

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Universitaire SAAD DAHLAB - BLIDA -

Institut des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des plantes

Présenté par :

- ❖ Lebed Hayet
- ❖ Remla Yasmine
- ❖ Rouani Asma

Intitulé

**Activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile
essentielle des feuilles de l'origan**

Soutenu: le 24/07/2022

Devant le jury :

Mm Allal A	PROFESSEUR	Université Blida 1	Président
Mm Arrar K	MAA	Université Blida 1	Examinatrice
Mm Ghanai R	MCB	Université Blida 1	Promotrice

Année Universitaire 2021/2022

Dédicaces de Lebed Hayet

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, je tenon à remercier également notre promoteur

Mme : Ghanai .R qui a accepté de nous encadrer et qui nous a toujours guidé dans la réalisation de ce travail ainsi que pour les remarques constructives qu'il m'a donné lors de la rédaction de ce mémoire. Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury

MmeAllal .Let **Mme : Arrar .K** pour l'intérêt qu'il sont porté à mes recherches en acceptant d'examiner mon travail Et de l'enrichir par leurs propositions

J'adresse mes plus sincère remerciement à tous les enseignants de département de SNV qui, par leur enseignement, ont contribué à ma formation durant tout mon cursus universitaire.

Enfin je dédiecet humble travail

- A ma mère **Ettigrini Zohra** et mon père que dieu lui fasse miséricorde.
 - A mes frères et ma sœur **Fatma**.
 - A **Sofiane Benlarbi**.
- A tous les membres de ma famille : **Lebed** et **Ettigrini**.

Dédicaces de Remla Yasmine et Asma Rouani

On dédie ce modeste travail

*A nos chers parents pour les encouragements, la tendresse,
L'affection et le soutien durant toute la période de nos études.*

*Que dieu vous bénisse et vous accorde une longue vie pleine
de sante et de bonheur.*

A nos frères et sœurs

A tous les membres de nos familles

A tous nos amis

A tous nos professeurs

A toute la promotion 2021/2022 de Biotechnologie et

Valorisation des plantes

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à

l'élaboration de ce mémoire.

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.

Un remerciement spécial pour notre promotrice Mme GHANAI R, On tient vivement à lui exprimer nos profondes reconnaissances et nos gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension. Merci pour vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines.

Nos remerciements vont aussi à Mme Allal L, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

On tient aussi à remercier Mme ARRAR K, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche, en acceptant de juger et critique notre travail et de l'enrichir avec ces propositions.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à tous les membres du laboratoire de production de l'unité SAIDAL (Gue de Constantine) pour le bon accueil et de nous avoir fait bénéficier de leur expérience et de leur rigueurs scientifiques et professionnelles.

On remercie également tout le personnel l'atelier YAZRO chez Mme Kheira Malki a Meurd Tipaza pour leurs aides dans l'extraction de l'huile essentielle.

Un grand merci à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et la vie, et du département de la biotechnologie de l'université Saad Dahleb de Blida 1 qui ont contribué à notre formation.

SOMMAIRE

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Les huiles essentielles

I.1. Définition 3

I.2 Historique..... 3

I.3. Répartition botanique..... 4

I.4. Propriétés physico-chimiques :..... 4

I.5. Composition : 5

I.6. Variabilité : 6

I.7. Rôle : 7

I.8. Conservation : 7

I.9. Toxicité : 7

I.10. Procédés d'extraction : 8

I.11. Utilisation : 9

Chapitre II : l'Origan et l'évaluation biologique de l'origanum floribundum munby

II.1. L'Origan: 11

II.2. Origanum floribundum Munby : 13

II 3. Activité antioxydante17

II.4. Activité antimicrobienne19

Partie expérimentale

Chapitre I Matériel et méthode

I.1. Description de la localité de prélèvement:	22
II.1. Matériel :	22
II.1.1 Matériel biologique :	22
II.1.1.1. Souches microbiennes :	23
I.2. Méthode d'étude :	23
I.2.1.1 Extraction des huiles essentielles :	23
I.2.1.2 Détermination du rendement:	24
I.2.1.3. Etude de pouvoir antioxydant:	24
I.2.1.4. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50 :	25
I.2.1.5 Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) :	25
I.2.2 Activité antimicrobienne.....	25
I.2.2.2. Activité antifongique :	27
I.2.2.3. Lecture de résultats :	27

Chapitre II

Résultats et discussions

II.1. Rendement des huiles essentielles:	28
II.2. Caractéristiques organoleptiques	28
II.3. Activité antioxydante	29
II.4. Activité antimicrobienne :	30
Conclusion.....	33
Références bibliographique	34
Annexe	42

Résumé

L'origanum floribunum munby

Origanum floribundum Munby est une espèce endémique d'Algérie, appelée communément Zaâter. L'espèce pousse spontanément dans les hautes montagnes. L'étude vise l'évaluation de ses activités antioxydantes et antimicrobiennes. L'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau a permis l'obtention d'un rendement de 0.125 % L'étude de l'activité antioxydante réalisée selon le test de piégeage du radical libre, le DPPH, a révélé que l'huile essentielle d'origan possédé un bon pouvoir antioxydant comparé au témoin ; l'acide ascorbique ; avec des valeurs d'IC50 de 169 µg/ml pour l'huile essentielle et 410 µg/ml pour l'acide ascorbique. L'activité antimicrobienne a montré que l'huile essentielle possède un spectre antimicrobien considérable pour les différentes bactéries et levures testées (55 mm pour *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* ,25 mm pour *E. coli*, 50 mm pour *Staphylococcus aureus* et 21 mm pour *Aspergillus brasiliensis*).

Mots clés : *Origanum floribundum*, huile essentielle, antioxydante, antimicrobienne.

Abstract

Origanum floribundum munby

Origanum floribundum Munby is an endemic species from Algeria, commonly called Zaâter.

The species grows spontaneously in the high mountains. The study focuses on the extraction of the essential oil of this species and the evaluation of its antioxidant and antimicrobial activities.

The extraction of essential oils by distillation with water vapor made it possible to obtain a yield of 0.125%. The study of the antioxidant activity carried out according to the free radical scavenging test, the DPPH, revealed that the essential oil of oregano has a good antioxidant power compared to the control; ascorbic acid; with IC₅₀ values of 169 µg/ml for essential oil and 410 µg/ml for ascorbic acid.

The antimicrobial activity showed that the essential oil has a considerable antimicrobial spectrum for the different bacteria and yeasts tested (55mm for *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*, 25mm for *E. coli*, 50mm for *Staphylococcus aureus* and 21mm for *Aspergillus brasiliensis*).

Keyword : *Origanum floribundum*, essential oil, antioxidant activity, antimicrobial activity.

الملخص

Origanum floribundum munby

Origanum floribundum Munby هو نوع مستوطن من الجزائر ، يطلق عليه عادة الزعتر. ينمو هذا النوع بشكل

عفوي في أعالي الجبال وتركز الدراسة على استخراج الزيت العطري لهذا النوع وتقييم نشاطاته المضادة للأكسدة

والميكروبات. أتاح استخراج الزيوت العطرية بالتقطير ببخار الماء الحصول على عائد 0.125%.

كشفت دراسة النشاط المضاد للأكسدة التي أجريت وفقاً لاختبار إزالة الجذور الحرة، DPPH، أن الزيت العطري

للأوريجانو يتمتع بقوة جيدة كمضاد للأكسدة مقارنةً بالسيطرة؛ حمض الاسكوربيك؛ بـقيم IC50 169 ميكروغرام / مل

للزيت العطري و410 ميكروغرام / مل لحمض الأسكوربيك. أظهر النشاط المضاد للميكروبات أن الزيت العطري يحتوي

على طيف كبير من مضادات الميكروبات للبكتيريا والخمائر المختلفة المختبرة (55 ملم للعصيات الرقيقة والمبيضات

البيضاء، 25 ملم للإشريكية القولونية، 50 ملم للمكورات العنقودية و21 ملم للرشاشيات البرازيلية).

الكلمات المفتاحية: الزعتر، الزيت الأساسية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد الميكروبي.

Liste des abréviations

- **HE** : Huile **E**ssentielle
- **JC** : **J**ésus-**C**hrist
- **NF** : **N**orme **F**rançaise
- **AFNOR** : **A**ssociation **F**rançaise de **N**ormalisation.
- **DL50** : **D**ose **L**étal
- **DPPH** : 1,1- **D**iphényle-2-**p**icryhydrazyl
- **EC50** : **C**oncentration **E**ffective à 50%
- **Vit C** : **V**itamine **C**
- **CMI** : **C**oncentration **M**inimale **I**nhibitrice
- **R** : **R**endement
- **ROS** : **R**éactive **O**xygène **S**pecies

Liste des figures

Numéro des figures	Titres des figures	Page
Figure 01	Aspect morphologique de <i>l'Origanum floribundum</i> (Boulaghmen, 2012)	12
Figure 02	Répartition des taxons d' <i>origanum</i> dans les pays méditerranéens (Kokkini, S 1997).	14
Figure 03	Aspect morphologique de <i>l'Origanum floribundum</i> (Rebaâ. H, 2017)	16
Figure 04	Oxydation d'un acide gras insaturé (Moll et Moll, 1998).	18
Figure 05	Principaux composés des HE impliqués dans les activités antimicrobiennes (Burt, 2004)	21
Figure 06	Localité de récolte de l'origan	22
Figure 07	Représentation graphique du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle de l'origan et de l'acide ascorbique	29
Figure 08	Valeurs d'IC50 de l'huile essentielle et de la vitamine C	30
Figure 09	La plante fraîche	43
Figure 10	Alambic d'hydro distillation	43
Figure 11	Etuve de stérilisation	44
Figure 12	Hotte à flux laminaire	44
Figure 13	Les différentes dilutions de l'activité antimicrobienne	45
Figure 14	Les écouvillons des souches utilisées	45

Liste des tableaux :

Numéro des tableaux	Titres des tableaux	Page
Tableau 01	La systématique de l'origan	12
Tableau 02	Systematique d' <i>Origanu m floribundum</i> (Simpson, 2006)	14
Tableau 03	Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie.	15
Tableau 04	Souches microbiennes utilisées dans notre étude	23
Tableau 05	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de l'origan	28
Tableau 06	Diamètre des zones d'inhibition de l'huile essentielle pure et à différentes concentration (CMI)	31
Tableau 07	Les grandes L'appareillages utilisés	41

L'Algérie, de par son aire géographique et sa diversité climatique riche en flore naturelle, recèle d'une gamme importante de plantes médicinales et aromatiques, faisant partie du grand patrimoine végétal de ce pays, **(Baba, 2011)**.

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales, **(Iserin, 2001)**. Grand nombre de plantes aromatiques, médicinales, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture, **(Mohammedi, 2006)**. La famille des Lamiacées est l'une des plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant **(Bouhdid et al., 2006)**. Les genres *Thymus* et *Origanum* appartiennent à cette famille et comprennent plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides. La majorité des espèces recensées en Algérie sont endémiques **(Bouhdid et al., 2006)**. Ces espèces sont riches en huiles essentielles et sont utilisées dans le domaine culinaire et en médecine populaire pour leurs propriétés antiseptiques, antidiarrhéiques et antibronchiques **(Bruneton, 1999)**.

