



العلمي البحث و العالي التعليم وزارة الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية  
الحياة و الطبيعة علوم كلية البلدية دحلب سعد جامعة  
البيوتكنولوجيا قسم



REBUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
Université Saad Dahleb – Blida 1

*Laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de Biotechnologie*

*Mémoire de Fin de cycle En vue de l'obtention du diplôme de MASTER  
" Option : Biotechnologie et valorisation des plantes "*

Thème

**Etude de la variation de la toxicité et la phytochimie de  
l'*Origanum majorana* provenant de deux régions en Algérie**

Réalisé par : AGGOUN FATMA ZOHRA

Soutenue le : 7 juillet 2020

Devant le jury :	Grade :	Organisme	
P <sup>r</sup> Allal-Benfekih L.	Professeur	Président	USDB 1
D <sup>r</sup> Ghanai R.	MAA	Examineur	USDB 1
Dr Belguendouz R.	MCA	Promotrice	USDB 1
Mr Bouaamama S	Doctorant	Co-directeur	USDB 1
Mr Salli O.	Ingénieur	Co-directeur technique	SAIDAL GDC



Au terme de ce parcours, je remercie enfin celles et ceux qui me sont chers et que j'ai quelque peu délaissés ces derniers mois pour achever ce travail. Leurs attentions et encouragements m'ont accompagnée tout au long de ces années

Je dédie ce travail à :





*Louange à Allah tout puissant,  
Qui m'a permis de voir ce jour tant attendu*

## Remerciements

Nos plus vifs remerciements vont d'abord à notre directrice de mémoire madame BELGUNDOUZ R pour avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir proposé ce Sujet de mémoire. Merci pour sa gentillesse, sa patience, ses précieux conseils et la totale Confiance qu'elle nous a accordée.



Nos sincères remerciements vont également aux membres de jury de notre mémoire pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail D<sup>f</sup> Allal L la président et D<sup>f</sup> Ghanai R l'examineur. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect . Notre remercie infiniment à Monsieur BOUAMAMA SIF EDDIEN pour son aidetrès important et sa contribution au cours de la réalisation de ce travail .



Nos très spéciaux remerciements reviennent à SAIDAL de GUI DE CONSTANSINE (GDC) On motionné particulièrement les personne de centre de recherche (CRD) ; Mr NOUAS ; Mr Salli Omar, et le docteur vétérinaire Mme KADHI , pour les conseils et les remarques critiques qui nous ont été bénéfiques pour la réalisation de ce travail .

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire de PAM :Amira, Safia ,madame Ayachi N, madame Ghanai R, madame Moumen S, et Mr Ben Dalli A,pour leurs disponibilités et les nombreux services qu'ils nous ont rendu durant la réalisation de ce travail.

Merci à Mr HASANE BOU SKINE et a tout l'équipe de Protection Des Fortes de Blida,et a Mr Hachmi Akli maitres assistent a l'université de Bouira pour leurs soutien , leurs mots encourageants , pour leurs amitié sincère .



Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion de master Biotechnologie et Valorisation Des Plantes 2020.

Enfin , nous adressons nos plus sincères remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travaille

### Dédicace

À mes chers parents,  
Saïde et Harada Farida

Vous m'avez apporté le meilleur

Vous avez su me guider et me conseiller tout au long de mon parcours

Vous avez soutenu chacun de mes choix

Que ce travail soit le témoin de votre réussite

À tous les membres de mes familles

À mes sœurs Ikrame et Maya

Tout au long de mon cursus

À mes collègues de la promotion de master de biotechnologie et valorisation des plantes

Merci pour l'aide, les échanges de connaissances et les moments

Inoubliables passés ensemble.

Puisse Dieu renforcer les liens d'amitié qui nous unissent.

A tous mes enseignants de Biotechnologie et valorisation des plantes

Dr BELGUNDOUZ R, Dr ALLAL L , Dr GHNAI R, Dr MOUMEN S, Dr AYACHI N

## HOMMAGE

La terrible nouvelle de décès du Madame CHABATA N sinueux état un choc pour moi ;  
comme pour beaucoup d'enseignant et d'étudiants et personnels de l'université de Saad  
Dahelab BLIDA.

Personnellement je tiens a exprime que c'est grâce a cette personne et d'autres j'ai choisisse  
ce thème en 20/05/2019

Toutes mes condoléances à sa famille et ces collègues pour la perte d'une personne et  
professeur remarquable



## ملخص

في العقود الأخيرة ، شهدت النباتات الطبية واستخدامها في العلاج تطورها بشكل ملحوظ ، لأسباب مختلفة: اقتصادية واجتماعية وثقافية. ومع ذلك ، فإن العلاج الذاتي مع هذه النباتات لا يخلو من المخاطر. لذا ، فإن إخضاع هذه النباتات لدراسة علمية صارمة أمر ضروري للتحقق من سمعتها الطبية وسلامتها. يدور موضوع بحثنا حول عدة محاور. أولاً ، نحن مهتمون باستخراج الزيت العطري بواسطة التقطير المائي وبعد دراسة الخصائص الفيزيائية الكيميائية للتحقق من أن زيتنا الأساسي نقي ، ثم نقوم بإجراء الفحص الكيميائي النباتي للمستخلصات المائية من *Oiganum Marjoline L* اثنين المنطقة تتحدى. يعطي استخراج الزيت العطري من منطقتين عائداً بنسبة 3.59% و 2.15% لمنطقة البليدة وتيزي وزو ، وأظهرت نتائج الفحص الكيميائي النباتي تبايناً في المستقلب الثانوي. تم تخصيص المحور الثاني لدراسة السموم. حددت دراسة السمية الحادة للزيت العطري *Origanum Marjoline L* أن الجرعة الأولى كانت سامة 250 . وأخيراً ، يتم تخصيص المحور الثالث لتحديد المعلمة البيوكيميائية والدموية ضد العضو الأكثر حساسية ، ويجب إجراء تحقيقات مكثفة لإثراء إنتاج الأدوية العشبية.

**الكلمات الرئيسية:** *Origanum majorana* ، الزيوت الأساسية ، الخصائص الفيزيائية الكيميائية ، المستخلصات المائية ، المنطقة ؛ السمية الحادة.

## Abstract

In recent decades, medicinal plants and their use in therapy have seen their development develop significantly, for various reasons: economic, social, cultural. However, self-medication with these plants is not without risk. Subjecting these plants to a rigorous scientific study is therefore essential to verify their medicinal reputation and their safety. Our research theme revolves around several axes. First we are interested in the extraction of essential oil by hydro distiller and after we study the physicochemical properties to validate that our essential oil is pure. Then we carry out the phytochemical screening of the aqueous extracts of *Origanum majorana L* two regions defy. The extraction of essential oil from two regions gives a yield of 3.59% and 2.15% for the region of Blida and Tizi-Ouzou, and for phytochemical screening results showed a variation in secondary metabolite. The second axis was devoted to the toxicological study; The acute toxicity study of *Origanum majorana L* essential oil determined that the first dose was toxic is 250mg/kg. Finally, the third axis is devoted to the determination of the biochemical and hematological parameter for against the most sensitive organ, intense investigations should be carried out to enrich the production of herbal medicines.

**Keywords:** *Origanum majorana L*, Essential oils, physicochemical properties, Aqueous extracts, Region, Acute toxicity.



## Résumé

Ces dernières décennies, les plantes médicinales et leur utilisation en thérapie ont vu leur essor se développer de façon notable et ce pour différentes raisons : économiques, sociales, culturelles et sanitaire. Cependant, l'automédication par ces plantes ne reste pas sans risque. Soumettre ces plantes à une étude scientifique rigoureuse est donc primordial pour vérifier leur réputation médicinale et leur innocuité. Notre thématique de recherche s'articule autour de plusieurs axes : en premier évaluer la variation du rendement en huile essentielle extraite par hydro distillateur, de ces propriétés physicochimiques par le criblage phytochimique des extraits aqueux de *Oiganum Marjoline L* et sa toxicité, selon les régions étudiées. Le rendement était de 3,59% et 2,15 % pour la région de Blida et Tizi-Ouzou respectivement, le criblage phytochimique a montré une variation en présence de métabolite secondaire, tels que les anthocyanes, les tanins catéchiques, les alcaloïdes, les sucres totaux et les lipides totaux et les saponosides. Pour l'étude toxicologique, d'huile essentielle s'avère toxique et la toxicité aigüe avec la première dose est de 250mg/kg. Les autres doses n'ont pas été étudiés à cause des conditions du COVID19 qui n'ont pas permet la poursuite des travaux ce qui est de même pour le troisième axe consacré à la détermination du paramètre biochimique et hématologique pour identifier l'organe le plus sensible. Ceci laisse dire que, des investigations intenses sont nécessaires pour enrichir ces informations et identifier la dose la plus convenable pour formuler des médicaments à base de cette huile essentielle en vue de leur utilisation en phytothérapie.

**Mots clefs :***Origanum Majorana L*, Huiles essentielles ,propriétés physico-chimique,

**Extraits aqueux, région ; Toxicité aigüe.**

## Liste des abréviations

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**AlCl<sub>3</sub>**: chlorure d'aluminium.

**ALAT** : Alanine aminotransférase.

**ASAT** : Aspartate aminotransférase.

**CCM**: chromatographie sur couche mince.

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire Mustapha.

**CPG** : chromatographie phase gazeuse.

**CRD** : Centre de recherche et de développement à SAIDAL.

**DGF** : Direction De Protection Des Fortes.

**DO** : densité optique.

**DL 50** : La dose létale 50.

**DME** : La dose maximale sans effet toxique.

**EDTA** : Ethylène diamine tétra-acétique.

**FeCl<sub>3</sub>**: Chlorure ferrique.

**GC/MS**: Gaz chromatographe/ mass spectromètre.

**GDP** : Département de Génie De Procède.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**: Acide sulfurique.

**HE**: huiles essentielle.

**HCl**: Acide chlorhydrique.

**HgCl<sub>2</sub>**: Chlorure de mercure.

**HPLC** : chromatographie à haute performance.

**I<sub>2</sub>**: Iode.

**IM:** Indice de Mousse.

**IR :** Indice de réfraction.

**KI:** Iodure de potassium.

**Na Cl:** Chlorure de sodium.

**NH<sub>4</sub>OH:** Ammoniaque.

**OMS :** Organisation mondiale de la Santé.

**OCDE:** Organisation de Coopération et de Développement Economique.

**PAM :** Plante Médicinale et Aromatique

**PPA:** laboratoire de recherche des plantes aromatique et médicinale.

**PH :** Potentiel hydrogène.

**Rdt (%) :** Rendement en huile essentielle.

## Liste des figures

**Figure 1** : La plante Majorana (Abdalla et al., 2012).

**Figure 2**: Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

**Figure 3**: Schéma du principe de la technique d'hydro distillation

**Figure 4** : Appareillage pour une CG

**Figure 5**: Schéma de couplage CPG/SM

**Figure 6**: Schéma de HPLC

**Figure 7** : Cheminement d'un produit dans l'organisme

**Figure 8**: Présentation d'*Origanum majorana* (photo original, 2020).

**Figure 9** : Carte de localisation géographique de la zone de collecte

**Figure 10** : Dispositif de Clevenger pour l'hydro distillation

**Figure 11**: La formation de deux phases

**Figure 12** : Les étapes de l'hydro-distillation (extraction d'HE).

**Figure 13** : Le pH mètre

**Figure 14** : Les résultats du pH sur un papier

**Figure 15** : Réfractomètre (laboratoire de chimie)

**Figure 16**: la plante Majorana après leur broyage.

**Figure 17**: *Albinos wistar* au sein de l'animalerie de laboratoire toxicologie (GDC)

**Figure 18**: Préparation des dilutions

**Figure 19** : Dispositif expérimentale

**Figure 20**: Photographie de la préparation des lames

**Figure 21**: HE de la marjolaine

**Figure 22** : courbe de l'influence de temps sur le rendement.

**Figure 23**: Détection des tanins(Annexe)

**Figure 24** : Détection des anthocyanes(Annexe)

**Figure 25** : Détection des Alcaloïdes(Annexe)

**Figure 26**: Détection des Saponides (Annexe)

**Figure 27**: Détection des lipides(Annexe)

**Figure 28** : la courbe de Trevans

## Liste des tableaux

**Tableau 1:** Composition chimique de Majorana (Bimala, 2016)

**Tableau 2 :** Représentation de la difference entre l' *Origanum vulgare* et *Origanum floribundum*. (BIA S 2019)

**Tableau 3:** Composition de l'huile essentielle de la marjolaine(Triantaphyllouk, 2001)

**Tableau 4:** Dose létale de quelque huile essentielle(Bruneton, 1999)

**Tableau 5:** Les formes d'intoxication (Gilles, 2004).

**Tableau 6 :** Procédure de notre travaille.

**Tableau 7 :** Valeurs des dilutions utilisées pour déterminer la toxicité.

**Tableau 8 :** Influence de temps sur l'extraction de l'huile de l'*Origanum Majorana*.

**Tableau 9 :** Caractéristiques physico-chimiques de l'HE de la marjolaine.

**Tableau 10:** Les caractéristiques organoleptiques d'HE de la marjolaine.

**Tableau 11:** Résultats des tests phyto-chimiques réalisés sur les extraits de notre plantes étudiée.

**Tableau 12:** L'effet d'une dose unique d'*Origanum marjoline* sur les souris *albinos wistar*(Annexe).

**Tableau 13 :** Effet de l'huile essentielle d'*Origanum marjoline* sur le poids des organes.

**Tableau 14:** Calcul de la DL50 pour l'essai principal.(Annexe).



## Sommaire

Remerciements

Dédicace

Hommage

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Dédicace .....	6
1. Généralités .....	4
2. Description botanique.....	5
I.3. Systématique .....	5
4. Distribution géographique et habitat d'Origanum :.....	6
3. Systématique.....	6
Origanum en Algérie.....	7
5. Identification de la marjolaine et d'autre sous espèce : .....	7
6. Composition chimique :.....	8
7. Les activités biologiques de <i>Origanum majorana L</i> .....	10
I.6.1. Activités antibactériennes et antifongiques .....	10
I.6.2. Activité anticonvulsivante : .....	10
I.6.3. Activité antidiabétique :.....	10
I.6.4. Activité antimutagène .....	10
I.6.5. Activité antistress (anti-anxiété) :.....	10
I.6.6. Effet antispasmodique : .....	10
I.6.7. Activité antitoxique : .....	11
1 Définition.....	13



2. Histoire .....	13
3 Origine et localisation des HEs : .....	14
4 Rôle.....	15
5 Le chémotype .....	15
6 Composition chimique des HEs .....	17
7 Propriétés physico-chimiques des HEs.....	17
8.1.Caractéristiques organoleptiques .....	19
8.2. Paramètres physico-chimiques.....	19
9 Les procédés d'extraction des huiles essentielles :.....	20
9.1 Hydro distillation ou distillation à l'eau : .....	21
9.2 Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau : .....	22
9.3. Hydrodiffusion .....	22
9.5 Extraction par le CO2 supercritique.....	23
9.6 Extraction par enfleurage .....	23
9.7 Extraction par expression à froid .....	23
9.8 Extraction par ultrasons .....	24
10. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles :.....	24
10.1 La chromatographie en phase gazeuse.....	24
10.2 La spectrométrie de masse .....	25
10.4 La chromatographie liquide à haute performance.....	27
II.12. Activités biologiques et pharmacologiques des HEs .....	28
11. Toxicité des huiles essentielles.....	28
1. Toxicité aiguë (administration unique).....	31
1.1. La dose létale 50 : DL50 .....	31
1.2. Méthode d'étude de la toxicité aiguë selon la ligne directive Européenne de l'OCDE code 423 .....	32
2. Toxicité subaiguë.....	32

3. Toxicité chronique .....	33
4. Comparaison entre la toxicité aiguë et chronique.....	33
5-LE CHEMINEMENT D'UN TOXIQUE DANS L'ORGANISME .....	34
5.1-L'absorption.....	34
5.2-La distribution.....	34
5.3-La biotransformation .....	34
5.4- L'excrétion.....	34
6. Facteurs influençant la dose toxique : (DL50) .....	35
a) liée au sujet : (animal ou homme) :.....	35
b) influence du mode d'administration .....	35
IV. Matériel et méthode.....	38
1. Première partie : étude phytochimique.....	38
1.1. Matériel végétal.....	38
1.2. Extraction de l'HE de marjolaine.....	40
1.3. Conservation d'huile essentielle obtenue :.....	42
1.4. Analyses phytochimiques : .....	43
1.5. Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle .....	46
2.Screening phytochimiques : .....	46
3.Deuxième partie : étude de la toxicité : .....	49
3.1.Matériel animal .....	49
3.5.Préparation de la gamme de dilutions .....	51
<b>3.6.Administration de la substance</b> .....	52
3.7.Les méthodes d'évaluation de la toxicité.....	52
<b>Observations</b> .....	52
3.8. Tests biochimiques .....	53
3.9. Tests hématologiques .....	53
3.10.Calcul de la DL50 et de l'intervalle de confiance .....	54

V.1..Rendement d'extraction .....	56
1.2. Influence de temps sur l'extraction de l'huile essentielle.....	56
1.3. Caractérisation de l'huile essentielle .....	57
V.2. Propriétés organoleptiques .....	57
2.3. Analyse phyto-chimique.....	59
V.3.LA TOXICITE AIGUE :.....	61
3.1.Observations cliniques.....	61
3.2.La courbe de la dose létale 50 : .....	62
Bibliographie .....	66
Bibliographie .....	67
ANNEXE .....	76

## INTRODUCTION

---

## Introduction Générales

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (**M.Sanago 2006**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne.

