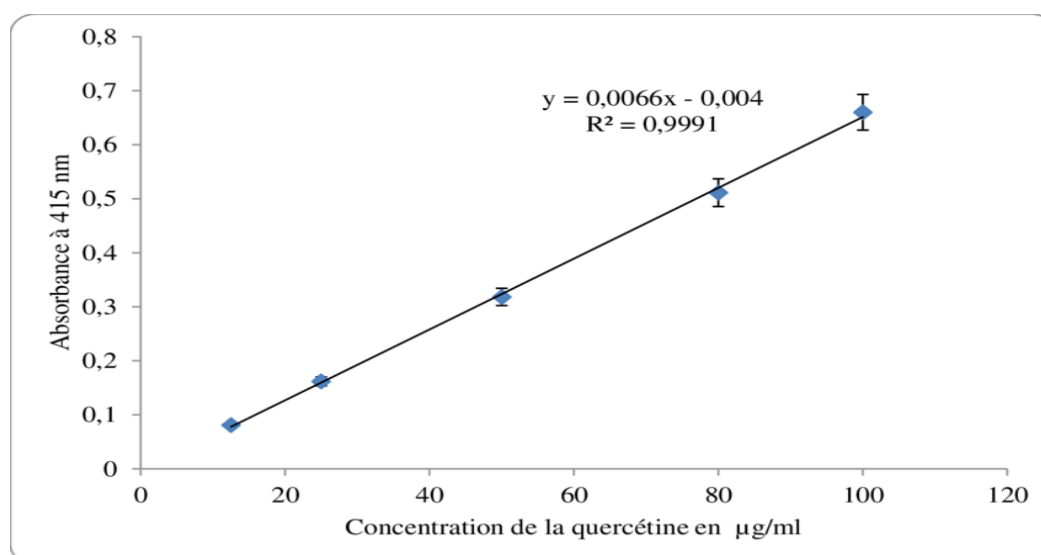


Figure 17: courbe d'étalonnage de la quercétine.

I.15.6 Activité anti-oxydante (in vitro)

Principe : selon (Brand-Williams et al, 1995) La capacité anti-oxydante peut être aussi mesurée en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité anti-oxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piègeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration (jaune) dans la solution initiale

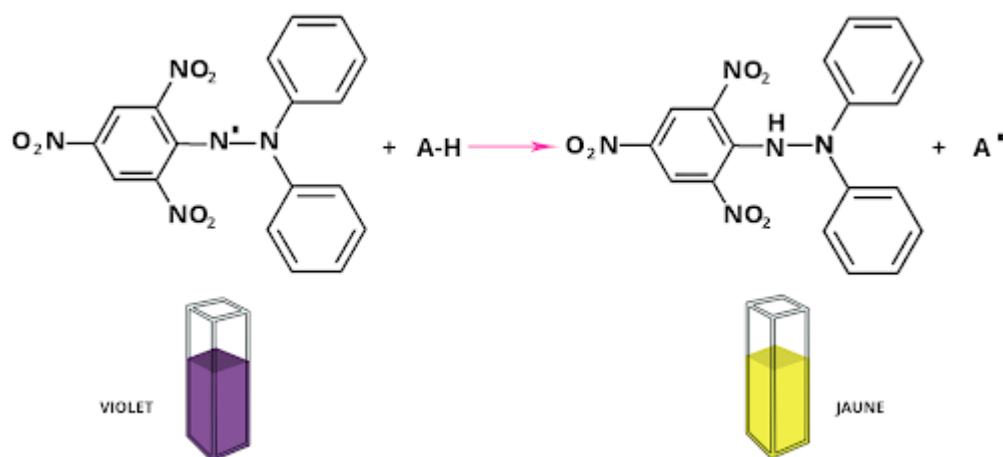


Figure 18 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

- Mode opératoire

50 microlitres d'Eaq de *Origanum vulgare L* à différentes concentrations (10mg/mL, 8Mg/mL, 6 mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL) et de EM de concentration (200µg/mL, 20 µg/mL, 2µg/mL, 0.2µ/mL, 0.02 µg/mL) est ajouté à 5 mL de la solution méthanolique du DPPH (0,004%).

En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µL de méthanol avec 5 ml de la solution méthanolique de DPPH.

Egalement le même test a été réalisé dans les mêmes conditions opératoires avec un antioxydant de référence : acide ascorbique.

- Lecture des résultats

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 516 nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante. (Gürsoy et al, 2012).

L'activité anti-oxydante est estimée selon l'équation suivante :

$$I\% = [1 - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs contrôle})] \times 100.$$

I% : pourcentage d'inhibition ou d'activité anti radicalaire.

Abs contrôle : Absorbance du contrôle négatif.

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

- IC50

Ce paramètre est défini selon (**Pokorny et al, 2001**) comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%, il est inversement lié à la capacité antioxydante

Le paramètre IC50 a été calculé à partir de la courbe de régression linéaire tracée du

Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait aqueux.

I.15.7 Anatomie des feuilles de *Origanum vulgare L*

Les coupes anatomiques des feuilles de *Origanum vulgare L* s'effectuent comme suite :

1. Coupe à main levée en utilisant comme support la moelle de sureau ; les coupes sont mises dans l'eau distillée pour éviter le séchage.
2. Un prétraitement dans une solution d'hypochlorite de sodium à 12° pour pouvoir vider les cellules de leur contenu pendant 20 mn ;
3. Un rinçage dans de l'eau distillée durant 3 mn, puis dans de l'acide acétique à 5 % pendant 5 mn ;
4. Un rinçage dans de l'eau distillée durant 3 mn, puis une coloration des coupes en utilisant le carmino-vert qui donne une coloration rose pour les parois celluloses et une coloration verte pour les parties lignifiées ;
5. Un prétraitement dans une solution de Rutheniumrot diluée dans l'eau distillée pour colorer les parois celluloses quelque minute.
6. Un montage des coupes dans une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle est observé immédiatement au microscope photonique. Plusieurs coupes ont été observées et les plus intéressantes ont été photographiées

Remarque : Vue le confinement, on n'a pas pu réaliser notre stage donc dans l'obligation de synthèse des travaux antérieurs accomplies par plusieurs auteurs. Ces travaux se basent sur les tests cités ci-dessus.

Le Matériel végétal utilisé dans chaque test analytique par les auteurs est donné par les tableaux suivants :

Badi Selma, et al (2019).

Séchage du matériel végétal

Les feuilles de l'*Origanum vulgare* ont été séchées à une température ambiante dans un endroit aéré et ombragé pendant une semaine, dans des étagères recouvertes de papierpeint afin d'éviter tout dépôt de moisissures. (Owen et Johns, 1999)

Afif Chaouche, T. (2015

Matériel végétal

La récolte des plantes et l'étude ethnopharmacologique ont été faites dans la zone de Tizi Ouzou, située au nord-est de l'Algérie, à 80 Km environ de la capitale Alger. Tizi Ouzou s'étend sur une superficie de 2958 Km² (Agence nationale d'intermédiation et de régulation foncière, 2013). Tizi Ouzou est limitée au sud par la wilaya de Bouira, à l'est par la wilaya de Bejaia, à l'ouest par la wilaya de Boumerdes et est ouverte au nord sur la mer méditerranée

Extraction des huiles essentielles

100 g de la partie aérienne fraîche: feuilles, fleurs, tiges et graines ont été mis dans un ballon rempli de 600 ml d'eau distillée puis portée à ébullition pendant 3 heures (Fig. 9). L'eau recueillie en fin d'extraction subie deux lavages à l'éther di éthylique afin de séparer l'huile extraite. Après évaporation de l'éther di éthylique, l'huile est collectée dans un flacon opaque et conservée à 4°C jusqu'à utilisation

Bekhechi C., 2008

Seule les parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) des différentes plantes sont utilisées

La récolte du matériel végétal

La cueillette a été faite en période de pleine floraison (mois de Juin) sur 2 années successives pour *Thymus fontanesii* et *Ziziphora hispanica* (2004 / 2005) et sur 3 années successives pour *Ammoides verticillata*, *Me nt ha pulegium*, *Origanum glandulosum* et *Satureja calamintha* subsp. *Nepeta* (2003/2004/2005).