Les huiles essentielles sont des produits qui présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire, il est l'un des genres les plus utilisés comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant **(Bouhdid et al, 2006)**

Les antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire peuvent être toxiques **(Yu et al., 2000)**. Par ailleurs la contamination des aliments par les micro-organismes reste une préoccupation pour les consommateurs et les industries agroalimentaires malgré l'utilisation de diverses méthodes de conservation. Il est de plus en plus intéressant d'utiliser des produits antibactériens et antifongiques naturels, tels que les huiles essentielles et les extraits de plantes, pour la conservation des aliments **(Cosgrove et al., 1987)**.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressées à valoriser une espèce du genre *Origanum* par l'évaluation de deux activités biologiques de ses huiles essentielles

Les objectifs de notre étude sont l'évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes des huiles essentielles de la partie aérienne d'*Origanum floribundum* poussant à l'état spontanée dans la région Meured-Tipaza.

Nous avons suivi les étapes suivantes :

- Extraction de l'huile essentielle de l'espèce étudiée
- Etude des activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'huile essentielle de l'Origan.

Synthèse

Bibliographique

CHAPITRE I

Les huiles essentielles

I.1. Définition les huiles essentielles

Il est difficile de donner une seule définition d'une huile essentielle, car « il n'y a pas une réponse mais des réponses à cette question (Naves, 1974). En effet la notion d'huile essentielle peut varier avec le point de vue au quel se placent des personnes de formations professionnelles aussi dissemblables que des botanistes, des photochimistes, des industriels, des parfumeurs ou des pharmacologues (Belaiche, 1979).

Le nom d'essences ou huiles essentielles désigne les principes volatils généralement odoriférants synthétisés par l'organisme végétal. Ces composent la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses. Par conséquent, ils ont reçu en parquement le nom d'huile essentielle. Le terme « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le terme « essentielle » désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons (Bernard et al., 1988).

Conner, (Conner, 1993) les définit comme suit : « Les HE sont des produits odorants, volatils du métabolisme secondaire d'une plante aromatique, normalement formés dans des cellules spécialisées ou groupes de cellules ».

L'association française de normalisation définit une huile essentielle comme étant « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR 2000). Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

I.2 Historique

Les premières traces de l'utilisation des plantes datent de 40000 ans av, JC. L'Egypte ancienne à partir de 4500 ans av. JC., nous apporte des descriptions détaillées sur papyrus déplantés utilisés en médecine, en parfumerie et pour l'embaumement des défunts (Desramaux, 2018).

Le papyrus égyptien d'ebers, que l'on fait remonter à 1600 av J.C, est le premier recueil consacré aux plantes médicinales (Hessas, et Simoud,2018). Par ailleurs, les traces de l'utilisation des plantes médicinales existent dans des textes chinois datant de plus de 5000 ans avant J.C. En Inde, les Vedas, livres sacrés rédigés vers 1500 ans avant J.C, contiennent eux aussi des témoignages de la connaissance des plantes (Veyrune, 2019).

La première extraction des huiles essentielles par distillation à la vapeur d'eau a été réalisée par le médecin arabe, Ibn Sinna « Avicenne » (980-1037), qui mit au point un alambic et produit la première huile essentielle pure. Il faudra attendre la fin des Croisades vers le XIIIème siècle et le retour des chevaliers en Europe, afin qu'ils rapportent les découvertes de la distillation à la vapeur d'eau et l'emploi des huiles essentielles. C'est ainsi que l'aromathérapie s'installera en Occident (**Abadlia, et Chebbour, 2014**).

En 1910, René-Maurice Gatte fossé, chimiste, parfumeur et père de l'aromathérapie scientifique, se brûla la main lors d'une explosion dans son laboratoire, il eut le réflexe génial de plonger ses mains dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande. Soulagé instantanément, sa plaie se guérit avec une rapidité déconcertante. Etonné par ce résultat, il décida d'étudier les huiles essentielles et leurs propriétés et créa le mot Aromathérapie du grec « aroma » (arome) et « therapeia » (soin) (**Abadlia, et Chebbour, 2014 ; Laurent, 2017**).

Aujourd'hui, l'aromathérapie est répandue dans le monde entier et les connaissances quant à l'utilisation des plantes sont précises. De nombreux laboratoires travaillent sur la recherche de l'aromathérapie certifiée bio (**Desramaux, 2018**).

I.3. Répartition botanique

Parmi les 800.000 espèces du monde végétal, 10% seulement sont dites aromatiques et capables de synthétiser une essence (**Willem, 2005**).

Elles sont réparties dans un certain nombre de famille parmi elles : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae et Piperaceae (**Yu et al., 2000**).

Les huiles essentielles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries (Origan et Menthe), écorce (Cannelier), racines (Vétiver), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis, Fenouil et Badianier) et bois (Camphrier).

I.4. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**Bruneton, 1999, Bernard et al., 1988**). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorées.

- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.

Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de la conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

I.5. Composition

En se référant à la norme française NF T 75-006 (Catier, Odile. et Roux, Danielle, 2007), l'HE est définie comme étant un produit de composition complexe renfermant des principes volatils, obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur ou par des procédés mécaniques (Pharmacopée Européenne, 2008) (Anonyme, 2008). Le caractère volatil de l'HE lui confère un parfum souvent très odorant (Catier, Odile. et Roux, Danielle, 2007).

Les composants des HE sont génériquement dits « aromatiques » en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique, ce qui peut prêter à confusion.

A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), il existe des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces. Il existe certaines huiles dites mono, bi ou tri-moléculaires selon qu'elles sont constituées Presque exclusivement d'une, de deux ou trois molécules majoritaires (Paris, et al., 1965 ; Pibiri, Marie.Cécile, 2006).

Les molécules contenues dans les huiles essentielles, se présentent sous forme de plusieurs groupes

I.5.1. Hydrocarbures

Au sein de ce groupe, il existe les hydrocarbures aromatiques monoterpéniques ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpéniques ($C_{15}H_{24}$) et plus rarement diterpéniques (C_{20}).

I.5.2. Composés oxygénés

A l'intérieur de ce groupe, se trouve les alcools aliphatiques et cycliques, (saturés et insaturés), des éthersoxydes, des phénols, des lactones, des composés sulfurés. Il existe naturellement d'autres corps qui peuvent entrer en faibles proportions dans la constitution de certaines HE, notamment les acides organiques, les cétones, les coumarines volatiles et les flavonoïdes (Hazzit, 2008).

La teneur d'une drogue en huile essentielle est généralement faible, de l'ordre 1% à 1%. Il existe cependant quelques plantes ayant une teneur supérieure à 5% telle que la Badiane de Chine. Le Clou de Girofle, quant à lui, en renferme plus de 15% d'essence (**Paris, et Hurabielle, 1980**).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices. Elles sont stockées dans des cellules transformées en cellules à essence, dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices ou des canaux sécréteurs (**Anton, et Strasbourg, 2004**).

I.6. Variabilité

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition, sur laquelle interviennent de nombreux paramètres, qu'ils soient d'ordre naturel, d'origine intrinsèque (génétique, localisation, maturité), d'ordre extrinsèque (sol, climat...) ou d'ordre technologique, c'est-à-dire liés aux modes d'exploitation du matériel végétal (**Anonyme, 2006**).

La composition d'une huile essentielle varie au sein d'un même genre et d'une même espèce. On parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Citons à titre d'exemple le basilic qui possède 4 chémotypes : basilic doux à linalool, basilic à méthyl chavicol, basilic à cinnamate de méthyl et basilic à eugénol (**Paris, et Hurabielle, 1980**).

Au cours du cycle végétal, des modifications importantes dans la composition des essences peuvent être relevées.

Les caractéristiques écologiques ont un effet déterminant sur la composition des huiles essentielles : facteurs géographiques (altitude, latitude, etc.), nature du sol, climat (ensoleillement, température, pluviométrie, etc.) sont autant de paramètres responsables de variations.

Certains agents exogènes peuvent aussi avoir une influence. Ainsi, par exemple lorsque la menthe poivrée est parasitée par *Eriophyes menthae* (acarien), sa teneur en menthofuranne chute (**Anonyme, 2006**).

Enfin, une huile essentielle peut subir de profondes modifications lors de son exploitation (**Kolster, 1999**): récolte, séchage et stockage du matériel végétal, hydro distillation, conditionnement.

I.7. Rôle

Actuellement, les chercheurs sont incapables de savoir l'action des huiles essentielles au sein de la plante. Plusieurs théories sont citées, pour la plupart d'entre eux, ce serait des déchets du métabolisme cellulaire de la plante. D'autres auteurs affirment, que les huiles essentielles serviraient à attirer les insectes, pour permettre la pollinisation ou bien à les éloigner afin de protéger la plante (**Sallé, 1991**).

La présence des huiles essentielles dans les racines (Vétiver et Gingembre), les écorces (cannelle), le bois (Santal) correspond à un effet antiseptique vis-à-vis des parasites présents dans le sol ou attaquant le bois. Certains terpènes linéaires composants des HE interviennent dans le métabolisme de la plante, ils peuvent être employés comme source énergétique (**Guignard, 2000**).

I.8. Conservation

Par nature, l'HE est très volatile, instable et très fragile, elle doit être conservée à l'abri de la lumière, chaleur et l'air car elle s'oxyde facilement. Elles se conservent dans un flacon propre et sec en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté antiactinique. Le flacon doit être Presque entièrement rempli et fermé de façon étanche (l'espace libre étant occupé d'azote ou d'un autre gaz inerte) (**Bruneton, 1999**).

En général, le délai de conservation peut aller de 6 mois à 3 ans, selon la nature de l'HE et la qualité de conservation (règles d'emballage, de conditionnement et de stockage d'après AFNOR NFT 75-001, (2000) et règles de marquage de récipients d'après AFNOR NF T75-002 (2000) (**Anonyme, 2000**).

I.9. Toxicité

Le caractère d'une huile essentielle correspond à celui de la plante dont elle est extraite. Sa toxicité est d'autant plus importante que sa concentration est forte.

Des précautions doivent être prises avant tout emploi, concernant le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe (**Willem, 2004**).

I.9.1. Toxicité selon la composition

Certains auteurs (**Franchomme, et al., 1990 ; Mailhebiau, 1994**) se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. Une utilisation prolongée des huiles essentielles à thuyones (Thuya, Absinthe et Sauge officinale) est neurotoxique.

I.9.1.1. Toxicité par ingestion

Les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible. La majorité de celles qui sont couramment utilisées ont une DL50 comprise entre 2 et 5 g/kg (anis, eucalyptus et le girofle). D'autres espèces peuvent avoir une DL50 supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine et vétiver). Les autres HE ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g/kg tels que le basilic, est Ragon et hysope. L'Origan et la sarriette présentent respectivement une DL50 de 1,5ml/kg et 1,37g/Kg.

Les HE les plus toxiques sont celles de boldo (*Peumusboldus* de la famille des Monimiaceae) avec 0,13g/kg. Les convulsions apparaissent dès 0,07g/kg, de chénopode avec 0,25g/kg, de thuya avec 0,83g/kg, de pennyroyal avec 0,4g/kg ainsi que l'essence de moutarde avec 0,34g/kg (Bruneton, 1999).

I.9.1.2. Toxicité dermique

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (Smith, et al., 2000) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines) (Naganuma, et al., 1985).

I.9.1.3. Toxicité sur cellules animales

La toxicité de l'HE de l'origan est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour l'HE de la lavande.