Par ses contrastes géographiques et sa diversité climatique, l'Algérie dispose d'un potentiel important en PAM dont 15% des espèces sont endémiques (**Hmamouchi, 2001**). Les plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chaabi2008**). Parmi c'est molécules on a carvacrol et thymol (**Bendahou et al. 2008**).

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier *Origanum majorana*. Certains constituants aromatiques des HEs possèdent de multiples vertus, cependant elles peuvent présenter une toxicité à très forte dose (essentiellement les cétones mono-terpéniques) (**Piochon, 2008**). Ainsi l'ingestion massive peut conduire à une neurotoxicité (**Bruneton, 1999**).

L'origan marjolaine appelée localement « Merdakouche » « مردقوش » est parmi les PAM les plus réputées par ses innombrables vertus thérapeutiques et dont l'usage traditionnel n'a jamais cessé d'augmenter ; il pousse dans la région de Blida, et de Tizi-Ouzou, elle est couramment utilisée par la population locale pour différents traitements, vue leurs propriétés pharmacologiques (**Chabata N 2019**).

Ses multiples propriétés pharmacologiques sont dues à la richesse de la plante en huile essentielle qui est parmi les groupes les plus importants de produits naturels en raison de leurs propriétés biologiques et de leur diversité structurale (**Bruneton, 1999**). Cependant de nombreuses espèces végétales possèdent une toxicité propre, directe ou indirecte, qu'il est nécessaire de connaître avant toute commercialisation. La connaissance parfaite des constituants d'une plante est donc nécessaire (**Chabata N 2019**).

## **CHAPITRE II :**

## **Huile Essentielle**

L'objectif essentiel de ce travail consiste à répondre à la problématique suivante : **«Peut-on utiliser l'huile essentielle de l'origan sans avoir des risques ? Quelle est la dose toxique de cette huile essentielle ? »**

## Introduction Générales

La présente étude s'intéresse à l'évaluation de la toxicité de l'huile essentielle sur souris *Albinos wistar*. Pour développer ces aspects, nous avons adopté la méthodologie suivante:

- Extraction des huiles essentielles par hydro distillation.
- Etude des propriétés physico-chimique
- Screening photochimique.
- Etude de la toxicité aigue.
- Etude des paramètres physiques, biochimiques et hématologiques.

CHAPITRE 1 : Présentation de la plantes

---



**1. Généralités :**

Majorana ou la Marjolaine (*Origanum majorana*.L) est une plante annuelle de la famille des Lamiacées, cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles aromatiques. C'est une espèce très proche de l'Origan commun (*Origanum vulgare*). Elle est parfois appelée Marjolaine des jardins ou Origan des jardins (**Dubois et al, 2006**).

Autres noms communs : marjolaine officinale, marjolaine à coquilles, la marjolaine vraie, Marjolaine française, Sweet Marjolam. Dans l'Afrique du Nord les Arabes la nomment Khrezama (Tunisie), Meurdekouch (Maroc), Mardguscia (Tripoljiiaine), et parfois Mazermouch ou Marikoum, noms qui s'appliquent aussi à d'autres espèces d'*Origanum* (**Chevalier, 1938, Dubois et al., 2006**).

Les Egyptiens la cultivaient dans les jardins et employaient ses pousses pour embaumer les momies ; on attribuait aussi à la plante des propriétés médicinales (**Chevalier, 1938**). À la fin du XVIe siècle, on la prescrivait «contre les affections dues au refroidissement du cerveau et de la tête » .Ses propriétés furent étudiées au XVIIe siècle par le Danois Simon Paulli (**Gérard et François., 2009, Chevalier, 1938**).

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

Elle est aussi utilisée pour le traitement de troubles gastro-intestinaux, toux, les maladies bronchiques, comme un bain de bouche pour l'hygiène buccale et également appliqué localement pour soulager les symptômes de rhume, comme la congestion nasale (**Bruneton, 1999**). C'est une maison remède pour infection de la poitrine, toux, mal de gorge, douleurs rhumatismales, troubles nerveux, cardiovasculaires épilepsie, insomnie, soins de la peau, flatulences et troubles de l'estomac (**Bremness, 1994, Yazdanparast et Shahriyary., 2008**). On l'emploie également en cas de migraine. Elle est un excellent antiseptique général, tant interne qu'externe. Très bon antispasmodique, la marjolaine est utilisée contre les mauvaises digestions d'origine nerveuse, les coliques et les flatulences. En usage externe, elle

a depuis longtemps fait ses preuves contre le torticolis et la sciatique (**Gérard et François., 2009**).

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

## **2. Description botanique**

Majorana (*Origanum Majorana* L) est une plante herbacée à feuilles persistantes (**Bimala et al., 2016**). C'est une plante annuelle de 20 à 40 cm de hauteur. Ses tiges dressées portent des petites feuilles opposées, arrondies et d'un vert grisâtre. Les fleurs blanches, groupées en épis terminant les tiges et entourées de bractées arrondies caractéristiques. Pour cette raison, on parle souvent de marjolaine à coquilles (**figure I.1**). La plante dégage au froissement une odeur aromatique (**Gérard et François., 2009**)



**Figure 1** : La plante Majorana (**Abdalla et al., 2012**)

## CHAPITRE I :

## PRESENTATION DE LA PLANTES

### 3. Systématique (Gilles, 2007)

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

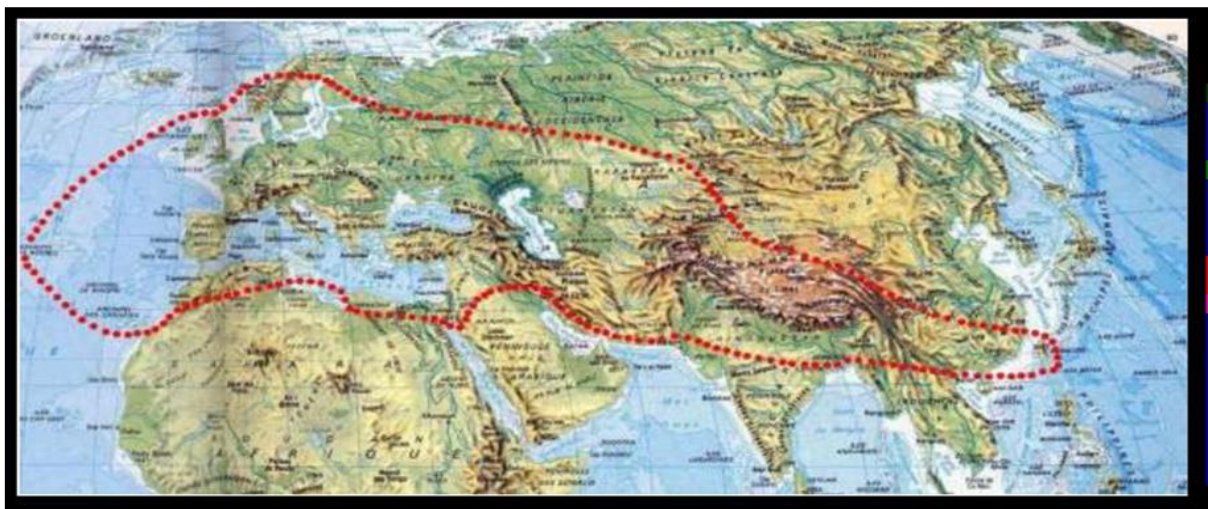
Sous-famille : Népétoïdées


Genre : *Origanum*

Espèce : *Origanum Majorana*

#### 4. Distribution géographique et habitat d'Origanum :

Est actuellement connue seulement à l'état cultivé originaire du sud-ouest de l'Asie probablement de Syrie ou de l'Iran, cultivée depuis la plus haute antiquité dans tout le bassin méditerranéen comme leur genre *Origanum* qui est distribué dans ce climat (figure 2). Elle est une plante vivace en Afrique, mais annuelle dans les jardins de l'Europe moyenne où on la cultive (Chevalier, 1938, Gérard et François., 2009, Ietswaart, 1980).



 Limite de distribution.

**Figure 2:** Aire de distribution du genre *Origanum* (Ietswaart, 1980).

### Origanum en Algérie

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales au regard de sa superficie et de sa diversité bioclimatique. *L'origanum* de la famille des Lamiacées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (SAIDJ, 2007). Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement, elle est représentée par trois espèces spontanées :

- *Origanum majorana*
- *Origanum vulgare ssp glandulosum Desf* en démique Algéro-tunisienne
- *Origanum floribundum* endémique Algérienne.



#### 5. Identification de la marjolaine et d'autre sous espèce :

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



**Figure 3** : Présentation de la marjolaine (photo originale).

**Tableau 1**: Présentation la différence ente l'*Origanum vulgare* et l'*Origanum floribundum* (BIA S 2018).

	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Origanum floribundum</i>
hauteur	30 à 60 cm	3-5 décis maitres
les feuilles	ovales opposées et espacées.	ovoïdes ou orbiculaires
Les fleurs	blanches ou rose sont groupées en inflorescences.	mauve épis grêles
Le fruit	constitué d'akènes.	formant une panicule pyramidale.
Présentation de la plante	 <p>Présentation <i>Origanum vulgare</i></p>	 <p>Présentation <i>Origanum floribundum</i></p>
Lieu	en Algérie et en Tunisie en particulier dans les montagnes	Atlas de Blida et de la grande kabylie

### 6. Composition chimique :

Une étude phytochimique sur la plante médicinale Majorana (l'extrait méthanolique et d'éther de pétrole) a montré qu'elle comporte les composés suivants : les glycosides, flavonoïdes, tannins, alcaloïdes et stéroïdes (**tableau I.1**) (**Bimala, 2016**).

**Tableau 2** : Composition chimique de Majorana (**Bimala, 2016**)

Composé chimique	Extrait éthanolique	Extrait d'éther de pétrol
Les alcaloïdes	+	+
Les flavonoïdes	+++	+++
Les saponosides	+	+
Les tanins	++	++

Les phlobatanins	-	-
Les glycosides	+++	+++
Les stérols	+	++
Les résines	++	++
Les phénols	+	++
Les anthraquinones	-	-
Les glycosides cardiaques	++	++
Les terpénoïdes	-	-

D'après Triantaphyllouk (2001), L'huile essentielle de marjolaine est particulièrement riche en terpinéol. Elle a un aspect liquide, limpide, une couleur jaune pâle a foncé et une odeur douce, fine, chaude et délicate. La composition de l'huile essentielle de marjolaine est exprimée en pourcentage de divers composés des familles des monoterpénols, des monoterpènes, des sesquiterpenes et des esters terpéniques (tableau I.2).

**Tableau 3 :** Composition de l'huile essentielle de la marjolaine (**Triantaphyllouk, 2001**)

Composé	%	Composé	%
terpinén-4-ol	22.85	béta-phellandrène	1.90
gamma-terpinène	12.60	alpha-terpinéol	4.88
(E)-hydrate de sabinène	15.94	Terpinolène	2.92
Sabinène	7.65	(Z)-hydrate de sabinène	4.40
(Z)- paramenth-2-éne-1-ol	1.98	bétapinène	0.43
alpha-terpinène	7.73	acétate de linalyle	1.70
(E)-para-menth-2-éne-1-ol	1.25	bicyclogermacrène	1.22
alphaphellandrène	0.56	béta-caryophyllène	2.49
alpha-thujène	0.77	alpha-pinène	0.77
limonène	1.76	para-cymène	1.57



**7. Les activités biologiques de *Origanum majorana L*****I.6.1. Activités antibactériennes et antifongiques**

Les huiles essentielles (HE) dérivées des feuilles de marjorana exercent une importante activité antimicrobienne sur plusieurs types des bactéries de genres Gram positif et Gram négatif (Busatta et al., 2008, Freire, 2011).

L'huile essentielle présente également une activité antifongique, notamment sur *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus* (Freire, 2011, Sharma et al., 2011). Par ailleurs, l'extrait éthanolique et hexanique exerce une activité inhibitrice sur six *Candida sp* (souches de levure) (Kazlowska et al., (2010).

**I.6.2. Activité anticonvulsivante :**

Selon Deshmane et ses collaborateurs (2007), Les extraits d'éther de pétrole, de chloroforme, d'acétone, de méthanol et des extraits aqueux de Majolana ont montré un effet anticonvulsivant.

**I.6.3. Activité antidiabétique :**

Martha et Gutierrez (2012), ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de marjoline a une activité antidiabétique chez les souris induites par la streptozotocine par divers essais in vitro et in vivo.

**I.6.4. Activité antimutagène**

L'extrait éthanolique des parties aériennes de *Origanum majorana L* a montré un effet antimutagène chez les souris induites par le cyclophosphamide à la dose efficace minimale de 125 mg / kg. L'effet de l'extrait est trouvé pour protéger tout changement dans les teneurs en ARN, ADN et protéines dans le foie et les testicules des souris traitées par rapport au contrôle (Naif, 2011).

**I.6.5. Activité antistress (anti-anxiété) :**

D'après Rezaie (2011), l'extrait des feuilles de la plante a *Origanum majorana L* montré un effet anti-anxiété sur les rats dans le modèle de labyrinthe ouvert à une dose de 200 mg / kg p.c. L'effet est dépendant et comparable au diazépam.

**I.6.6. Effet antispasmodique :**

L'huile essentielle de *Origanum majorana L* est considérée comme un puissant antispasmodique stomacal, qui calme les spasmes et plus particulièrement ceux de

l'estomac et du colon, son action laxative et digestive contribue au bien être digestif et intestinal (Vagi, 2005).

**I.6.7. Activité antitoxique :**

Majorana est utilisée en applications locales sur les boutons pour inactiver le venin des insectes, inoculé par piqûre (Vagi et al, 2005).



## CHAPITRE 2 : Huile Essentielle

---

**1 Définition**

Les huiles essentielles (HEs) sont définies comme étant des liquides concentrés, très complexes et hydrophobes. Leur densité est  $<1$  sauf pour les HEs de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) et Sassafras (*Sassafras albidum*) (**Charpentier et al., 2008**). Le terme huile s'explique par la propriété de solubilité dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus au moins forte dégagée par la plante (**Teusher et al., 2005**).

D'après l'Association Française de Normalisation (**AFNOR, Edition 2000**), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (**Baser et Buchbauer, 2010**).

**2. Histoire**

Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes... etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes, 2008**).

**3 Origine et localisation des HEs :**

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (**Narishetty et Panchagnula, 2004**).

Les essences sont synthétisées par les végétaux supérieurs, il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles dont les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae et les Lauraceae. Ces espèces sont caractérisées par la présence d'organes spécifiques responsables de la synthèse et de stockage des huiles essentielles : les poches (Myrtacées, Rutacées) ou les canaux sécréteurs, les poils sécréteurs (Lamiaceae) et les cellules sécrétrices (Zingiberaceae, Lauraceae) (**Bruneton, 1993**). L'accumulation des HES peut être dans toutes les parties de la plante : sommités fleuries (lavande), écorces (cannelier), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis)...*etc.*

#### **4 Rôle**

Les végétaux, ont besoin pour vivre de l'énergie qu'ils tirent de substances organiques issues de leur métabolisme. On distingue deux types de métabolismes (**Faucon, 2012**) :

□ **Le métabolisme primaire** : qui conduit à la formation de molécules largement répandues (et indispensables à la vie de la plante lipides, protides et glucides).

□ **Le métabolisme secondaire** : qui mène à des molécules plus spécifiques et qui correspond à l'adaptation de la plante à son environnement (et qui mène donc à la formation des essences). Ce sont souvent ces familles de molécules qui possèdent des activités biologiques particulières.

La fonction exacte de l'essence pour la plante est encore mal connue mais elle semble jouer un rôle important dans son adaptation à l'environnement (**Desousa, 2012**). Certains composés volatiles produits par la plantes et que l'on retrouve dans les essences vont moduler le comportement des microorganismes, champignons, insectes et herbivores. Ainsi, les essences pourraient être des outils de défense contre les prédateurs, de répulsion des insectes et herbivores ou encore de protection contre les pathogènes. Elles permettraient également d'attirer des insectes pollinisateurs ou des disséminateurs de graines. Les essences pourraient être des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante (**Flavour et Fagnace journal , 2009**).

#### **5 Le chémotype**

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'huile essentielle. Cet élément permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais d'une

composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (**Pibiri, 2005**).

**6 Composition chimique des HEs**

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes (**Cowan MM., 1999**). Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent principalement à deux grandes familles de composés chimiques : le groupe des composés terpéniques sont représentés principalement par des monoterpènes: (C 10) cinéol, menthol... qui constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle (**Lamarti et al., 1994**), et quelques sesquiterpènes: (C15) caryophyllène, humulène... (**Loza-Tavera., 1999**) bien que des diterpènes (C20) peuvent aussi être présents (**Dorman and Deans., 2000**).

Le groupe des composés aromatiques: des dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquent, comme le safrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (qui contribuent souvent aux arômes des fruits) (**Bruneton., 1999**).

Les monoterpènes et leurs dérivés (alcools, esters, acétates, ... etc). Sont les composés les plus abondants dans les huiles essentielles, Ils sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, et sont responsables des saveurs caractéristiques et de l'arôme que possède la plante (**Loza-Tavera., 1999, Robinson., 1991**) ou (**Lamarti., 1994**). Leur étude chimique est compliquée, par la difficulté d'obtenir ces produits purs du mélange complexe dans lequel ils sont présents et les réarrangements qu'ils peuvent subir (**Robinson., 1991**). Exemple de quelques monoterpènes: menthol, alpha terpinéol, linalol, lavandulol, géraniol...etc.

