



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Saad Dahleb -Blida-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des biotechnologies

Option : biotechnologie et valorisation des plantes
Laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques

Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention de diplôme de

Master

Thème

**Etude des activités antimicrobienne et anti-
oxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat
de l'origan ; *Origanum glandulosum*.**

Présenter par :

Djehida Sarra

El farroudji Nour el houda

Soutenu le :17/07/2019

Devant le jury composé de :

Mme Moumene. S	MCA	USDB	Présidente
Mme Faidi. H	MAA	USDB	Examinatrice
Mme Ghanai. R	MAA	USDB	Promotrice

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Louange à Allah, le très puissant, clément et miséricordieux de m'avoir donné la force et la patience nécessaires pour réaliser ce travail de recherche.

Nos plus vifs remerciements vont d'abord à notre directrice de thèse madame Ghanai maître assistante au département de Biothéchnologie, Université saad dahleb-blida1 pour avoir accepté de nous encadrer et diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils. Merci pour votre gentillesse, votre patience, et la totale confiance que vous nous avez accordé pour nous permettre de réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme Moumene , Maître de conférence à l'Université de saad dahleb blida -1- d'avoir accepté de présider le jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme Faïdi, Maître assistante à l'Université de saad dahleb blida -1- pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherches des plantes médicinales et aromatiques de la faculté des science de la nature et de la vie de l'université blida -1- nous remercions l'ingénieure de laboratoire madame Bouchekkif pour son aide .

Une partie de ce travail a été faite au niveau de laboratoire de microbiologie de la société d'Abdi Ibrahim remède pharma sous la direction du Professeur Abbes chafik à qui nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour l'aide précieuse et l'accueil chaleureux qu'il nous a apporté tout au long du travail.

Merci à Tous...

Dédicace

Afin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail de recherche, je dédie cette thèse:

Aux êtres les plus chers a mon cœur, mon père abdelkader et ma mère kara fatima zohra, qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne et , pour leurs précieux conseils, leurs encouragements et leurs aide inestimable.

De ma vie je ne saurai assez leur exprimer mon affection, ma reconnaissance et mon amour.

A ma précieuse sœur salam et son époux Mechekour Elhadî pour leurs énorme progrès qui mon poussé à accomplir ce travail, et a mes petits neveux Chaouki et Hani qui font une partie de mon bonheur.

A mon adorables frère Khalil qui a été toujours là à mon coté, qui m'a aidé en toute étape de ma vie.

A mon très cher mari Boudjema Badis, j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car c'est grâce à ton aide, ta compréhension et ta patience que ce travail a pu voir le jour.

A mon petit ange Chahine, pour qu'un jour tu sois fier de ta maman.

A ma deuxième maman, Mme bourkaïbe, qui m'a appris beaucoup de chose et qui m'a toujours encouragé.

À tous les membres de ma famille et ma belle-famille sans aucune exception.

Et enfin, à tous ceux que ma réussite leur tient à coeur.

Sarra



Dédicaces

A mes très chers parents qui ont sacrifié leur vie pour mon instruction, ma réussite et mon bien être aucun mot et aucune dédicace ne peuvent exprimer mon amour, mon respect et mon affection.

Je vous offre ce modeste travail, en témoignage de tous les sacrifices, le soutien et les encouragements que vous m'avez accordé tout au long de mon chemin, Veuillez trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et vos sacrifices.

A ma sœur Hayam qui était toujours là pour moi en tant que sœur mais aussi en tant que ma meilleure amie, Il n'y a pas assez de place pour exprimer ce que je ressens pour toi.

A mes frères Mohamed et Abd el ghafar, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.

A ma chère amie Meriem.

A toute ma famille

A tous mes professeurs

A tous mes amis

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

Je dédie cet humble travail

Nour el houda



SOMMAIRE

Liste des Abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Chapitre 1 : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
Huiles essentielles et l'hydrolat	
1- les huiles essentielles.....	5
1-1 Définition	5
1-2 Activités biologiques des huiles essentielle	5
1 -2-1 L'activité antimicrobienne des huiles essentielles	5
1-2-2 L'activité antioxydant	6
1-3 Localisation	7
1-4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	7
1-5 Composition chimique des huiles essentielles.....	8
1-6 Procédé d'extraction des huiles essentielles.....	8
2- Hydrolat.....	9
2-1- Définition	9
2-2- Activités biologiques des hydrolats.....	10
2-3 Composition des hydrolats.....	10
2-4- Utilisation des hydrolats.....	11
Etude de l'espèce <i>Origanum glandulosum</i>	
1-La famille des lamiaceae.....	13
2- La plante d' <i>Origanum glandulosum</i>	13
2-1- Généralité	13
2-2- Classification botanique.....	14
2-3- Répartition géographique de la plante	14
2-4- Description botanique.....	15
2-5- Utilisation traditionnel	16

2-6-Composition chimique	16
Chapitre 2 : PARTIE EXPERIMENTALE	
Matériels et méthodes	
1-Matériels	20
1-1 -Matériel végétale.....	20
1-1-1- Description de la zone de récolte.....	20
1-2 Souches microbiennes.....	21
2-Méthodes.....	22
2-1- Extractions des huiles essentielles.....	22
2-2 -Calcul du rendement.....	22
2-3-Screening phytochimique.....	22
2-4- Evaluation de l'activité antioxydant.....	24
2-5 Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	26
Résultats et discussions.	
1-Rendement des huiles essentielles.....	29
2-Screening phytochimique.....	29
3-Evaluation de l'activité antioxydant.....	31
4--Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	33
Conclusion et perspectives	37
Références bibliographiques	40
Annexes	

Abréviations	Significations
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrometrie de masse
IC50	Concentration inhibitrice médiane
I%	Pourcentage d'inhibition
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
TSA	Trypto-caséine soja
ROS	Reactive oxygen species
AFNOR	Association Française de Normalisation
HPLC	Chromatographie en phase liquide à Haute performance

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile	9
2	Caractéristiques botaniques de <i>Origanum glandulosum</i> (Bendahou et al; 2008)	15
3	Représente une vue de notre zone de récolte djbel zaccar	21
4	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Attou, 2004)	25
5	Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique, des huiles essentielles et de l'hydrolat de l'origan.	32
6	Représentent un histogramme révélant la IC50 de l'huile essentielle, de l'hydrolat et de la vitamine C	33
7	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des anthocyanes dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
8	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des tanins dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
9	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des tanins galliques dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
10	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des alcaloïdes dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
11	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des flavonoïdes dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
12	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des mucilages dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
13	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des glucosides dans la poudre d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
14	Résultats du screening phytochimique révélant la présence des tanins cathéchiques dans l'infusé d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
15	Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des anthocyanes	Annexe 1

	dans l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	
16	Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des tanins dans l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
17	Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des tanins galliques dans l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
18	Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des cathéchiqes dans l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
19	Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des mucilages dans l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
20	Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des flavonoïdes dans l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	Annexe 1
21	Résultats de l'activité antioxydant des huile essentielle dans les tube a essai	Annexe 2
22	Résultats de l'activité antioxydant des hydrolat dans les tube a essai	Annexe 2
23	Diamètre des zones d'inhibition de chacune des souches étudiées.	Annexe 3
24	Activité antibactérienne d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Pseudomonas aeruginosas</i>	Annexe 3
25	Activité antibactérienne d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Bacillus subtilis</i>	Annexe 3
26	Activité antibactérienne d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Staphylococcus aureus</i>	Annexe 3
27	Activité antibactérienne d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Salmonella thyphimurium</i>	Annexe 3
28	Activité antibactérienne d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Escherichia coli</i>	Annexe 3
29	Activité antifongique d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Aspergillus brasiliensis</i>	Annexe 3
30	Activité antifongique d'huile essenteille d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur <i>Candida albicans</i>	Annexe 3
31	Activité antibactérienne d'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur les souches <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> ,	Annexe 3

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Salmonella typhimurium</i>	
32	Activité antifongique d'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i> testé sur les souches <i>Aspergillus brasiliensis</i> et <i>Candida albicans</i>	Annexe 3

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	La classification botanique d' <i>Origanum glandulosum</i> (Guignard,2001)	14
2	La répartition géographique des deux espèce d'origan en Algérie	14
3	Les différentes souches microbiennes utilisées pour notre étude	21
4	Résultats de l'étude phytochimique d'huile essentielle d' <i>Origanum glandulosum</i>	31
5	Résultats de l'étude phytochimique de l'hydrolat d' <i>Origanum glandulosum</i>	31
6	Les résultats des diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'huile essentielle de la plante d' <i>Origanum glandulosum</i>	34
7	Les résultats des diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'hydrolat de la plante d' <i>Origanum glandulosum</i>	36

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles de la région de khmis meliana , nous avons entrepris une étude sur une plante très utilisée par la population locale : *Origanum vulgare* ssp. *glandulosum*. C' est une espèce endémique Algérotunisienne.

L'objectif de cette étude dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales on peut remplacer la production des antibiotiques à base des molécules synthétique par des molécules biologiques.

L'analyse phytochimique de la plante indique la présence de métabolites secondaires : les anthocyanes, les tanins cathéchiques, les tanins galliques, les flavonoïdes, glucosides, le mucilage. Ces derniers sont totalement absents chez l'hydrolat.

L'activité antioxydant des huiles essentielles et de l'hydrolat est évaluée par le test du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont permis de révéler que les huiles essentielles exposaient un effet très modeste ($IC_{50} = 676.30$ ug/ml) comparé à celui de l'antioxydant de référence($IC_{50} = 519.98$ ug/ml). Alors que les hydrolats sont dépourvue de pouvoir antioxydant($IC_{50} = 957.34$ ug/ml).

D'autre part, les tests de l'activité antibactérienne ont été exprimés sous forme de diamètres de zones d'inhibition par la méthode de diffusion sur disque. Les huiles essentielles ont été particulièrement efficaces contre toutes les souches bactériennes testées(*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) avec des diamètres d'inhibition de 24.81 ± 2.342 mm, 67.27 ± 1.775 mm, 76.36 ± 0.186 mm, 41.94 ± 11.358 mm, 45.46 ± 4.687 mm) respectivement . Quant a l'hydrolat aucun effet y'a été noté.

Nous avons testé par la suite leurs effets sur deux champignons (*Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*). Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* est relativement très actifs avec des diamètre (48.15 ± 2.410 mm et 59.40 ± 3.428 mm) par rapport a l'hydrolat qui n'a montrés aucun effet antifongique.