Les deux HE sont cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois (Inouye, 2003; Sivropoulou, et al., 1996).

I.10. Procédés d'extraction

Plusieurs méthodes d'extraction d'HE sont utilisées. L'extraction à la vapeur d'eau présente 80% de la récupération des huiles.

Les techniques les plus courantes sont

I.10.1. Hydrodistillation

Le principe de cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un ballon ou alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes (eau + molécules aromatiques) sont condensées en passant dans un serpentin du réfrigérant et redeviennent liquide et recueillies dans une ampoule à décanter ou au robinet dans

un essencier (vase florentin). L'huile essentielle et l'hydrolat vont se séparer naturellement, l'HE reste en surface qui sera décantée puis filtrée (Grosjean, 2007).

I.10.2. Entraînement à la vapeur d'eau

La vapeur d'eau traverse le matériel végétal, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle (Luches, 2005).

I.10.3. Hydrodistillation par microondes sous vide

La plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes sous vide, l'HE est entraînée dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. très rapide et peu consommateur d'énergie (Bendahou, et al., 2007).

I.10.4. Extraction par solvants

Dans cette technique des solvants sont souvent utilisés pour extraire l'HE (Lardy, et Haberkorn, 2007).

I.10.5. Extraction au CO2 supercritique

A l'état gazeux, le CO2 est capable de dissoudre les composés organiques.

Cette propriété est employée pour extraire les HE, après évaporation du CO2 (Bachelot, et al., 2006).

I.11. Utilisation

Les domaines d'application des huiles essentielles diffèrent selon la plante d'où elles proviennent mais surtout de la partie du végétal d'où elles sont extraites (la fleur, la feuille, les racines et la graine). D'une manière générale, les essences extraites des racines sont reconnues pour leur action sur le système nerveux, celles extraites des graines et des fleurs pour leur impact sur l'ensemble du système digestif et celles issues des feuilles pour leur bien fait sur les systèmes respiratoire et cardiaque (Bachelot, 2001).

A cet effet, les huiles essentielles sont recommandées en usage antibiotique, antiviral, antiseptique, fongicide, cicatrisant, digestif, anti-inflammatoire, sédatif, etc. (Richard, et Multon, 1992).

Certaines trouvent leur place comme antioxydant en lieu et place des conservateurs chimiques potentiellement toxiques mais surtout de plus en plus impopulaires. Un certain

nombre d'herbes aromatiques, notamment de la famille des Lamiaceae, a montré leur efficacité pour la conservation de la viande ou de certains plats cuisinés (**Fernandez., Chemat, 2012**).

Leur activité antimicrobienne bien reconnue est également exploitée pour augmenter la durée de conservation des aliments. On sait par exemple que les huiles essentielles de cannelle, de coriandre, de thym ou encore d'origan ont une réelle efficacité dans la conservation de la viande alors que la menthe sera plus efficace dans le contrôle des contaminations dans les yaourts (**Fernandez., Chemat, 2012**).

La double casquette des huiles essentielles (arômes et antimicrobiens) peut être à la fois un atout mais également un obstacle à leur utilisation si on ne souhaite pas modifier les propriétés organoleptiques des aliments (**Fernandez., Chemat, 2012**).

Enfin, les contaminations fongiques peuvent rendre impropres à la consommation des denrées alimentaires par la production de mycotoxines, ou tout simplement les détruire. Certaines huiles essentielles sont des agents antifongiques à large spectre qui pourraient être exploitées pour la conservation des aliments. Cela a par exemple été démontré pour l'huile essentielle de l'origan (*Origanum floribundum*) qui présente une meilleure activité antifongique que la plupart des agents chimiques actuellement utilisés (**Kumar et al., 2008**).

CHAPITRE II

*l'Origan et l'évaluation biologique de
l'origanum floribundum munby*

II.1. L'Origan

II.1.1. Historique

L'utilisation de l'Origan a été médicinale avant d'être culinaire. Les Grecs en utilisaient les feuilles pour soulager les muscles douloureux. Les Romains le prenaient pour soulager les morsures de serpents ou de scorpions. Aristote et Hippocrate recommandaient déjà l'Origan pour ses actions contre les maladies respiratoires, les brûlures et problèmes de digestion (**Adam, et al., 1999**).

Le nom de l'origan est dérivé des mots grecs *Oros Ganos* qui veulent dire « ornement des montagnes » ou « joie des montagnes ». L'origan était autrefois également appelé herbe porte bonheur (**Speck, et al., 2008**). Les chinois l'utilisent depuis des siècles pour traiter la fièvre, la diarrhée, la jaunisse et les blessures (**Jourdain, 2008 ; Vokou, et al., 1993**).

II.1.2. Origine et définition

Le nom de l'origan est dérivé des mots grecs *orosganos* qui veulent dire « ornement des montagnes » ou « joie des montagnes ». Une autre interprétation possible est « délice des montagnes ». Issu d'Europe, l'origan s'est particulièrement bien exporté au Moyen-Orient. Connu et reconnu par les peuples de l'Antiquité pour son goût prononcé et ses vertus médicinales (**Bouziaine, et djebour, 2016**).

II.1.3. Description

C'est une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées. La plante atteint généralement une taille variante entre 30 et 80 Cm. Les tiges rouges, à section carrée, sont velues avec des feuilles arrondies, vertes, légèrement dentées. Les fleurs sont roses ou pourpres, et sont regroupées en petits panicules (**Figure 1**) (**Tayeb-Cherif, et Menacer, 2016**).

D'après Quezel et santa (1963) cités par (**Lanseur, 2017**), seulement trois espèces du genre *Origanum*, sont répertoriées au niveau du territoire Algérien à savoir : *Origanum majorana L*, *Origanum glandulosum Des fet* *Origanum floribundum Mundy*.

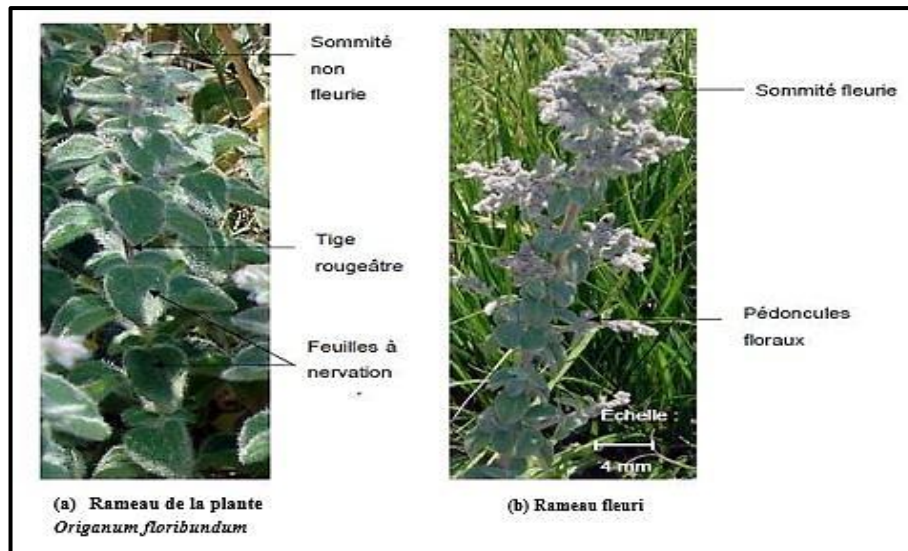


Figure 1 : Aspect morphologique de l'Origan (Boulaghmen, 2012)

II.1.4. Systématique botanique

(Tayeb-Cherif, et Menacer, 2016)., rapporte que, la systématique de l'origan est comme suit

Tableau 1 : La systématique de l'origan

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Labiées</i>
Famille	<i>Labiatae</i>
Genre	<i>Origanum</i>

II.1.5. Utilisation

L'*Origan* est largement utilisé dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques (contre la coqueluche, la toux, la fièvre et la bronchite). En raison de la variabilité de la composition chimique, les plantes d'*Origanum* sont largement utilisées comme herbe culinaire, pour aromatiser les produits alimentaires et pour leurs propriétés pharmacologiques, y compris les activités antibactériennes, antioxydantes, antithrombines et anti hyperglycémiques (Lanseur, 2017).

II.2. *Origanum floribundum* Munby

II.2.1. Historique

L'origan a été utilisé depuis des siècles. Au moyen âge, l'origan était très employé ; il était considéré comme la panacée universelle (**Huguette, 2002**).

On a répertorié plus de quarante variétés d'origan réparties dans quatre familles botaniques différentes, mais toutes possèdent la même huile, donc les mêmes effets.

Le nom générique de la plante signifie « joie de la montagne ». Les chinois l'utilisent depuis des siècles pour traiter la fièvre, la diarrhée, la jaunisse et les blessures.

Dans le monde occidental, c'est surtout comme condiment dans les vinaigrettes, les salades, les sauces et sur les viandes qu'on l'habitude de s'en servir, mais on pourrait de nouvelles utilisations pour soulager l'arthrite, le rhume, la grippe, la congestion pulmonaire et pour favoriser la digestion (**Jourdain, 2008**).

Dioscoride, il y a deux mille ans, disait déjà de l'Origan qu'il était un des meilleurs remèdes pour ceux qui ont perdu l'appétit. Il est en effet, un apéritif remarquable. En même temps qu'il facilite la digestion en stimulant les estomacs paresseux et qu'il lutte contre la constipation.

Le clerc le recommandait particulièrement aux estomacs atoniques et dilatés (**Debuinggérard et François Couplan, 2009**).

II.2.2. Etymologie

- ❖ « Origan » : *Origanum* désigne en latin (*Origanon*) et en grec (*Origanos* ou *Origanon*) diverses labiées aromatiques dont certainement divers origans. Le nom provient du grec « oros », montagne, et ganos, « éclat » : il signifie « parure des montagnes », et peut s'appliquer avec justesse à ces plantes dont la floraison est souvent remarquable (**Couplan, 2012**).
- ❖ « *Floribundum* » signifie très florifère (**Guide Algérienne, 2009**).

II.2.3. Nom commun

- ❖ En arabe : Zaàtar, Saàtar
- ❖ En français : Origan, Origan à inflorescence compacte (**Ait Youssef, 2006**).

II.2.4. Systématique d'*Origanum floribundum*

L'origan appartient à la grande famille des Lamiaceae de Dicotylédones Asteridaer en fermant 251 genres regroupant 6700 espèces (**Tableau 2**). Le genre *Origanum* inclut des arbustes nains, des plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces hermaphrodites qui se reproduisent dans les zones chaudes et montagneuses.

Tableau 2 : Systématique d'*Origanum floribundum* (Simpson, 2006).

Règne	Plantae (végétal)
Sous règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement	Spermatophyta
Sous embranchement	Angiospermae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida (Dicotyledones)
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (labiatae)
Sous famille	Nepeitodeae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum floribundum</i>

II.2.5. Répartition géographique

II.2.5.1. Dans le monde

Cette plante méditerranéenne a l'aptitude de pousser dans plusieurs pays d'Europe et d'Asie également, spécialement en Chine et en Inde (**Ruberto et al., 2002**) 49 taxons sont répartis à travers le monde, dont : 46 sont répartis entre des pays du pourtour méditerranéen ; 21 se trouvent en Turquie, dont 12 sont endémiques à ce seul pays.



Figure 2 : Répartition des taxons d'*origanum* dans les pays méditerranéens (**Kokkini, S 1997**).