Plusieurs facteurs peuvent être responsables du polymorphisme chimique des huiles essentielles. Les plus importants sont le climat, le sol, la période de récolte et la méthode de conservation et d'extraction. Les facteurs génétiques et le cycle végétatif peuvent également influencer sur cette variabilité (Echeverrigaray et al., 2001 ; Hudaib, 2002).

**7 Propriétés physico-chimiques des HEs**

Toutes substances d'origine naturelle ou chimiquement synthétisées possèdent des propriétés physico-chimiques spéciales, les huiles essentielles aussi ayant en commun un certain nombre de propriétés spécifiques, à savoir :

- A température ambiante, les huiles essentielles sont généralement liquides.
- A basse température, certaines huiles essentielles cristallisent (celles de menthe et de thym, lorsque les flacons sont stockés au réfrigérateur).

- Les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les oppose aux “huiles fixes” ou “huiles végétales”. Cette volatilité explique leur caractère odorant ainsi que leur mode d’obtention par entraînement à la vapeur d’eau.
- Les huiles essentielles sont très solubles dans les huiles grasses (qui constituent un très bon véhicule lorsque l’on souhaite les diluer), les lipides (d’où le principe de l’enfleurage)

- anciennement utilisé pour extraire les huiles essentielles en les mettant en contact avec une graisse animale comme la lanoline), l'éther, la plupart des solvants organiques ainsi que dans l'alcool.
- De caractère liposoluble, les huiles essentielles ne se dissolvent pas dans l'eau.
- Les huiles essentielles sont altérables, sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. Elles ont, en effet, tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Leur conservation nécessite de l'obscurité (flacons en verre opaque) et de l'humidité.

### **8.1. Caractéristiques organoleptiques**

Chaque extrait est caractérisé par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur.

#### ***a) L'odeur :***

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millièmes de grammes par litre d'air.

#### ***b) La couleur :***

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée.

#### ***c) L'aspect :***

L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide.

### **8.2. Paramètres physico-chimiques**

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

#### ***a) Densité :***

La densité ou la masse volumique est le rapport du poids d'un certain volume d'un corps et le poids du même volume d'un corps de référence (eau).



***b) Indice de réfraction :***

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (Mohamdi Z, 2005). L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé. L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à ceux de l' u à 20°C = 1.3356, et de l'huile d'olive à 20°C= 1.4684. Ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.

***c) Potentiel d'hydrogène (PH) :***

L'abréviation de potentiel d'hydrogène est pH, mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H<sup>+</sup>) (appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre.

***d) Indice d'acide :***

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. (Mohamdi Z, 2005).

**9 Les procédés d'extraction des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) (Jacqueline, 2009). Ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Le procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilités des composés d'un mélange dans un solvant. Le mélange peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique.

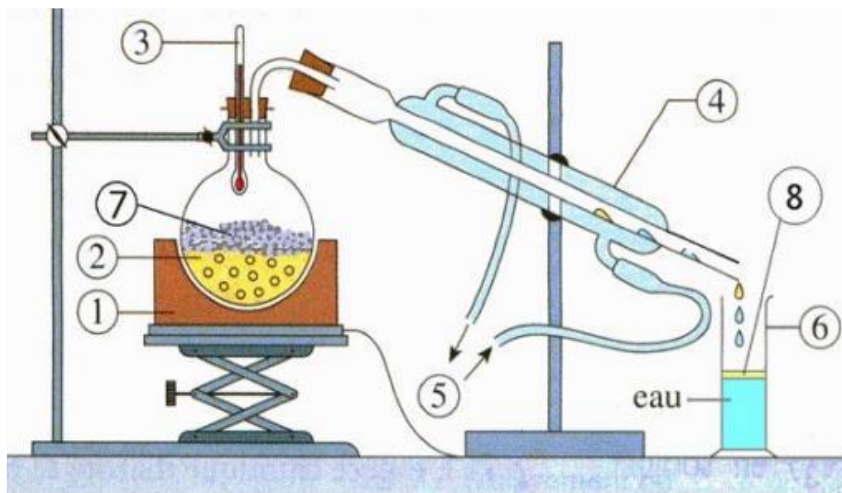
Parmi les techniques conventionnelles, on trouve l'entraînement à la vapeur, l'hydrodistillation, l'extraction par solvant volatil, et l'hydrodiffusion. Dans la catégorie «

techniques nouvelles » on peut citer l'extraction assistée par microondes (Microwave Assisted Extraction), et l'extraction par des fluides supercritiques. On distingue les procédés suivants:

**9.1 Hydro distillation ou distillation à l'eau :**

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. L'hydro distillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**PORTER N., 2001**).

Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation(**DELAVEAU P., 1987**) .



1- Chauffe ballon	5-Entrer et sortie d'eau de refroidissement
2- Ballon	6- Eprouvette graduée
3- Thermomètre	7- Matière à extraire l'essence
4- Réfrigérant	8- La couche d'HES

**Figure 4 :** Schéma de principe de la technique d'hydro distillation

La durée d'une hydro distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter.

La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

### **9.2 Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau :**

Il s'agit de l'un des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques les plus anciens, apporté par les Arabes au IX<sup>e</sup> siècle. Cette opération s'accomplit dans un distillateur ou « alambic ». 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 (**JOULAIN D 1994**).

Les parties insolubles sont séparées de l'eau par décantation pour donner l'huile essentielle (**DELAVEAU P., 1987**).

### **9.3. Hydrodiffusion**

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur . Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

### **9.4. Extraction par solvants volatils**

C'est une méthode qui est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. (**Belaiche, 1979 ; Duraffourd et al. , 1990**).

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (**Hubert, 1992**).

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysant de l'eau ou de la vapeur d'eau.

### **9.5 Extraction par le CO2 supercritique**

Le principe général de la méthode : Le CO<sub>2</sub>, porté aux conditions de température et de pression souhaitées, chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques. Le mélange passe ensuite dans un séparateur, où le CO<sub>2</sub> est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé. L'extrait se condense et est récupéré (**Feranchomme et Roger, 2001**).

### **9.6 Extraction par enfleurage**

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras, elle consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (pétale des roses) sur une couche mince de graisse. Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures à 72 heures. Les pétales sont éliminés et remplacés par des pétales frais jusqu'à saturation du corps gras. Ce dernier est épuisé par un solvant qui sera évaporé ensuite sous vide (**Belaiche, 1979 ; France-Ida, 1996**).

### **9.7 Extraction par expression à froid**

Il s'agit du procédé d'extraction le plus simple et le plus limité. C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid (notamment les agrumes : citron, orange, etc.) de l'écorce ou des fruits (**DELAVEREAU P., 1987**).

Cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zestes frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique. La rupture de la paroi des poches oléifères fait intervenir trois procédés (**JOULAIN D 1994**):

- Une technique qui agit sur le fruit entier, elle utilise des machines exerçant une action abrasive
- . - Une technique qui agit sur le fruit sans endocarpe. Elle utilise des machines exerçant une pression suffisante pour libérer l'essence.
- Un troisième procédé permet d'extraire en une seule opération l'essence et le jus sans mélanger les deux produits.

Le produit obtenu se nomme « essence » et non huile essentielle, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur d'eau n'a lieu.

### **9.8 Extraction par ultrasons**

Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulosiques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles (**Lagunez-Rivera, 2006**).

## **10. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles :**

Quelque soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (parfumerie, cosmétique, industrie pharmaceutique et agroalimentaire), une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Ainsi l'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification des composants, reste une étape importante. Cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques (**DELAVEAU P., 1987**).

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. La séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et désorptions successives sur la phase fixe, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (**PLATZER N 2002**).

Plusieurs méthodes existent :

### **10.1 La chromatographie en phase gazeuse**

Il s'agit d'une technique de chimie analytique qui permet de séparer des composés volatils ou volatilissables sans dégradation (non-thermolabiles). Son pouvoir de séparation dépasse celui de toutes les autres techniques, du moins pour les huiles essentielles.

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles

et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt (Rouessac. F et al, 2007).

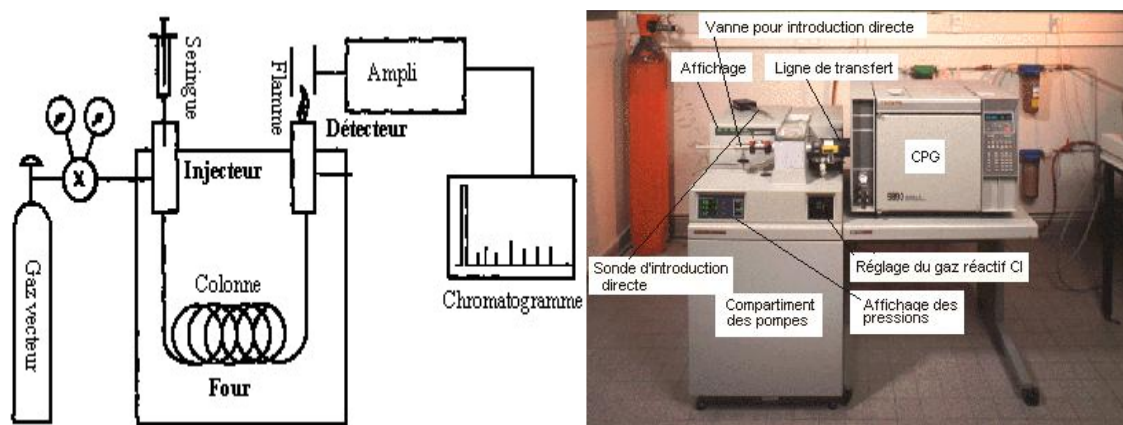


Figure 5 : Appareillage pour une CPG

La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés (Mendham J et al, 2005). Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules (Burgot G et Burgot J. L, 2011).

### 10.2 La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (mass spectrometry ou MS) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique.

Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ). Le spectromètre de masse est souvent couplé avec un système de chromatographie en phase gazeuse, et cette association, d'une méthode

séparative et d'une méthode d'identification, permet d'étudier des mélanges complexes à l'état de traces (quelques nano grammes de mélange).

Le principe de la spectrométrie de masse est le suivant :

- Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé.

Il peut y avoir des ruptures des liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, formant ainsi des ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés.

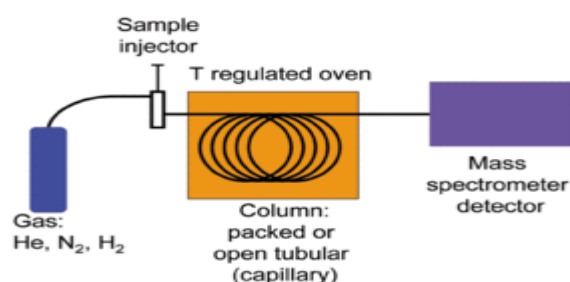
- Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur.

- L'ensemble de ces ions fragments constitue le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire.

### 10.3 Analyse par couplage GC/MS

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM.

La chromatographie en phase gazeuse sépare des fractions moléculaires composant. L'échantillon en se basant sur la vitesse de déplacement et le temps de rétention mis pour parcourir une colonne remplie d'une phase stationnaire. La spectroscopie de masse utilise des sources énergétiques pour ioniser, fragmenter et enfin séparer les groupements moléculaires selon le rapport masse/charge électrique ( $m/q$ ).



**Figure 6:** Schéma de couplage CPG/SM

La combinaison de ces deux techniques d'analyses CPG/SM permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, donc de faire une analyse complète aussi bien qualitative que quantitative du produit à analyser.

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.

L'avantage d'un couplage en chaîne d'une interface chromatographique avec un spectromètre est la possibilité d'analyser le spectre individuel d'un composé.

Il s'agit de la technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles en raison en grande partie de la facilité de prise en main des systèmes de séparation et de détection performants, avec un coût relativement faible.

#### 10.4 La chromatographie liquide à haute performance

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine. Les particules solides ont un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5  $\mu\text{m}$ . Le garnissage est tassé dans une colonne fermée. La phase mobile liquide circule sous l'effet d'une haute pression. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques microlitres) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données (Audigie *et al.*, 1995 in Bencheikh, 2005). Cette technique est peu intéressante pour les fractions volatiles, toutefois elle est efficace pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour opérer des préfractionnements, on peut la coupler également à un analyseur de masse (Bruneton, 1999).

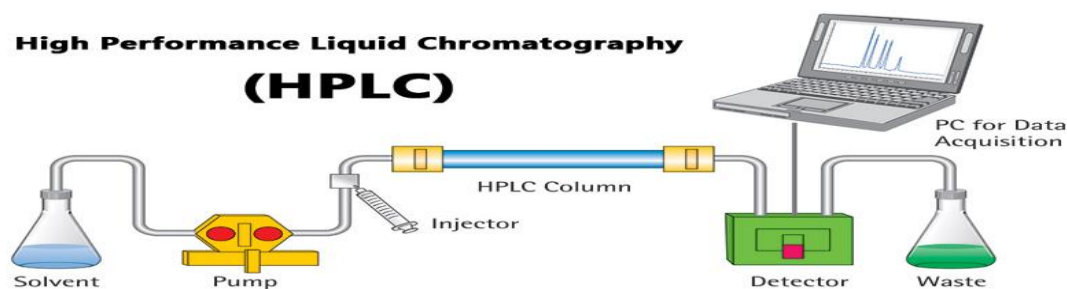


Figure 7: Schéma de HPLC



**II.12. Activités biologiques et pharmacologiques des HEs**

Les huiles essentielles, par leurs propriétés nombreuses et variées, sont utilisées dans différents secteurs : en parfumerie, en cosmétologie, en conserverie, en pâtisserie, dans la fabrication des mastics, des condiments, des insecticides, et dans les industries pharmaceutiques. Ceci a été prouvé par plusieurs études (**Dorman et Deans., 2000 ; Schelz et al, 2006 ; Lahlou., 2004 ; Rota et al, 2008 ; Prabuseenivasan et al, 2006**).

Depuis longtemps, les huiles essentielles sont utilisées en thérapeutique. Les applications thérapeutiques des huiles essentielles sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain (**Soto-Mendivil et al. 2006**). L'usage des huiles essentielles en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables (**Ouraïni et al, 2007**).

De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirop, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion telle que : la verveine, le thym, la menthe et autres, elles ont une action anti-inflammatoire, antiseptique, antibactérienne, insecticide et antioxydante (**Prabuseenivasan et al, 2006 ; Domaracky et al, 2007**).

**11. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont présentées généralement comme « sans danger » mais sont aussi des composés puissants (**Degryse et al., 2008**). Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (**Piochon, 2008**). Certains constituants aromatiques des HEs possèdent de multiples vertus, cependant elles peuvent présenter une toxicité à très forte dose (essentiellement les cétones mono-terpéniques) ; suivant la citation de Paracelse : « Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose compte ». Généralement, les huiles essentielles ingérées par voie orale ont une toxicité aiguë faible (Tableau 01).

Ainsi l'ingestion massive peut conduire à une neurotoxicité issue des HEs à thuyone (thuya, absinthe, sauge) ou à pinocamphone. Ces cétones peuvent provoquer des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles sensoriels.

**Tableau 4 :** Dose létale de quelque huile essentielle (**Bruneton, 1999**)

Plante	DL50	Animal d'étude
<b>Anis, Eucalyptus, Girofle Camomille,</b>	2 à 5 g/kg	Lapin/Rats
<b>Citronnelle, Lavande, Marjolaine</b>	<5 g/kg	Lapin/Rats
<b>Basilic, Estragon, Hysope</b>	1 à 2 g/kg	Lapin/Rats
<b>Origan</b>	1,5ml/kg	Souris
<b>Sassafras</b>	1,9 g/kg	Souris
<b>Wintergreen</b>	0,9 à 1,25 g/kg	Souris

## CHAPITRE 3 : Etude Toxicologique

---

L'efficacité d'une substance en pharmacologie n'est pas suffisante pour justifier son éventuelle introduction en thérapeutique. En effet, en plus de l'efficacité, il ne doit pas se produire pour la dose active des effets toxiques et néfastes pour l'organisme. Il faut donc définir le rapport bénéfice risque dans l'indication thérapeutique de chaque substance. Ceci ne peut être réalisé que par l'intermédiaire de deux types d'étude, d'une part l'efficacité chez l'animal (pharmacologie expérimentale) et chez l'homme (effets bénéfiques), d'autre part une étude de sécurité chez l'animal (toxicologie) et chez l'homme (effets indésirables) (**Dupont, 1987; Claude, 1985; Antonious et al., 2006; Buenz, 2006**).

La toxicologie doit donc veiller à l'innocuité des plantes médicinales. Mais sa position ne doit pas être seulement négative et réglementaire, bien au contraire elle doit aider aussi à l'innovation, au choix des plantes médicinales à des doses bénéfiques. En définitive, elle doit apporter à la phytothérapie et à la consommation des plantes une certaine garantie et une certaine caution. L'évaluation de la sécurité d'une substance peut être appréciée soit par l'étude de sa toxicité aiguë après administration d'une dose unique ou bien par l'étude de sa toxicité chronique après administration répétée de la substance. Cependant, l'étude de la toxicité aiguë reste le jalon indispensable dans toute étude toxicologique.

### **1. Toxicité aiguë (administration unique)**

L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose qui tue 50 % des animaux d'expérience (DL50) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin (**Traore, 1999**). La toxicité peut être appréciée entre autre par la détermination de la DL50.