Après la récolte du matériel végétal, on procède à sa dessiccation comme suit: on l'étale sur du papier et on le laisse sécher à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante. Le séchage est de 8 jours en moyenne pour les différentes plantes, puis conservées dans des sacs en papier.

Bernaoui Yazza, LOUETRI Khadidja (2018).

Matériel végétal

Les deux espèces végétales utilisés dans cette pratique appartenant à la famille des Lamiacées sont *Origanum majorana* et *Origanum vulgare*. Les parties aériennes ont été récoltées au mois de juillet 2017 à région Guemar wilaya d'El-Oued, la wilaya Tizi-Ouzou respectivement. Les plantes ont été collectées et séchées à température ambiante. L'identification botanique des plantes a été réalisée

Méthode de préparation de l'extrait aqueux

Dans un ballon monocol, surmonté d'un réfrigérant, 30 g de matériel végétal est mis en présence de 180 ml d'eau. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests screening chimique (LABIOD., 2016) par les botanistes de la direction des affaires agricoles EL-Oued (DAA) : AIT-YAHYA Souad et CHOUÏYA Abdel Ouahed ..

Bouhaddouda Nabila (2015)

Les parties aériennes (feuilles et fleurs) d'*Origanum glandulosum* et de *Mentha pulegium* au stade de floraison, où il y a accumulation importante des substances bioactives, ont été récoltées tôt le matin (9h) au mois de Juin de l'année 2012, dans la région de Nechmeya dans les montagnes de Houara. Le matériel végétal recueilli est séché à température ambiante et à l'ombre pendant quinze jours, afin de préserver au maximum l'intégrité de ses molécules

Les parties aériennes des plantes ainsi obtenues sont conservées dans des flacons en verre ambrés en vue des expérimentations (screening phytochimique et extraction des principes actifs).

Bouyahya, et al(2017).

Dans le présent travail, les activités antibactérienne et antioxydante des extraits organiques des sommités fleuries d'*Origan compact* (*Origanum compactum* Benth.)

MAHFOUF Nora (2018).

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Les feuilles d'O. vulgare ont été récoltées au stade de la floraison en mi-juin 2014

Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Belaiche, 1979

Marie-aude, C. (2013).

Les feuilles doivent être récoltées avant l'apparition des boutons floraux

Milos M., Mastelic J., Jerkovic I., & Katalinic V., 2000.

Déférant parties de la plante

Serkan Koldas, (2014).

Un certain nombre d'études sur les activités antioxydantes de leurs feuilles, fleurs et extraits séchés moulus ont été rapportées dans le passé. Il est maintenant bien connu que l'activité antioxydante de ces épices est due aux composés phénoliques.⁵ L'effet antioxydant est corrélé à leurs groupes hydroxy.⁶ En ce qui concerne les composants non volatils, l'origan⁷ (*Origanum vulgare* L.

Sahin et al, (2004).

La présente étude a été menée pour évaluer les activités antimicrobiennes, les antioxydants et les propriétés des huiles essentielles et des extraits de méthanol d'*Origanum vulgare* ssp. *plants vulgare*. La composition chimique d'une huile essentielle hydrodistillée d'O. *Vulgare* ssp. *vulgare* a été analysé par un système GC / MS. Au total, 62 constituants ont été identifiés.

Tableau 03 : présentation du matériel végétal utilisé par les différentes équipes scientifiques dans le screening phytochimique

Equipe de re chercheurs	Année	Lieux de récolte	Matériel végétal
Badi et al	2019	Guelma	La partie aérienne (feuilles) d' <i>Origanum vulgare</i>

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Bouhadouda	2015	Nechmaya (Guelma)	La partie aérienne feuilles et fleurs
Bernanoui et al	2017	El Oued	Partie aérienne feuille
Bendifalah et al	2015	Boumerdes	Partie aérienne feuille

Tableau 04 : présentation du matériel végétal utilisé par les différentes équipes scientifiques dans l'Activité antioxydante :

Equipe de re chercheurs	Date	Lieux de récolte	Matériels végétal
Sahin et al	2004	Turquie	Extrait de <i>l'Origanum vulgare</i>
Koldas et al	2014	Turquie	Extrait de <i>l'Origanum vulgare</i>
Bouyahya et al	2017	Maroc	Des extraits organiques des sommités fleuries d'Origan
mahfouf	2018	Guelma	Extrait de <i>l'Origanum vulgare</i>

Tableau 05 : présentation du matériel végétal utilisé par les différentes équipes scientifiques dans le Dosage des polyphénols et flavonoïdes :

Equipe de re chercheurs	Date	Lieux de récolte	Matériel végétal
Koldas et al	2014	Turquie	Extrait de <i>l'Origanum vulgare</i>
Bouyahya et al	2017	Maroc	Extrait de <i>l'Origanum vulgare</i>

Tableau 06 : présentation du matériel végétal utilisé par les différentes équipes scientifiques dans le Rendement des huiles essentielles :

Equipe de re chercheurs	Date	Lieux de récolte	Matériel végétal
Sahraoui	2006	Boumerdes	Extrait d'Huile essentielle a partir feuilles et des sommité fleuris
Bouhaddouda	2015	Nechmaya (Guelma)	Extrait d'Huile essentielle a partir feuilles
mahfouf	2018	Guelma	Extrait d'Huile essentielle a partir feuilles

Chapitre IV : Résultats et discussion

I.16 Huiles essentielles de *O. vulgare* :

I.16.1 Rendement des huiles essentiels :

Des travaux ont été réalisés dans la méthode de rendement des huiles essentiels dont les auteurs sont les suivants : **Sahraoui 2006, mahfouf 2017, bouhaddouda 2015**,

- Sahraoui a réalisé que L'entraînement à la vapeur d'eau donne des rendements qui varient entre (1.60 et 2.51%) alors que le rendement d'hydrodistillation varie entre (0.46 et 1.82 %).

Ces valeurs sont faibles comparées à celles obtenues par l'entraînement à la vapeur d'eau. Cela est peut-être dû à la solubilisation d'une partie d'huiles essentielles dans l'eau.

Elle a aussi remarqué que lors des essais d'hydrodistillation, la plante surnage à la surface de l'eau, il est donc possible qu'une partie des sites de l'huile essentielle n'a pas été atteinte par la vapeur d'eau ce qui entraîne une diminution du rendement

- **Mahfouf** a observé une différence entre les rendements d'extraction, de l'espèce étudiée dans ce travail (**Tableau 07**).

Tableau 07. Résultats quantitatifs de l'extraction de l'HE d'*O. vulgare*

Origine Espèce	Rendement %			
	Ce travail	Algérie (Guelma)	Maroc	Tunisie
<i>O. vulgare</i> L.	1,15	2,52	1,15	0,1-0,7

O. vulgare étudié dans ce travail possède un rendement relativement moyen de (1,15%), égal à celui trouvé par **Derwich et al. (2010)** avec l'origan du Maroc. Les espèces *O. vulgare* de la Tunisie (**Mechergui et al., 2010**) ont fourni les plus faibles rendements (0,1-0,7%).

Le rendement le plus élevé a été obtenu par **Bouhaddouda et al. (2016)** qui a travaillé sur la même sous espèce (*O. vulgare glandulosum*) poussant dans le même biotope (Nechmaya, Guelma) avec une valeur de 2,52%. La différence existante entre les rendements d'extraction obtenus est probablement liée aux facteurs suivants :

- Le temps de l'hydrodistillation ;

- La durée de séchage ;
- Le rapport Eau/Matière végétale ;
- La température de chauffage (**Fadil et al., 2014**). Elle peut être liée, également aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), facteurs géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétiques (croisements naturels) (**Veres et al., 2003**).
- Bouhadouda a réalisé que Le rendement d'extraction de l'huile essentielle d'*O. glandulosum* est estimé à 2.52%, révélant sa richesse en molécules bioactives. Ce rendement est important comparé à celui rapporté par **Berrehal et al. (2010)** indiquant que les parties aériennes d'*O. glandulosum* récolté en période de floraison dans la région de Jijel et de Constantine, ont une teneur en huiles essentielles de 2.0%. Même constatation quant aux résultats de **Semra et al. (2013)** avec un rendement en huile essentielle de 2.2% de la même espèce récoltée dans la région de **Zighoud Youcef** (wilaya de Constantine) en période de floraison. Nos résultats concordent avec ceux rapportés par Sahraoui et al. (2007) dont le rendement est estimé à 2.5% pour *O. glandulosum* de la région de Sétif. Cependant un rendement plus élevé a été rapporté par **Bendahou et al. (2008)** sur cette même espèce récoltée dans la région de Tlemcen, le résultat était estimé à 4.8%.