II.2.5.2. En Algérie

Le nom vernaculaire d'*Origanum* est zaâter (زعتار). Cette plante est représentée par deux espèces : *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette dernière est d'ailleurs une espèce endémique Algérienne. Selon la classification du genre (Ietswaart, J 1980), les 02 espèces appartiennent aux sections IX *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* et VIII *Elongastipica*, respectivement (Tableau 3).

Tableau 3: Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie (Hazzit, M., ; Quezel, P. et Santa, S)

<i>Espèces</i>	<i>Section</i>	<i>Localisation et caractéristiques</i>
<i>Origanum glandulosum</i> Desfontaines	<i>O. vulgare</i> L. subsp <i>glandulosum</i> Desf.	<ul style="list-style-type: none"> • Commune dans tout le Tell. • Endémique Algéro Tunisienne. • Pousse dans les garrigues et broussailles.
<i>Origanum Floribundum</i> Munby	Elongastipica	<ul style="list-style-type: none"> • Espèce rare. Pousse dans la partie nord centrale (Kabylie, Médéa, Blida). • Endémique d'Algérie. • Pousse en pâturage et surtout en montagne.

II.2.6. Description de la plante étudiée

L'origan est une plante aromatique, vivace ligneuse à la base, pouvant atteindre 20 à 80cm de haut. (Guide Algérienne, 2009). L'Origan a un aspect sec, d'un vert rougeâtre et totalement recouvert d'un duvet (Baba. 1991).

- **Caractères botaniques**

L'origan est une plante endémique d'Algérie, elle pousse dans les pâturages et surtout en montagne jusqu'à 1500 d'altitude (56).

- **Appareil végétatif**

Les caractères morphologiques végétatifs de l'*Origanum floribundum* (espèce vivace herbacée, aromatique médicinale et condimentaire) se particularise par :

- **La tige** : prostrée à la base, les jeunes sont décombantes (Quezel, et Santa, 1963), dressée, grêle et à section carrée (Guide Algérienne, 2009), quadrangulaires et de courts rameaux à l'aisselle sont de couleur verdâtres et pubescentes (Machu, 2008) (in (Huguette. 2002)). (Figure 1)

- **La racine** : est un rhizome (tige souterraine) ligneux avec des rejets filamenteux (racines adventives ; ceci lui configurant une bonne accroche (d'où son abondance dans les zones de hautes altitudes (Machu, 2008) (in (Huguette, 2002)).
- **Les feuilles** : sont ovales, pétiolées à bord peu denté, opposées et de grandeur variable, les feuilles inférieures sont étant plus grandes. (Figure 3)



Figure 3 : Aspect morphologique de l'*Origanum floribundum* (Rebaâ. H, 2017)

- L'appareil de reproduction une inflorescence en épis lâche, et composée de fleurs roses (Guide Algérienne, 2009). (Figure 1), Les fleurs sont hermaphrodites ; elles s'organisent en épis lâches (inflorescence indéfinie), disjointes après la floraison. Le calice à 5 dents courtes ; la corole est à lèvres sensiblement égales (Kimbaris, 2013), serait à lèvres plutôt régulières (Merbah. Et al., 2013). Le fruit : est un tétrakène, ovoïde et lisse de couleur noirâtre (Merbah. Et al., 2013).

II.2.7. Composition chimique

L'origan est une plante riche en huile essentielle, prisée depuis des milliers d'années en Médecine traditionnelle (Guide Algérienne, 2009).

La composition de l'huile essentielle varie fortement selon les races chimiques (Fleurentin, 2007).

La composition de cette huile essentielle expliquerait également l'action eupeptique, stimulant et cholérétique des parties aériennes de la plante (AitYoussef, 2006).

L'huile essentielle de l'origan constitue un produit qui voit différentes utilisations industrielles, en alimentation, en parfumerie, en pharmacie et en aromathérapie.

L'origan renferme une essence de couleur jaune à brun foncé, d'odeur phénolique agreste, très aromatique reste toutefois très piquante, L'Origan renferme une huile essentielle (0,3-1,5%) riche en phénols (90% ; thymol, carvacrol (40-70%), γ -terpène, p-cymène, α -pinène, myrcène, thymol) (Fleurentin, 2007), des sucres amers et des tanins (Huguette, 2002). Épicée et plus agressive que les autres huiles et de saveur amère, chaude et épicée. L'HE d'origan est particulièrement pourvue en phénols : le carvacrol et son isomère, le thymol (Kimbaris, et al., 2013)

III.1. Activité antioxydante

Les lipides forment une classe de constituants biologiques nutritionnellement importants pour la part calorique et l'apport indispensable d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles qu'ils présentent dans la ration alimentaire. Lorsqu'ils sont extraits de leur contexte de protection naturelle, tous les corps gras (ou lipides ou matières grasses) subissent au cours de leurs conservations ou transformation des altérations de type oxydatif.

III.1.1 Les espèces oxygénées réactives

Les espèces réactives de l'oxygène dénommées ROS (Reactive Oxygen Species) sont générées naturellement dans la mitochondrie au cours de la respiration cellulaire (Tarnawski et al., 2006). Ce sont des produits de l'oxygène, généralement divisés en espèces radicalaires et non-radicalaires, qui se caractérisent par une instabilité et/ou un pouvoir oxydant fort. Si les espèces radicalaires se distinguent par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe, les espèces non-radicalaires sont caractérisées par un oxygène avec un étage d'oxydation supérieur à (-2). Dans les deux cas, ces molécules vont chercher par oxydation à compléter la couche électronique externe de l'oxygène pour tendre vers une forme plus stable.

Parmi les espèces oxygénées réactives, nous avons : le superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HClO) et le radical hydroxyle ($\cdot OH$). Ces espèces sont généralement à l'origine de toutes les autres et sont fréquemment rencontrées dans les maladies à composante inflammatoire telles que les maladies inflammatoires chroniques et certaines maladies cardiovasculaires (Néve, 2006).

III.1.1.2 Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

D'après (Eymard, 2003), l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- ✓ L'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ;
- ✓ La photooxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs ;
- ✓ L'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

III.2.1.2.1 Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction autocatalytique. Il s'agit d'un enchainement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (Figure 4). Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras (*initiation*). Puis les réactions

s'enchainent pour produire plusieurs radicaux libres (*propagation*) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (*terminaison*).

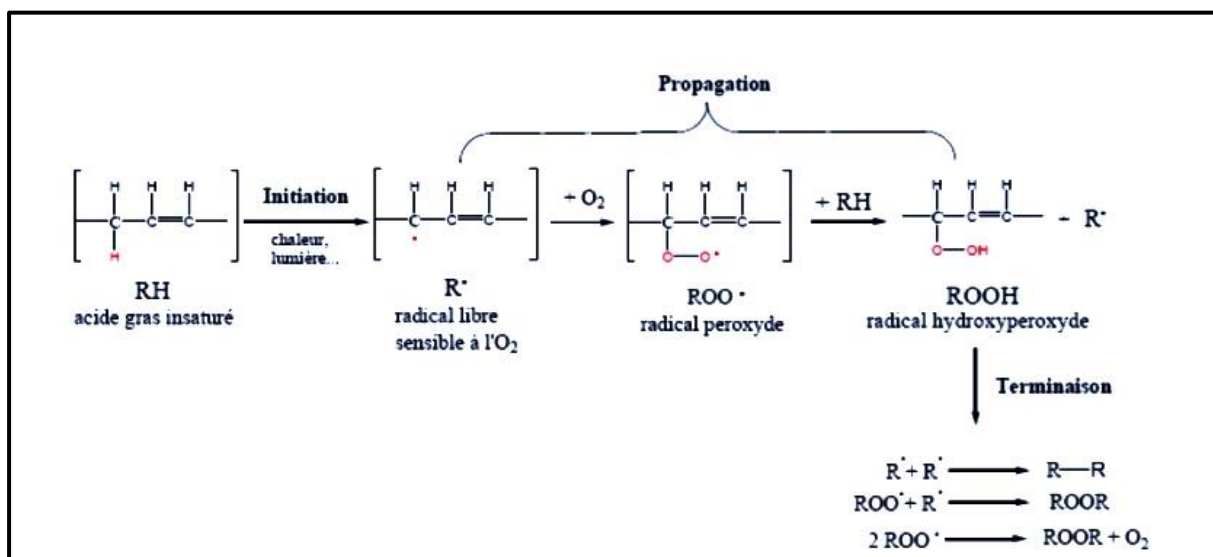


Figure 4 : Oxydation d'un acide gras insaturé (Moll et Moll, 1998).

II.2.9.2.2 Photo-oxydation

La photooxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (Hultin, 1992). Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens³) (Hultin, 1994). Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (Frankel, 1998).

Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène.

Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens³) avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet (¹O₂).



L'oxygène singulet ainsi formé est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde ROOH.



Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto oxydation. Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par auto oxydation (**Frankel, 1998**).

II.2.9.2 Mécanisme d'action des antioxydants

Suivant leurs mécanismes d'action les antioxydants peuvent être classés en trois types :

❖ Les antioxydants de type I

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents (**Belaiche, 1979**).

❖ Les antioxydants de type II

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants (**Roeding-Penman et Gordon, 1998**).

❖ Les antioxydants de type III

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière.

L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (**Frankel, 1998**).

II.2.10. Activité antimicrobienne

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains" (Generally Recognized As Safe GRAS), ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne. Cette activité antimicrobienne est

principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailieneet *al.*, 2006).

II.2.10.1. Les propriétés antimicrobiennes

Les HE et les extraits de plantes sont souvent des mélanges complexes de différents composés dont certains, sinon tous, sont dotés de propriétés antimicrobiennes. Certaines études, comme celles de Paster *et al.* (1990) et Canillac et Mourey (1996), confirment les propriétés antimicrobiennes de certaines HE.

Le pouvoir antimicrobien des substances naturelles est souvent réduit à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Evalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique (Korochet *al.*, 2007). De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son « totem », c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

Les molécules réputées actives sont des trapézoïdes, car les hydrocarbures saturés et les acétates ioniques sont inactifs, par la nature même de leur faible capacité de liaisons hydrogène et de leur faible solubilité (Griffin *et al.*, 1999). L'effet des trapézoïdes sur des membranes bactériennes isolées suggère que leur activité est fonction des propriétés lipophiles des constituants terpéniques, la nature des groupes fonctionnels, leur solubilité en phase aqueuse et la stéréochimie de la molécule (Figure 5) (Dormanet *al.*, 2004).