#### **1.1. La dose létale 50 : DL50**

La dose létale 50 % (DL50) correspond à la dose capable de tuer dans des conditions déterminées, la moitié des animaux mis en expérience dans une même espèce animale. Dans un délai généralement court, fixé au minimum à sept jours et au maximum à quatorze jours. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien : mort ou survie des animaux.

L'étude de la toxicité aiguë peut être réalisée selon différentes méthodes ; Méthode de Dragstedt et Lang ; Méthode de Karber et Behrens ; Méthode de Miller et Tainter ; Méthode de Trevan ; Méthode de Litchfield et Wilcoxon ; Méthode selon la ligne directrice européenne de l'OCDE code 423. Parmi ces méthodes on définit la méthode de la ligne directrice européenne de l'OCDE code 423

### 1.2. Méthode d'étude de la toxicité aiguë selon la ligne directrice Européenne de l'OCDE code 423

La méthode par classe de toxicité aiguë décrite dans la Ligne directrice Européenne code 423 est un processus utilisant des animaux d'un seul sexe par étape. Suivant la mortalité et/ou l'état moribond des animaux, deux à quatre étapes sont nécessaires en moyenne pour évaluer la toxicité aiguë de la substance d'essai. Cette méthode est reproductible, utilise très peu d'animaux comparée aux autres méthodes de toxicité aiguë (Lignes directrices 420 et 425) ; elle permet de classer des substances par ordre de toxicité de façon similaire. La méthode utilise des doses prédéterminées et donne des résultats qui permettent le classement des substances dans le Système de Classification Globalement Harmonisé (SCGH) de substances entraînant de la toxicité aiguë. Cette méthode ne vise pas le calcul d'une valeur précise de la DL50. Comme la mort d'un nombre d'animaux reste le principal effet observé, la méthode permet de déterminer dans quelle gamme de doses la substance doit être considérée létale. Toutes les informations disponibles sur la substance d'essai doivent être rassemblées avant de procéder à l'essai. Ces informations contiendront l'identité et la structure chimique de la substance, ses propriétés physico-chimiques et les résultats obtenus dans tout autre essai de toxicité *in vitro* et *in vivo* ; elles seront utiles dans le choix de la dose initiale appropriée. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée dans un processus séquentiel dans lequel trois animaux d'un seul sexe (des femelles) sont utilisés à chaque étape (**Roll R et al, 1986**). L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est à dire:

- Arrêt de l'essai,
- Administration de la même dose à trois animaux supplémentaires,
- Administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.

### 2. Toxicité subaiguë

La toxicité subaiguë concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes (**OCDE, 1979**).

La substance à tester est administrée quotidiennement à différents niveaux de dose à plusieurs groupes d'animaux. De manière générale, au moins trois groupes d'essai et un groupe témoin doivent être utilisés (OCDE, 2008).

### 3. Toxicité chronique

Le but d'une étude de toxicité chronique est de déterminer les effets d'une substance d'essai, chez une espèce de Mammifère donnée, à la suite d'une exposition prolongée et répétée (OCDE, 1979).

La substance d'essai est administrée quotidiennement à plusieurs groupes d'animaux d'expérience à des doses progressives, en général pendant une période de 12 mois. Cette durée est assez longue pour permettre aux effets de toxicité cumulée de se manifester, tout en évitant les effets perturbateurs des changements liés au vieillissement (OCDE, 2009).

### 4. Comparaison entre la toxicité aiguë et chronique

Les mots « **aiguë** » et « **chronique** » peuvent être accolés à exposition, intoxication, toxicité et effets. Classiquement, on considère qu'il y a intoxication aiguë lorsque des effets biologiques surviennent après une période d'exposition à un contaminant ne dépassant pas 24 heures. L'intoxication chronique concernera une exposition répétée de l'animal pendant une période de six mois ou plus. L'exposition de durée intermédiaire, généralement 13 semaines, déterminera l'intoxication sub-chronique (Viau et Tardif ; 2003).

Il semble approprié d'utiliser les mêmes intervalles de temps pour définir le type d'intoxication subi par une population, même si la durée de vie moyenne des humains est de loin supérieure à celle des animaux de laboratoire. D'emblée, le type d'intoxication déterminera également la facilité ou la difficulté d'établir une relation causale entre une exposition et l'observation d'effets toxiques. Il va de soi que, pour les intoxications aiguës à des doses élevées de toxiques provoquant des effets aisément mesurables, la relation sera beaucoup plus facile à établir que pour une intoxication chronique à de faibles doses (Viau et Tardif ; 2003).

**Tableau 5:** Les formes d'intoxication (Gilles, 2004).

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée de l'exposition
<b>Aiguë</b>	Unique	< 24 heures

<b>Subaigüe</b>	Répétée	≤1 mois
<b>Sub-chronique</b>	Répétée	De 1 à 3 mois
<b>Chronique</b>	Répétée	>3 mois

## 5-LE CHEMINEMENT D'UN TOXIQUE DANS L'ORGANISME

### 5.1-L'absorption

On appelle absorption le processus de pénétration d'un produit dans l'organisme. Il s'agit d'une étape importante, car, tant qu'il n'a pas pénétré dans la circulation sanguine, un produit ne peut causer d'action toxique systémique. L'absorption peut se dérouler sur 3 sites principaux : le tube digestif, essentiellement au niveau de l'estomac et de l'intestin ; les poumons au niveau des alvéoles pulmonaires ; et la peau au niveau de l'épiderme et du derme (Tron *et al.*, 2002).

### 5.2-La distribution

Lors de leur transport sanguin, les toxiques peuvent être liées aux hématies, aux composants plasmatiques, ou se trouver à l'état libre non liées dans le sang (Holmberg *et al.*, 2000 ; Lauwerys, 2003).

### 5.3-La biotransformation

La biotransformation désigne l'ensemble des réactions qui rendent la structure chimique d'un toxique (qui est plutôt liposoluble au départ) plus polaire (ionisable) donc plus solubles dans l'eau et ainsi plus facilement excrétables dans l'urine. Le foie est le principal organe impliqué dans la biotransformation des toxiques (Viau et Tardif ; 2003).

### 5.4- L'excrétion

Ce processus consiste à rejeter le produit inchangé ou ses métabolites à l'extérieur de l'organisme. L'excrétion peut se faire par voie rénale (l'urine), gastro-intestinale (les selles), pulmonaire (l'air expiré), cutanée (la sueur) ou lactée (le lait) (Gilles, 2004).

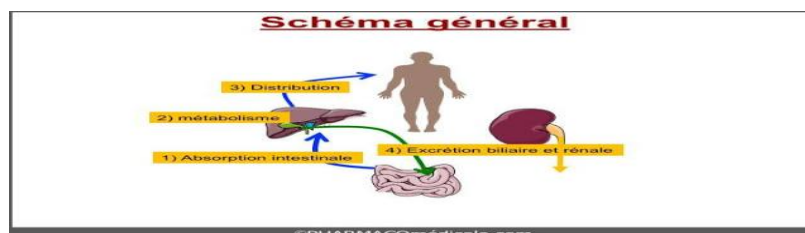


Figure 8 : Cheminement d'un produit dans l'organisme

**6. Facteurs influençant la dose toxique : (DL50)****a) liée au sujet : (animal ou homme) :*****Espèce animale :***

Chaque espèce réagit différemment ; la sensibilité à de nombreux poisons change. en expérimentation utiliser par ex 1 lot de rats et un lot de cobayes

***Race :***

Les sujets de race jaune (asiatique) ou noire étaient moins sensibles aux dérivés nitrés  
Cher la race noire est plus sensible aux dérivés de la quinine.  
Cela est expliqué par la déficience de G6PD

***Sexe :***

Les rats males étaient beaucoup plus sensibles à l'action du lithium que les rats femelles  
La femme est beaucoup plus résistante à l'alcool, elle possède un coefficient d'éthyle oxydation plus important.

***Poids :***

Les animaux les plus lourds sont plus sensibles.  
Rapport= surface corporelle/ poids corporels.  
Métabolisme d'élimination  $\square$  quand ce rapport est grand.  
Métabolisme d'élimination  $\square$  quand ce rapport est faible (grande toxicité).

***Âge :***

Nouveau-né ou âgés réagissent de façon différente (âge équivalent dans un même lot) ; sont plus sensibles à l'action des toxiques. Certains toxiques touchant le système neurologique, sont contre indiqué chez les enfants.

***Susceptibilité individuelle :*** des personnes sont + sensibles à un toxique (ou médicament que les autres).

Idiosyncrasie, allergie a l'aspirine, aflatoxine ; chez certain individu œdème de Quick.

***État physiologique :***

Nutrition (ex à jeun ou après repas).

***État pathologique :***

Ex I.R ou Insuffisance hépatique ou Insuffisance respiratoire réagit différemment qu'une personne saine.

**b) influence du mode d'administration :**



***Voie d'administration :***

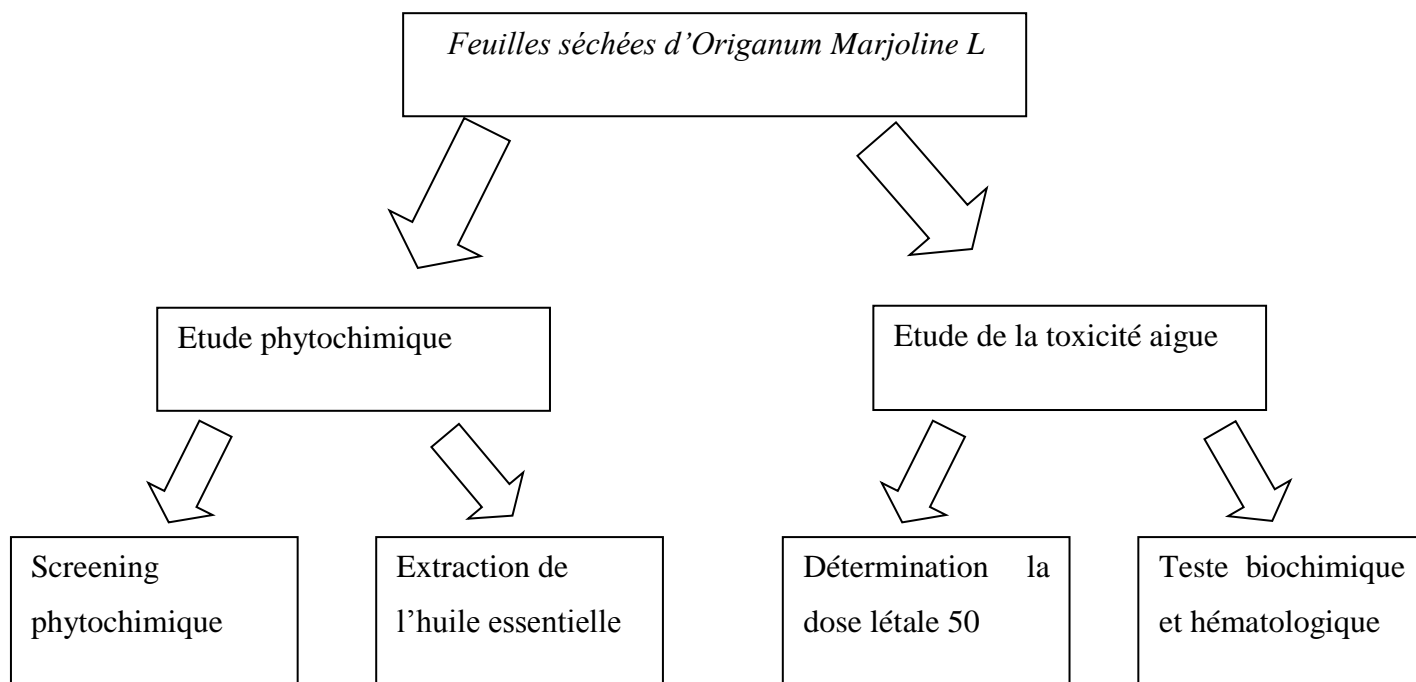
Le mode d'administration est très important. L'injection de poison directement dans le sang augmente la toxicité et l'efficacité du médicament. Par voie orale la DL50 est plus élevée que par voie IV.

## *Chapitre IV : Partie expérimentale*

---

**IV. Matériel et méthode**

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et le teste de la toxicité aigüe de l'extrait (huile essentielle) des feuilles séchées de la plante du genre *Origanum* (marjoline) d'Algérie issus de deux régions Chréa (Blida) et Draa Elmizan (Tizi-ouzou). La procédure de notre travail était illustrée par le schéma suivant :



**Figure 9 :** Etapes de l'étude.

**IV.1. Première partie : étude phytochimique****IV.1.1. Matériel végétal**

Les espèces végétales utilisées dans ce travail ont été collectées le mois de mai 2019.

Les plantes et les lieux de collette ont été identifié sur la base des informations fournie auprès de la direction de protection des forêts (DGF) de Blida, et a partir des tradipraticiens et des connaisseurs de la région de Draâ El Mizan.

La plante été collectées et séchées à température ambiante.

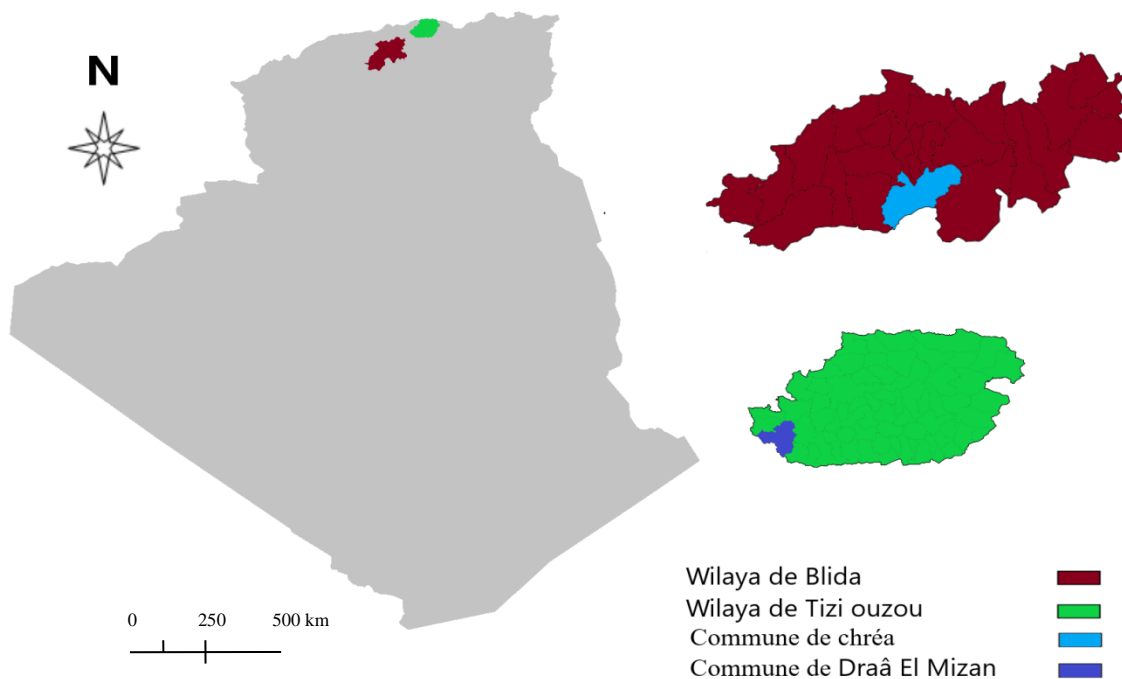


**Figure 10:** Présentation de feuilles séchées d'*Origanum majorana* (A) wilaya de Blida ;( B) la wilaya de Tizi-Ouzou (photo original, 2020).

#### IV.1.2. Coordonnées géographiques

Coordonnées de Chéra (Blida) : Longitude: **2.83333** 36° 28' 60" Nord, 2° 49' 60" Est.

Coordonnées de Draâ El Mizan (TIZI-OUZOU) : Longitude: **4.05** 36° 43' 0" Nord, 4° 3' 0" Est.



**Figure 11 :** Carte de localisation géographique de la zone de collecte.

- **L'étage bioclimatique de deux régions :**

		<b>Région de BLIDA</b>	<b>Région de TIZI-OUZOU</b>
<b>Températures extrêmes</b>	<b>Min °C</b>	<b>9</b>	<b>-8,5</b>
	<b>Max °C</b>	<b>36</b>	<b>40</b>
<b>Précipitations (mm)</b>		<b>499 – 790</b>	<b>500-850</b>
<b>Latitude (N)</b>		<b>229 m</b>	<b>332m</b>
<b>Etage bioclimatique</b>		<b>Subhumide</b>	

**IV.1.2. Extraction de l'HE de marjolaine**

Le matériel végétal séché est soumis à une hydro distillation au moyen d'un appareil d'extraction de type Clevenger (figure VI.3), où 50 g de matière végétale sont introduites avec 400 ml dans un Ballon d'un litre. Il est placé sur un chauffage à gaz naturel, et surmonté d'un "chapiteau" qui le relie au condenseur. Ce dernier est formé d'un serpentin de cuivre plongé dans un bac de refroidissement où circule de l'eau fraîche en permanence, l'ensemble est porté à ébullition après 15 min, les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant le tube de cuivre (condenseur) se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, en fin de décantation on obtient deux phase (huile essentielle + hydrolat) , l'eau et l'huile se séparent par différence de densité et de couleur .On la sépare de celui-ci par décantation (figureVI.3).