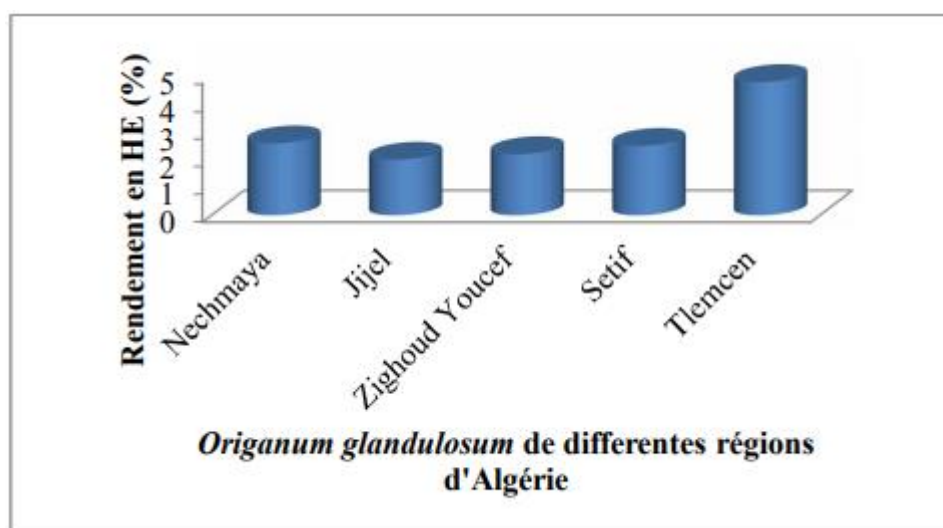


Figure 19 : Représentation des rendements des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* extraites de différentes régions : Nechmaya (espèce étudiée), Jijel (**Berrehal et al., 2010**), Zighoud Youcef (**Semra et al., 2013**), Sétif (**Sahraoui et al., 2007**) et Tlemcen (**Bendahou et al., 2008**)

I.17 Screening Phytochimique :

Dans la méthode de screening phytochimique 4 travaux ont été réalisés sur *l'Origanum vulgare* Dont les auteurs sont les suivants : **Badi et al 2019, Bouhadouda 2015, Bernaoui et al 2017, bendifalah et al 2015**

- **Badi et al 2019** ont réalisé que Les tests phytochimiques ont été réalisés sur la poudre à partir de la partie aérienne (feuilles) *d'Origanum vulgare* en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique a pour objectif de détecter les principaux métabolites secondaires existants dans ***O. vulgare*** via une analyse qualitative de réactions de colorations spécifiques, de précipitation, de turbidité, d'essais de solubilités des constituants et d'utilisation des techniques de fluorescences (examen sous la lumière ultraviolette). Les résultats du screening photochimique sont représentés par les figures (20,21,22,23,24). Ils montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, des mucilages et l'absence des alcaloïdes et les coumarines au niveau des feuilles de la plante.

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur *Origanum glandulosum* par (**Bouhadouda 2015**) en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique. Les résultats expérimentaux du criblage phtytochimique sont mentionnés dans le **tableau 08** :

Tableau 08 : Criblage phytochimique *d'Origanum glandulosum*

Métabolites secondaire	<i>Origanum glandulosum</i>
Tanins catechique	+
Tanins galique	-
Anthocyanes	+
Leuco anthocyanes	-
Saponoside	+
flavonoïdes	+
Alcaloïdes	-
Terpènes et stérols	+

+ Présence / - Absence

- **Bernanoui et al 2017** ont réalisés des test phytochimiques sur les extraits préparés à partir de la partie aérienne *Origanum vulgare* permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique. Les résultats sont récapitulés dans le **tableau 09**

Tableau 09 : Criblage phytochimique d'*O. vulgare*

Groupe chimique	<i>O.vulgare</i>
flavonoïde	+
Tanin	+
Saponoside	+
Quinone libre	-
Anthraquinone	-
terpenoïdes	+
alcaloïdes	-
Sucre reducteur	+

Les résultats expérimentaux des tests phytochimique (**tableau 09**) montrent la présence des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes , des saponosides et des sucres réducteur à la partie aérienne de deux plantes testé . Ainsi que l'absence des quinones libre, anthraquinones et alcaloïdes

Discussion :

Les tests phytochimiques d'*O. vulgare* montrent qu'il n'y a pas de différences dans les groupes chimiques existants dans la plante traitée par comparaison avec l'étude réalisée par **Bendifalah et al (2015)**.

Bendifalah et al 2015 ont réalisé que *Origanum vulgare* est très riche en tanins totaux, tanins galliques, leucoanthocyanines, flavonoïdes, glucosides, saponines et mucilage **tableau 10**.

Il est moyennement riche en tanins cathéchiques. Cette plante contient une faible teneur en coumarines et iridoïdes. Enfin, nous devons souligner que *Origanum vulgare* ne contient pas de quinone libre, d'amidon, d'alcaloïdes et d'anthocyanes. Le criblage phytochimique testé sur les feuilles d'*Origanum*

Chapitre IV : Résultats et discussion

vulgare montre des résultats satisfaisants d'environ 60% (**Figure 25**). Il est également plus riche en polyphénols totaux qu'en tanins (**Figure 26**).

TABLEAU 10 : Résultats du screening phytochimique de *l'Origanum vulgare*

Substances	<i>Origanum vulgare</i>
Tanins totaux	+++
Tanins catechique	++
Tanins gallique	+++
Flavonoïdes	+++
Anthocyanines	+
leucoanthocyanines	---
alcaloïdes	---
Amidon	+++
Glucosides	---
Saponoside	+++
Quinones	----
Coumarines	---

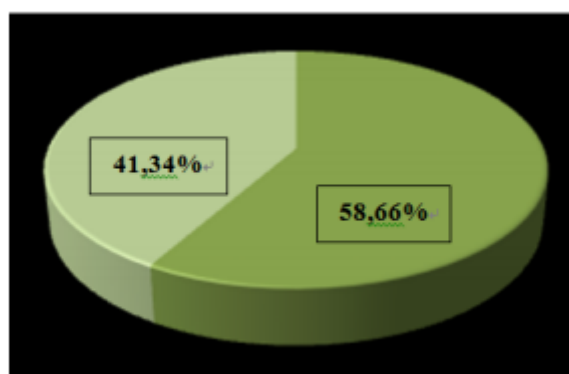


Figure 20 : Représentation graphique des résultats de screening phytochimique d'*Origanum vulgare*

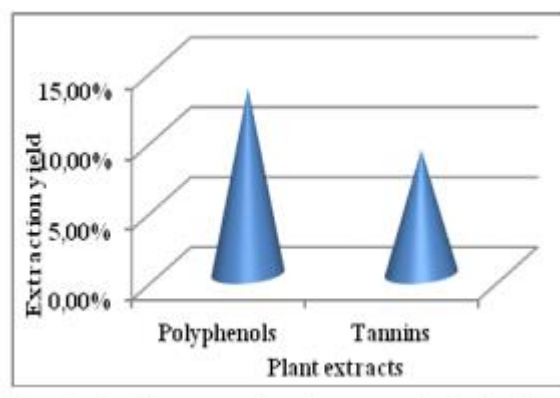


Figure 21 : Représentation graphique des extraits de polyphénols totaux et tanins d'*Origanum vulgare*

I.18 Dosage des polyphénols et des flavonoïdes :

Dans la méthode de dosage des polyphénols et des flavonoïdes deux travaux ont été réalisés, dont les auteurs sont les suivants : **Koldas et al 2014**, **Bouyahya et al 2017**

- **Koldas et al 2014** ont réalisé que l'extrait de l'origan qu'avait une teneur élevée en acide rosmarinique. Leurs résultats ont montré que l'acide rosmarinique était le principal composant des extraits d'OV, suivi d'acide caféique, acide chicorique et acide p-coumarique (**tableau 11**).