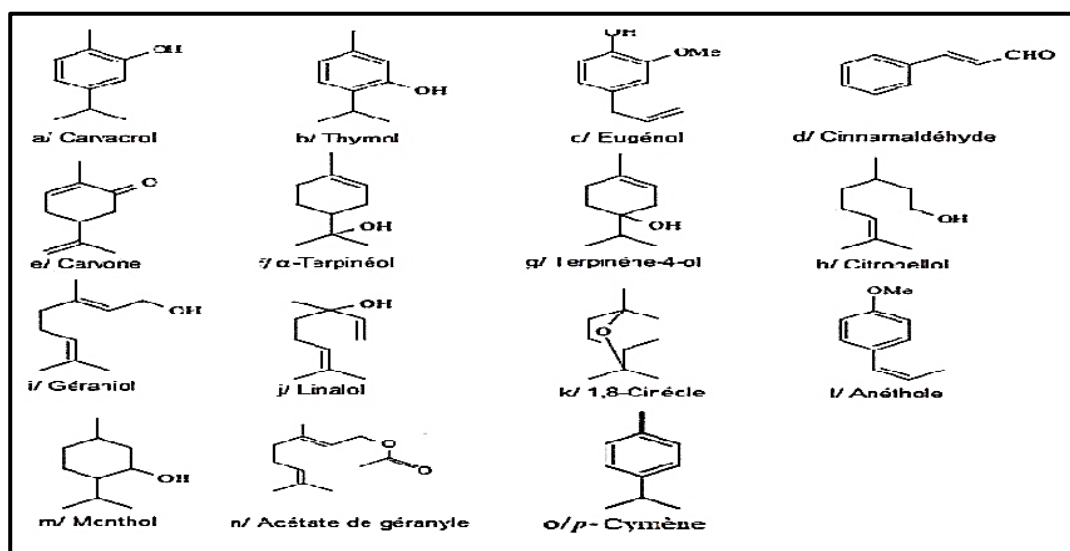


Figure 5 : Principaux composés des HE impliqués dans les activités antimicrobiennes (Burt, 2004)

II.2.10.2. Mécanismes d'action des huiles essentielles

Bien que les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et de leurs composants ont été largement étudiées dans le passé, le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (**Burt, 2004**). Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles.

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HE sur les bactéries comme : l'altération de la paroi cellulaire (**Helander et al., 1998**), la dégradation de la membrane cytoplasmique (**Oosterhaven et al., 1995 ; Knobloch et al., 1989, Ultee et al., 2002**), l'altération des protéines membranaires (**Juven et al., 1994 ; Ultee et al., 1999**), la fuite du contenu cellulaire (**Oosterhaven et al., 1995 ; Helander et al., 1998 ; Cox et al., 2000 ; Lambert et al., 2001**), la coagulation du cytoplasme (**Gustafson et al., 1998**) et l'épuisement de la force de mouvement des protons (**Ultee et al., 1999, Ultee et Smid, 2001**).

Les mécanismes d'actions de certaines molécules antibactériennes ont été décrits dans la littérature. Le carvacrol et le thymol semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire (**Lambert et al., 2001**). En détruisant la membrane externe des bactéries Gram négatives, ils augmenteraient la perméabilité de la membrane plasmique aux métabolites cellulaires (**Helander et al., 1998**).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre I

Matériel et méthode

Ce travail vise l'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de l'origan. Il a duré 3 mois du mois d'Avril au mois de juin dans deux structures différentes à savoir :

- L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau de l'atelier de YAZRO chez Mme kheira Malki Meurad Tipaza.
- Le site de production Biotic du groupe pharmaceutique SAIDAL, situé au niveau du Gué de Constantine wilaya d'Alger, Où nous avons fait les analyses nécessaires dans divers types de laboratoires, dont il convient de citer
 - ✓ Laboratoire de microbiologie pour effectuer l'activité antimicrobienne.
 - ✓ Laboratoire de physicochimie pour évaluer le pouvoir antioxydant.

I.1. Description de la localité de prélèvement

La zone de récolte de notre matériel végétal se situe dans les montagnes de Meured (Wilaya de Tipaza) (figure 6) situant à 85 km d'Alger où pousse l'espèce (*Origanum floribundum*) à l'état spontané.



Figure 6 : localité de récolte de l'origan

I.1. Matériel

I.1.1 Matériel biologique

Notre matériel végétal est constitué de la partie aérienne de l'origan, *Origanum floribundum* Munby, récolté au début du mois d'Avril qui correspond au stade de feuillaison.

L'identification de la plante a été faite par Mme Malki la directrice de la société YAZRO, en comparant notre échantillon avec l'espèce de l'herbier.

I.1.1.1. Souches microbiennes

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'espèce étudiée, nous avons utilisé quelques souches (**Tableau 3**) fournies par le laboratoire de microbiologie de l'unité de production de Biotic-SAIDAL qui ont été choisies pour leur pathogénicité et leur fréquence élevée de contamination.

Tableau 4 : Souches microbiennes utilisées dans notre étude

Microorganismes	Souche	Type	Référence	Source
Bactéries	<i>E.coli</i>	Gram –	ATCC 8739	Laboratoire de production (contrôle de qualité) SAIDAL
	<i>Bacillus subtilis</i>	Gram +	ATCC 6633	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +	ATCC 6538	
Champignons	<i>Candida albicans</i>	Levure	ATCC 10231	
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Moisissure	ATCC 16404	

I.2. Méthode d'étude :**I.2.1.1 Extraction des huiles essentielles**

L'extraction de l'huile essentielle *d'origanum foribundum* est réalisée par hydrodistillation.

❖ Principe :

La méthode suivie est une hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau distillée 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 [Bruneton, 1999].

❖ Mode opératoire

L'hydro distillation consiste à récupérer les huiles essentielles contenues dans les végétaux par de la vapeur d'eau.

Pour obtenir l'HE, 12 kg de la matière végétale fraîche sont mises dans un alambic qui est liée avec une Chaudière réglée à 80C° pour favoriser un maximum d'évaporation de l'eau et de l'HE sans la détruire. Au cours du chauffage, l'eau évaporée est chargée d'HE elle migre pour la réfrigération par l'eau froide. La séparation de l'eau et de l'huile essentielle se fait par différence de densité. L'eau décantée est appelée hydrolat, elle reste très parfumée.

L'huile essentielle est pesée pour le calcul du rendement puis conservée au frais à +4°C dans un flacon en verre ombré.

I.2.1.2 Détermination du rendement

Le rendement en HE (R_{he}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formule suivante :

$$R_{He} = \frac{M'}{M} \times 100$$

R : Rendement des huiles essentielles en (%).

M' : Masse d'huile essentielle en (g).

M : Masse de la matière végétale sèche (g) [AFNOR, 1986].

I.2.1.3. Etude de pouvoir antioxydant

L'activité antioxydant in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par (Burits et Bucar), où 50µl de chacune des solutions méthanoïques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

I.2.1.4. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50

Selon Sharififar et *al.* L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}$$

Avec :

A blanc : Absorbance du blanc (méthanol)

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vit C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50 %.

I.2.1.5 Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50)

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (HE, extrait sou toute autre substance antioxydant) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant.

I.2.2 Activité antimicrobienne

Dans notre étude nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme

❖ Principe

La méthode des aromatogrammes consiste à disposer un disque stérile en cellulose, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de pétri etensemencée avec le microorganisme testé. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (mm) de la zone claire autour du disque indemne de colonie.

❖ Mode opératoire

I.2.2.1. L'activité antibactérienne

I.2.2.1.1. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton.

Liquéfier le milieu de culture Muller Hinton pour les bactéries dans un bain marie.

Sous hôte à flux laminaire, verser aseptiquement le milieu de culture gélosé sur les boîtes de Pétri à raison de 20 ml par boîte. Fermer et laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions évitant toute contamination ou modification de leur composition.

I.2.2.1.2. Stérilisation du matériel

Les tubes à essai, pipettes, et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

I.2.2.1.3. Préparation des solutions bactériennes

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées pendant 24h à 37 °C, pour optimiser leur croissance.

I.2.2.1.4. Ensemencement des suspensions bactériennes

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut bas entries serré. L'opération est répétée deux fois tournant la boîte de 60° à chaque fois.

L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur tout la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés de l'huile essentielle sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

Les boîtes de pétris ont incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

I.2.2.1.5. Détermination des CMI

Pour les concentrations minimales inhibitrices (CMI), Il s'agit de déterminer les plus petites concentrations auxquelles l'huile essentielle présente encore une activité antibactérienne visible à l'œil nu. Des dilutions successives au Tween 80 ont permis de préparer une gamme de dilution

allant de (100,75 ,50 ,25 ,12.5 ,6.25 ,3.12 %), Les disques imprégnés dans les dilutions sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de pétri ont incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

I.2.2.2. Activité antifongique

Les mêmes opérations sont effectuées avec les souches des champignons, mais dans ce cas le milieu de culture utilisées le milieu Sabouraud. Les champignons sont activés pendant 7 jours dans des boîtes de pétri à une température de 28°C avant le test, après incubation l'inoculum des champignons est préparé et l'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri coulés qui contiennent du Sabouraud. La lecture des antibiogrammes est faite après 72 heures d'incubation à 28°C.

I.2.2.3. Lecture de résultats

La sensibilité des germes aux huiles essentielles est déterminée après incubation par mesure du diamètre des zones claires autour des disques (diamètres des zones d'inhibitions en mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

L'estimation de l'activité antimicrobienne est basée sur une échelle de mesure mise en place par Keshavarz et al., (1996) et Menna et sethi (1994) et Ela et al (1996). Est déterminée par classement des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne répartis en 4 classes :

- ✓ Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 28 mm.
- ✓ Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 16 mm et 28mm.
- ✓ Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 mm et 16 mm.
- ✓ Non inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 10 mm.

CHAPITRE II

Résultats et discussions

II.1. Rendement des huiles essentielles

Le rendement des HE est calculé en fonction de la matière végétale fraîche de l'espèce *Origanum floribundum*. Il est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus montrent que cette espèce fournit un rendement de 0.125 %.

Ce rendement est relativement faible par rapport à celui rapporté par Baser et al (2000) (0.66 %) qui a travaillé sur l'espèce de Chréa de la wilaya de Blida.

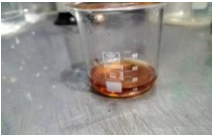
Le rendement est influencé par des paramètres intrinsèques (étape de croissance) et extrinsèques (condition pédoclimatiques et méthode d'extraction) (Harmouni et al ,2009).

Les facteurs abiotiques influençant le rendement en HE sont la température, l'humidité relative, le régime des vents (Boulaghmen, 2012).

II.2. Caractéristiques organoleptiques

Les résultats des différentes caractéristiques organoleptiques sont montrés dans le tableau suivant

Tableau 5 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de l'origan

Espèce	Couleur	Odeur	Aspect
L'HE <i>Origanum Floribundum</i>	Jaunâtre à brun foncé 	Fortement Aromatique	Liquide Mobile Limpide
L'HE de l' <i>Origanum de l'Espagne</i> (AFNOR 2000)	Jaunâtre à brun foncé	Caractéristique Aromatique	Liquide Mobile Limpide
L'HE de l'origanum (AFNOR 2000)	Jaunâtre à brun foncé	Caractéristiques fortement aromatiques	Liquide

Les résultats montrent que l'huile essentielle obtenue est conforme aux normes AFNOR 2000.