Figure 12 : Dispositif de Clevenger pour l'hydro distillation

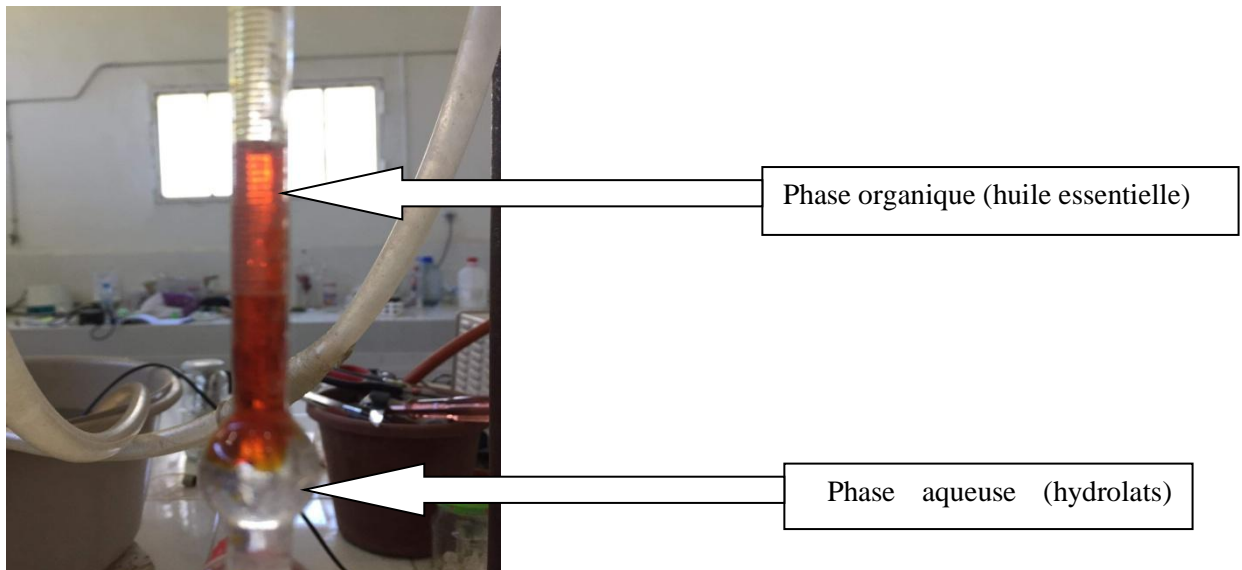
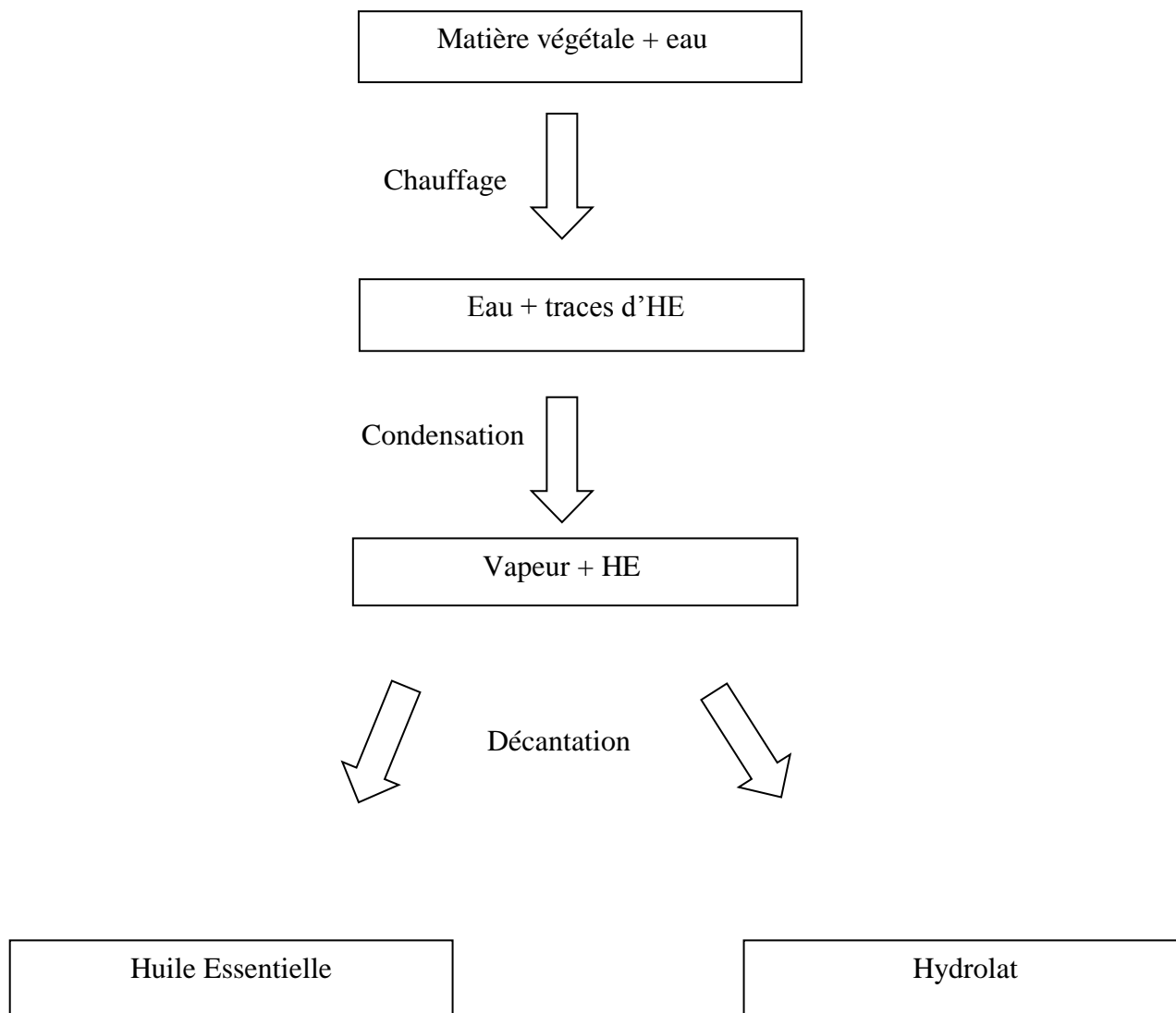


Figure 13: La formation de deux phases

Les procédures d'extraction sont illustrées par le schéma suivant :



**Figure 14:** Les étapes de l'hydro-distillation (extraction d'HE).

#### IV.1.3. Conservation d'huile essentielle obtenue :

L'huile essentielle extraite est conservée à une température de 4°C, dans des micros tube, couverte avec du papier aluminium, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de températures qui sont les principaux agents de dégradation.

Une huile altérée perd son activité biologique.

## IV.1.4. Analyses phytochimiques :

## I.1.4. Rendement

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Il est calculé donc par la relation suivante :

$$\text{RHE}(\%) = (\text{MHE} / \text{MS}) \cdot 100$$

Où :

- RHE : Rendement en HE (%).
- MHE : Masse d'HE récupérée exprimé en (g).
- MS : La quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

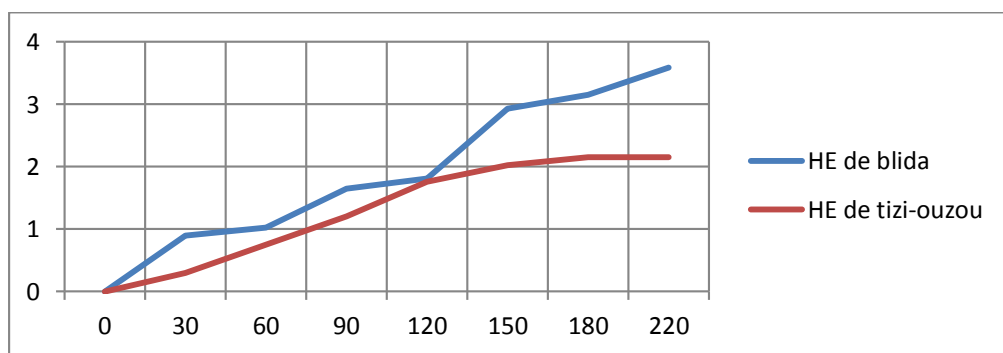
## IV.1.5. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle :

Pour étudier la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de marjolaine à l'état sec.

Nous avons récupéré des quantités de l'huile essentielle correspondantes à des intervalles de temps.

De 30 mn qui s'étalent de 0 à 220 mn. Les quantités des huiles essentielles obtenues vont être exploitées dans le but de calculer le rendement à chaque intervalle de temps, et aussi pour tracer la courbe d'influence de temps sur le rendement.

Notre objectifs de la cinétique est la détermination de la durée du temps convenable pour extraire le maximum d'huile essentielle des feuilles d'Origanum Marjolaine.



Y : axe de temps en min / X : axe de quantité d'HE en g

**Figure 15** : Courbe représente influence de temps sur l'extraction de l'huile essentielle.



*Mesure de pH par un pH mètre*

Avant de commencer, on étalonne le pH mètre puis on prend une quantité de la marjolaine. Et on la met dans un verre d'eau distillé stérile pendant une heure ensuite on lit la valeur de ce pH.



**Figure16:** Le pH mètre

*PH par un papier pH*

On met quelque gouttes de l'huile de la marjolaine sur un papier imbibé d'un indicateur Universel et on attend les résultats.



**Figure17:** Les résultats du pH sur un papier

***La densité relative à 20° C (D20)***

A l'aide d'une micropipette on prélève un volume de 1ml d'huile essentielle et on pèse ce volume par une balance. Et on refait La même chose avec l'eau.

La densité relative D20 donnée par la formule suivante :

$$D20 = \frac{m2 - m0}{1m1 - m0}$$

Où :

m0 : La masse en g de tube vide

m1 : La masse en g de tube rempli d'eau

m2 : La masse en g de tube rempli d'huile essentielle

***L'indice de réfractions (IR)***

Régler le réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à 20°C. Ouvrir le prisme secondaire et déposer 2 ou 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal. Fermer ensuite doucement le prisme secondaire.

L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince.

Attendre que la température soit stable et effectuer la mesure.

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre à la température de chambre puis ramenés à 20°C par la formule :

$$I20 = It + 0.00045(t - 20^\circ C)$$

Où :

I20 : Indice à 20°C

It : Indice à la température de chambre :

T : Température de mesure.

Notons que pour un même échantillon, la mesure de la réfractométrie est effectuée trois

Fois et on prend la moyenne des 3 valeurs.



**Figure 18:** Réfractomètre (laboratoire de chimie)

#### **IV.1.6. Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle**

##### ***Analyse chromatographique***

Elle a été programmé de réalisé au laboratoire des analyse chimique /Département de GDP.  
Selon le protocole suivant :

##### **IV.1.6.1. Préparation des échantillons pour essai :**

Une quantité de 0.2 $\mu$ l d'HE en fait une dilution dans l'hexane est prélevée et injectée dans l'appareillage pour déclencher les procédures d'analyse. (on à pas récupéré le graphe à cause de Covid-19)

##### **IV.1.6.2. Chromatographie en phase gazeuse**

Les analyses chromatographiques des HE se fait avec un CPG type Hp (Agilent technologies) 6800 plus couplé avec un SM (Agilent technologies) MSD 5973

La fragmentation effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne est capillaire de type Hp-5 MS largeurs 30 m et diamètre 0,32 mm, épaisseur film 0,25  $\mu$ m.

La température de la colonne doit être de 50 à 250 °C à raison de 4 °C. min<sup>-1</sup>.

Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit GV est fixé à 0,5 ml.min<sup>-1</sup>

#### **IV.2. Screening phytochimiques :**

Le but de ces tests est de connaitre la composition en métabolite secondaires, ils ont effectués soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé (**Bouyer, 1996**).

**IV.2.1. Broyage et tamisage :**

Les feuilles séchées ont été préalablement broyées à l'aide d'un broyeur électrique après on fait leur tamisage pour obtenir une poudre fine de couleur grise verte (figure IV.9). La poudre obtenue est conservée dans une boîte en verre couverte avec du papier aluminium,



**Figure19:** la plante Majorana après leur broyage.

**IV.2.2. Préparation de l'infusé**

A 5g de poudre végétale, sont ajoutés 50ml d'eau distillée bouillant, laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, après filtration.

**IV.2.3. Identification des composés chimiques**

Les tanins :

Nous avons introduit dans un tube à essai 2ml d'infusé à 5 % ; puis nous avons ajouté quelque gouttes de solution FeCl<sub>3</sub> à (5 % dans l'éthanol). En présence de tanins, il se développe une coloration brune verte qui révèle la présence des tanins (**Trease and Evans., 1987**).

Les tanins catéchiques :

15ml d'infusé, sont additionnés à 7 ml de réactive de Stiasny (10 ml de formol a 40% et 5ml d'HCL concentré). La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

Les tanins galliques :

A 5ml d'infusé, sont ajoutés 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub>. La réaction donne une coloration bleue foncée en présence des tanins galliques.

Les alcaloïdes :

Introduire 1g de poudre végétale dans un tube à essai. Ajouter 10ml d'acide sulfurique (10%)

Agiter énergiquement pendant 2 min et filtrer, ajouter 2 gouttes de réactif de Dragendorff .

Résultats : apparition d'un précipité rouge orangé.

Les anthocyanes :

2ml d'infusion sont ajoutés à 2ml d'acide chlorhydrique 2N. L'apparition d'une coloration rose qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes **(Paris and Moyses., 1969, Debry et al., 1971)**.

Les saponosides :

Dans un tube à essai, 2g de poudre de plante sont mélangés avec 80 ml d'eau distillée puis portés à l'ébullition pendant 5 min, on filtre l'extrait et ensuite refroidit et agité vigoureusement pendant 2 min, la formation d'une masse plus ou moins importante indique la présence des saponosides **(Trease and Evans., 1987)**.

Les glucosides :

A 2 ml de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

Les mucilages :

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitation floconneuse indique la présence des mucilages.

Les sucres réducteurs :

5ml de l'extrait et quelque goutte de Fehling A et B après changement y la formation d'un précipité rouge brique qui révèle la présence des sucres réducteurs.

Les flavonoïdes :

A 5ml d'infusé, sont additionnés 5ml d'HCL. Un copeau de Mg et 1ml d'alcool iso amylique. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

Terpénoïdes (test de slakowski)

A 1ml de l'extrait méthanolique et aqueux, sont ajoutés 0,4ml de chloroforme (CHCl<sub>3</sub>) et 0,6 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. la présence des terpénoïdes est mise en évidence par l'apparition d'un anneau marron, violette-bleu ou verte à l'interphase (**khan et al, 2011**)

#### Test des lipides

Sur papier filtre, sont déposées quelques gouttes de la solution d'extrait Le papier est ensuite séché à température ambiante. La présence de taches translucides aux sites de dépôt des gouttes était révélatrice de la présence des lipides (**Bruneton, 1999**)

### IV.3.Deuxième partie : étude de la toxicité :

#### IV.3.1.Matériel animal

Pour évaluation de la toxicité aiguë de l'huile essentielle de la partie aérienne de l'*Origanum marjoline*, on utilise 27 souris femelles et male de l'espèce *Albinos wistar*.

#### IV.3.2.Conditions d'hébergement et d'alimentation :

La température du local expérimental est maintenue à 22°C (±3 °C), dispensé d'un éclairage artificiel faisant alterner des séquences de 12 heures de lumière et de 12 heures d'obscurité. Les animaux sont hébergés dans des cages individuelles. Ils sont nourris avec des préparations classiques pour rongeurs de laboratoire et avec accès libres de l'eau.



**Figure 20:** *Albinos wistar* au sein de l'animalerie de laboratoire toxicologie (GDC)

***IV-3.4. Evaluation de toxicité aiguë de l'huile essentielle de l'origanum marjoline L***

Pour évaluer la toxicité aiguë des huiles essentielles des deux régions se fait par :

La méthode de toxicité aiguë orale décrite dans la ligne directrice OCDE 423 (OCDE, 2002). Cette méthode est reproductible, utilise très peu d'animaux et différente des autres méthodes de toxicité aiguë (Lignes directrices 420 et 425). Elle permet de classer des substances par ordre de toxicité de façon similaire. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est à dire:

- Arrêt de l'essai,
- Administration de la même dose à trois animaux supplémentaires,
- Administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.

L'expérience est effectuée pour chaque étape sur trois souris, âgées de 2 à 2.5 mois, leur poids se situe entre 20 et 30 g, ces souris sont gardées sains et à jeun (avant d'administration des doses on supprime la nourriture avec la présence permanente de l'eau) 4 h avant et 2 h après l'administration orale d'huile essentielle en solution dans tween 80°.