Le 4-hydroxybenzaldéhyde était le composé trouvé en plus faible quantité dans les extraits OVV (pas du tout détecté dans les extraits W et ME). En revanche, le 4-hydroxybenzaldéhyde était le deuxième composant le plus abondant des extraits d'OA. L'extrait W de OA a été partitionné avec EA et n-BuOH successivement. Le résidu végétal a également été extrait avec MeCh.

L'acide rosmarinique a été principalement extrait par de l'eau bouillante et introduit dans EA (4,858 g kg⁻¹) et n-BuOH (6,951 g kg⁻¹) avec des extractions répétées à partir du solvant aqueux. L'extraction finale du résidu végétal avec du MeCh n'a donné que 0,525 g kg⁻¹ d'acide rosmarinique et la quantité finale d'acide rosmarinique laissée dans l'eau était de 0,392 g kg⁻¹.

Les teneurs totales en phénol et en flavonoïdes des extraits ont été calculées respectivement en équivalents d'acide gallique et de quercétine (équ.) (**Tableau 11**). L'extrait de ME à rendement le plus élevé (2,37 g kg⁻¹) avait également les niveaux les plus élevés de phénoliques (56,83 g d'acide gallique équ. Kg⁻¹) et de

Chapitre IV : Résultats et discussion

flavonoïdes (35,25 g de quercétine eq. Kg⁻¹). Cependant, seuls 36,84 et 0,65% respectivement de ces contenus ont pu être identifiés par des composés authentiques disponibles dans notre laboratoire.

Tableau 11 : les rendements d'extraction et les résultats de la quantification résultats pour les phénoliques totaux et les flavonoïdes et les composés individuels phénoliques et les flavonoïdes d'origine de *l'Origanum vulgare*

<i>Origanum vulgare</i>	W	EA	ME	ET
Rendement 'extraction	1.55	0.96	2.37	1.28
Phénoliques totaux	39.59±0.42	9.37±0.07	56.83±1.65	22.12±0.30
Flavonoïdes totaux	33.57±0.34	7.62±1.18	35.25±0.56	15.96±2.15
Acide gallique	0.0016±0.001	0.012±0.001	0.072±0.001	0.014±0.000
Acide caféique	0.172±0.010	0.258±0.019	0.367±0.008	0.180±0.008
ydroxybenzaldehyde	ND	0.009±0.001	ND	0.002±0.000
Acide coumarique	0.109±0.002	0.054±0.002	0.365±1.050	0.065±0.003
Acide rosmarinique	7.599±0.115	4.303±0.113	19.269±1.035	6.958±0.071
Acide chicorique	0.323±0.830	0.160±0.004	0.910±0.040	0.355±0.007
Glucoside-7-apigénine	0.018±0.002	0.012±0.001	0.077±0.005	0.036±0.003
quercétine	0.022±0.001	0.020±0.001	0.039±0.002	0.027±0.002
naringénine	ND	0.061±0.002	0.060±0.003	0.043±0.001
kaempferol	0.011±0.003	0.069±0.003	0.057±0.003	0.044±0.002

ND : non détecter

- **Bouyahya et al 2017** ont réalisé que Tout le contenu phénolique dans les extraits examinés de la plante utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est exprimé en termes d'équivalent d'acide gallique (l'équation standard de courbe : $Abs = 0,010x [AG] + 0,002$; $R^2 = 0,998$).

Les valeurs obtenues pour la concentration des phénols totaux sont exprimées en mg EAG/g d'extrait (**Tableau 12**). Tout le contenu phénolique dans les extraits examinés s'est étendu de $153,27 \pm 0,68$ à $105,54 \pm 0,35$ mg EAG/g d'extrait. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait méthanolique. Tout le contenu phénolique dans les extraits *d'Origanum compactum* dépend du type d'extrait, c'est-à-dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. La solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires donne la concentration élevée de ces composés dans les extraits obtenus en utilisant les solvants polaires pour l'extraction. La

concentration des flavonoïdes dans divers extraits d'origan compact est déterminée en suivant la méthode spectrophotométrique avec du chlorure d'aluminium. Le contenu des flavonoïdes a été exprimé en termes de mg EQ/g d'extrait, l'équation standard de courbe : ($Abs = 0,022x [Q] + 0,006$; $R^2 = 0,999$).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits s'est échelonnée de $52,72 \pm 0,72$ à $24,31 \pm 0,69$ mg EQ/g d'extrait, l'extrait méthanolique contenant la concentration de flavonoïde la plus élevée. La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation d'extrait. Le type de standard utilisé peut également changer les résultats.

Tableau 12 : contenus en polyphenols totaux et en flavonoides des extraits

Extraits	Rendement %	Polyphenols totaux (a)	Flavonoides totaux (b)
EtOH	24.61	117.60±1.12	27.60±0.32
MtOH	34.42	153.27±0.68	52.72±0.72
AcEth	21.16	119.22±0.96	24.31±0.69
n-hexane	0.72	105.54±0.35	29.64±0.85

a :equivalent acide gallique(mg EAG/g d'extrait)

b :equivalent quercitine (mg EQ/g d'extrait)

I.19 Activité antioxydante de l'extrait aqueux de *l'Origanum vulgare* :

Dans la méthode de l'activité antioxydante 4 travaux ont été réalisé sue *l'Origanum vulgare* Dont les auteurs sont les suivants : **Sahin et al 2004, koldas et al 2014, bouyahya et al 2017, Mahfouf 2018**

- **Sahin et al 2004** ont réalisé que Dans la présente étude, l'activité de piégeage des radicaux libres et l'inhibition de l'oxydation des lipides par *O. vulgare ssp.* Les extraits de *vulgare* et l'huile essentielle ont été étudiés in vitro. Tant dans l'extrait que dans les cas d'huile, les réactions ont suivi un schéma dépendant de la concentration.

Comme le montre **le tableau 13**, les activités de piégeage des radicaux DPPH de l'extrait de méthanol et du produit chimique de référence (BHT) étaient remarquables, présentant une capacité à réduire le radical stable DPPH en diphénylpicrylhydrazine de couleur jaune avec des CI50 à $9,9 \pm 0,5$ et $19,8 \pm 0,5$ lg / ml, respectivement, alors que celle de l'huile était insignifiante avec une CI50 à 8900 lg / ml.

Dans l'activité de piégeage des radicaux libres, la supériorité de l'extrait de méthanol pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques car ils constituent 22% de l'extrait. En particulier, les effets synergiques des acides phénoliques, par exemple, l'acide rosmarinique et les polyphénols, ainsi que d'autres produits chimiques tels que les flavonoïdes, pourraient également être pris en compte pour l'activité de piégeage des radicaux observée dans les extraits de méthanol (**Choi et al., 2002**).

L'activité de piégeage des radicaux DPPH de l'huile était très faible, ce qui était évidemment lié à sa composition chimique. Dans plusieurs rapports, le thymol et le carvacrol, en particulier, se sont révélés être les principaux constituants antioxydants des huiles isolées de plusieurs espèces *d'Origanum* (**Barrata et al., 1998 ; Milos et al., 2000 ; Puertes-Mejia, Hillebrand, Stashenko, et Winterhalter, 2002 ; Ruberto et Barrata, 2000 ; Ruberto, Barrata, Sari et Kaabexhe, 2002**). En outre, l'efficacité antioxydante d'environ 100 composants purs d'huiles essentielles a été étudiée, et les phénols ont été confirmés comme possédant l'activité antioxydante la plus élevée (**Ruberto et Barrata, 2000**). Nos résultats concernant l'activité de piégeage des radicaux sont conformes à ces rapports, puisque les pourcentages de thymol et de carvacrol étaient remarquablement bas (0,84% et 0,57%, respectivement) chez *O. vulgare ssp.* Huile essentielle de vulgare. Dans le cas de l'inhibition du dosage de l'acide linoléique, l'extrait de méthanol et l'huile essentielle n'ont pas été capables d'inhiber efficacement l'oxydation de l'acide linoléique et seulement 24% et 36% d'inhibitions ont été obtenues à des concentrations de 2 mg / ml respectivement, qui étaient bien inférieures à la contrôle positif BHT à la même concentration (**Figure 27**). L'activité pourrait être améliorée à des concentrations plus élevées, mais cela n'a pas été pris en compte ici. Ces découvertes sont également en Conforme à ceux des rapports précédents (**Ruberto et Barrata, 2000**).