Mots clés : *Origanum glandulosum*, huile essentielle, hydrolat, étude phytochimique, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract:

As part of the development of the natural resources of the Khmy meliana region, we have undertaken a study on a plant widely used by the local population: *Origanum vulgare* ssp. *Glandulosum*. It is an endemic species Algérotunisienne.

The objective of this study is to perform a phytochemical analysis of the aerial part of *Origanum glandulosum* by screening, and a study of antioxidant activity, essential oil and hydrosol.

Phytochemical analysis of the plant indicates the presence of secondary metabolites: anthocyanins, tannins, catholic tannins, gallic tannins, flavonoids, glucosides, mucilage. These are completely absent in the hydrosol.

The antioxidant activity of the essential oils and the hydrolate is evaluated by the DPPH free radical scavenging test. The results obtained revealed that the essential oils exhibited a very modest effect ($IC_{50} = 676.30 \mu\text{g} / \text{ml}$) compared to that of the reference antioxidant ($IC_{50} = 519.98 \mu\text{g} / \text{ml}$). While the hydrolates lack antioxidant power ($IC_{50} = 957.34 \mu\text{g} / \text{ml}$).

On the other hand, tests of antibacterial activity were expressed as inhibition zone diameters by the disk diffusion method. The essential oils were particularly effective against all bacterial strains tested (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) with inhibition diameters of $24.81 \pm 2.342\text{mm}$, $67.27 \pm 1.775\text{mm}$, $76.36 \pm 0.186\text{mm}$, $41.94 \pm 11.358\text{mm}$, $45.46 \pm 4.687\text{mm}$) respectively. As for the hydrolat no effect has been noted.

We subsequently tested their effects on two phytopathogenic fungi (*Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis*). The results obtained show that the essential oil of *Origanum glandulosum* is relatively very active with diameters ($48.15 \pm 2.410\text{mm}$ and $59.40 \pm 3.428\text{mm}$) compared to the hydrolate which showed no antifungal effect.

Key words: *Origanum glandulosum*, essential oil, hydrolate, phytochemical study, antioxidant activity, antibacterial activity, antifungal activity.

ملخص

كجزء من تطوير الموارد الطبيعية لمنطقة خميس مليانة ، أجرينا دراسة على نبات يستخدمه السكان المحليون على نطاق واسع: *Origanum vulgare ssp. Algérotunisienne*.

الهدف من هذه الدراسة هو إجراء تحليل كيميائي نباتي للجزء الجوي من *Origanum glandulosum* عن طريق الفحص ودراسة نشاط مضادات الأكسدة والزيوت الأساسية والهيدروسول.

يشير التحليل الكيميائي النباتي للمصنع إلى وجود مستقلبات ثانوية: الأنتوسيانين ، العفص ، العفص الكاثوليكية ، العفص الغالي ، الفلافونويد ، الجلوكوزيدات ، الصمغ. هذه غائبة تماما في hydrocol.

يتم تقييم نشاط مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية والهيدرات من خلال اختبار تنظيف الجذور الحرة DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت الأساسية أظهرت تأثيرًا متواضعًا للغاية ($IC_{50} = 676.30$ ميكروغرام / مل) مقارنةً بمضادات الأكسدة المرجعية ($IC_{50} = 519.98$ ميكروغرام / مل). في حين تفتقر الهيدرات إلى الطاقة المضادة للأكسدة ($IC_{50} = 957.34$ ميكروغرام / مل).

من ناحية أخرى ، تم التعبير عن اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا كأقطار منطقة تثبيط بواسطة طريقة نشر القرص. كانت الزيوت الأساسية فعالة بشكل خاص ضد جميع السلالات البكتيرية التي تم اختبارها (*Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium*) بأقطار تثبيط قدرها 2.342 ± 24.81 و 1.775 ± 67.27 مم و 0.186 ± 76.36 مم و 11358 ± 45.46 مم ، 4.687 ± 45.46 مم على التوالي. بالنسبة للهيدروولات ، لم يلاحظ أي تأثير.

نحن في وقت لاحق اختبار آثارها على اثنين من الفطريات المسببة للأمراض النباتية (المبيضات البيضاء و *Aspergillus brasiliensis*). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت الأساسية من *Origanum glandulosum* نشطة للغاية نسبيًا بأقطار (2.410 ± 48.15 مم و 3.428 ± 59.40 مم) مقارنةً بالهيدروولات التي لم تظهر أي تأثير مضاد للفطريات.

الكلمات المفتاحية: *Origanum glandulosum* ، الزيت العطري ، هدرولات ، دراسة كيميائية نباتية، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للفطريات.

Introduction

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

Le savoir traditionnel ancestral se transmettant de génération en génération est devenu aujourd'hui une mine d'information extrêmement précieuse pour l'industrie pharmaceutique (Fouché et al., 2000). Les effets des plantes médicinales sont traditionnellement connus mais leurs vertus thérapeutiques peuvent varier en fonction de la partie utilisée de la plante (Colette, 2004).

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

L'Algérie, par sa situation géographique au centre de la méditerranée, abrite une végétation riche et diversifiée. Un grand nombre de plantes aromatiques y poussent spontanément. Ces plantes sont riches en huiles volatiles. Une proportion importante de ces plantes est polymorphe.

La richesse et l'originalité de l'étude de la flore Algérienne présente un intérêt scientifique fondamental pour la connaissance de la pharmacopée traditionnelle, et le domaine de la valorisation des substances naturelles (Baba Aissa, 1991).

La famille des Lamiaceae, est l'une des familles les plus importantes dans la flore Algérienne et la plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. Les espèces de cette famille sont réputées actives grâce aux composés bioactifs qu'elles refferment (Kechar et al., 2016). La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant (Bouhdib et al., 2006).

Les Lamiaceae (Labiatae) comprennent environ 260 genres et 7000 espèces largement distribuées dans la région méditerranéenne (Mechergui et al., 2010). Le genre *Origanum* est riche en plantes économiquement importantes (Giani et al., 2007).

Tous les organes renferment en quantité variable d'une huile essentielle fortement aromatique (Garland ;1980). L'importante activité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* est due à sa richesse en phénols (Bendahou et al., 2008).

La qualité et la quantité de l'huile extraite varient selon la génétique de la plante, stade végétatif, les procédés d'extraction et surtout les conditions de l'environnement (Padulosi, 1997).

Les travaux sur les huiles essentielles sont multiples mais malheureusement le rendement est en général faible. L'hydrolat qui est obtenu lors de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau des fleurs, feuilles ou rameaux des plantes aromatiques, contient de faibles traces

d'huiles essentielles ainsi que les molécules hydrosolubles emportées par la distillation. Etant donné la faible quantité de produits actifs et l'extraordinaire pouvoir thérapeutique des hydrolats, nous pensons que la partie informative de l'eau passée à travers la plante joue un rôle non négligeable

Les hydrolats peuvent avoir des activités thérapeutiques et peuvent contenir des principes actifs (4% molécules de l'huile essentielle) (Heitz., 2017).

Cependant Les études concernant la bioactivité des hydrolats sont peu nombreuses en comparaison avec celles réalisées sur les huiles essentielles. Malgré la ressemblance directe entre les hydrolats et les huiles essentielles correspondantes d'un point de vue chimique, (Carlini et al., 1983).

Dans ce contexte nous nous sommes intéressées à étudier les activités antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat de la partie aérienne d'une espèce du genre *Origanum* : *Origanum glandulosum* dans un but d'orienter une exploitation économique en utilisant ces deux extraits.

Nos objectifs sont :

- Extraction de l'huile essentielle et récupération des hydrolats.
- Recherche des métabolites secondaires par le screening phytochimique.
- Etude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat d'*origanum glandulosum*.
- Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat d'*origanum glandulosum*.

Notre travail est réparti en deux parties :

- ❖ Une partie relative à l'étude bibliographique des extraits de la plante *origanum glandulosum*, et une étude sur la plante elle-même.
- ❖ Une autre partie réservée à l'étude expérimentale.

Chapitre 1 :

Partie

bibliographique

*Les huiles essentielles et les
hydrolats*

1- Les huiles essentielles :

1-1 Définition :

Les huiles essentielles appelées aussi essences végétales sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires (substance aromatique) lipophiles, volatils, et souvent liquides ; produites par plusieurs plantes et présentes sous forme de minuscule gouttelettes ; elles sont synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés, responsables de l'odeur caractéristique de la plante et qui sont obtenues à partir des feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Elles sont isolées par hydrodistillation ou par expression mécanique. Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés à se solubiliser dans les graisses par leur caractère hydrophobe (Pardini 1996).

1-2 Activités biologiques :

1-2-1 Activité antimicrobienne :

- **Activité antibactérienne :** Bien que les effets antimicrobiens des huiles essentielles soient bien établis, le mécanisme d'action de tels composés est mal compris (Lambert *et al.*, 2001) mais il semble probable que les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes agissent au niveau de la membrane cellulaire des bactéries en provoquant sa dislocation (Cowan, 1999 ; Calsamiglia *et al.*, 2007). L'activité est due à la nature hydrophobe des hydrocarbures cycliques, qui leur permet d'agir avec la membrane cellulaire en s'accumulant dans la bicouche lipidique. Cette interaction engendre des changements conformationnels de la structure membranaire, en provoquant sa fluidification et sa dilatation. La déstabilisation de la membrane à pour conséquence la fuite des ions à travers la membrane cellulaire qui diminue ainsi le gradient ionique. Dans la plupart des cas, les bactéries peuvent équilibrer le gradient et cela, en employant des pompes ioniques et la mort cellulaire ne se produit pas, mais les énergies détournées pour faire fonctionner celles-ci ralentissent la croissance cellulaire. En général, l'activité antimicrobienne est due aux hydrocarbures cycliques et aux phénols telles le thymol et le carvacrol dont les groupements hydroxyle et les électrons forment des interactions avec de l'eau en établissant des ponts hydrogène comme site actif qui les rend actifs contre les micro-organismes. Un autre mécanisme alternatif a été proposé et qui admet que le groupement hydroxyle des phénols réagit en tant que porteur transmembranaire des cations monovalents et protons (Calsamiglia *et al.*, 2007).

L'action des huiles essentielles sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaires des bactéries en perturbant les systèmes de transport ionique ; le transport des électrons et la production de l'énergie. Le mode d'actions de l'huile essentielle dépend du type de microorganisme. En général bactérie GRAM négative sont plus résistantes que les GRAM positive grâce à la structure de leur membrane interne. Ainsi la membrane

extérieur des GRAM négative est plus riche en lipopolysaccharides la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'adhérer (*Cristhani et al., 2007*).