<b>Lots</b>	<b>Effectifs (n)</b>	<b>Poids (g)</b>	<b>Doses en mg/kg (Par gavage)</b>
<b>Témoins</b>	3		Eau physiologie Na Cl 0,9%
<b>Pour la région de BLIDA</b>	3		250
	3		500
	3		750
	3		1000
<b>Pour la région de TIZI-OUZOU</b>	3		250
	3		500
	3		750
	3		1000



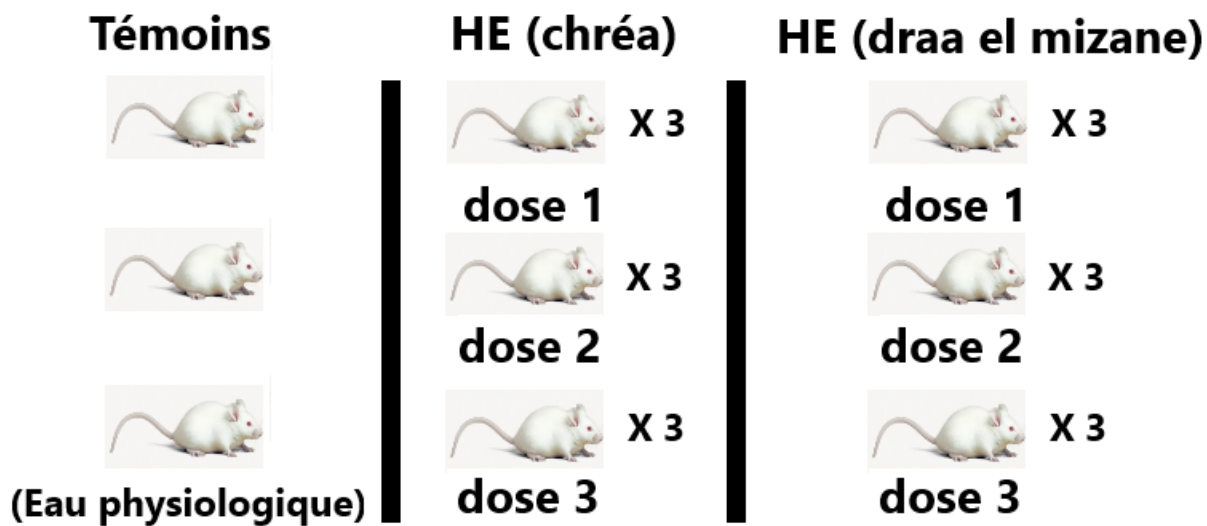


Figure 21: Dispositif expérimentale

IV.3.5.Préparation de la gamme de dilutions

Des dilutions successives au demi ont permis de préparer une gamme de dilution allant de d'HE avec de tween 80 (voir la figure).



Figure 22: Préparation des dilutions .

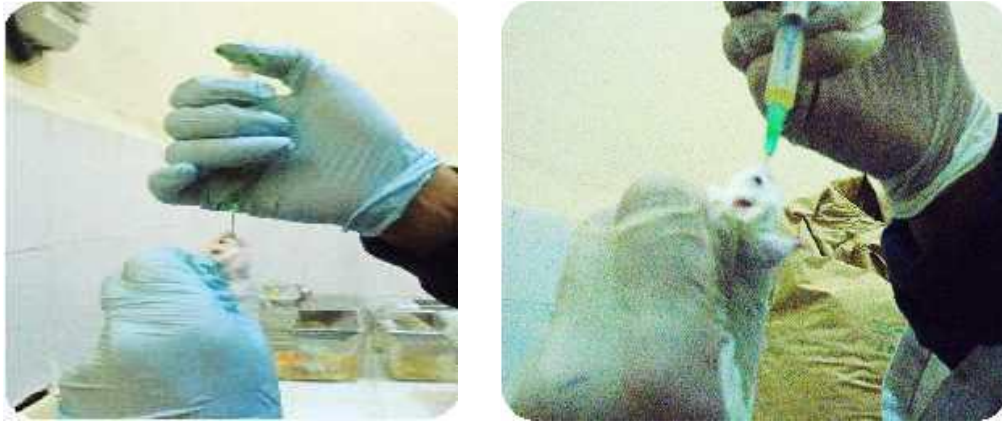
Tableau 6 : Valeurs des dilutions utilisées pour déterminer la toxicité

rapport de dilution	1/2	1/4	1/6	1/8
(HE/tween 80) Tween80/ml	4	2	2	2



#### IV.3.8.Administration de la substance

Les souris doit être jeunées quatre heures avant qu'elle reçoit le traitement. L'administration de la solution se fait par gavage à l'aide d'une sonde gastrique. Qui permet à la substance d'atteindre le système digestif. On à réaliser un teste de toxicité de la première dose qui contient de ½ de l'huile essentielle et 4 ml de tween 80 ; sur un lot de 3 souris et on suive pendent 24h ; on à pas terminé les autres dose à cause de Covid-19.



**Figure 23 :** Photographie de l'administration des extraits par voie orale (laboratoire de toxicologie GDC-saidale).

#### IV.3.9.Les méthodes d'évaluation de la toxicité

##### Observations

Des observations peuvent s'avérer nécessaires lorsque les animaux continuent à manifester des signes de toxicité.

Les observations doivent porter sur : Redressement des poils, Anorexie, Asthénie, Diarrhée, Troublèrent de marche, Faiblesse, Somnolence, Isolement, Coma, morts

##### Poids corporel

Le poids individuel de chaque animal doit être déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et ensuite une fois par jour. Les changements de poids doivent être enregistrés.

##### Remarque

Les observations du comportement, les réactions et les changements des poids des sujet avec les différentes doses seront illustré dans un tableau.

**IV.6. Tests biochimiques**

Les tubes héparinés sont centrifugés à 4000 tours/min pendant 10 min. Le sérum préparé à partir de ces échantillons pour déterminer les paramètres biochimiques suivants : Glucose, Créatinine, Urée, Alanine aminotransférase (ALAT) et Aspartate aminotransférase (ASAT).

**IV.7. Tests hématologiques**

Les échantillons de sang prélevés sur EDTA seront utilisés pour déterminer les taux de globules blancs, de globules rouges, de plaquettes, de la formule leucocytaire, de l'hémoglobine et de l'hématocrite.

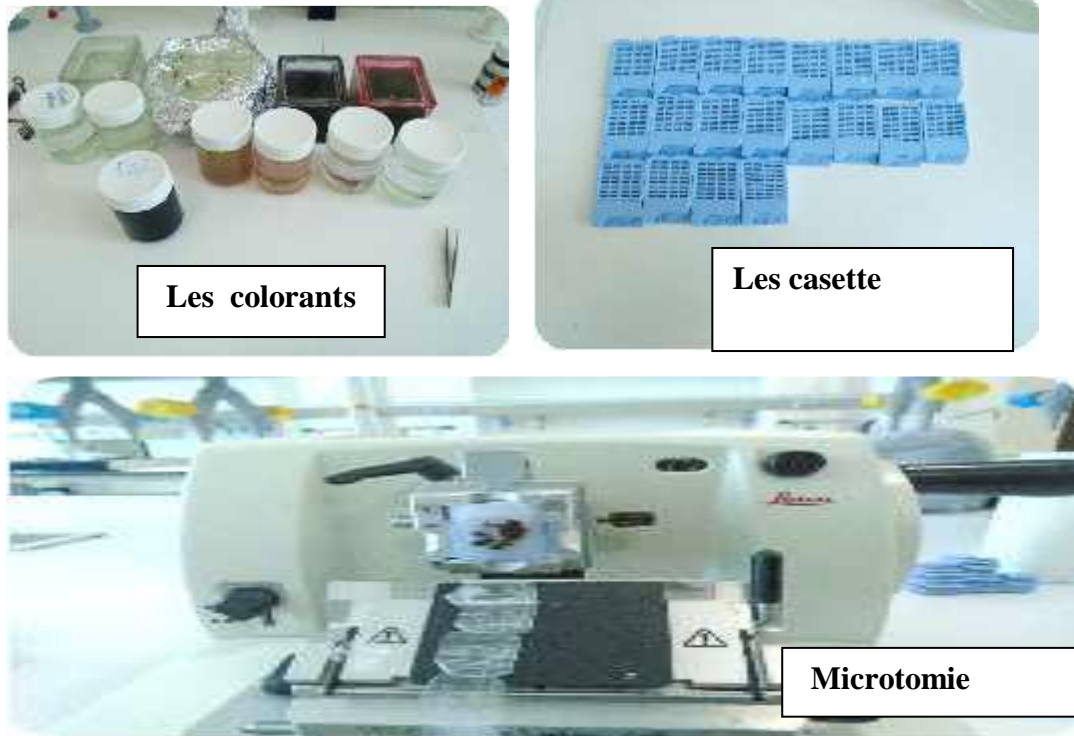
Les dosages (hématologique et biochimique) se fait au laboratoire CHU Moustapha Bacha, Alger.

**□□Prélèvement des organes :**

A la fin de l'expérience, les souris seront anesthésiées par inhalation de Diéthyl éther dans une cloche en verre et avant leurs sacrifices, un prélèvement sanguin effectué à partir de la veine orbitale à l'aide des tubes d'hématocrite. Après dissection, le foie, la rate, les reins et le cœur et observer macroscopiquement in Situ, puis prélevés et déposés dans l'eau physiologique, dégraissés, séchés par le papier filtre et pesés. Des morceaux du foie et des reins seront conservés dans une solution de formol 10% pour l'étude histo-pathologique.

**□□Réalisation des coupes histologiques**

La réalisation des coupes histologiques, nous voulions travailler au niveau du laboratoire d'anatomie 306 avec Dr Madame Djazoulli Fatma Zohra. Après avoir fixés le foie et les reins dans du formol (10%) pendant une semaine, nous les avons coupé en petits morceaux. Ces échantillons sont déshydratés par passage dans trois bains d'éthanol successifs de 30 min (70-75°; 90-95° et 100°). Ensuite ils sont éclaircis dans deux bains de 20 minutes de toluène et inclus dans la paraffine (deux bains de 2 heures chacun). L'opération est automatisée à l'aide d'un automate (TISSUE-TEK® II°). Les blocs de paraffines obtenus sont ensuite coupés par microtome, les coupes de 5µm d'épaisseur sont étalées sur des lames et séchées pendant une heure à 37°C, réhydratées, colorées à l'hématoxyline-éosine.



**Figure 24:** Photographie de la préparation des lames au niveau du laboratoire D'anatomie-pathologique de la faculté de Biologie Saad Dahleb Blida.

#### IV.8.Calcul de la DL50 et de l'intervalle de confiance

Pour le calcul de la DL50, on a voulu travail avec la méthode d'approximation par calcul rapproché (**Kraber et Behrens**).

$$DL50 = (DL100 - AB) N$$

A : la différence entre 2 doses successives.

B : moyenne de mort entre 2 doses successives.

N : nombre moyen d'animaux.

## *Chapitre V : Résultats et Discussion*

---

## V.1.1. Rendement d'extraction

Application numérique	Blida	Tizi-Ouzou
Rendement en % = $\frac{m.H.E (g)}{m.M.V.S (g)} * 100$	$\frac{8,840g}{250g} * 100$ = <b>3,53%</b>	$\frac{5,381g}{250g} * 100$ = <b>2,15%</b>

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés par rapport à la matière végétale sèche. Les échantillons de la marjolaine ont fourni un taux d'environ **2,15%± 1,06** pour la région de Tizi-Ouzou et celui obtenu pour la région de Blida est de **3,53%.± 1,90**. Cette région semble donner un rendement meilleur en raison des facteurs pédoclimatiques de la région qui diffèrent de ceux de la région de Tizi-Ouzou.

L'étude phytochimique effectuée par :	Rendements en huiles essentielles	Pays (Région)	Années
Gilles Figuerdo	3,2% à 5,3%	France	20/02/2007
Belhattab <i>et al</i>	2,3 à 5 %	Sétif	2005
Bekhechi <i>et al</i> ,	3,53 % à 4,8 %	Tlemcen	2002
Bendahou <i>et al</i>	1 à 2,5 %	Bejaia	2006

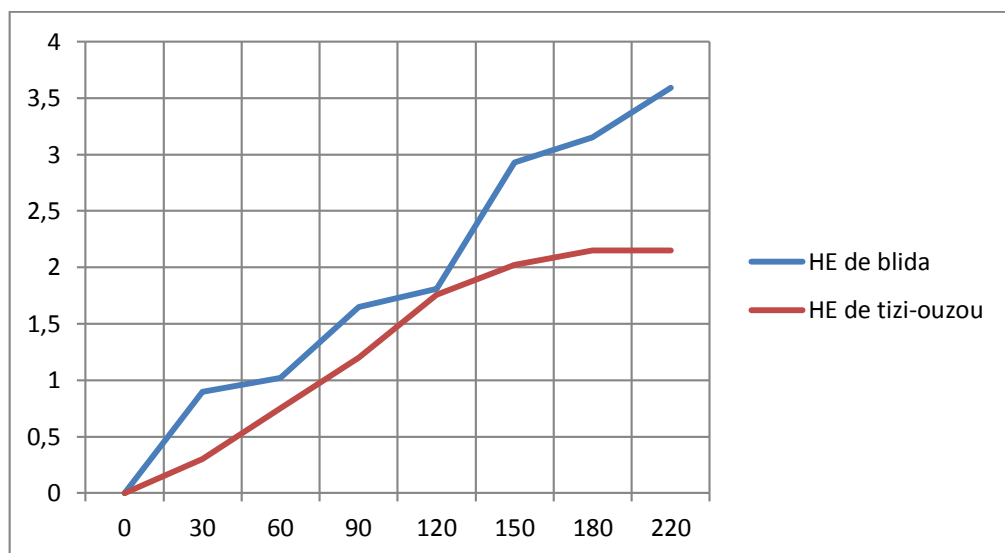
Ces variations de rendement, peuvent dépendre de nombreux facteurs (technique d'extraction, la température, l'humidité, l'altitude et la nature du sol et d'autres facteurs tels que le cycle végétatif, la période de récolte, les parasites, les virus et les mauvaises herbes. (**Belyagoubi L, 2006**).

## V.1.2. Influence de temps sur l'extraction de l'huile essentielle

L'évolution du rendement en fonction du temps est donnée dans le (**tableau 7**)

Tableau 7: Influence de temps sur l'extraction de l'huile de l'*Origanum Majorana* L.

Temps min	0	30	60	90	120	150	180	220
HE de Blida	0	0,9	1,02	1,65	1,81	2,93	3,15	3,59
HE de Tizi-Ouzou	0	0,3	0,75	1,20	1,76	2,02	2,15	2,15



Y : axe de temps en min

X : axe de quantité d'HE en g.

Figure 25: Courbe représente influence de temps sur l'extraction de l'huile essentielle.

### V.1.3. Caractérisation de l'huile essentielle

La caractérisation (propriétés physico-chimique, organoleptique) constitue un moyen de contrôle de notre l'HE. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et compare à d'autres travaux.

### V.2. Propriétés organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des HEs de la plante sèche de l'*origanum majorana* L sont présentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 8** : Les caractéristiques organoleptiques d'HE de la marjolaine.

Caractéristique organoleptique	Résultats trouvés	
	Blida	Tizi-Ouzou
Aspect physique	Liquide limpide	Liquide limpide
Couleur	Jaune claire	jaune pâle à foncé
Odeur	Douce, fine	chaude et délicate

Les huiles essentielles issues de la méthode d'hydro distillation possèdent des notes olfactives proches des arômes originels des plantes fraîches utilisées avec des odeurs d'herbes aromatiques. L'odeur dégagée est agréable malgré une légère altération, mais toujours avec un caractère herbal rappelant les plantes fraîches. On note que notre huile essentielle a un aspect liquide, une odeur propre à la matière végétale (camphrée), et incolore (figure V.4).

**Figure 26**: HE de la marjolaine

### V.2.2. Propriétés physico-chimiques :

Les résultats de la détermination des propriétés physico-chimiques des essences obtenues par Hydro distillation sont notés dans le (**Tableau V.4**):

**Tableau 9** : Caractéristiques physico-chimiques de l'HE de Origanum Majorana.

Caractéristiques physicochimiques	les résultats	
	Blida	Tizi-Ouzou
pH (extrait aqueux de la plante)	6,14	6,16
pH(HE)	6	6
La densité	1,0026	1,049
L'indice de réfraction	1,470	1,4635

### Discussion :

**PH :**

Le pH indique que notre huile essentielle est presque neutre. Cette conformité est due à la pureté de notre l'huile (bien séparé de l'eau).

Le pH d'extrait aqueux de la plante est proche du pH de l'HE, ce qui montre que l'HE de l'*Origanum Majorana* L. influe sur le pH de ce dernier.

**La densité**

C'est un critère de pureté, d'après les résultats obtenus, la densité de notre huile essentielle est de 1.0026 pour Blida et 1.049 pour Tizi-Ouzou qui est plus dense, les deux sont plus dense que l'eau.

**L'indice de réfraction**

L'indice de réfraction de l'HE de l'*Origanum Majorana* est de 1.470 pour Blida et Tizi-Ouzou et 1,4635.

En termes de validation en comparant nos résultats expérimentaux avec ceux de la littérature :

Les caractéristiques organoleptiques	la région		Référence
	Bejaia	Ain Defla	
Ph de l'huile	6	5,6	Taleb.T. K, 2015
Indice de réfraction	1,470	1,4635	
Indice d'acidité	0,033	0,030	AHMED ABD EL MALEK Nawel et YAGOUBI Feth Zhar 2016
Indice d'ester	56,56	56,97	

**V.2.3. Analyse phyto-chimique**

Les tests phyto-chimiques est une analyse qualitative qui nous permet à mettre en évidence les différentes classes de métabolites secondaires que contienne les extraits préparés à partir de la partie aérienne d'*Origanum majorana*, des deux régions déférentes. 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 (V.8) par la mise de la présence de certains groupes et l'absence d'autres métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes.

**Tableau 10:** Résultats des tests phyto-chimiques réalisés sur les extraits de notre plantes étudiée.



Les composés chimiques	Résultats	
	Région de Blida	Région de Tizi-Ouzou
Les Anthocyanes	+++	++
Les tanins	+	+
Les tanins caféchique	+	+
Les tanins galliques	-	-
Les flavonoïdes	-	+ - (trace)
Les alcaloïdes	++	++
Les glucosides	-	-
Les mucilages	+	+
Les sucres réducteurs	+	+ - (trace)
Les lipides	++	++
Les saponosides	+ (0,5 cm )	++ (1,8 cm)
Les terpènes	-	-

+ - Présente en trace ; + Présente en ; ++ fortement présente ; - Absence.