Table 13 : Effets d'*Origanum vulgare* ssp. Extrait de méthanol vulgare, huile essentielle et contrôle positif BHT sur le piégeage des radicaux libres in vitro (DPPH)

Echantillon	DPPH, IC50 (µg/ml)
Extrait methanolique	9.9±0.5
Huile essentiel	8900±5.0
BHT	19.8±0.5

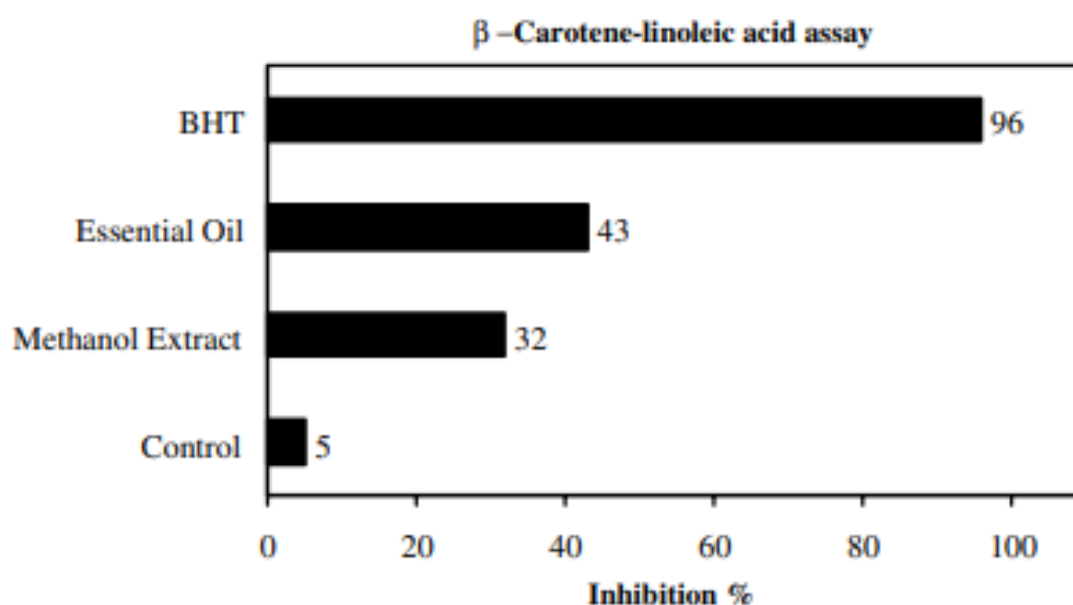


Figure 22. Extrait de *vulgare* et huile essentielle définis comme pourcentage d'inhibition dans le dosage de l'acide b-carotène-linoléique

- Selon **Koldas et al 2014**, La capacité antioxydante est largement utilisée comme paramètre pour les composants médicinaux bioactifs et fonctionnels dans les aliments. Dans cette étude, les capacités antioxydantes des extraits d'OVV ont été déterminées par la formation d'un complexe de phosphomolybdène vert et comparées à celles de TOC, BHA, BHT, TRLX et TBHQ comme témoins positifs. La formation du complexe à 95 ° C a été mesurée par l'intensité d'absorbance du mélange réactionnel à des concentrations d'extrait de 50, 100 et 250 µg mL⁻¹, comme indiqué dans le **tableau 4**. Le dosage du phosphomolybdène est basé sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par des composés antioxydants et la formation d'un complexe

phosphate vert / Mo (V) qui absorbe à 695 nm. Les données expérimentales ont indiqué que tous les extraits d'OVV étaient susceptibles d'avoir un potentiel de réduction du phosphomolybdène, mais avec des différences statistiquement significatives

Les activités antioxydantes des extraits W et M'étaient supérieures à celles des autres extraits et standards en termes de potentiel de réduction du phosphomolybdène. Dans le présent travail, les activités antioxydantes, les pouvoirs réducteurs et les activités de piégeage des radicaux libres ont été déterminés à des concentrations de 50, 100 et 250 µg mL⁻¹ d'extraits de W, EA, ME, ET et HE d'OVV et comparés à des témoins positifs (COT, BHA, BHT, TRLX et TBHQ) aux mêmes concentrations (**tableau 4**). En raison des teneurs phénoliques et flavonoïdes des extraits, les groupes hydroxyle libres étaient une source d'atomes d'hydrogène dans la neutralisation d'espèces radicalaires de teneurs en flavonoïdes, modifiant la stabilité d'un radical flavonoïde formé par l'abstraction d'un atome d'hydrogène d'un autre Groupe hydroxyle. Les groupes di- et polyhydroxy dans les anneaux phénoliques des flavonoïdes peuvent donner des électrons uniques, ce qui entraîne la production d'une structure stabilisée par résonance et la formation de radicaux phénoxyle flavonoïdes moins réactifs. C'est la base de leur capacité à empêcher les réactions en chaîne de peroxydation lipidique. Les radicaux lipidiques peroxydes sont convertis en hydroperoxydes par réaction avec le α -tocophérol. Le potentiel élevé des phénoliques à piéger les radicaux libres peut s'expliquer par leur capacité à donner des atomes d'hydrogène à partir de leurs groupes hydroxyle. Les phénoliques végétaux ont été étudiés en relation avec la prévention du cancer⁸, ce qui peut être lié au potentiel antioxydant. De plus, il a été rapporté que les composés phénoliques sont associés à une activité antioxydante et jouent un rôle important dans la stabilisation de la peroxydation lipidique. Selon ces résultats, les divers extraits de solvants d'OV devraient être reconnus comme des sources prometteuses d'antioxydants naturels non toxiques qui pourraient être utilisés pour des programmes de culture et de sélection

- **Bouyahya et al 2017**, ont réalisé que L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm. Le standard utilisé était l'acide ascorbique (vitamine C). Cette méthode est fondée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH en présence de molécules donatrices d'hydrogène. La capacité de réduction du radical DPPH est mesurée par la diminution de l'absorbance à 517 nm par un changement de coloration de jaune au bleu. L'activité antioxydante des différents extraits d'*Origanum compactum*, ainsi que le standard, a été illustrée sur **la Figure 28**. Tous les extraits se sont montrés capables de réduire le radical DPPH. On note une diminution significative de ce radical en fonction de la concentration en extrait. À la concentration de 30 µg/ml, l'acide ascorbique a montré une grande capacité à inhiber le radical DPPH (61,32 %), alors que l'activité de MeOH, EtOH, n-hexane et acétate d'éthyle était respectivement de 31,09, 21,64, 41,56 et 11,94 %. À l'exception d'extrait de n-hexane, l'activité antioxydante de

Trois autres extraits est significativement faible par rapport au standard ($p < 0,05$). Cette activité s'exprime significativement d'une manière dose-dépendante ($p < 0,05$), à chaque fois qu'on augmente la concentration en extrait, le pourcentage d'inhibition est augmenté significativement. Nous interprétons ce phénomène par le transfert d'électrons célibataires qui sont localisés dans l'orbitale externe du DPPH, et après avoir atteint une concentration donnée, l'antioxydant va réagir complètement avec le radical, et quand nous augmentons la concentration, l'activité antioxydante va rester constante puisque cela s'accompagne par la saturation des couches électroniques du radical (**Figure 29**).

I.19.1 Détermination d'IC₅₀

La valeur d'IC₅₀ est définie comme la concentration en extrait qui inhibe 50 % du radical DPPH. Cette valeur est calculée par la modélisation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait en utilisant l'équation exponentielle. Les IC₅₀ de chacun des différents extraits ont été déterminés (**Tableau 15**).