- **Activité antifongique** : Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (*Billerbeck et al., 2002*) et contre les champignons pathogènes et opportunistes tel que *Candida albicans* (*Teixeira, 2005*).

- **Activité antivirale** : Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des huiles essentielles tel que les monoterpénols et les monoterpénals. De nombreuses pathologies virales sévères traitées avec des huiles essentielles ont montré des améliorations importants (*Schuhmacher et Reichling, 2003*).

1-2-2 Activité antioxydante :

Plusieurs réactions biologiques, requises pour le fonctionnement normal de l'organisme, se déroulent dans les cellules et les tissus du corps. Ces réactions provoquent souvent la génération d'espèces avec des électrons non appariés appelés radicaux libres. Ces radicaux libres comprennent les espèces réactives oxygénées (ERO), les espèces réactives d'azote (ERN) et les espèces réactives de soufre (ERS) (*Taofiq et al., 2016*).

Le corps a généralement des mécanismes pour équilibrer la production des ROS et la neutralisation au moyen de son pool antioxydant intrinsèque, mais la plupart du temps, elle peut s'affaiblir en raison de la production excessive des ROS, induisant le stress oxydatif (*Moreno et al., 2016*).

Les antioxydants sont des composés qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation des lipides et d'autres biomolécules, en bloquant l'initiation ou la propagation des réactions en chaîne oxydante (*Wollinger et al., 2016*). Ces réactions peuvent causer des dommages fonctionnels au corps humain, comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires. Les antioxydants peuvent empêcher ce processus en raison de leurs propriétés redox comme le comportement réducteur, le don d'hydrogène (*Moreno et al., 2006*). Ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires (*Cillard et al., 2006*).

Activité et Mode d'action d'un antioxydant :

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés de phénols (*Zieliński et al., 2012*). En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de position appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (*Cillard et al., 2011*).

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

1-3 Localisation :

Les essences sont synthétisées par les végétaux supérieurs plus précisément extraites de deux types de plantes : les agrumes et les plantes aromatiques et médicinales. Il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles dont les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae et les Lauraceae ; aussi bien représentées par la classe des gymnospermes que celle des angiospermes (*Roux et al 2007*).

Les huiles essentielles sont des sécrétions naturelles élaborées par le végétal et contenues dans les cellules ou parties de la plante, notamment les bourgeons(cassis), les fleurs (rose), sommités fleuries (lavande), écorces (cannelier), les feuilles (citronnelle) , les racines (iris), les fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre), graines (muscade), les tiges, les rameaux, les cavités, les canaux, les cellules, épidermiques ou les trichomes glandulaires ...etc.

Seules les parties sécrétrices ou les plus concentrées de la plante sont récoltées à la période de rendement optimum : avant la floraison (menthe), pendant (lavandes) et après celle-ci (plantes à graines) ou encore après la rosée du matin (fleurs fragiles) (*Salle 1991*).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des structures histologiques ou glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule (*Deysson 1978*).

1-4 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (*Degryse et al., 2008*). Elles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (*Couic-Marinier et al., 2013*).

Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé (*Desmares et al., 2008*). Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclérée et de

romarin. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation ; Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité (*Couic-Marinier et al., 2013*).

1-5 Composition chimique des huiles essentielles :

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'il s'agit de mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les composés terpéniques tels que les monoterpènes et terpènes sesquiterpéniques ; et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents comme l'alcool cinnamique. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils comme les acides, alcools, aldéhydes, esters, etc) (*Bakkali et al., 2008 ; Couic-Marinier et al., 2013*).

1-6 Procédé d'extraction :

De tous temps, on connaît les vertus des «essences de plante» et on s'efforça des les extraire depuis la plus haute antiquité. C'est vers le 13^{ème} siècle, en Europe, plus précisément dans le Sud de la France, au royaume des parfums, que l'on a commencé à explorer diverses méthodes d'extraction de ces huiles volatiles (*France-Ida, 1996*). Connaissant mieux les constituants des huiles, des techniques se sont développées visant à optimiser la qualité de l'huile tout en maintenant un rendement intéressant. La distillation est de loin, le procédé le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

L'hydrodistillation:

Distillation à l'eau ou « hydrodistillation » dont le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation.

Selon Bruneton (1999) , l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle, La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (*Chalchat et al., 1997*).

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron.

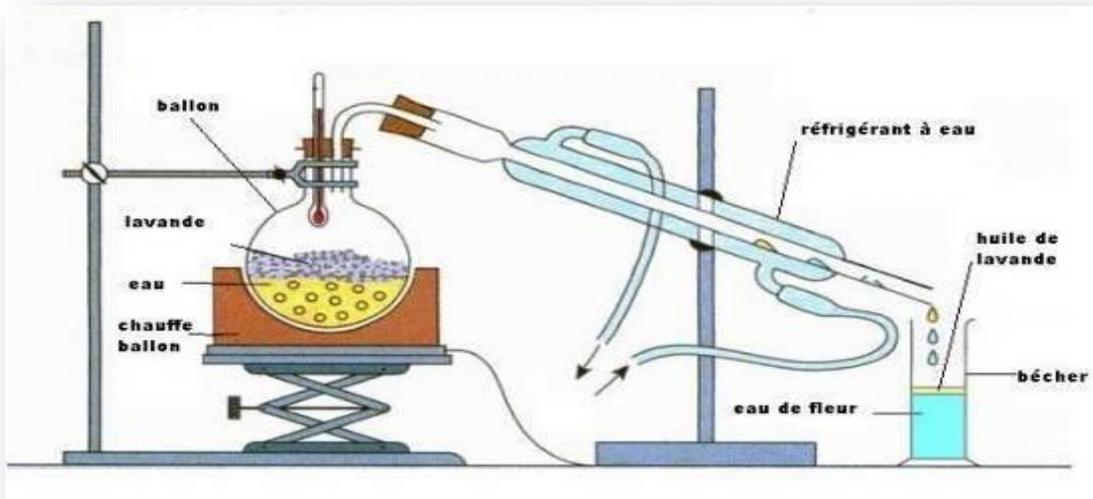


Figure 01 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile

2- Les hydrolats :

2-1 Définition :

Le nom d'hydrolat vient du grec hydro (eau) et du latin lac (lait), en raison de son apparence légèrement laiteuse dans les instants suivant la distillation Fontaine., (2017). Les hydrolats sont obtenus lors de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau des fleurs, feuilles ou rameaux des plantes aromatiques. Au refroidissement, la vapeur d'eau chargée des molécules aromatiques va donner deux produits bien distincts. Le premier plus léger que l'eau flotte à la surface : c'est l'huile essentielle. Le deuxième, plus lourd, reste au fond du récipient : c'est l'hydrolat aromatique. C'est donc de l'eau distillée chargée de molécules aromatiques hydrosolubles (moins de 5%). C'est un produit naturel dont les propriétés thérapeutiques sont complémentaires de celles des huiles essentielles. Le terme d'eau florale désigne des hydrolats aromatiques obtenus à partir de fleurs. mais certaines plantes sont utilisées uniquement pour la fabrication d'hydrolat (bleuet, hamamélis par exemple) (Heitz., 2017).

Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires: les hydrolats de rose, de fleur d'oranger, de lavande et de fleurs de bleuets sauvages en sont des exemples. Certaines plantes sont distillées uniquement pour leur hydrolat comme par exemple Hamamelis virginiano L. dont le distillât de feuilles et de rameaux floraux est un composant fréquent de produits dermatologiques grâce à ses

propriétés désinfectantes et astringentes (*Bremness, 1996*). Le principal marché des hydrolats se situe dans le domaine des cosmétiques et des arômes alimentaires.

Malgré cet engouement, les chercheurs ne s'y intéressent que très peu. Il existe donc un réel manque de données scientifiques dans ce domaine. Pourtant, la faible toxicité et la nature chimique des hydrolats en font un produit original, intéressant à étudier comme en témoignent les rares publications parues à leur sujet. Les études pharmacologiques réalisées présentent en effet des résultats très prometteurs.

2-2 Activités biologiques des hydrolats :

Les études concernant la bioactivité des hydrolats sont peu nombreuses en comparaison à celles réalisées sur les huiles essentielles. Malgré la ressemblance directe entre les hydrolats et les huiles essentielles correspondantes d'un point de vue chimique. Carlini et al., (1983) ont observé que l'effet psychopharmacologique de l'hydrolat obtenu des graines de *Licaria puchury-major* n'est pas en relation avec le contenu moléculaire de l'huile essentielle correspondante.

Souza et al. (2007) ont mis en évidence la bioactivité de l'huile essentielle et l'hydrolat du bois et des branches de *Aniba duckei* sur les larves de *Artemia franciscana*. L'huile essentielle avec une concentration de 2 mg/ml et l'hydrolat à 25% entraînent tous deux une mortalité de 100%. Le linalool présent à 0.09% dans ce dernier, serait d'après les auteurs, responsables de cette activité biologique. La croissance d'*Alternaria mali* et *Botrytis cinerea* est inhibée avec différentes concentrations d'huile essentielle et hydrolat de *Satureja hortensis*, plante sauvage de Turquie. Cette étude montre des résultats convaincants avec 10% d'hydrolat sur *Botrytis cinerea* et 15% sur *Alternaria mali* (*Boyraz & Ozcan 2006*).

2-3 Composition des hydrolats :

Les hydrolats contiennent en petite quantité des composés volatils semblables à ceux présents dans l'huile essentielle ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile. La composition des hydrolats s'éloigne donc de celle des huiles: les molécules oxygénées hydrophiles s'y trouvent en grandes quantités alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpeniques sont la plupart du temps quasi absents. Certains hydrolats présentent une plus grande proportion de molécules lipophiles comme ceux de *Mentha piperita* ou *Melissa officinalis*.

Pour pouvoir effectuer l'analyse de la composition chimique des hydrolats par GC-MS, il est nécessaire de « concentrer » l'hydrolat avant l'injection, en procédant à une extraction liquide-liquide avec un solvant organique tel que le chloroforme. À titre d'exemple, on a constaté les différences entre la composition de l'huile essentielle et celle de l'hydrolat d'*Origanum compactum*. Au total, 29 composés ont été détectés et identifiés dans l'huile essentielle et seulement huit dans l'hydrolat. Ces huit composés sont également présents dans l'huile essentielle: il n'y a donc pas, dans ce cas, de composés spécifiques à l'hydrolat.