II.3. Activité antioxydante

La mesure du pourcentage d'inhibition du DPPH par l'huile essentielle, a permis de déterminer le pouvoir antioxydant de chaque concentration d'huile. L'approche la plus simple dans l'interprétation des données, est de tracer le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'antioxydant testé. Les résultats de l'activité de piégeage du radical DPPH par l'HE d'*Origanum floribundum* ainsi que ceux de la vitamine C sont montrés dans la figure suivante :

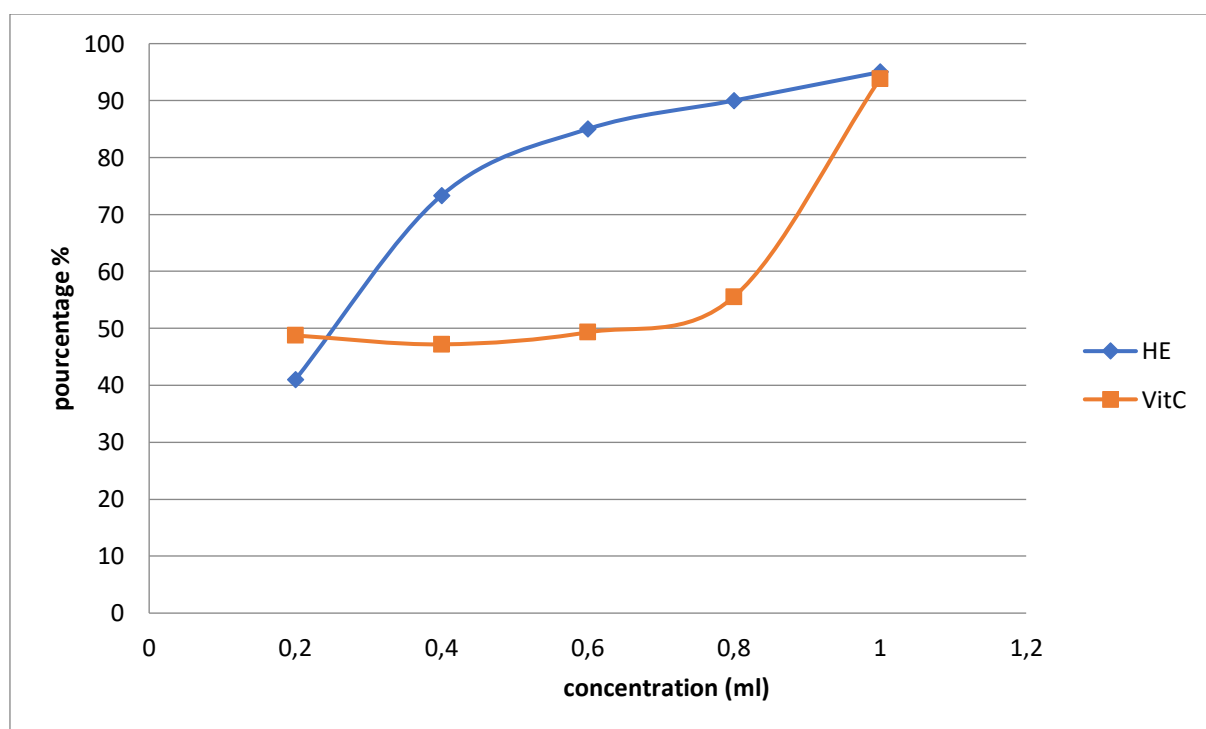


Figure 7 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle de l'origan et de l'acide ascorbique (vitamine C).

L'activité anti oxydante de l'HE étudiée et de la vitamine C augmente en fonction de la concentration.

Le pourcentage d'inhibition de l'HE atteint la valeur 95 % pour la concentration 1. Pour la vitamine C, cette valeur est de 93,82 il semble que l'HE d'origan présente une capacité de réduction du radical DPPH supérieur à celle de la vitamine C.

Les résultats des pourcentages d'inhibitions nous ont permis de calculer les valeurs de la concentration inhibitrice médiane (la IC50). Les résultats obtenus sont montrés dans la figure suivante :

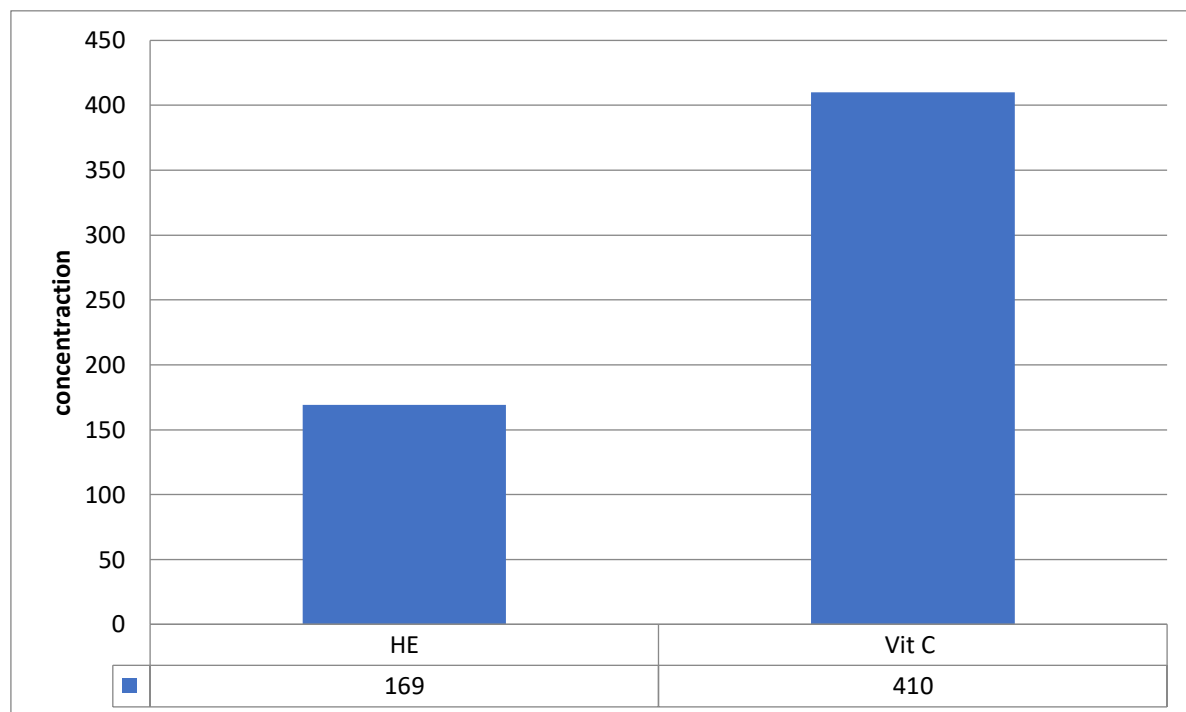


Figure 8 : Valeurs d'IC50 de l'huile essentielle et de la vitamine C

Selon la figure montrée, l'huile essentielle de l'origan présente une valeur d'EC50=169 μ g/ml, elle possède de ce fait une activité antioxydante supérieure à celle de la vit C (EC50=410 μ g/ml)

La forte activité de l'HE peut être due à sa composition chimique comme le thymol, le carvacol, Y terpinene (sharififar et al.,2007), p-cymene (bouhdid et al.,2008), carvacrol methyl ether et thymol méthylether.

Tous ces composants pourraient exercer à côté d'autres composés mineurs un effet de synergie entre eux et donnerai en une activité antioxydante plus importante.

Le test de la réduction du radical stable DPPH est un modèle pratique et largement utilisé pour évaluer l'activité scavenger et antioxydante en général des substances étudiées (Duan et al., 2006). Ce test est basé sur la réduction de la solution alcoolique du DPPH en présence d'antioxydants donateurs d'atomes d'hydrogène, aboutissant à la formation de la forme non radicalaire DPPH-H. L'activité réductrice des substances étudiées est alors déterminée par leur capacité à diminuer l'absorbance de la solution du DPPH à 517nm (Que et al., 2006). Le test du β -carotène/ acide linoléique est un autre modèle qui mesure indirectement la capacité des antioxydants à inhiber la peroxydation lipidique. Le principe de ce test est basé sur la propriété antioxydante des caroténoïdes qui, après neutralisation des radicaux libres se détériorent et perdent leur coloration ce qui va se traduire par une diminution de l'absorbance à 490nm (Barros et al., 2007). Les métaux de transition qui jouent un rôle important dans le processus d'oxydation sont capables de générer des radicaux \bullet OH à partir des peroxydes par la réaction de Fenton. Dans le test de chélation des métaux, les antioxydants ayant un pouvoir chélateur inhibent la formation du complexe ferrozine/fer qui a une absorbance caractéristique à 562nm. La diminution de cette absorbance détermine l'activité chélatrice des substances étudiées (Wu et al., 2006).

L'huile essentielle de l'origan induit une très importante activité scavenger envers le radical DPPH qui atteint environ 86%. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Chun et ses collaborateurs (2005) qui ont rapporté une réduction de plus de 80% du radical DPPH par l'extrait aqueux de l'origan commercial. Cette réduction est en relation avec la présence de substances hydrosolubles capables de céder un atome d'hydrogène au radical DPPH pour donner la forme non radicalaire. Il a été rapporté que la famille des lamiacées, à laquelle appartient l'origan, est très riche en polyphénols (Tepe et al., 2005). Il est par ailleurs connu que les polyphénols sont doués de propriétés scavenger envers différents types de radicaux, ce qui leur confère une grande capacité antioxydante. Plusieurs études ont rapporté que l'origan est riche en différents composés phénoliques (Capecka, 2005 ; Skerget et al., 2005 ; Kouri et al., 2007), comme l'acide rosmarénique, l'acide caféique et quelques flavonoides (Kouri et al., 2007). D'ailleurs, l'activité anti-radicalaire des extraits de l'origan envers le DPPH a été attribuée plus précisément aux flavonoides et aux acides phénoliques (acide rosmarénique et l'acide caféique) (Capecka, 2005). Il a été rapporté aussi que l'augmentation de la température au cours de l'extraction n'implique pas nécessairement la dégradation ou l'oxydation des composés bioactifs (Meizoso et al., 2006), Les polyphénols présents dans les extraits de l'origan seraient encore à l'origine de ces effets antioxydants. En effet, ces polyphénols peuvent inhiber

la réaction de la peroxydation lipidique en chaîne et de neutraliser d'autres radicaux (Chun et al., 2005).

Ces flavonoïdes possèdent des groupements OH libres qui peuvent céder des atomes hydrogènes pour bloquer la réaction radicalaire au cours de l'oxydation de l'huile (Skerget et al., 2005). L'activité antioxydante des espèces de la famille des lamiacées, est attribuée particulièrement aux acides phénoliques (Capecka et al., 2005)

II.4. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Origanum floribundum* est évaluée sur 3 souches (*E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) L'activité antifongique est évaluée sur 2 souches : une levure (*Candida albicans*) et une moisissure (*Aspergillus brasiliensis*) les résultats obtenus sont montrés dans le tableau suivant

	Diamètre des zones d'inhibition en mm						
	Pure	75%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.12%
<i>E. coli</i>	25 (++)	16.5 (++)	14 (+)	13 (+)	12 (+)	11 (+)	10 (+)
<i>B. subtilis</i>	55 (+++)	22 (++)	17 (++)	12 (+)	10 (+)	10 (+)	R
<i>S. aureus</i>	50 (+++)	31 (+++)	26 (++)	18 (++)	14 (+)	12 (+)	11 (+)
<i>C. albicans</i>	55 (+++)	32 (+++)	30 (+++)	21 (++)	R	R	R
<i>A. brasiliensis</i>	21 (++)	20 (++)	17 (++)	16 (++)	R	R	R

(+++) Fortement inhibitrice, (++) modérément inhibitrice, (+) Légèrement inhibitrice

Tableau 6 : Diamètre des zones d'inhibition de l'huile essentielle pure et à différentes concentrations (CMI)

A partir de ces résultats nous constatons que l'HE d'*Origanum floribundum* possède une activité antimicrobienne importante contre les souches étudiées avec des zones d'inhibition de 55mm, 50mm, 25 mm pour les bactéries *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, respectivement.