Selon les résultats du tableau 10, les composants chimique suivantes : les anthocyanes, flavonoïde sont en trace dans la région de Tizi-Ouzou, les tanins, les tanins gallique, les alcaloïdes, terpénoides et sucre réducteur, le mucilage et les lipides sont présentes dans la plante étudié les saponosides sont plus présent dans la plante issue de la région de Tizi-ouzou. Mais les flavonoïdes, les terpènes, les glucosides sont absents dans les deux échantillons.

Cette présence ou absence en principes actifs confère à la plante des propriétés remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques.

En comparaison avec le travail de Melle BIA SOUMIA Université d'EL OUDE en 2018, les composants chimique : flavonoïdes, tanins, sucres réducteurs, saponosides, terpénoides, sont présente dans *l'Origanum Majorana*, mais les alcaloïdes, quinons libres, les anthocyanes sont absent.

Est dans le travail réalisé par Melle Guendouz Fatima et Touhria Hanane Université de Borj Bou Areridj en 2018/2019, les composants chimique : flavonoïdes, tanins, sucres réducteur, alcaloïdes, terpenoides, saponosides, triterpènes ; sont présente dans *l'Origanum Majorana* ,mais les quinon libres, les anthocyanes sont absent.

**V.3.LA TOXICITE AIGUE :**

**V.3.1.Observations cliniques**

Après l'administration de l'huile essentielle en dilution de *Origanum marjoline* par voie orale aux souris, et après observation régulière chaque jours pour détecte les signes d'intoxications et de mortalité en liaison avec la dose administré. Les signes sont résumés dans le tableau suivant :

Après l'administration de la périmère dose de la région de Blida on a effectué l'observation suivants :

Après 4 heures de l'administration avec isolement des souris l'une de l'autre dans un coin, et après une observation continue durant 24 h on a constaté que toutes les souris du lot sont mortes.

**Tableau 11** : L'effet d'une dose unique d'*Origanum marjoline* sur les souris *albinos wistar*.

ID Dose (mg/kg)		Evolution avec le temps(Jours)				Les Symptômes
		Les 4 premières heures	1er au 7ème jour	10ème Jour	14ème jour	
<i>Eau physiologique</i>		<i>Normale</i>				<i>*Redressement des poils</i>
<i>Pour la région de BLIDA</i>	<i>dose 1</i>	<i>Morts</i>				<i>*Anorexie</i>
	<i>dose 2</i>					<i>*Asthénie</i>
	<i>dose 3</i>					<i>*Diarrhée</i>
<i>Pour la région de TIZI-OUZOU</i>	<i>dose 1</i>					<i>*Troublèrent de marche</i>
	<i>dose 2</i>					<i>*Faiblesse</i>
	<i>dose 3</i>					<i>* Somnolence</i> <i>* Isolement</i> <i>*Coma</i> <i>*morts</i>

V.3.2. La courbe de la dose létale 50 :

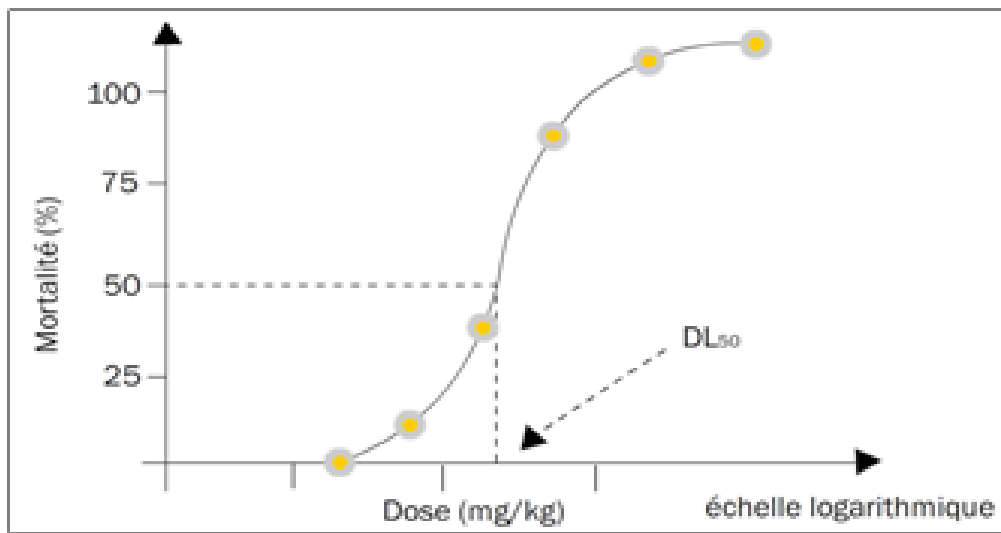


Figure 27: Courbe de Trevans.

## **CONCLUSION GÉNÉRALE**

## Conclusion Générale

Le rôle des plantes dans la médecine traditionnelle est connu depuis fort longtemps. Or, la recherche apporte les preuves scientifiques de leur efficacité, mais aussi de leur toxicité. Parmi les plantes médicinales traditionnelles, il y en a celles qui peuvent être toxiques à de fortes doses ou après administration prolongée.

Notre étude s'est basée sur l'espèce *Origanum majorana L*, qui appartient à la famille des *Lamiacées*, l'une des familles les plus importantes de la flore Algérienne et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnelles. Pour cela on a choisi d'étudier l'*Origanum majorana L* issue de deux régions du Nord algérien (Blida et Tizi-Ouzou) pour évaluer la variation phytochimique et toxicologique selon les facteurs pédoclimatiques des deux régions.

Notre travail a été scindé principalement sur deux volets, le premier représente une étude sur l'huile essentielle de la plante *d'Origanum majorana* et ces propriétés physicochimiques. Le deuxième volet renferme l'évaluation de la toxicité aigüe des deux échantillons d'huile essentielle issue des deux régions.

Les résultats de l'extraction des huiles essentielles ont donné des rendements importants de 2,15% et 3,59% respectivement pour la région de Tizi-Ouzou et Blida. L'étude de propriétés physicochimique et organoleptique nous permis de constater que notre l'huile essentielle est dans les normes de AFNOR .Les résultats obtenus ont montré que l'*Origanum majorana L* est une espèce riche en huile essentielle.

Ainsi un screening phytochimique de cette plante a montré la présence des tanins, les alcaloïdes, les lipides et les saponosides chez les plantes des deux régions. Cette absence ou la présence des composés chimiques est due à plusieurs facteurs biotiques et abiotiques spécifique à chaque région. Les résultats obtenus ont montré que l'*Origanum Marjolin L* est une espèce riche en métabolite secondaire.

L'étude de la toxicité aigüe sur des souris *albinos Wistar* réalisé avec une seule dose administrée de région de Blida est après 24h d'observation a provoqué la mort de toutes les souris du lot 1.

Le résultat obtenu *in vivo* nous ont permis d'avoir une idée sur la toxicité de l'*origanum marjolaine L* administré à forte dose, mais d'autres études plus poussées sont souhaitables pour démontrer si cette dose est la dose maximale toxique ou nous pouvons identifier une autre dose moins importante que celle-là mais qui aux mêmes degrés de toxicité. Ce travail

reste incomplet à cause de Covid-19 qui nous a exigé le confinement de tout le monde ce qui a engendré l'arrêt de nos travaux.

Ce travail est une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant:

Des études de toxicité chronique sur *Origanum Marjoline L* , afin de déterminer les effets à long terme .Des tests complémentaires de toxicité sur *Origanum Marjoline L* par d'autres voies que la voie orale.

Des études pharmacologiques et toxicologiques à grande échelle sont nécessaires pour la production des molécules naturelles actives et pour une modération de sécurité dans l'utilisation de cette plante.

## **Bibliographie**

## Référence Bibliographique

### Bibliographie

Récupéré sur <http://www.lachimie.fr/materiel/extraction.php>.

Récupéré sur <https://www.analyticaltoxicology.com/toxicite-aigue/>.

(1998). Récupéré sur <http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com/pages/i-les-differents-procedes-d'extraction-d-une-huile-essentielle/3-extraction-par-enfleurage.htm>.

(2018). Récupéré sur [laboratoiredumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/](http://laboratoiredumani.fr/comment-traiter-efficacement-vos-mycoses-avec-les-huiles-essentielles/).

Abdalla E., I. M. (2012). Physiological effect of some antioxidant polyphenols on sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plants. *Bioscience* , 11-15.

AFNOR. (2004). *Huiles essentielles*. PARA Graphie.

Alhbibe, H. (2009). Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de Doctorat. . 257.

Al-Harbi., N. O. (2011). Effect of marjoram extract treatment on the cytological and biochemical changes induced by cyclophosphamide in mice. *Med Plants Res* 5(23), , 5479-5485.

Annick-Rouessac. (14/08/2004). *Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes (Français) Broché*.

Antonius, G. K. (2006). Antioxidants in hot pepper: variation among accesions. *Environmental Science and Health. PartB(41)* , 1237-1243.

Audigie C.L., F. J. (1995). *Manipulation d analyse biochimique*. Paris: Tec & Doc, Lavoisier p : 270.

Auguste, C. (1938). *La Marjolaine vraie (Majorana hortensis) et sa culture*.

Baba Aissa, F. (2011). *Encyclopidie des plantes utiles*. Alger: El Maarifa.

BimalaTripathy S., S. K. (2016). Phytochemical Screening and Antifungal Activity of Ethanol and Petroleum-Ether Leaf Extracts of *Origanum Majorana*. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences* 4 , 1320-1328.



## Référence Bibliographique

BOURAS Nouria, H. A. (2016). Etude préliminaire des activités biologiques (insecticide et antifongique) des huiles essentielles de deux plantes aromatiques Thymus sp. et Origanum sp. *Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie/Spécialité: Biotechnologie et Valorisation des Plantes* , 58.

BOURAS Nouria, H. A. (Juillet 2019). Etude préliminaire des activités biologiques (insecticide et antifongique) des huiles essentielles de Origanum sp. *Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem/DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE/Mémoire de fin d'études/Spécialité: Biotechnologie et Valorisation des Plantes* , 90(8-12-30(.

BP, M. T. (1987). Inactivation of red beet beta-glucan synthesis by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry* , 197-2202.

Busatta C., V. R. (2008). Application of Origanum majorana L, essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *food Microbiology* , 207-2011.

Cachalier, G. (2009). *Petit la rousse des plantes médicinales*, , 327-328.

CACHAU-HERREILLAT. (2005). *Des expériences de la famille acide-base*. De Boeck.

Chaabi. (2008). *African Journal of Biotechnology* , 24.

CHABANNE A., B. J. (2004, October 5). Impacts des couvertures végétales sur la production de Pelargonium x Asperum et sur la biologie du sol (macrofaune) à l'Ile de La Réunion. World Congress on Conservation Agriculture Madrid. p. 35.

CHACHA H ., M. H. (2015). etude des risques liés à la phytothérapie traditionnelle dans la région de Ouargla ., mémoire de magister. Ouargla. *Université kasdi marbah* , 15.

Charpentier B ., H.-L. F. (2008). *Guide du préparateur en pharmacie* . Elsevier Masson.

Chung Y. K., H. H. (2001). Inhibitory effect of ursolic acid purified from Origanum majorana L. on the acetylcholinesterase. *Mol. Cells* 11,. 137-143.

Cox SD., M. C. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). *Applied Microbiology* , pp. 170-175.

D, J. (1994). Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture: use and abuse, *Perfumer & Flavorist*. 5-17.

## Référence Bibliographique

Debry, & Gothoskar SV, R. K. (1971). Anticancer screening of SAN-AB:an extract of marking nut, *Semecarpus anacardium*. *Ind. J. Exp. Biol.* pp. 372-375.

Deshmane Dipti N., C. H. (2007). Anticonvulsant effect of *Origanum majorana* L. *Pharmacologyonline* 1, , 7-46.

DIPALI S., S. K. (2016). *origanum majorana*: apotential herb for functional food european. *pharmaceutical and medical research.* , 4.

Dubois J., M. H. (2006). Dictionnaire étymologique et historique du français –Larousse.

Duraffourd C., D. L. (1990). *Cahiers de phytothérapie clinique.Eléments thérapeutiques synergiques*. Paris: 2ème éd. Masson.

Ekrier, G. (2000). Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation,identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie- Biologie moléculaire, France. p. 50.

Eerinde., K. M. (1992). Composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Food Chemistry* 45, , 117-118.

EJifir, B. (2006). Developed countries should be the focus for effectively reducing chronic disease. *Epidemiol. Community Health; 60(7)* , 562-3.

EL KALAMOUNI C., R. C. (2010). Design of an Artificial Crushing Finger Device for Rapid Evaluation of Essential Oils from Aromatic plants leaves. *Expression of Multidisciplinary Flavour Science* (pp. 525-528.). Imre Blank.

Erdogan O.I, B. R. (2010,2016). Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum*. *Prod.* 32:55.

Ferry Bimala A. (1990). *Les plantes médicinales d'Algérie: identification, description, principes actifs,propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie*. Alger: Bouchène et Ad. Diwan.

Feresse Saide. (2007). Extraction de l'huile essentielle de thym *thymus numidicus kabylica*. *mémoire de magister ., Université M'Hamed Bougara-Boumerdes.* , 12.

## Référence Bibliographique

Fanta, T. (1999). Evaluation de l'activité antimalarique de *Glinus oppositifolius* (L.).A.D.C., *Nauclea latifolia* (SM.), *Mitragyna inermis* (WILLD.) O. KUNTZE, trois plantes utilisées en médecine traditionnelle au Mali. Thèse de doctorat Marseille II. 199 .

FATHY M., S. M. (2009). seasonal variation in the essential oil composition of *origanum majorana* l. Egypt.

Figueredo, G. (2007). Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. *Thèse Doctorat* .

FIGUEREDO, G. (20 février 2007). Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. *UNIVERSITÉ BLAISE PASCAL (U.F.R. Sciences et technologie) ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES N° 525/THÈSE présentée pour obtenir le grade de DOCTEUR D'UNIVERSITÉ (Spécialité : Chimie organique)* , 450(12/100/193(.

Girardo, B. (2010). *Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications*. USA: Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, Forid.

Gilles F. (2007). Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. *Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France*.

Gaklin C. (2004). Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *J. Ethnopharmacol* 90 , 293-361.

Gallouin, A. M. (2003). *Epices, aromates et condiments*. Paris.: Belin.

Gilles, G. (2004). Notions de Toxicologie. *Commission de la Santé et de la Sécurité du Travail du Québec* , Québec.

Holmberg, B. H. (2000). *La Toxicologie. Définitions et Concepts*. In *Encyclopédie de Sécurité et de Santé au Travail. Organisation Internationale du Travail*. Genève.

Hussain AI., A. F. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Microbiology*. , 41.

INOUYE, S. (2003). Laboratory evaluation of gaseous essential oils (Part 1). *Aromather* , 13 (2-3): 95-107.

## Référence Bibliographique

Jille, Burentou. (2008). *Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales*. Paris: médicales internationales.

Jille., Burentou. (1999). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. Paris : 3ème Ed Tec&Doc.

Jille., Burentou. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris: 3ème Ed TEC et DOC.

Jose, S. (01-08-2000). *The Secret Of Theatrical Space*. Applause Books.

JRAGE., C. (1985). *Investigations toxicologiques pour un nouveau médicament*. Sem. Hop. Paris.

Kan, & Deepa Philip, P. K. (2011). *Phytochemical screening and antimicrobial activity of Sansevieria roxburghiana Schult. And Suhult .F, Middle-East J. Sci Res, 10(4): 512-518*. Récupéré sur <http://www.efloras.org/florataxon.aspx> .

KHLEDE, N. ABEDILLAHE M. (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre especes d'eucalptus possant dans la région de Tizi Ouzou'', Thèse de Magister, Faculté des Sciences, Université de Mouloud Mameri-Tizi Ouzou. 129.

Kurita, N. K. (1982). Synergetic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. *Agric. Bil. Chem* , 159-165.

LIZA, Z. (1983). Liste et localisation des espèces assez rares, rares et rarissimes. I.N.F. Alger.

Lila., B. (1994). *The Complet Book of Herbs, A Practical Guide to Growing and Using Herbs*, Studio Seattle Goodwill. USA.

Lagunez Rivera, L. (2006). *Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe*. PhD, Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse.

Lu, F. (1992). *Toxicologie : Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque*. Paris: Masson. 360 p.

Molaide, B. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Tec & Doc, Lavoisier,. *Ed. Tec & Doc, Lavoisier,Paris.* , pp: 1021-1043.

## Référence Bibliographique

Madinie, W. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. 3–19.

M.Sanago. (2006). *Plantes médicinales*. Paris: Livres de pasteurs.

Marianne., P. (2008). *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse*. Québec à Chicoutimi.

Marie\_Cecile\_Pibiri. (2005). *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*.

MEBARKA, L. (2018). Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. *UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF/Présenté à la faculté des Sciences/Département de Biologie/Pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER/Spécialité : Biologie et Physiologie Végétale/Option : Valorisation des Ressources Végétales* , 92.

MG, Bellier . Antoine.-G. (2006). Antioxydants from *Lavandula luisieri*. *Mercosur Congress on Chemical Engineering*. Portugal.

Mohamed N., Yassine. Salime. (2011). Antimicrobial activity of water and ethanol *Majoram* (*Origanum majorana* L) extract. *International Annual Scientific Conference.*, (pp. 2350-2366).