Selon **Kadri et al.**, une valeur plus faible de l'IC₅₀ (la concentration du substrat qui cause une inhibition de 50 % de l'activité de DPPH) indique une activité antioxydante plus élevée. L'extrait n-hexanique a donc présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (IC₅₀ = 39,83 µg/ml) suivi par l'extrait MeOH avec une IC₅₀ de l'ordre de 48,34 µg/ml. Par contre, l'activité antiradicalaire la plus

Chapitre IV : Résultats et discussion

faible a été exprimée par l'extrait EtOH et l'extrait d'acétate d'éthyle ($IC_{50} = 74,25$ et $137,35 \mu g/ml$, respectivement), ce qui ne présente pas une différence significative de leur activité ($p < 0,05$). Nos résultats sont en accord avec ceux d'El Babilietal. Qui ont démontré que les extraits organiques d'*Origanum compactum* se sont avérés actifs et ont montré une activité antioxydante remarquable dans le balayage du radical DPPH.

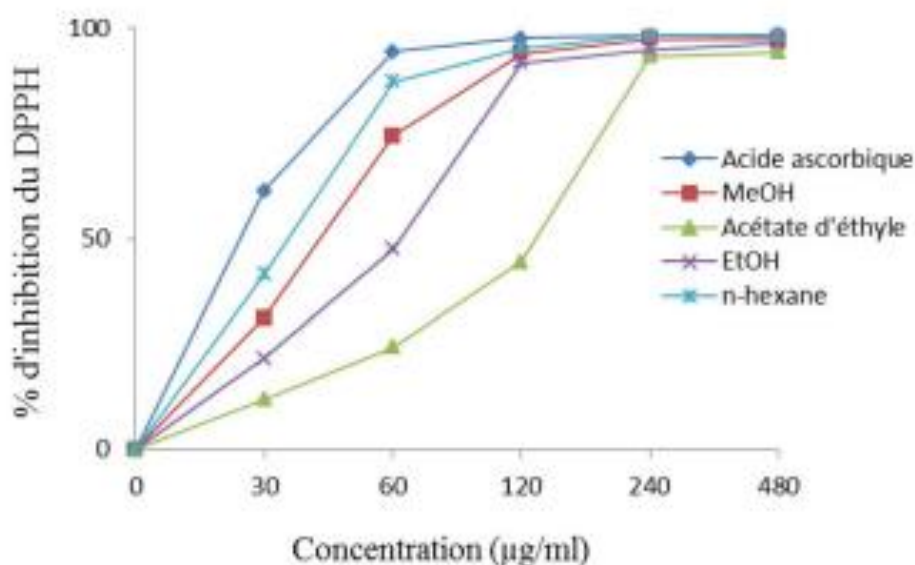


Figure 23 : Pourcentage du piégeage du radical DPPH de standard (acide ascorbique) et des extraits

Tableau 14 : valeur d' IC_{50} des extraits testé et acide ascorbique

Extrait	IC50 (µm/ml)
MeOH	48.34
EtOH	74.25
n-hexane	39.83
Acetate d'éthyle	137.35
Acide ascorbique	27.20

- **Mahfouf 2018** a réalisé que L'activité antioxydante de l'HE *d'O.vulgare* évaluée par le test de piégeage du radical DPPH a donné des valeurs qui nous ont permis de tracer des courbes du pourcentage d'activité antiradicalaire pour l'HE *d'O.vulgare*, l'acide ascorbique et le BHT. D'après les résultats représentés dans la figure 30, on peut constater que l'activité antiradicalaire est dose dépendante car elle est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

2. Détermination d'IC50

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration d'HE, d'acide ascorbique ou du BHT nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notons que plus l'IC50 est faible plus l'activité antioxydante du composé est importante. Les résultats sont exprimés sous la forme de valeurs d'IC50.

On remarque que l'activité antiradicalaire de l'HE (1.28 ± 0.07 mg/ml) est inférieure à celle du BHT (0.17 ± 0.02 mg/ml) et de l'acide ascorbique (0.361 ± 0.040 mg/ml) (Tableau 16).

Ce résultat témoigne d'une capacité réductrice modeste comparée à celle de la littérature. Une étude menée par **Sari et al., (2006)** sur différentes populations d'origan de différentes zones algériennes (Sétif, Bejaia, Biskra, M'sila et Bordj Bou Arreridj) a révélé la bonne capacité antiradicalaire des HEs qui ont donné des IC50 variant de 16.2 à 26.7 µg/ml. Le travail publié par **Mechergui et al. (2010)** montre que l'HE d'origan de deux régions tunisiennes possède une bonne activité antioxydante avec des IC50 de 105.29 mg/L et 142.86 mg/L. Cependant une autre étude faite aussi sur l'HE de la même espèce poussant en Tunisie a enregistré un IC50 de 625 µg/ml (**Béjaoui et al., 2013**). L'HE extraite *d'O.vulgare L.* du Maroc a montré une forte activité antiradicalaire (IC50 60.1 ± 3.3 mg/L) avec la méthode de DPPH (**El Babili et al., 2011**). Il est établi dans plusieurs études que l'activité d'une HE est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants (**Oussou et al., 2010 ; Saint Laumer, 2003 ; Kalemba et Kunicka, 2003**). Ainsi les travaux de **Tepe et al. (2004)**, ont démontré une grande activité antioxydante des HEs contenant des monoterpènes et / ou des sesquiterpènes oxygénés. **Miladi et al.(2013)** ont prouvé qu'une corrélation existe entre l'activité antioxydante d'une HE et la teneur en monoterpènes oxygénés. En contradiction avec les travaux de **Gachkar et al.**

Chapitre IV : Résultats et discussion

(2007) où ils ont démontré que les huiles avec une prédominance monoterpénique ont une activité assez modeste

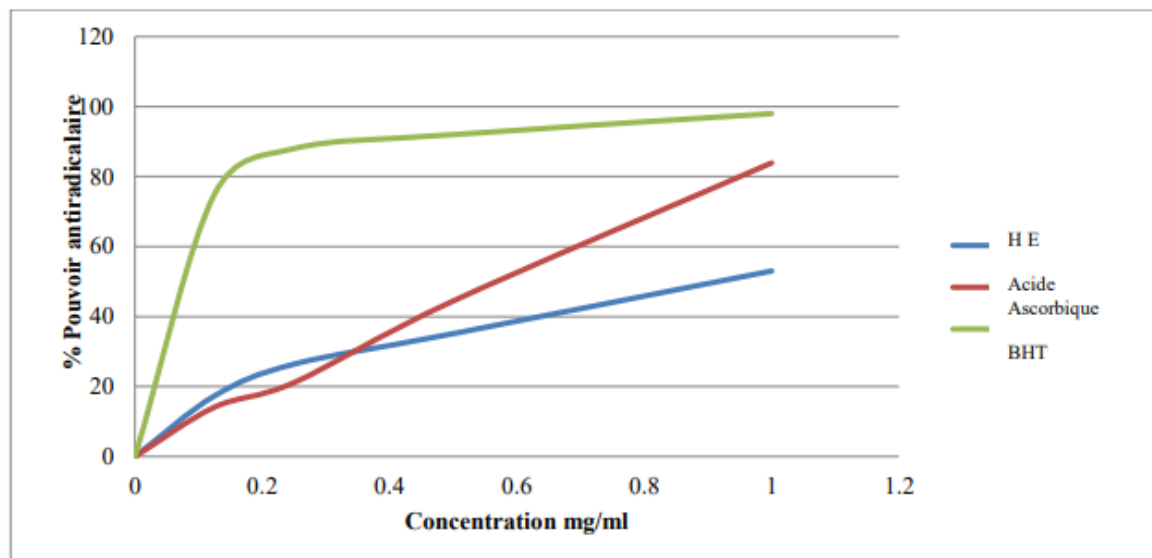


Figure 24 : Activité antiradicalaire de l'HE d'*O.vulgare*, d'acide ascorbique et du BHT (chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

Tableau 15 : l'activité scavenger du radical DPPH par l'HE d'*O.vulgare L*, l'acide ascorbique et le BHT

antioxydant	IC50 mg/ml
Huile essentielle d' <i>O.vulgare L</i>	1.28±0.07
Acide ascorbique	0.361±0.040
BHT	0.17±0.02

Conclusion :

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Au cours des dernières années, l'exploitation économique des espèces du genre *Origanum* augmenté en raison de l'utilisation des huiles essentielles et des extraits.