Les bactéries à gram + (*B. subtilis*, *S. aureus*) sont fortement inhibées par l'HE étudiée montrant des diamètres variant de 55 à 50 mm.

Des travaux réalisés pour des échantillons de la même espèce récoltée à Kadiria, et à Hammam melouane ont montré des résultats meilleurs. Selon ces travaux (**Hazzit, . 2008**) et (**Boulaghmen, .2012**), les souches *Basilus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, sont fortement inhibées (diamètres des zones d'inhibition de 55,79 mm et 41,70 mm respectivement).

Concernant la souche *E. coli*, les résultats montrent que les huiles essentielles sont fortement inhibitrices (25 mm de diamètre). Des résultats similaires sont notés pour l'échantillon collecté à chréa (23 mm), contrairement aux résultats de l'espèce collectée à Hammam melouane qui se caractérise par une forte inhibition (45.67 mm) (**Boulaghmen 2012**)

La souche fongique *Condida albicans* est fortement inhibée de (55 mm). Les résultats obtenus pour d'autres échantillons sont soit moins importants (31.3mm pour l'échantillon collecté à chréa) ou bien similaires (52.67 mm pour l'espèce de Kadiria). (**Hazzit, 2008**).

Nous constatons que toutes les souches microbiennes ont montré une sensibilité à l'HE étudié.

Certains auteurs ont signalé que les bactéries à gram – sont généralement les plus sensibles à l'action de l'HE que les bactéries à gram + (Haddouchi., 2008 et al ; zaika, 1988).

D'autres auteurs ont montré que les bactéries à gram – se sont révélées plus résistantes à l'HE que les bactéries à Gram + (Blerbeck et al., 2002 sicropoulou et al., 1995).

La résistance des bactéries à Gram – à l'action d'HE serait due la présence d'une seconde membrane composée de lipopolysaccharides (LPS), qui forme une barrière vis-à-vis des HE ayant un caractère hydrophobe (Prescott, 2003).

D'autres auteurs ne trouvent pas une différence significative entre la sensibilité des bactéries Gram – et celle des bactéries Gram + (**Deans et al., 1987 ; Belgin et al., 2009**).

En ce qui concerne l'activité antifongique, la souche *C. albicans* a montré une forte sensibilité vis-à-vis de l'HE avec un diamètre d'inhibition de 55mm, suivie par la souche *A. brasiliensis* qui est modérément inhibitrice (21mm). Ces résultats montrent aussi que l'HE de l'origan possède une très forte activité antifongique contre *C. albicans* et *A. brasiliensis*.

Cette action antifongique d'HE est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu

cytoplasmique et donc la mort de la levure (Mann et al., 2000). En effet, les composés terpéniques des HE et plus précisément leurs groupements fonctionnels réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (**Giordani et Kaloustiane, 2006**). Aussi d'après (**Goetz, 2012**), une très grande variété d'HE est connue pour exercer des propriétés antimicrobiennes et dans la plupart des cas, cette activité est due à la présence de constituants actifs représentés principalement par des mono terpènes, sesquiterpènes, des alcools, et d'autres hydrocarbures de phénols et qui sont présents dans la composition chimique de notre espèce.

Conclusion

Conclusion

Dans le cadre de valorisation des espèces végétales algériennes à caractères thérapeutiques, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'origan (*Origanum floribundum*) qui est une espèce endémique très répandue en l'Algérie.

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* récoltée de la région de Tipaza en stade de feuillaison.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydro distillation. Le rendement obtenu est l'ordre de 0.125%.

Les résultats de l'activité antimicrobienne testée par la méthode de diffusion de disque sur milieu solide ont montré que notre huile essentielle est douée d'une forte activité vis-à-vis les souches à Gram- (*E. coli*), les souches à Gram + (*B. subtilis*, *S. aureus*) et les souches fongiques (*C. albicans*, *A. brasiliensis*).

L'huile essentielle de l'origan possède une activité antioxydante importante, elle présente un pouvoir inhibiteur des radicaux libres plus élevé par rapport à celui de la vitamine C.

En conclusion, nous pouvons dire que le présent travail peut être considéré comme un renvoi d'information sur les paramètres organoleptiques et les propriétés antibactériennes et antioxydantes de l'huile essentielle de *l'Origanum floribundum*. Cela permettra de valoriser cette espèce locale et trouver des applications dans plusieurs secteurs thérapeutique ce qui justifient son utilisation en médecine traditionnelle comme traitement à plusieurs pathologies.

A la lumière de ces résultants il serait intéressant de compléter ce travail par :

- ✓ L'utilisation d'autres méthodes d'extraction des huiles essentielles
- ✓ Déterminer la composition chimique de l'huile essentielle par GC/MS
- ✓ Identifier et isoler les composés bioactifs en utilisant plusieurs techniques plus fines (CCM, HPLC)
- ✓ Elle permet de tester d'autres vertus thérapeutiques de l'HE d'origan comme :
 - Activité anti-inflammatoire
 - Activité antivirale
 - Activité antiparasitaire

Références Bibliographiques

Partie références bibliographiques

- (1) **Abadlia, M et Chebbour, A.H. (2014).** Contribution à l'étude des huiles essentielles de la plante *menthapiperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de Master, Université Constantine1, Algérie.
- (2) **Adam, Géraldine., Wittner, Laurence. et Mandigon, Catherine.,** « Les épices de la santé », Edition Ambre, Dijon-Quetigny, (Août 1999), 318P.
- (3) **AFNOR2000.Association française de normalisation .Normes françaises: huiles essentielles.Ed.AFNOR,2000,Paris.**
- (4) **Ait Youssef M.,** plantes médicinales de Kabylie, Ibis press, Paris, 2006, P177-179, P246.
- (5) **Anonyme 2006 .,** « Aromathérapie.....un peu d'histoire », Nutra News : science, nutrition, prévention et santé octobre(2006) ,6-7.
- (6) **Anonyme, (AFNOR, Association Française de Normalisation),.** « Huiles essentielles, Tome 2 .Monographies relatives aux huiles essentielles », Paris, (2000) ,323P .
- (7) **Anonyme.,** « Pharmacopée Européenne », 6eme édition, (2008).
- (8) **Anton, R. et Strasbourg, A.L.,** « Plantes aromatiques : épices aromates, condiments et huiles essentielles », Edition Tec & Doc, Paris (2004), 522P .
- (9) **Baba.Aïsa, Farid.,** « Les plantes médicinales en Algérie », Edition Bouchène et Ad Diwan, Alger, (1991), 181P.
- (10) **Bachelot, C.,** Blaise, A., Corbel, T. et Le Guernic, A., « Les huiles essentielles », Licence 2 Biologie, France, (2006), Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, 26P.
- (11) **Belaiche P.** "L'aromatogramme". Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. M. S. A. Editeur. Paris. 1979, tome 1, 204p
- (12) **Belaiche, P., 1979.** "L'aromatogramme" : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1.Ed. M.S.A., Paris.204 P.
- (13) **Bendahou, M.,** Muselli, A., Grignon.Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, j.M., Bernardini, J.F. and Costa, j., « Antimicrobial activity and chemical composition of *origanum glandulosum Desf.* Essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation», Food chemistry, (2007), 106, pp 132-139.
- (14) **Bernard T. ;** Perinau. F.; Brav O.; Delmas M.; Gaset A. Extraction des huiles essentielles : Chimie et technologie. *Information chimie.* 1988, 298, 179-184.
- (15) **Boulaghmen, F,** Extraction des huiles essentielles de l'origan, [Mémoire de Magister, Univetsité Saad dahleb – Blida] (2012), 186p

Références bibliographiques

- (16) Bouhdid S. ; Idaomar M.; Zhiri A.; Baudoux D.; Skali N.S. Abrini J. *Thymus* essential oil : chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de Biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai 2006.
- (17) **Bouziaine, E.L. et djebour, Z. (2016).** L'activité antioxydante et antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum vulgare L* cultivé. Mémoire de master, département sciences agronomiques, Université Djilali Bounaama, KhemisMeliana : 61 p
- (18) Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2ème Ed., Paris. 623p. 1999. (Techniques et Documentation).
- (19) **Bruneton, J.**, « Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales », Edition Tec& Doc, Paris, (1999) ,585P .
- (20) **Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223-253.
- (21) **Canillac N. et Mourey A., 1996.** Comportement de *Listeria* en présence d'huiles essentielles de sapin et de pin. Sciences des Aliments, Vol. 16, p.p. 403 – 4
- (22) **Catier, Odile. et Roux, Danielle.,** « Botanique pharmacognosie phytothérapie », Edition Wolters Kluwer, France, (2007), 141P.
- (23) **Conner, D. E.** Naturally occurring compounds. In Davidson P. M. and Branen A.L. Antimicrobials in foods, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. 1993, 468 p
- (24) Cosgrove J.P.; Church, D. F.; Prior W. A. The kinetics of the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 1987, 22, 299-304.
- (25) **Couplan François,** les plantes et leurs noms (histoires insolites), édition Qua, 2012, P153.
- (26) **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. etWyllie S.G., 2000.**The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (teatreeoil). Journal of Applied Microbiology, 88 (1), 170–175
- (27) **Debuig Gérard et François Couplan,** petit Larousse des plantes médicinales, édition Larousse, Paris, 2009, P07, P126.
- (28) **Desramaux, M. (2018).** Huiles essentielles en dermocosmétologie. Sciences Pharmaceutiques, édition Dumas.
- (29) **Dorman D.H.G., Bachmayer O., Kosar M. etHiltunen R., 2004.** Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 762-770.

Références bibliographiques

- (30) **Eymard S., 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Th. Doctorat, Université de Nantes, France, 277 P.
- (31) **Fernandez X., Chemat F.** *La chimie des huiles essentielles.* Editions Vuibert 2012). 288p.
- (32) **Fleurentin Jaques,** les plantes qui nous soignent, tradition et thérapeutique, Tome 1, édition ouest. France, 1/12/2007, P163.
- (33) **Franchomme, P., Pénéol, D. et al.,** « Clefs pour l'aromathérapie. La molécule aromatique : matière, énergie, information », l'aromathérapie exactement.R.J. Editeur, Limoges .2, (1990), pp73-227.
- (34) **Frankel E.N., 1998.** Lipidoxidation : The OilyPress. Ed. Dundee, Scotland.303 P.
- (35) **Griffin S. G., Wyllie S.G., Markham J.L., Leach D.N., 1999.** The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. Flavour and Fragrance Journal, 14, 322-332.
- (36) **Grosjean, Nelly.,** « L'aromathérapie tout simplement », Edition Eyrolles, Paris(2007) ,361P.
- (37) **Guide illustré de la flore Algérienne,** 2009, Wilaya d'Alger-mairie de paris, avec le soutien du ministère des affaires étrangères et européennes de la république française, P67.
- (38) **Guignard, Jean.Louis.,** « Biochimie végétale », Edition Masson, Paris,(2000), 254P.
- (39) **Gustafson JE., LiewYC., Chew S., Markham J., Bell HC., Wyllie SG.et Warmington JR.,1998.** Effects of teatreeoil on Escherichia coli. Letters in Applied Microbiology,26, 194 -198.
- (40) **Hazzit, M.,** « Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de Thym et d'Origan poussant en Algérie », thèse de Doctorat en Chimie, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger, (2008) ,204P.
- (41) **Helander IM., Alakomi H-L., Latva-Kala K. et al., 1998.** Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 3590-5.
- (42) **Hessas, TetSimoud, S. (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *thymus sp.* Mémoire de Doctorat, Université Mouloud Mameri Tizi-Ouzou,Algérie.
- (43) **Huguet Max,** la route des épices (aromates, condiments et mélanges d'épices naturels, les carnets du gout, édition sang de la terre, 2002, P127-128.
- (44) **Huguet Max,** la route des épices (aromates, condiments et mélanges d'épices naturels, les carnets du gout, édition sang de la terre, 2002, P127-128.