Mohamed, Mokhtarié. Mourade. (2018). Valorisation chimique et biologique d'une plante médicinale utilisée dans la médecine traditionnelle Algérienne. *Institut des Sciences/Département de Sciences de la Matière/Filière : Chimie/Spécialité Chimie Macromoléculaire/Pour l'Obtention du Diplôme de Master* , 58(page 15-19-2).

Nabila Bouga. (2016). Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. *Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba* , 205.

Nadia, Chabata. (2019). Etude de la toxicité de l'huile essentielle . *coure de pharmacologie* .

Nhale , Peier. (2001). Essential oils and their production. *Crop & Food Research*.

Nhale, Peier. (2001). Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. , Number V :39.

## Référence Bibliographique

Nhale., Peier. (2002). Application de la RMN à la détermination des structures. . *Base Documentaire, Techniques d'analyse, Référence : P1092* .

Narimen, B. A. (2016, 6). Etude comparative de l'activité antioxydante de deux variétés d'*Ocimum basilicum* L. cultivées dans plusieurs régions d'Algérie. *Université Kasdi Merbah-Ouargla/Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière/Département de Chimie/Mémoire/Master Académique/Spécialité : Chimie/Option : Chimie appliquée* , p. 12.

Narishetty S., P. R. (2004). Transdermal delivery of zidovudine: effect of terpenes and their mechanism of action, *J. Control. Release* , 95(3), 367-379.

Normalisation, A. F. (1986). "*Huiles essentielles*", *AFNOR*. Paris: NF T 75-006.

Ocaña-Fuentes, A., Arranz-Gutiérrez, E., Señorans, F., & Reglero, G. (2010). Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essentials oils: Anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food Chem. Toxicol*, 48 , 1568-1575.

OCDE. (2008). Étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. *In :Lignes directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Paris* , 1-14.

OCDE. (1979). *Résumé des considérations du rapport des groupes d'experts de l'OCDE sur la toxicologie à court et à long terme*. Paris.

Oka Y, N. S. (2000). Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology*; 90 , 710–715.

P Michelin Marie, (1987). *Les Epices. Histoire, description et usage des différents* .

Pdrane, Malike. (2012). Inhibition of advanced glycation end-product formation by *Origanum majorana* in vitro and in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evid Based Complement Altern Med* 1 , 1-8.

Pieri, S. (1996). Conservation of Oregano species in national and international collections: an assessment. In: *Oregano: proceedings of the IPGRI International workshop on Oregano. Valenzano, Italy* , 14-23.

P Jean-Marie Desjobert., I. (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*. Londres : 2ème Ed. Larousse.Pp : 143 et 225-226.

## Référence Bibliographique

Paris, R. a. (1969). *Precis de matiere medicinale*. Paris: Masson.

Pierre FRANCHOMME, R. J. (11/2001). *L'aromathérapie exactement*. Paris: <https://www.unitheque.com/Editeur/roger-jollois/1286>.

Reichl F.X., B. J. (2004). *Guide pratique de toxicologie*. Bruxelles.

Rezaie A., M. G. (2011). Comparative study of sedative, pre-anesthetic and anti-anxiety effect of *Origanum majorana* extract with diazepam on rats. *J Biol Sci* , 611-614.

Roll R., H.-B. T. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals t». *Toxicol. Lett; Suppl* , 31; p: 86.

Saade, B. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in Foods. *Food. Microbiol* , 223-253.

Sadiké, Quranz. Piere. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris: Paul Le chevalier.

Saoule.E. (2002). Profile of the multifaceted prince of the herbs. In: Kintzios S.E. *Oregano. The Genera Origanum and Lippia* . Ed. Taylor & Francis, London.

SANJU B., S. D. (2016). Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*).

SBARGOUD, A. (2009). diagnostic environnemental de la gare routière (pollution atmosphérique par TSP et métaux lourds). *mémoire de magister* . Université Moulod Mammeri Tizi Ouzou. , 53.

Sharma N., D. N. (2011). Screening of insecticidal and antifungal activity of *Origanum majorana* oil against *Callosobruchus chinensis* L, and *Aspergillus* spp. *Agric and BiolSci* 7(2) , 223-227.

Soumia., M. B. (2019). Etude des activités biologiques de trois espèces du genre *Origanum*. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED/Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie/Département de biologie Cellulaire et Moléculaire/En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences/Spécialité : Biochimie Appliquée/ , 59(2,9,13(.

Stevenson, F. R. (30/04/2009). *The volatile constituents of frankincense* . Paris.

## Référence Bibliographique

Teusher E., A. R. (2005). *Plantes aromatiques. Eplices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Paris: Tec & Doc 522.

Teusher E., A. R. (2004). *Plantes aromatiques. Eplices, aromates, condiments et huiles essentielles*. . , Paris: Tec & Doc.

Trease GE, E. M. (1987). *A text book of Pharmacognosy. 144 -148*.

Trease GE, E. M. (1987). *A text book of Pharmacognosy*. London.: 13thEdn. Baillier, Tindal and Causse.

Tron, I. P. (2002). *Toxon Manuel de Toxicologie.Guide technique*. ADEME. Angers , 128.

Viau, C. T. (2003). *Toxicologie. Environnement et santé publique –fondements et pratiques*. Paris. , 119-143.

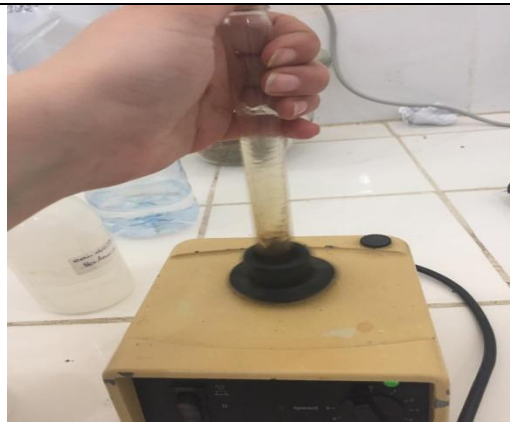

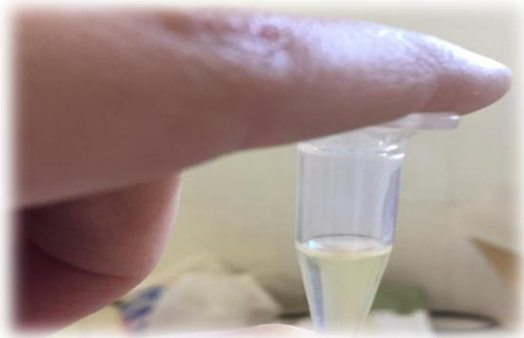

Zamime, M. (2005). *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, magistère Université Abou Bakar Bel Kaid Tlemcen*. 105.



## **ANNEXE**

## Annexe

Matériels Utilisés :

	
<b>Agitateur</b>	<b>Balance analytique</b>
	
<b>Ependve</b>	<b>Dispositif pour l'indice d'acide</b>

Les Réactifs :

### 2-Les produits

Ammoniac

Acide acétique

Chloroforme

Dichlorométhane

Diéthyl éther

Annexe

Ethanol « C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O »

Eau distillé « DH<sub>2</sub>O »

Eau physiologique

Méthanol « MeOH »

Xylène/Hémato-xylène

Paraffine

Enkit de montage.



Figure 25: Détection des tanins.

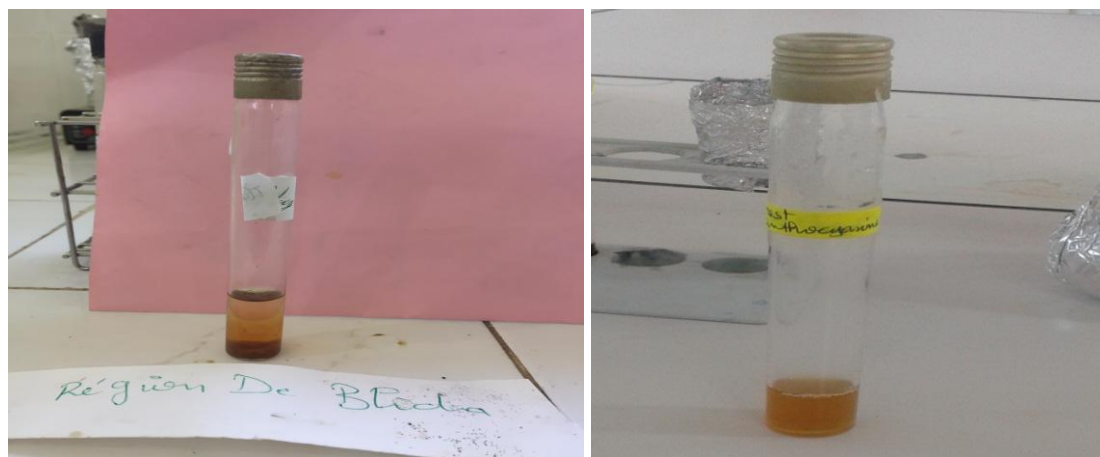


Figure 26 : Détection des anthocyanes.

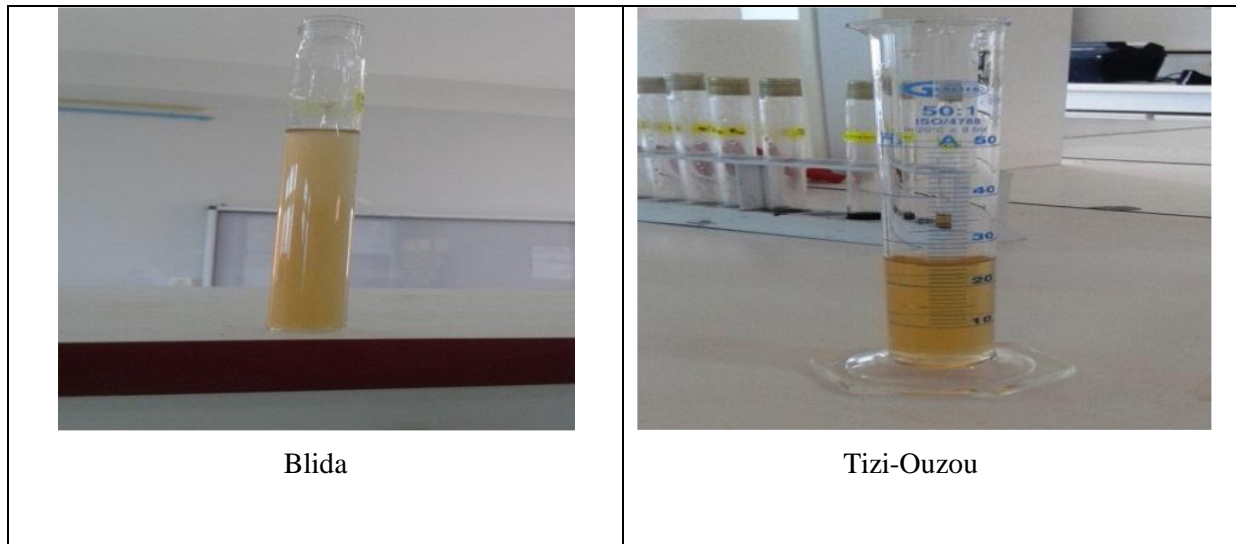


Figure 27 : Détection des Alcaloïdes

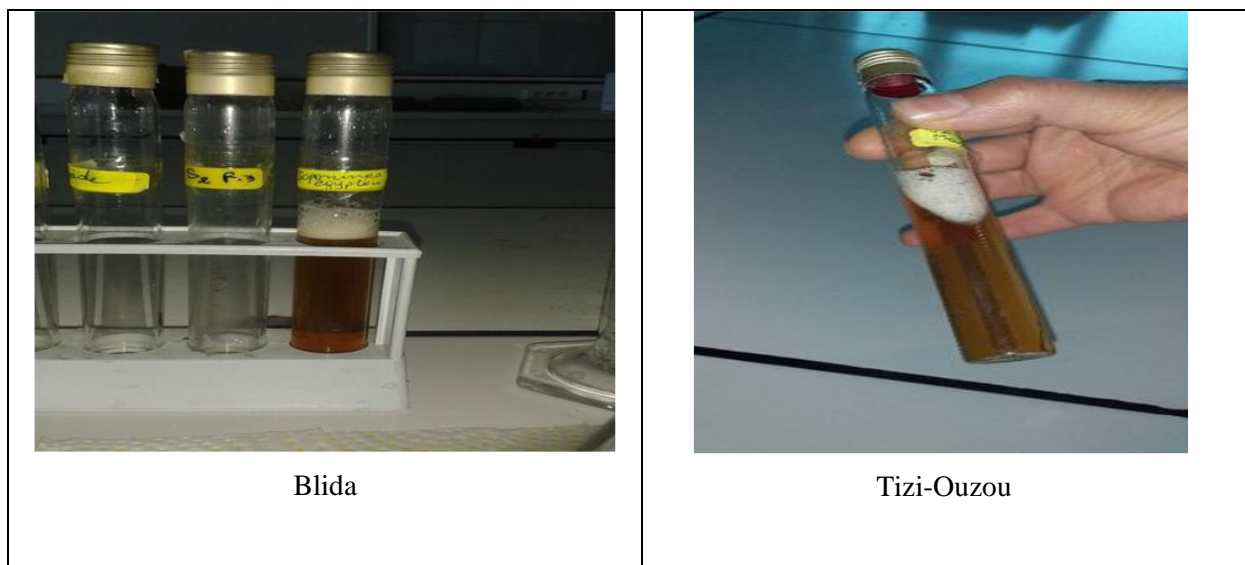
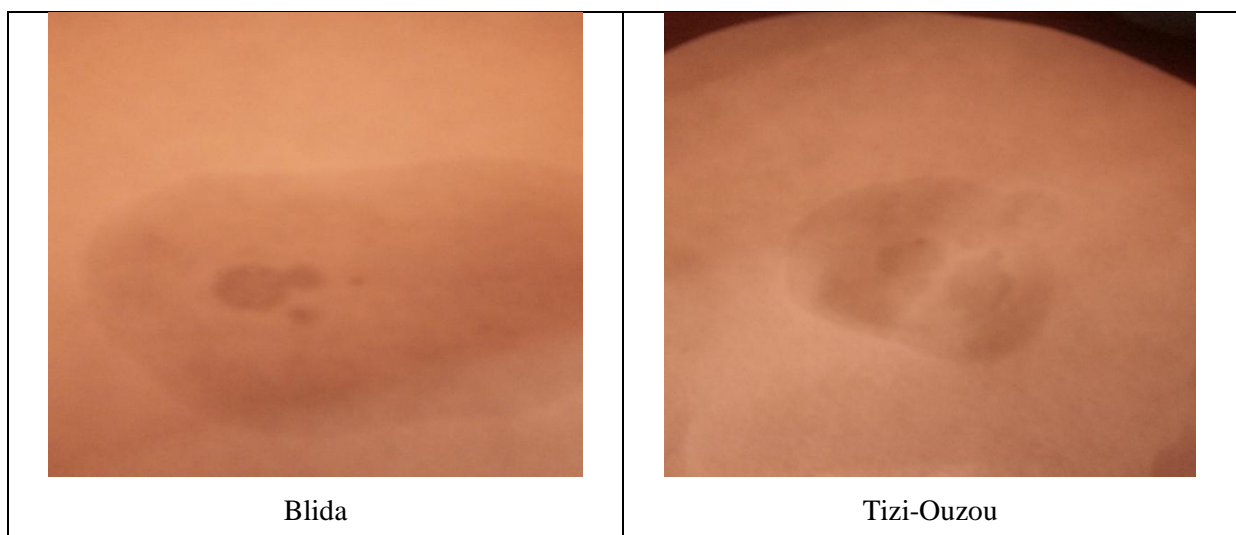


Figure 28: Détection des Saponides



Annexe



Figure 29: Détection des lipides

**Annexe 2**

**Tableau : Échelle de Hodge et Sterner**

DL50 orale (rat)	Indice de toxicité
Jusqu'à 1 mg/kg	Extrêmement toxique
De 1 à 50 mg/kg	Hautement toxique
De 50 à 500 mg/kg	Modérément toxique
De 500 à 5 000 mg/kg	Légèrement toxique
De 5 000 à 15 000 mg/kg	Presque pas toxique
Plus de 15 000 mg/kg	Relativement inoffensif

**Annexe 3 : la feuille de calcul du logiciel de l'OCDE pour la ligne directrice 425.**

The screenshot shows the AOT425StatPgm software window. The title bar reads "AOT425StatPgm". The menu bar includes "New Test", "Load Data", "Save Data", "Get Report", "Options", "About AOT425", and "Exit".

Test / Substance: Détermination de la DL50 des alcaloïdes de *Fumaria officinalis*

Test Type: Main

Limit Dose: 2000

Assumed values at start of the main test:  
LD50: Default    Sigma: 0.125

Test Seq.	Animal ID	Dose mg/kg	Short-term Outcome	Long-term Outcome	Program's Data Entry Messages
1	1	970	O	O	
2	2	1290	O	O	
3	3	2000	X	X	
4	4	1290	X	X	
5	5	970	O	O	
6	6	1290	O	O	
7	7	2000	X	X	
8	8	1290	X	X	
9	9	970	O	O	
10		Stop Dosing			
11					
12					
13					
14					
15					

The main test is complete.  
Stopping criteria met: LR criterion.  
Estimated LD50 = 1341 (The one dose with partial response). 95% PL Confidence interval is 1118.1 to 1564.