2-4 Utilisation :

Les hydrolats sont utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique. C'est le cas par exemple de l'eau de rose et l'eau de fleur d'oranger utilisées non seulement pour le soin de la peau ou dans la préparation de gâteaux et boissons. Les hydrolats aromatiques contenant beaucoup moins de molécules aromatiques que les huiles essentielles sont plus doux et ne nécessitent pas les mêmes précautions d'usage. L'hydrolat n'a pas la même composition biochimique que l'huile essentielle de la même plante. Il ne possède pas nécessairement les mêmes vertus thérapeutiques. Ils peuvent être facilement utilisés par voie buccale, par voie locale en spray sur une muqueuse, par voie cutanée (visage, corps, cheveux). En cosmétique ils serviront de lotion nettoyante ou tonifiante, Yaan et Hay (2015).

L'hydrolat contient de faibles traces d'huile essentielle ainsi que les molécules hydrosolubles emportées par la distillation. Etant donné la faible quantité de produits actifs et l'extraordinaire pouvoir thérapeutique des hydrolats, constaté particulièrement en élevage de chèvre, nous pensons que la partie informative de l'eau passée à travers la plante joue un rôle non négligeable, (Heitz, 2017).

*Etude de l'espèce Origanum
glaberrimum*

1- La famille des lamiacée :

La famille des Lamiaceae (labiées) du latin labia (lèvre) signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (*Naghibi et al.2005 ; couplan 2000*), est une famille importante appartenant aux angiospermes dicotylédones, qui comprend près de 7000 espèce répartie en 250 genres plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (*Botineau 2010 ; Matin 2014*).

Dans la flore de l'Algérie, les Lamiaceae sont représentées par 28 genres et 146 espèces, certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces (*Quezel et Santa 1962*).

Un très grand nombre de genre de la famille des lamiaceae sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tanins, flavonoïdes , iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes pyrrolidiniques (*Kuklinski 2000 ; Naghibi et al .2005*).

2- La plante d'*Origanum glandulosum* :

2-1 Généralité :

Le genre *Origanum* comporte environ 38 espèces qui sont répandues dans la région Méditerranéenne, Euro sibérienne et Irano Sibérienne. Cependant, la plupart des espèces, environ 75%, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions méditerranéenne de l'Est (*Şahinet al.,2004*). L'espèce d'*Origanum glandulosum* est une plante spontanée endémique, développant en Afrique du Nord (l'Algérie et la Tunisie) (*Bendahouetal.,2008*). En Algérie, il existe 2 espèces du genre *Origanum* : *Origanum glandulosum Desf* et *Origanum floribundum Munby* (*Quezel et Santa, 1963*).

2-2 Classification botanique :

Est montré dans le tableau suivant :

Tableau1 : Selon le département d’agriculture des Etats-Unis (USDA) , l’origan se positionne comme suit dans le règne végétale :

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Asteranae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae Lindl.
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum glandulosum</i> Desf

2-3 Répartition géographique :

L’origan pousse surtout dans les pays méditerranéens, notamment au Maghreb, c’est le cas par exemple de l’*Origanum glandulosum* et de l’*Origanum floribundum*. Ces deux plantes vivaces pousse également dans de nombreux pays d’Europe et d’Asie, notamment en chine et en Inde , (*Ruberto et al 2002*).

L’origan est une plante répandu en Algérie, elle est représentée par deux espèces :*Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette dernière est d’ailleurs une espèce endémique en Algérienne (Quzel et santa 1963). Le tableau indique la localisation des deux espèces :

Tableau 2: la répartition géographique des deux espèces d’origan en Algérie

Espèce	Localisation et caractéristique
<i>Origanum glandulosum</i> Desf	Commune dans tout le tell. Endémique Algéro-Tunisiene pousse dans les garrigues et broussailles.
<i>Origanum floribundum</i> Mumby	Pousse en pâturage et surtout en montagne. Espèce rare dans le sous secteur du littoral et le secteur du Kabylie. Endémique d’Algérie.

2-4 Description botanique :

L'origan est une plante herbacée vivace ou sous-ligneuse, à la base de 30 à 90 centimètres de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude. elle représente des tiges dressées, carrées souvent rougeâtres, velues portant une quarantaine de branches à feuilles vert foncé, petites et ovales élargies à la base, entière, pétiolées, opposées ; Celles-ci possèdent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes. Les inflorescences sont en épis ; eux-mêmes réunis en inflorescences composées en panicules. Les fleurs blanches ou rose sont très petites insérées à l'aisselle de bractées rougeâtres plus longues que le périanthe à calice tubuleux à 5 dents égales gamosépale et à crolle à 2 lèvres, dont la supérieure est dressée, bilobée ; presque plane et l'inférieure trilobée ; gamopétale ; 4 étamines saillantes à anthères pourpres fruits sous la forme d'akènes, plantes très aromatiques (Richard, 1992 ; Baba Aissa, 2011 ; Quzel, et al, 1963).

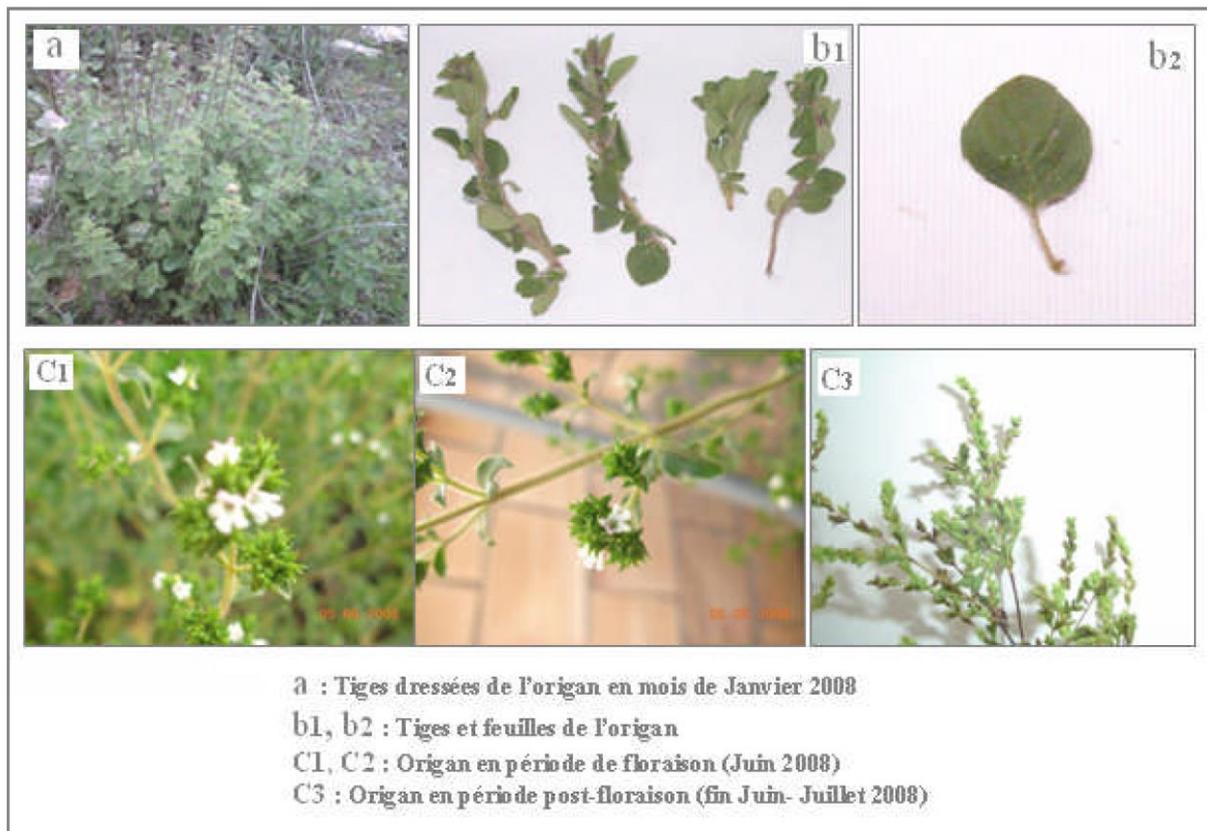


Figure 02 : Caractéristiques botaniques d' *Origanum glandulosum*

(Bendahou et al; 2008)

2-5 Utilisation traditionnelle :

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

Les préparations à base d'origan sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies en tant que substance antispasmodique, antimicrobiennes, expectorantes (fluidifiant les sécrétions bronchiques), elle sont également efficaces contre les troubles digestifs et les problèmes menstruels (Sahin et al., 2004). L'origan est un antitussif, aromatique, calmant et sédatif (l'origan excite d'abord, puis calme le système nerveux). Il est aussi employé la plupart du temps comme plante médicinale contre la coqueluche, la toux, la fièvre et la bronchite (Belyagoubi, 2006 ; bendahou et al., 2008).

L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux d'irritation, d'asthme, d'absence de règles, action antalgique, et parasiticide, utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007).

L'huile essentielle d'origan possède un effet antiseptique, et légèrement tonique et digestive. Elle provoque la menstruation, apaise les nerfs, soulage les maux de tête et de dents, elle aide aussi à lutter contre les insomnies.

L'origan est aussi un anti-inflammatoire, antispasmodique expectorant, diurétique et sudorifique (Yakhlef, 2010).

2-6 Métabolites secondaire de l'espèce :

- Les terpènes :

Tous les organes renferment en quantité variable d'une huile essentielle fortement aromatique (Garland ;1980). En moyenne, on extrait environ 1,8% d'huiles essentielles à partir des feuilles et des sommités fleuries. Cependant, la qualité et la quantité de l'huile extraite varient selon la génétique de la plante, stade végétatif, les procédés d'extraction et surtout les conditions de l'environnement (Padulosi,1997).

Le carvacrol est généralement le composé majoritaire de l'huile essentielle d'origan (35 à 74 %) (Ultee et al ;1999, Azoudj,1999). Mais dans certains cas le thymol (isomère du carvacrol) l'importe (Ruberto et al ;2002, Chikhoune,2004, Fadli et kessi,2005).

Thymol, carvacrol, p-cymène et γ-terpinène sont les principaux composants des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* (Mechergui et al., 2016).

L'importante activité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* est due à sa richesse en phénols (carvacrol et thymol.....) (Bendahou et al., 2008).

- Les polyphénols totaux :

Les polyphénols sont des métabolites secondaires très répandues dans les plantes médicinales dont leurs teneur est variable entre les différentes espèces. Ce sont des potentiels agents antimicrobiens (Xia et al., 2010). L'origan est une herbe aromatique importante, riche en composés phénoliques avec une forte activité antioxydante et antibactérienne (Sagdic et Ozkan, 2003 ; Capecka et al ., 2005). Les principaux acide phénoliques présents dans l'*Origanum glandulosum* sont : Acide ferulique , Acide ursolique , Acide rosmarinique, Acide caféique, et Acide p-Coumarique (Spiridon et al., 2011).

- Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont un groupe de produits naturels très importants pour leurs activités médicinales et biologiques. Ce sont des agents antioxydants et antimicrobiens (Granados – Covarrubias et Maldonado, 2009). Selon Skerget et al., (2005), le genre *Origanum* possède des flavonoïdes avec teneurs variables à savoir la quercétine, l'apigénine et la myricétine.

- Les tanins :

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes médicinales présentant un grand intérêt médical, plus particulièrement les proanthocyanidines, en raison de leur puissant pouvoir antioxydant (Oszmianski et al., 2007). L'*Origanum vulgare* L contient des tanins dont une teneur estimée à 2,53 mg / g de proanthocyanidines (Hadi, 2004).

Chapitre 2 :

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Notre travail a duré deux mois de début d'Avril jusqu'à la fin de Mai :

- L'extraction de l'Huile essentielle, l'analyse phytochimique et l'activité antioxydante ont été réalisés aux niveaux du laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales de l'université Saad Dahleb Blida-1
- L'activité antibactérienne a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie de la société d'Abdi Ibrahim Remède Pharma.

1- Matériel :

1-1 Matériel végétal :

Notre matériel végétal est composé par la partie aérienne (les feuilles, les fleurs et les rameaux) de l'origan : *Origanum glandulosum*.

L'identification de l'espèce a été faite en se basant sur les critères cités par Baba Aïssa (2011)

Des échantillons de la plante ont été récoltés au niveau de la région de Miliana (Djbal Zakar) de la wilaya d'Aïn Defla. Ils ont été nettoyés et séchés à l'abri de la lumière et conservés dans des sacs propres jusqu'au moment d'extraction.

1-1-1 Description de la zone de récolte (figure 1) :

Djbal Zakar (du berbère *azaikour*, qui signifie « sommet »), est constitué par un relief montagneux qui s'étend sur la partie sud du massif de l'Atlas littoral et culmine à une altitude de 1554 mètres. Cette région qui surplombe la plaine du haut Chélif au nord, jouit d'un climat méditerranéen caractérisé par des étés chauds et secs et des hivers doux et pluvieux. Il est situé au nord de Miliana, qui est bâtie sur ses flancs. Le faite du mont est orienté est-ouest, il domine d'un côté le Chélif et Tipaza de l'autre côté, représentant une entité géographique d'une superficie qui avoisine les 90km² (Azzaz *et al.*, 2016).



Figure 03 : Représente une vue de notre zone de récolte djbel zaccar

1-2 Souches microbiennes :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle étudiée a été testée sur 07 microorganismes pathogènes (5 bactérie, 1 levure, 1 moisissure) (tableau1).

Ces souches ont été fournies par le responsable du laboratoire de microbiologie de la société d'Abdi Ibrahim remède pharma. Le choix de ces souches a été porté sur la base de leurs importances dans le domaine clinique (Infections...etc.).

Tableau 3 : les différentes souches microbiennes utilisées.

Les microorganismes	Gram	Famille
<i>Bacillus subtilis</i>	+	Bacillaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Staphylococcaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Pseudomonadaceae
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	Enterobactériaceae
<i>Escherichia coli</i>	-	Enterobactériaceae
<i>Candida albicans</i>		Saccharomycetaceae
<i>Aspergillus brasiliensis</i>		Trichocomaceae

2- Méthodes d'étude :

2-1- Extraction des huiles essentielles :

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (figure 2), 50 g de matière végétale sèche ont été mis dans un ballon en verre à fond rond, additionné d'une quantité d'eau distillée (600ml), puis chauffée, l'huile essentielle a été entraînée par la vapeur d'eau. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile essentielle à la surface. Après repos du liquide, l'huile se sépare de l'eau par différence de densité. L'huile essentielle a été récupérée dans des épandorf enveloppés dans du papier aluminium pour éviter le contact à la lumière et mis au réfrigérateur à 4°C. L'hydrolat a été aussi récupéré et mis dans des flacons opaque et conservé dans le réfrigérateur jusqu'à utilisation.

2-2 Calcul du Rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR,

1986). Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante:

$$RHE = (MHE / Ms) \cdot 100$$

R : rendement

MHE : la masse d'huile essentielle en g.

Ms : la masse de la matière végétale en g.

2-3 Screening phytochimique :

Les parties aériennes des plantes sont soumises à des tests pour détecter de façon qualitative les principales familles de produits naturels qui peuvent se trouver dans l'échantillon. La détection de ces familles constitue le screening ou criblage phytochimique.

Les tests sont basés sur des réactions de précipitation ou de complexation avec formation de complexes insolubles et colorés. La coloration observée est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié. Elle est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une insaturation dans une molécule.

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaire, ils ont été effectués soit sur la poudre du broyat, soit sur l'infusé d'*Origanum glandulosum* (Bouyer, 1996).

Préparation de l'infusé :

A 10g de poudre végétale, sont ajouter 100 ml d'eau distillée bouillante, la laisser infuser pendant 15mn avec agitation de temps en temps, après filtrer.

Identification de quelques métabolites secondaire :

Les anthocyanes :

A 5 ml d'infusé sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque $\frac{1}{2}$ à. L'apparition une couleur rouge indique la présence d'anthocyanes.

Les tanins :

A 5 ml de l'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 5 %.

La réaction donne une coloration bleue noir en présence des tanins.

Les tanins catéchiques :

15ml d'infusé, sont additionnés à 7 ml de réactive de stiasny (10 ml de formol a 40% et 5 ml d'HCL concentré).

La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins cathéchiqes.

Les tanins galliques :

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés 2g d'acétate de sodium et quelque gouttes de $FeCl_3$.

La réaction donne une coloration bleue foncée en la présence des tanins galliques

Flavonoïdes :

A 5 ml d'infusé, sont additionnés 5 ml d'HCL, un coupeau de Mg et 1ml d'alcool isoamylique.

La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

Les alcaloïdes :

Introduire 1g de poudre végétale dans un tube a essais, ajouter 10ml d'acide sulfurique (10%) agiter énergiquement pendant 2 mn et filtrer ajouter 2 gouttes du réactif de Dragendorff.

Résultats : apparition d'un précipité rouge orangé.

Les glucosides :

A 2g de poudre végétale sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique.

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

Les mucilages :

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

2-4 Evaluation de l'activité antioxydante :

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles étudiées a été testé par la méthode qui utilise le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical libre relativement stable (Wollinger et al., 2016).

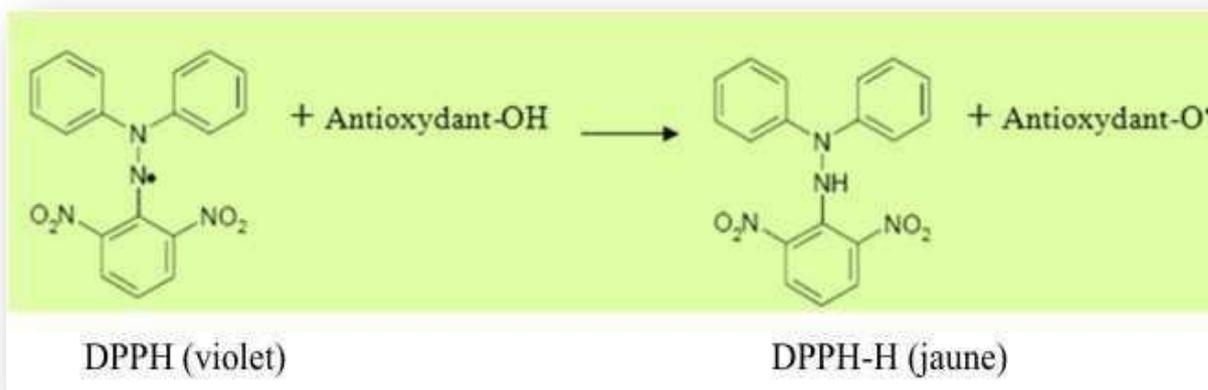


Figure 4 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Attou, 2004)

La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'IC50, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue, généralement interprétée sur la

base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (IC50). Le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale. En ramenant par exemple les résultats à un équivalent de vitamine C.

Mode opératoire :

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 (Bruits et Bucar2000).

-Préparation de la solution DPPH :

La solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol, puis conservé à l'abri de la lumière dans un flacon opaque pour empêcher sa dégradation. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif, il a été également analysée aux même concentrations pour la comparaison .

50ul de chacune des solutions méthanoliques de la vitamine C sont mélangées avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%)

Contrôle négatif : 50ul méthanol+5ml de solution mère pour la préparation des différentes dilutions des huiles essentiels.

Après une période d'incubation de 30minute à une température ambiante de laboratoire, l'absorbance est lue à 517nm. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydant pour l'acide ascorbique et pour l'huile essentielle d'origanum glandulosum (pourcentage d'inhibition, l'index IC 50).

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\text{pourcentage d' inhibition \%} = [(A \text{ blanc} - A \text{ échantillons}) / A \text{ blanc}] \times 100$$

Où :

A blanc : absorbance du blanc (méthanol).

A échantillon : absorbance du composé d'essai.

2-5 Evaluation de l'activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat évaluée sur sept souches microbiennes (bactéries et champignons), a été réalisée par la méthode d'aromatogramme par diffusion, le pouvoir antimicrobien a été obtenu par la mesure (en centimètre à l'aide d'un pied à coulisse) des diamètres des zones d'inhibitions (D) pour les bactéries et les champignons.

Mode opératoire :

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé est utilisée pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des hydrolats selon la méthode décrite par Gulluce et al. (2007) avec de légères modifications.

Ensemencement :

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé TSA en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 15 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec de la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes sous hôte pendant 15 à 20 min.

Dépôt des disques :

- Des disques de papier filtre stérilisés de 1cm de diamètre (Whatman) imprégnés d'un volume de 5 µl d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile puis - des boîtes de pétrie ensemencer avec chacune des souches testées dans le milieu TSA sont utilisées comme contrôle négatif.

Incubation :

Toutes les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm stérile pour éviter l'évaporation éventuelle des huiles essentielles. Elles sont maintenues à 4 °C pendant 2 heures, puis incubées à 32 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 22°C pendant 48h pour les champignons. Après l'incubation la lecture a été réalisée après mesure des diamètres des zones d'inhibition de la présence ou l'absence de zone claire autour des disques.