La présente étude rétrospective portant sur la synthèse des travaux antérieurs sur quelques tests a divulgué :

- une variabilité phytochimiques entre la présence et l'absence de métabolites secondaires dans différents extraits.

- La quantification des polyphénols et des Flavonoïdes totaux des différents extraits a montré que d'*O.vulgare* constitue des sources prometteuses en composés phénoliques.

- l'activité antioxydante réalisée sur d'*O.vulgare* récoltée dans plusieurs régions se montre très élevée avec des IC50 presque égales à celles des produits de référence (Acide ascorbique, BHA ET BHT)

Afin de mieux commencer à donner plus d'importance à cette plante et de bénéficier au maximum de sa valeur au niveau de tous les domaines, il serait souhaitable d'étudier plusieurs paramètres physiologiques (teneur en eau, turgescence et teneur en chlorophylle a, b et totale) sur plusieurs variétés de plantes accompli et des paramètres biochimiques (teneur en proline et en sucres solubles).

Référence bibliographique :

A

Afif Chaouche, T. (2015). Etude ethno-pharmacologique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de quelques plantes médicinales de la région de Tizi Ouzou – Algérie. Mémoire de doctorat. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN.

B

Badi Selma, et al (2019). Evaluation de l'activité antibactérienne d'extraits d'*Origanum vulgare*, Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master 2019, P38-39-40

Bekhechi C., 2008. Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG, CPG-SM et RMN ¹³ C et étude de leur pouvoir antibactérien. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen, Algérie.

Bellakhdar J (1997). Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires, La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Le Fennecet Ibio Press, impression : Dunes France. p 341.

Bellemou, B. Benfriha, H. (2013). Effet du stress salin sur le comportement de quelques clones du porte-greffe *Mandarinier Cléopâtre* issus de graines irradiés. Mémoire de master. École national supérieur agronomique el Harach.

Bendifallah Leila, (2015). Phytochemical Study and Antimicrobial Activity of *Origanum Vulgare L.* (Lamiaceae) in Boumerdes Mountainous Region (Algeria), Journal of Medical and Bioengineering Vol. 4, No. 6, P472-473

Bentahar, A. Lamri, N. Extraction des huiles essentielles de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis L* et *Teucrium polium L*) et formulation des pommades antimicrobienne. Mémoire de master.

Aèz-Bouhaddouda Nabila(2015). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* p162 76-77

Boutaghane (2013), Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina Spach (Fabaceae)* et *Chrysanthemum macrocarpum (Sch. Bip.) Coss. & Kralik ex Batt (Asteraceae)* ,these de doctorat a L'universite De Constantine 1 Faculte Des Sciences Exactes Departement De Chimie , P45

Bouyahya,et al(2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*, Phytothérapie DOI 10.1007/s10298-017-1101-8 P4-5

Bruneton J (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris

C

Casals, M.L. (1996). Introduction des mécanismes de résistance à la sécheresse dans un modèle dynamique de croissance et de développement du blé dur. Thèse de Doctorat de l'INRA Paris Grignon, 93p

E

Erdogan O.I, 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.

H

Halliwell B., J. M. C. Gutteridge. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015) : Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlete : revue bibliographique, 44-61 p.

Hamza, B., bibi-trique, C. (2017). la modélisation hydrologique dans un contexte de variabilité hydroclimatique appliqué au bassin versant de l'oued sekkik . Mémoire de master. Université Aboubakar Belkaid Tlemcen.

Harkati 2011 , Valorisation Et Identification Structurale Des Principes Actifs De La Plante De La Famille *Asteraceae* : *Scorzonera Undulata*. These De Doctorat Presentee A L'universite Mentouri-Constantine P 14

L

Labiod.R, (2016). Valorisation des huiles essentiels et des extraits de *satureja calamintha nepeta* : activité antimicrobienne, activité antioxydant, activité fongicide, thèse doctorat, Université Badji Mekhtar, Annab.

Lacampagne (2010), Localisation et caractérisation des tannins dans la pellicule du raisin : Etude de l'impact de l'organisation physico-chimique des parois

cellulaires sur la composante tannique, la qualité du fruit et la typicité des raisins de Bordeaux. these de doctorat DE L'UNIVERSITÉ BORDEAUX 2 P23-24

Lakhdar, L. (2015). Evaluation De L'activité Antibactérienne D'huiles Essentielles Marocaines Sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : Etude In Vitro. Mémoire De Doctorat. Faculté De Médecine Dentaire Rebat.

Lavoie (2012). Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports alimentaires et de la dépense énergétique, Thèse présentée à la Faculté de Médecine En vue de l'obtention du grade de Ph.D. en nutrition

M

MAHFOUF Nora (2018). Étude de l'espèce *Origanum vulgare L.* Université Chadli Benjedid - El Tarf (Algérie), p103-104

Malecky 2008, Métabolisme Des Terpénoïdes Chez Les Caprins, These De Doctorat P13

Marie-aude, C. (2013). Étude de l'espèce *origanum vulgareL.* Diplôme d'état de docteur en pharmacie. France.

Medjahdi, H. Medjdoub, F. (2019). Etude de la sectorisation du réseau d'AEP de l'agglomération de Chteibo – Oran. Diplôme de master. Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen.

Milos M., Mastelic J., Jerkovic I., & Katalinic V., 2000. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare L.*

N

Nadjem, K.(2012). Contribution A L'étude Des Du Semis Direct Sur Effets L'efficienne D'utilisation De L'eau Et Le Comportement Varietal De La Culture De Ble En Region Semi-Aride.Memoire De Magister Option : Production Végétale et Agriculture de Conservation. Université Ferhat Abbas Sétif.

P

-Paris M., Hurabielle M., 1980. Abrégé de matière médicale Pharmacognosie. Tome 1ere Ed : Masson. Paris. pp. 82-89

Rachel de La Roque. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales.

S

G, Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey Food Control 15 (2004) p 553–555

Serkan Koldas, (2014). Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. Viride (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage Phytochemical screening, anticancer and antioxidant activities of *Origanum vulgare* L. ssp. Viride (Boiss.) Hayek, a plant of traditional usage, Society of Chemical Industry DOI10.1002/jsfa.6903 Society of Chemical Industry.

T

TABTI Mohand, E. TAHDJERIT, O. (2017). Etude taxonomique de quelques populations de *Salvia verbenaca* ssp. *Euverbibaca* et ssp. *Clandestina* (Lamiaceae) du Golfe de Béjaïa et de la Soummam Vallée. Mémoire de master.

Tela botanica. (2011). Article sur *origanum vulgare* L. Projet de numérisation de la flore de L'Abbé Coste.

Tyler, N. J., L. V. Gusta and D. B. Fowler (1981). "the influence of nitrogen, phosphorus and potassium on the cold acclimation of winter wheat (*Triticum aestivum* L.)." Canadian Journal of Plant Science 61(4): 879-885.

X

Xavier, G. (27.03.2019). Article sur les huiles essentiels de l'origan. (Magazine américain sur la santé)

Xavier, G. (20.04.2019). Article sur l'origan. (Magazine américain sur la santé).