Références bibliographiques

- (45) **Hultin, H.O., 1992.** LipidOxidation in Fish Muscle. In: Advances in sea food biochemistry: Composition and quality. Flick, G.J. & Martin, R.E. (Eds.), Technomics Publishing CompagnyInc, Lancaster, 99-122.
- (46) **Hultin, H.O., 1994.** Oxidation of lipids in seafoods. In: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality .Shahidi, F. &Botta, J.R. (Eds), Blackie Academic &Professional, New York; 49-74.
- (47) **Ietswaart, J. H.,** « A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae) », Editor Leiden botanical series, V 4, Boston (1980), 153P.
- (48) **Inouye, S.,** « Laboratory evaluation of essential oils (Part 1) », International journal of aromatherapy, 13, (2003), pp 95-107.
- (49) **Jourdain Daniel,** Dictionnaire des plantes médicinales, édition Quebecor, 2008, P136.
- (50) **Jourdain, Daniel.,** « Dictionnaire des plantes médicinales », Edition Quebecor, Québec, (2008), 195P.
- (51) **Juven B.J., Kanner J., Schved F. etWeisslowicz H., 1994.** Factors that interact with the antibacterial essential oil and its active constituents. Journal of Applied Bacteriology, 76, 626 631.
- (52) **Kimbaris, A.C., Siatas, N.G., Daferera, D.J., Tarantilis, P.A. Pappas, C.S., polission, M.G.Utrasonis Sonochem.** 2006,13, P54-60. 21 Novembre, 2013,P282-283-284.
- (53) **Knobloch K., Paulin A., Iberl B., Weigand H. et Weis N., 1989.** Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. Journal of Essential OilResearch, 1, 119-128.
- (54) **Kokkini , S.,** « Proceedings of the IPIGRI international workshop of Oregano », Editeur S.Padulosi, Rome, (1997), 182P.
- (55) **Kolster, B. C.,** « Le massage : Le bien être du corps et de l'esprit », Edition Barmby Scan, Paris, (1999),75P .
- (56) **Koroch A.R., Juliani H.R., etZygadlo J.A., 2007.** Bioactivity of Essential Oils and Their Components. In: Berger R.G. Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing
- (57) **Kumar A., Shukla R., Singh P., Prasad C.S., Dubey N.K.** Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9 : 575–580, 2008.

Références bibliographiques

- (58) **Lambert R. J. W. et Skandamis P. N., 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462.
- (59) **Lanseur, R. (2017).** Evaluation *in-vitro* des activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison. Master, département de biologie, Université Abderrahmane Mira, Bejaia : 69 p.
- (60) **Lardy, J.M. et Haberkorn, V.,** « Les huiles essentielles: principes d'utilisation », *Kinésithérapie, la Revue*, (Janvier 2007), V 7, Issu 61 pp 18-23.
- (61) **Laurent, J. (2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courante en officine .Mémoire de Doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse, France. Lavergne, D. (2012). Guide technique des plante à parfum aromatiques et médicinales (PAM) en bio, rédaction: AGROBIO47 Association de Développement de l'Agriculture Biologique.
- (62) **Lucchesi, Marie.Elizabeth.,** « Extraction sans solvant assistée par microondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles », thèse de doctorat en sciences, Université de la Reunion Faculté des Sciences et Technologies, (2005), 143P.
- (63) **Machu, 2008.** *Origanum vulgare*, faculté libre des sciences et technologies. Polycopie : P5 in Merbah Daoudi.F. et Dahmani Megrrouche M., contribution à la caractérisation de la niche écologique d'espèce menacée : Elément pour sa conservation et sa valorisation, USTHB-FBS-4 the international congress of the populations & animal communities « Dynamics & biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems » « CIPCAU » TAGHIT (Bechar)- Algeria, 19-21 Novembre, 2013, P282-283-284.
- (64) **Mailhebiau, P.,** « La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs », Edition Jakin, Lausanne (1994), 635P.
- (65) **Merbah Daoudi.F. et Dahmani Megrrouche M.,** contribution à la caractérisation de la niche écologique d'espèce menacée : Elément pour sa conservation et sa valorisation, USTHB-FBS-4 the international congress of the populations & animal communities « Dynamics & biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems » « CIPCAU » TAGHIT (Bechar)- Algeria, 19-21 Novembre, 2013, P282-283-284.
- (66) **Moll M. et Moll N. 1998.** Les additifs alimentaires et auxiliaires technologiques, Ed. Dunod, Paris. (Technique et Ingénierie, série Agro-alimentaire).
- (67) **Naganuma, M., Hirose, S., Nakayama, Y., Nakajima, K. and Someya, T.,** « A study of the phototoxicity of lemon oil », *Archives of Dermatological Research*, 278, (1985), pp 31-36.
- (68) **Naves Y.R.** Qu'est qu'une huile essentielle ? Ed. Masson, Paris. 1974.

Références bibliographiques

- (69) Néve J., 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : ciblage du système myeloperoxydase/ peroxyde d'hydrogene/ chlorure. Thèse Doctorat en pharmacie, Université Bruxelles, 221p.
- (70) Oosterhaven K., Poolman B. et Smid E. J., 1995. S-carvone as a natural potato sproutinhibiting, fungistatic and bacteristatic compound. *Industrial Crops and Products*, 4(1), 23-31.
- (71) Paris, M. et Hurabielle, M., « Abrégé de matière médicale pharmacognosie », Tome 1 Généralités monographies, Edition Masson, Paris, (1980), 339P.
- (72) Paris, R.R. et Moyse, H., « Précis de matière médicale », Tome I, Edition Masson et Cie, Paris, (1965), 416P.
- (73) Paster N., Juven B., Shaaya E., Mena-Sherov M., Nitzan R. et Weisslowics D.U., 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and food borne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 11, 33 – 37
- (74) Pellerin P. Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 2001,954 (14), 51-62.
- (75) Pibiri, Marie.Cécile., « Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles », thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, (2006), 177P.
- (76) Quezel, P. et Santa, S., « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques », Tome II, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, (1963), 600P.
- (77) Richard H.; Multon J.L. Les aromes alimentaires. Ed. Lavoisier, Paris, 1992, 438 p. (Sciences et techniques agroalimentaires).
- (78) Rebaâ Hakima. Evaluation de quelques activités biologiques de l'huile essentielle de l'Origan (*Origanum floribundum* Munby.) Algérie, (2017), 97p.
- (79) Roeding-Penman A. et Gordon M .H., 1998. Antioxidant properties of Myricetin and Quercetin in oil and emulsions. *Journal of American Oil Chemist's Society*, Vol. 75, p.p.169- 180.
- (80) Ruberto, G., Baratta, M.T., Sari, M. and Kaabeche, M., « Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf », *Flavour and Fragrance Journal*, (2002), vol 17, pp 251-254.
- (81) Sallé, Jean. Luc., « Les huiles essentielles », Edition Frison-Roche, Paris, (1991), 167P.
- (82) Simpson, Michel.G., « Plant systematic », Edition Elsevier academic press, California, (2006), 590P.

Références bibliographiques

- (83) Šipailienė A., Venskutonis P. R., Baranauskienė R. et Šarkinas A., 2006. Antimicrobial Activity of Commercial Samples of Thyme and Marjoram Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 698-703
- (84) Sivropoulou, A., Papanikolaou, E. et al., « Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils », *Journal of food chemistry*, 44, (1996), pp 1202-1205.
- (85) Smith, C.K., Moore, C.A., Alahi, E.N., Smart, A.T. and Hotchkiss, S.A., « Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol », *Toxicology and Applied Pharmacology*. 168, (2000), pp189-199.
- (86) Speck, Brigitte., Fotsch, Ursula.Christian. et Wacker, Susan., « Connaissance des herbes», EGK, Caisse de Santé, Newsletter Lausanne (Aout 2008), 4P.
- (87) Tarnawski M., Depta K., Grejciun D. etSzelepin B., 2006. HPLC determination of phenolicacids and antioxidant activity in concentrated peat extract - a natural immune modulator. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 182–188.
- (88) Tayeb-Cherif, Y. et Menacer, I. (2016). L'activité antibactérienne des huiles essentielles du *rosmarinus officinalis* et de *origanum vulgare* sur la bactérie *E.coli*. Master, Département de biologie animale, Université des Frères Mentouri, Constantine : 24 p.
- (89) Ultee A., Bennink M.H.J. et Moezelaar R.,2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrolis essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl.Environ. Microbiol.*, 68, 1561–1568.
- (90) Ultee A., Smid E.J., 2001. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 373-378.
- (91) UlteeA., Kets E. P. W. et Smid E.J., 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4606-4610.
- (92) Veyrone, P. (2019). Place des huiles essentielles en dermo-cosmetique. Thèse de Doctorat, Marseille Université, France.
- (93) Vokou, D., Kokkini, S. and Bessièrè, J.M., « Geographic variation of Greek Oregano (*Origanum vulgare ssp. Hirtum*) essential oil », *Biochem Systematics and ecology*, (1993), 21, pp 287-295.
- (94) Willem, J.P., « Aroma_famille », Edition Albin Michel, Paris,(2005), 219P.
- (95) Willem, J.P., « Les huiles essentielles, médecine d'avenir », Edition Dauphin, Paris (2004), 318 p.

Références bibliographiques

- (96) Yu R., S. Mandlekar & T. Kong, 2000.- Molecular mechanisms of butylated hydroxyl anisole-induced toxicity : induction of opoptosis through direct release of cytochrome C. Mol. Pharmacol., 58, 431-437.

Annexes

Annexe 1

Matériel non biologique :

Les grandes L'appareillages :

Tableau 07 : les grandes L'appareillages utilisés :

Les appareils	Le rôle
Hotte à flux laminaire	Éviter la contamination microbienne.
Étuves	Chauffer à température régulée des éléments.
Autoclave	La stérilisation par la vapeur
Spectromètre	Détermination des masses moléculaire des composée analysée ainsi que leur identification.
Agitateur	Homogénéiser une solution.

➤ **Autres appareils :**

- Bec benzene
- Bain marie
- Balance métallique
- Pied à coulisse

➤ **Verreries et autres :**

- Micropipettes 1ml.
- Béchers en PP ou en verre.
- Burette graduée.
- Les boites de pétri.
- Bécher de 100ml.
- Flacon en verre fumé
- Gants
- Papier aluminum
- Pince sterile

- Disques d'intibiogramme stériles.
- Tube de 10ml et 13.5mm.
- Papier aluminium

➤ **Les réactifs et solutions :**

- L'eau distillé
- DPPH.
- Méthanol
- Tween80

➤ Annexe 2



Figure 09 : La plante fraiche



Figure 10 : Etuve de sterilisation

➤ Annexe 3

Activité antimicrobienne



Figure 11 : Etuve de sterilisation



Figure 12 : Hotte à flux laminaire



Figure 13 : Les différents dilutions de l'activité antimicrobienne



Figure 14 : Les écouvantes des souches utilisée .