Ces résultats ont été comparés à des témoins négatifs pour chaque souche dont on a observé un tapis bactérien.

- L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Ponce, et al, (2003); ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 4 classes :

- ❖ Non sensible/ résistant (-) : $D < 8\text{mm}$.
- ❖ Sensible (+) : $9 < D < 14$.
- ❖ Très sensible (++) : $15 < D < 19\text{mm}$.
- ❖ Extrêmement sensible (+++) : $D > 20\text{mm}$.

Résultats et discussion

1- Rendement des huiles essentielles:

L'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* obtenue par hydrodistillation est un liquide visqueux, limpide, d'une coloration jaunâtre et odeur forte.

Le rendement en huile essentielle est calculé à partir du volume de l'huile essentielle par rapport au poids du matériel végétal sec.

La moyenne du rendement d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* est de : $2.796\% \pm 0.108$.

En comparant les rendements en huiles essentielles obtenus au cours de cette étude, avec ceux rapportés dans la littérature ; les constats suivants ont été révélés :

Le rendement en huile essentielle pour *Origanum glandulosum* obtenu dans cette étude est inférieure à celui trouvé par Bendahou et al .,(2008) pour la même espèce, récoltée dans la région ouest de l'Algérie, par hydrodistillation et assistée par micro-ondes(3.3% et 4.8%)respectivement .

Par ailleurs la teneur en huile essentielle d'*Origanum glandulosum* de trois régions de Béjaïa (kherrata,El-kseur et Teskriout) et de 1 ;1.5 et 2.5% (v/m) respectivement (*sari et al.,2006*)

Selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendement en huiles essentielles (*Mechergui et al.,2016*).

Le rendement de nos résultats est plus important comparé à celui rapporté par Berrehal et al. (2010) indiquant que les parties aériennes d'*O. glandulosum* récolté en période de floraison dans la région de Jijel et de Constantine, ont une teneur en huiles essentielles de 2.0%. Même constatation quant aux résultats de Semra et al. (2013) avec un rendement en huile essentielle de 2.2% de la même espèce récoltée dans la région de Zighoud Youcef (wilaya de Constantine) en période de floraison. Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Sahraoui et al. (2007) dont le rendement est estimé à 2.5% pour *Origanum glandulosum* de la région de Sétif.

2- Screening phytochimique :

Screening phytochimiques des huiles essentielles :

Les résultats expérimentaux du criblage phytochimique sont mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau 4 : Screening phytochimique d'*Origanum glandulosum*

Les métabolites secondaires	
Les anthocyanes	+++
Les tanins	+++
Les tanins catéchiques	+++
Les tanins galliques	++
Les flavonoïdes	+++
Les alcaloïdes	++
Les glucosides	++
Les mucilages	+

(+++):fortement présent ;(++) moyennement présent ;(+):faiblement présent.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence qualitative des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux : les tanins, les tanins catéchiques, les tanins galliques, les anthocyanes, les , les flavonoïdes et les alcaloides,

les glucoside ., les mucilage sont faiblement présent.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques d'*Origanum glandulosum* de la région de Boumerdes ont démontré la présence des tanins, des anthocyanes, des saponosides et des flavonoïdes (*Bendifallah et al., 2015*).

Screening phytochimique de l'hydrolat :

Tableau 5 : screening de l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*.

Les métabolites secondaires	
Les anthocyanes	-
Les tanins	-
Les tanins cathéchiques	-
Les tanins galliques	-
Les flavonoïdes	-
Les mucilages	-

(+) : présence de métabolites secondaires (-) : absence de métabolites secondaires

L'étude phytochimique réalisé sur l'hydrolat a révélée que ce dernier est dépourvu de métabolites secondaires cité précédemment.

Nous n'avons pas trouvé, en littérature, des résultats sur le screening phytochimique de l'hydrolat.

3- Evaluation de l'activité antioxydant :

Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles :

Les résultats de l'activité antioxydante sont montrés dans les figures

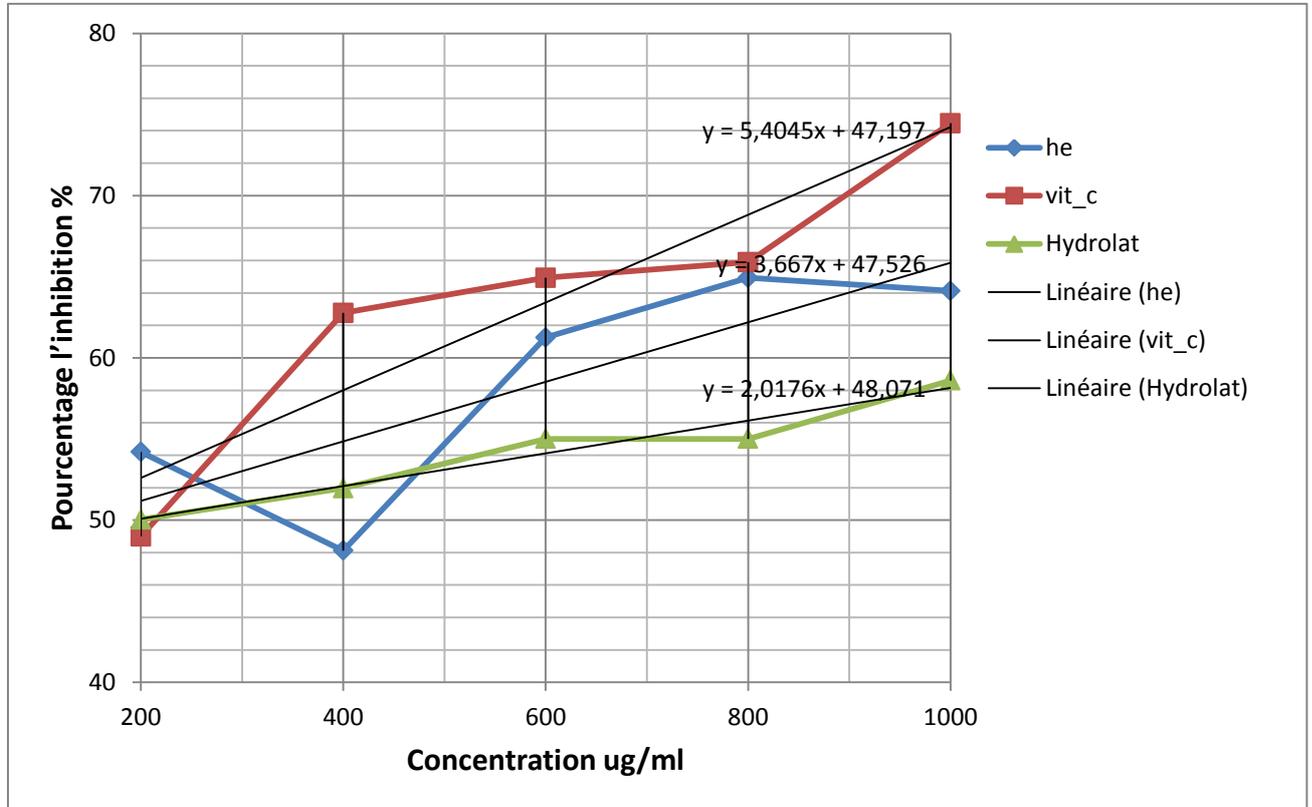


Figure 05 : Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique, des huiles essentielles et de l'hydrolat du radical libre DPPH.

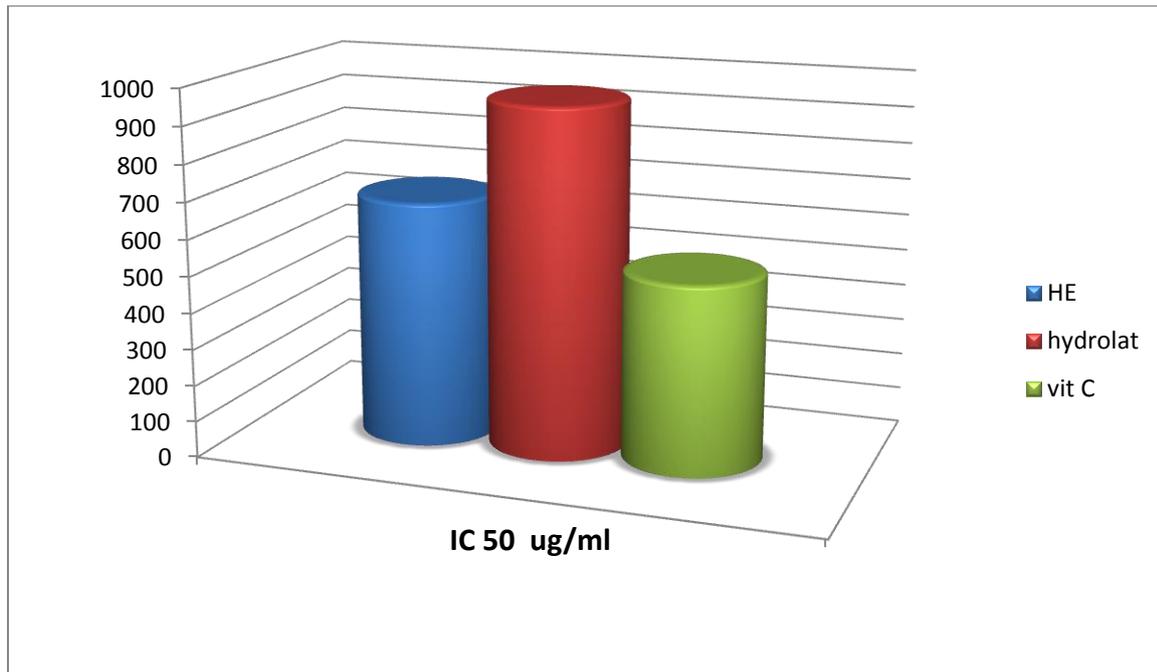


Figure 06 : Valeurs de l'IC₅₀ de l'huile essentielle, de l'hydrolat et de la vitamine C

D'après les résultats montrés dans les figures nous constatant que la capacité antioxydante de l'huile essentielle est moins importante (IC₅₀ = 676.30 µg/ml), par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C (IC₅₀ = 519.98 µg/ml).

Mechergui et al. (2010) ont enregistré une valeur d'IC₅₀ de l'huile essentielle de cette même espèce issue de deux régions de Tunisie à 105.29 mg/L et 142.86 mg/L. Cependant une autre étude tunisienne sur l'huile essentielle de cette plante a montré une activité antioxydante presque similaire à (IC₅₀ = 625 µg/ml) (Béjaoui et al., 2013).