Annexes

Annexe

Les tableaux :

Tableau 16 : Taux de précipitation de la région de blida (2011 à 2019)

Mois	Jan	fév	Mars	Avril	Mai	Juin	juil	Août	Sept	oct	nov	dec
Pluv en (mm)	130	121.8	107.4	76.5	56.4	18.2	2	10.4	39.9	52.1	101.7	92.4

Tableau17 : Taux de précipitation de la région de Tlemcen (2000-2011)

L'année	(2000-2001)	(2001-2002)	(2002-2003)	(2003-2004)	(2004-2005)	(2005-2006)	(2006-2007)	(2007-2008)	(2008-2009)	(2009-2010)	(2010-2011)
Pluv en (mm)	339.1	474.4	391.3	112.8	289.4	260.5	271.3	213.6	522.8	433.1	340.8

Tableau18 : taux de température de la région de Blida (2010-2019)

L'année	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
T en °C	21.8	22.6	22.8	21.7	23.2	22.5	22.5	23.3	22.5	22.5

Tableau19 : taux de température de la région de Tlemcen (2000-2011)

L'année	(2000-2001)	(2001-2002)	(2002-2003)	(2003-2004)	(2004-2005)	(2005-2006)	(2006-2007)	(2007-2008)	(2008-2009)	(2009-2010)	(2010-2011)
T en °C	18.23	17.68	17.4	19.08	17.64	17.95	19.4	17.4	17	18.18	17.45

❖ Les saponosides

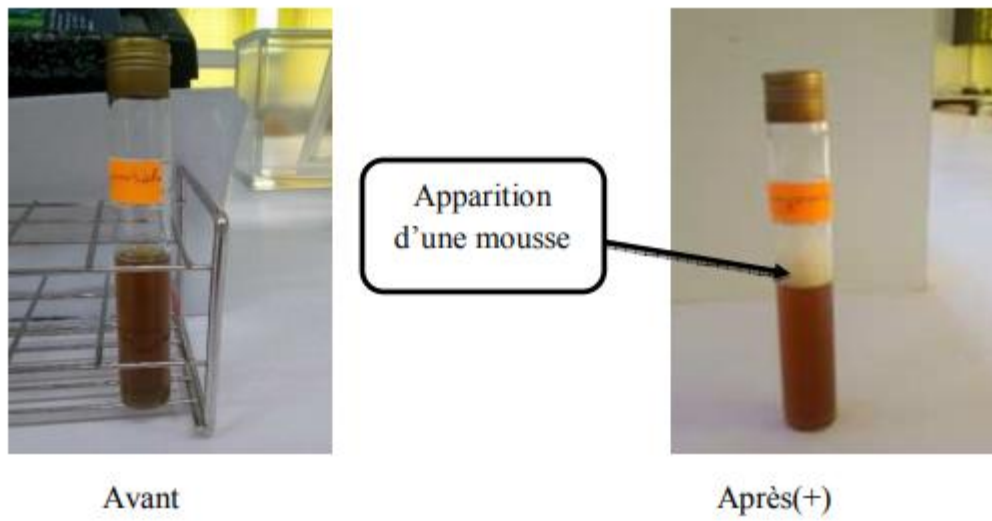


Figure 25 : test d'identification des saponosides

❖ Les alcaloïdes

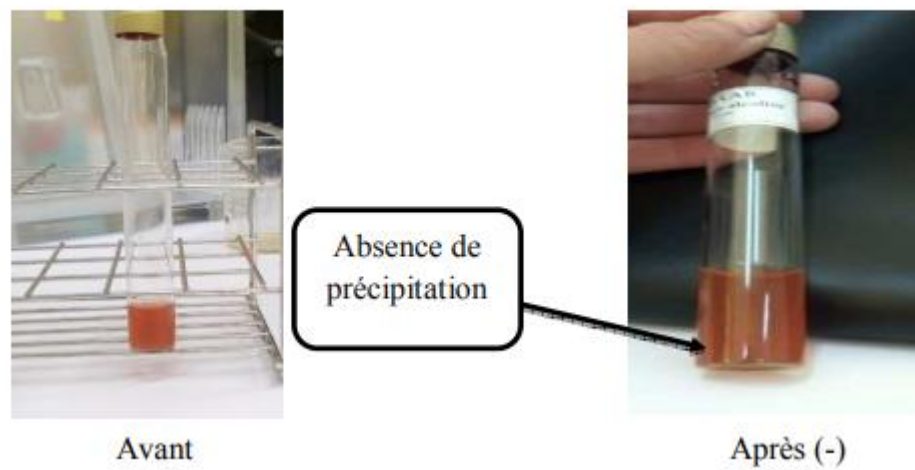


Figure 26 : test d'identification des alcaloïdes

❖ Les tanins

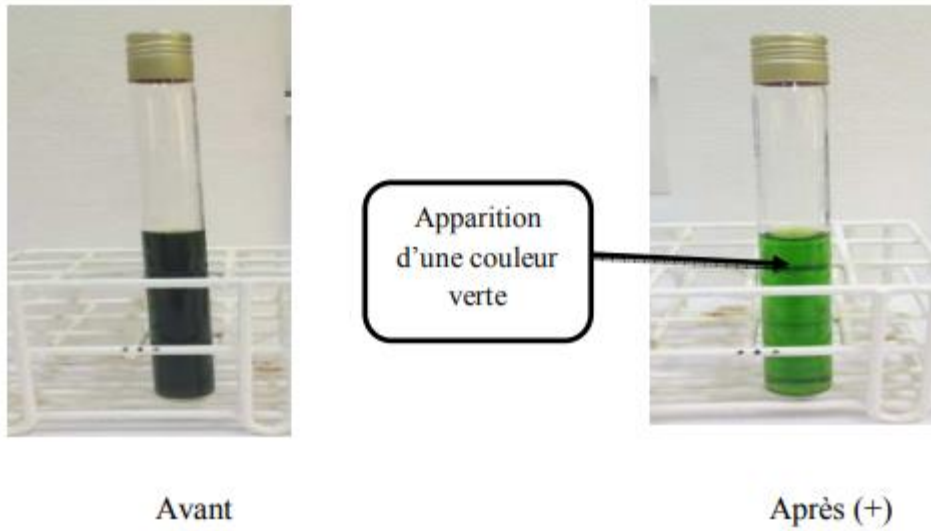


Figure 27 : test d'identification des tanins

❖ Les mucilages

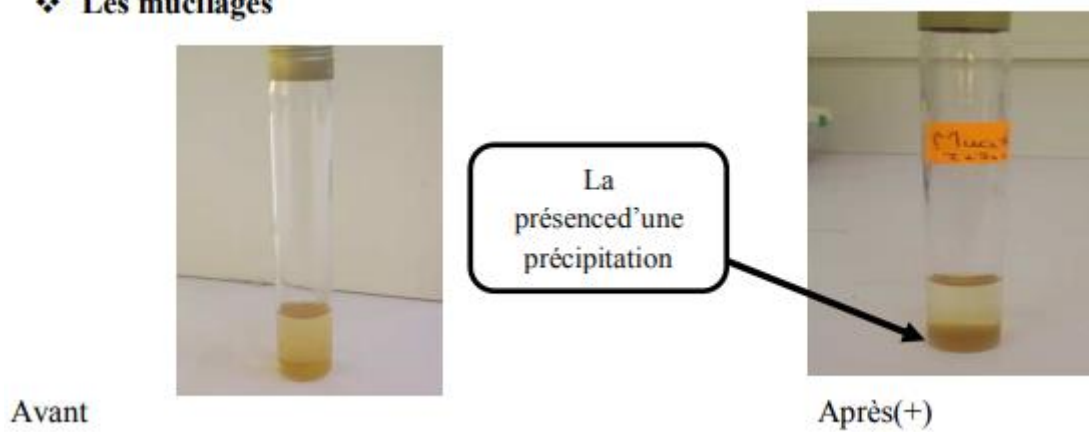


Figure 28 : test d'identification des mucilages

❖ Les flavonoïdes



Avant

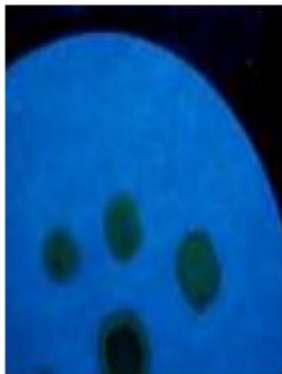
Apparition
d'une couleur
jaune



Après (+)

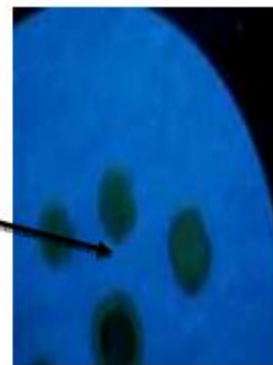
Figure 29 : test d'identification des flavonoïdes

❖ Coumarine



Avant

Absence de
fluorescence



Après (-)

Figure 30 : test d'identification des coumarins

Materiel utilisé :

Microscpe



Centrifigeuse



Bec bensen



Etuve



La haute



Alcool absolu