Cette variabilité est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la Composition chimique des huiles essentielles. En effet, l'étude des propriétés antioxydantes des composants chimiques des huiles essentielles ont montré que les monoterpènes, tel que le gamma-terpinène, ont un effet antioxydant important (Ruberto et al., 2000).

Evaluation de l'activité antioxydant de l'hydrolat :

Concernant l'hydrolat les résultats obtenus ont révélé l'absence d'activité antioxydante. L'hydrolat montrant une valeur de IC₅₀ = 957.34 µg/ml est dépourvu d'activité antioxydant qui est nettement plus élevée que celle de la vitamine C (IC₅₀ = 519.98 µg/ml).

Certains auteurs (Azza et al., 2011) ont testés l'activité antioxydante des hydrolats du thym. Les résultats obtenus ont révélé une absence de l'activité antioxydante montrant des valeurs de IC₅₀ > 999.4 µg/ml. Les hydrolats de Romarin et de Pronto Alivio, quant à eux n'ont présenté aucune activité à 40000 µg/L ou en deçà de cette concentration maximale utilisée pour évaluer l'activité antioxydant des extraits étudiés.

4- Evaluation de l'activité antimicrobienne :

Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat est évaluée sur 7 souches: (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*).

Le pouvoir antimicrobien de ces deux extraits (huile essentielle et hydrolat) est obtenu par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en mm. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Moyenne des Diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*

Les souches	Moyenne	Sensibilité des souches
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24.81± 2.342	Extrêmement sensible
<i>Bacillus subtilis</i>	67.27±1.775	
<i>Staphylococcus aureus</i>	76.36±0.186	
<i>Salmonella typhimurium</i>	41.94±11.358	
<i>Escherichia coli</i>	45.46±4.687	
<i>Candida albicans</i>	48.15±2.410	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	59.40±3.428	

- Non sensible/ résistant (-) : D< 8mm. -Sensible (+) : 9 <D <14. -Très sensible (++) :15<D<19mm. – Extrêmement sensible (+++) : D>20mm

Les souches bactériennes gram négative ont montré une sensibilité vis-à-vis des huiles essentielles de l'espèce étudié avec des diamètres d'inhibition de 24.81±2.342 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* , 41.94±11.358 mm pour la souche *Salmonella typhimurium* et 45.46± 4.687mm pour *Escherichia coli*

Les souches gram positives sont les moins résistantes :*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition 67.27mm et 76.36mm respectivement. *Staphylococcus aureus*, est extrêmement sensible à l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* avec un diamètre de 76.36mm. selon certains auteurs (Ponce et al., 2003) , l'huile essentielle d'origan à un effet bactéricide vis-à-vis cette souche.

D'après les résultats, nous constatons que l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* possède un effet plus important sur les bactéries à gram positives, (*Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) que sur les bactéries à gram négatives, (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli*).

Selon une étude portée pour Bouhaddouda et al., (2015) les deux souches gram positives (*Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*) ont montrés une extrême sensibilité avec des diamètres de zones d'inhibition de $51,83 \pm 2,46\text{mm}$ et à $51,83 \pm 2,56\text{mm}$ respectivement.

Selon Reynolds (1996) Il semble que beaucoup d'huiles volatiles exercent une activité importante envers les bactéries gram positive, comme il est souvent apporté que les bactéries gram négative sont les plus résistante aux plantes à base d'huile essentielle ; La résistance des bactéries peut être attribuée à la présence du lipopolysaccharides dans la paroi cellulaire des souches à gram négatives qui constitue une barrière pour l'huile essentielle.

La croissance mycélienne des champignons (*Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*) a été évaluée en présence de l'huile essentielle de l'espèce étudiée.

Une inhibition de la croissance mycélienne des champignons (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) a été notée en présence de l'huile essentielle d'Origan (Figures 24,29) avec des diamètres d'inhibition de 48.16mm , et 59.41mm .

L'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur 2 levures et 4 champignons a aussi été étudiée par Bendahou et al. (2008),

Les résultats affichent une bonne activité de l'huile avec des diamètres d'inhibition allant de 20 à 34 mm.

Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'hydrolat :

Tableau 7 : La moyenne des Diamètres des zones d'inhibition provoquée par l'hydrolat de la plante d'*Origanum glandulosum*

Les souches	Moyenne	Sensibilité des souches
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 8	Non sensible (résistante)
<i>Bacillus subtilis</i>	< 8	
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 8	
<i>Salmonella typhimurium</i>	< 8	
<i>Escherichia coli</i>	< 8	
<i>Candida albicans</i>	< 8	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	< 8	

Non sensible ou résistante (-) = (D) < 8mm ;Sensible (+) = 9mm < (D) < 14mm ; Très sensible (++) = 15 mm < (D) < 19mm ;Extrêmement sensible = (D) > 20mm

D'après les resultats montrés dans le tableau, nous constatons que l'hydrolat d'*Origanum glandulosum* n'exerce aucun pouvoir antimicrobien (aucun activité inhibitrice) envers les sept souches, nous pouvons dire, de ce fait, que toutes les souches testées sont résistantes.

Sagdic et Ozcan (2003) ont mis en évidence l'activité antibactérienne des hydrolats de *Pimpinella anisum*, *Cuminum cyminum*, *Satureja hortensis*, *Thymbra spicata* et *Origanum glandulosum* sur *Escherichia coli*, *Staphilococcus aureus* et *Proteus vulgaris* et d'autres bactéries.

*Conclusion et
perspectives :*

Dans le présent travail, nous avons tenté de contribuer à la valorisation d'une plante aromatique très utilisée en médecine traditionnelle algérienne pour ses vertus thérapeutiques en évaluant l'activité anti oxydante et antimicrobienne des huiles essentielles et des hydrolats de l'origan.

Origanum glandulosum récoltée dans la région de khmis meliana (djbel zaccar) au stade de foloraison a fait l'objet d'une extraction de son huile essentielle et de son hydrolat et une détermination du rendement de l'huile essentielle.

Une analyse phytochimique par le test de screening à été réalisée sur la poudre, l'infusé et l'hydrolat de la partie aérienne de la plante étudiée.

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat de la plante à été réalisée selon la méthode d'aromatogramme sur des souches bactériennes (*Pseudomonas Aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) et des souches fongiques (*Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*).

L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des hydrolats a été réalisée selon la méthode du piégeage du radicale DPPH.

Le rendement en huile essentielle de la plante étudiée obtenue par hydrodistillation est de $2.796\% \pm 0.108$

Le screening phytochimique nous a permis de révéler la présence de plusieurs métabolites secondaires : les anthocyanes, les tanins, les tanins cathéchique, les tanins galliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les glucosides et le mucilage.

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont révélés une grande sensibilité des deux souches bactériennes, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, vis-à-vis l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* montrant des diamètres d'inhibition fortement importantes . Les trois autres souches bactériennes ; *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* et *Escherichia coli* ; sont moins sensibles présentant des diamètres d'inhibition plus faibles et nettement inférieurs par rapport aux premières souches.

Les souches fongiques ; *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans* ; sont extrêmement sensibles vis-à-vis l'huile essentielle d'*origanum glandulosum* par rapport à l'ensemble.

Concernant les résultats obtenus pour l'hydrolat toutes les souches étudiées ; bactérienne et fongiques ; sont résistantes.

L'ensemble des résultats montre qu'*Origanum glandulosum* est douée d'une activité antimicrobienne. En effet, la sensibilité des souches microbiennes aux huiles essentielles suggère leur utilisation en thérapeutique comme alternative naturelle.

L'étude de l'activité antioxydante montre que l'huile essentielle possède un pouvoir antioxydant plus ou moins faible contrairement à l'hydrolat qui ne montre aucun pouvoir antioxydant.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre le phénomène d'oxydation des aliments.

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité des extraits étudiés. Notre étude doit être complétée par :

- Caractérisations des huiles essentielles et de l'hydrolat par des analyses chromatographiques, (CG-MS et HPLC) ce qui permet de connaître les molécules responsables des effets antioxydants, antibactériens et antifongiques et l'éventuelle synergie entre elles.
- Etude de l'efficacité de ces extraits dans le domaine alimentaire afin d'établir leur utilité comme agents antimicrobiens ou antioxydants naturels dans la sécurité alimentaire.

*Références
bibliographiques*

- Aazza, Smail, Badiâ Lyoussi, and Maria G. Miguel. (2011). "Antioxidant Activity of Some Moroccan Hydrosols." *Journal of Medicinal Plants Research* 5(30):6688–96.
- Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., et Chaouch, A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9: 149–157.
- Association française de normalisation (AFNOR), (1986). Recueil des Normes Françaises «huiles essentielles ». 2 ème éd. Ed AFNOR, Paris.
- Attou A., (2004). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Thèse de Magister, université Tlemcen, Algérie.
- Azzaz H. (2016). Université de Mascara - Mustapha Stambouli. Application des techniques géochimiques et isotopiques à l'étude hydrogéologique d'un système karstique du Tell algérien en milieu semi aride ».
- Azzoudj S.,(1999). Valorisation des huiles essentielles de quelques espèces d'*Origanum* et *thymus* spontanées en Algérie. Thèse Ing., institut d'agronomie, Blida.
- Baba Aissa, F. (1991). Les plantes médicinales en Algérie. coédition Bouchene et ad. Diwan, Alger, 29.in Nedjai Ibtissem et Nedjai Salma 2017 université Abderrahmane Mira Béjaia Activité antimicrobienne des huiles essentielles.
- Baba Aissa F.,(2011). Encyclopédie des plantes utiles. El Maarifa, Alger 265.
- Bakkali F.,Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M.(2008).Biological effects of essential oils-Areview .*Food and chemical Toxicology*.46 : 446-475.
- Béjaoui A., Boulila A. & Boussaid M., (2013). Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare* subsp.
- Belyagoubi L, (2006). Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures des détériorations des céréales .Thèse de doctorat. P 41.
- Bendahou M., Muselli A., Dubois M.G., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernandini A.F., Costa J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essentialoil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation.*Food Chemistry*106: 132-139.
- Bendifallah L., Tchoulak Y., Djouabi M., Oukili M. & Ghezraoui R., (2015). Phytochemical study and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* L. (lamiaceae) in Boumerdes mountainous region (Algeria). *J. Med. Bioeng.* 4(6): 471-474.

- Berrehal D., Boudiar T., Hichem L., Khalfallah A., Kabouche A., Al-Freihat A., Ghannadi A., Sajjadi E., Mehrabani M., Safaei-Ghomi J. & Kabouche Z., (2010). Comparative composition of four essential oils of *Oregano* used in Algerian and Jordanian folk medicine. *Nat. Prod. Commun.* 5: 957 – 960.
- Billebeck V., Groques C., Vanier P. and Marquier J., (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles, *hygiène .revue officielle de la société française d'hygiène hospitalière* .10, 248-251.
- Botineau M. (2010). *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & Doc Lavoisier(ed.). Paris. P. 1021.
- Bouhaddouda N*, Aouadi S, Labiod R(2015) .Laboratory of applied biochemistry and Microbiology (LABM) , Department of biochemistry, Faculty of sciences, University of Badji Mokhtar, Annaba, Algeria.
- Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J. (2006) Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. *Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir*. 324-327.
- Bouyer T. (1996). Description d'une nouvelle espèce de *Maltagorea*. *Bulletin et annales de la société royale belge d'entomologie*, 132 :3-5p.
- Boyraz, Nuh and Musa Ozcan. (2006). "Inhibition of Phytopathogenic Fungi by Essential Oil, Hydrosol, Ground Material and Extract of Summer Savory (*Satureja Hortensis L.*) Growing Wild in Turkey." *International journal of food microbiology* 107(3):238–42.
- Bruneton J. (1999) *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales*. 3ème Ed Tec&Doc. Paris.
- Bremness, L. (1996). *L'oeil nature: Les plantes aromatiques et médicinales* Bordas Nature Paris. 303 P-
- Burits M., Bucar F (2000) Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil phytotherapy research, 14 :323-328.
- Calsamiglia, S. Busquet, M. Cardozo, P. W. Castillejos, L. et Ferret, A. (2007). Invited Review : Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90 (6): 2580–2595.
- Capecka E., Mareczek A., Leja M. (2005). Antioxydant activity of fresh and dry herbs of *omelamiaceae* species. *Food chemistry*. 9:223-226.

- Carlini, E. A., A. B. de Oliveira, and G. G. de Oliveira. (1983). "Psychopharmacological Effects of the Essential Oil Fraction and of the Hydrolate Obtained from the Seeds of *Licaria Puchury-Major*." *Journal of ethnopharmacology* 8(2):225–36.
- Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997) – Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 67-75.
- Chao S.C., Young D.G et Oberg G.j., (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of American oil chemist's society*, 75, 1717-1721.
- Chikhoun A., (2004). Huiles essentielles d'espèces endémiques algérienne : composition chimique et l'activité antioxydante vis-à-vis de l'huile de tournisol. Mémoire ingénieur. INA, Alger, 118.
- Cillard, J., et Cillard P. (2006) Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *OCL*; 13:24-29.
- Colette-Keller. (2004). Les plantes médicinales. ALS (séance du 25 Avril 2004). P58.in Nedjai Ibtissem et Nedjai Salma 2017 université Abderrahmane Mira Béjaia Activité antimicrobienne des huiles essentielles.
- Couplan F. (2000). Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (ed.). Luisane. Paris. P. 283.
- Costa J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry* 106:132-139.
- Couic-Marinier, F., and Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actual. Pharm*, 52: 22–25.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 12 (4): 564–582.
- Cristani M., Arrigo M. Mandulari G., Custelli f., Sarpietro M.G. and Mieleli ., (2007). Interaction of contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of agricultural and food chemistry* 55.6300-6308.
- Degryse, A.C., Delpla, I., et Voinier M.A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, 87p.

- Delille I. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Berti édition. Alger p 179.
- Desmares, C., Laurent, A., et Delerme C. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, 18p.
- Deysson G. (1978) « organisation et classification des plantes vasculaires ». Ed. SEDES et CDVI paris, tome II, 381 p.
- Dorman H.J.D. & Deans S.G., (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.* 88: 308–316.
- Fadli S., Kessi A., (2005). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles du thym et de l'origan : *thymus numidicus* poiret et *origanum floribondum* Munby. Mémoire ingénieur, INA, Alger, 92.
- Fontaine I., (2017) Magazine plantes et santé, le pouvoir subtil des hydrolats.
- Fouché G.P., Marquet A. et Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales : de la plante au médicament. Exposition temporaire de 19.09 au 30.09.2000. in Nedjai Ibtissem et Nedjai Salma 2017 université Abderrahmane Mira Béjaia Activité antimicrobienne des huiles essentielles.
- France-Ida J. (1996) -Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Infoessence.* 3 :5-6.
- Garland S., (1980). Le livre des herbes et des épices. Ed-Fernand Nathan, Paris, 288.
- Giani, F. Santoro., Maria, das Graças Cardoso., Luiz Gustavo L, Guimarães., Ana Paula, S. P. Salgado., Rubem, F. S. Menna-Barreto., and Maurilio, J. Soares. (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res.* 100:783–790.
- Granados –Covarrubias E.H. et Maldonado L.A. (2009). A Wacker Cook synthesis of isoflavones : formononetin. *Tetrahedron Letters.* 50 : 1542 -1545.
- Gulluce M., Şahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. & Ozkan H., (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chem.* 103: 1449–1456.
- Hadi M. (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Mémoire doctorat. Option Pharmacochimie. Université Louis Pasteur. Strasbourg. 155 p.
- Heitz F (2017) éditions France agricole aromathérapie pour les ruminants.

- Kechar, K., et Hellal, B. (2016). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Ballota hirsuta* Benth du Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 13: 225–279.
- Khalfi, O., Sahraoui, N., Bentahar, F., and Boutekedjiret, C. (2008). Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf.) essential oil from Algeria. *J. Sci. Food Agric*, 88: 1562–1566.
- Khia, A., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Aberchane, M., Quaboul, B., Chaouch, A., Amusant, N., et Charrouf, Z. (2014). Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, 12: 341–347.
- Kuklinski C. (2000). *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Omega (ed.).Espagne. P. 528.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*, 85(4), 633-640.
- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote P.J. et Nychas. G.-J.E., (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 453-462.in Nedjai Ibtissem et Nedjai Salma 2017 université Abderrahmane Mira Béjaia Activité antimicrobienne des huiles essentielles.
- Martin P. (2014). *Les familles des plantes à fleurs d'Europe: botanique systématique et utilitaire*. Presses universitaires de Namur(ed.).P.221.
- Mechergui, K., Coelho, J.A., Serra, M.C., Ben Lamine, S., Boukhchina, S., and Khouja, M.L. (2010). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric*, 90: 1745–1749.
- Mechergui, K., Jaouadi, W., Coelho, J.P., and Khouja, M.L. (2016). Effect of harvest year on production, chemical composition and antioxidant activities of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* subsp *glandulosum* (Desf.) Ietswaart) growing in North Africa. *Ind.Crops Prod*, 90: 32–37.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S., and Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic Res*, 40: 223–231.
- Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadimotamed M., Ghorbani A.(2005). *Labiatae* family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*.2:63-79.

- Oszmianski J., Wojdylo A., Lamer-Zarawska E. et Swiader K. (2007). Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chemistry*. 100 : 579–583.
- Ozkan G., Sagdic O., Baydar N.G et Baydar H., (2003). Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Food science and technology international*, 9, 85-88.
- Padulosi S., (1997). *Oregano*. proceedings of the IPGRI international workshop on oregano, valenzano (Bari), Italy; IPGRI: rome, Italy.
- Pardini F ; Lucheroni M.T (1996) : le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi.
- Ponce, A.G., Fritz, R., De valle, C. and Roura, S.I (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. *Lebensm- Wiss. u. Technol* 36 :679-684.
- Quezel P., Santa S. (1962-1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales*. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS(ed.). Paris. P. 1170.
- Reynolds J. (1996). *The Extra Pharmacopoeia*, 31st edition. Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, London in Nedjai Ibtissem et Nedjai Salma 2017 université Abderrahmane Mira Béjaia *Activité antimicrobienne des huiles essentielles*.
- Richard H., (1992). *Epices et aromates*. Lavoisier, paris, 339p.
- Roux, D ; et Cartier, O. (2007). *Botanique pharmacognosie phytothérapie*. Wolters kluwer France.
- Ruberto G. & Baratta M.T., (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 69: 167–174.
- Ruberto G., Baratta M.T., Sari M. et Kaabeche M., (2002). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 251-254.
- Sagdic, O. and M. Ozcan. (2003). "Antibacterial Activity of Turkish Spice Hydrosols." *Food Control* 14:141–43. in M. Yann-Olivier Marie Hay 2015 institut national polytechnique de Toulouse-la complexité des simples-caractérisations chimique et biologique de combinaison hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits de produits phytothérapeutiques.

- Sahin, F., Gulluce , M., Daferera, D., Sokmen , A., Sokmen, M., Polissiou,M.Agar, G.et Ozer, H.(2004).Biological activities ofthe essential oil and Methanolextract ofOriganumvulgaressp. vulgar in the Eastern Anatolia region of Turkey.FoodControl.15:549-557
- Sahraoui N., Bentahar F. & Boutekedjiret C., (2007). Analytic study of the essential oil of Origanum glandulosum (Desf.) from Algeria. J. Essent. Oil Bear. Pl. 10(2): 145 – 150.
- Saija A., Daquino C. & Ruberto G.,(2006). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of several populations of Algerian Origanum glandulosum Desf. Flavour Frag. J. 21: 890–898.
- Salle JL. (1991). Le totum en phytothérapie : approche de phyto-biothérapie. Edition frison-roche, paris, pp: 12-35.
- Sari M., Biondi D.M., Kaabeche M., Mandalari G., Manuela D'Arrigo M., Bisignano G.,
- Schuhmacher A and Reichlingp., (2003). virrucidal effect of peppermint –oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type1 and type 2 In vitro.phytomedicine10 .504-510.
- Semra I., Benmerache A., Chibani S., Kabouche A., Abuhamdah S. & Kabouche Z., (2013). Composition and antioxidant activity of the essential oil of Origanum glandulosum Desf. from Algeria. Der Pharmacia Lettre. 5(3): 381-385.
- Skerget M., Katnik P., Hadolin M., Hros A.R., Simonic et KnezZ .(2005). Phenols, proanthoyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidants activites. Food chemistry. 89:191-198.
- Souza, K. S., J. S. Chaar, K. M. T. Oliveira, E. O. Gomes, and C. N. Portela. (2007). “Atividade Biológica de Extratos, Hidrolatos E Óleos Voláteis de Pau-Rosa (Aniba Duckei Kostermans) E Quantificação Do Linalol No Hidrolato de Folhas.” Rev. Bras. Pl. Med. 9:1–7.
- Spiridon L.,Bodirlau R ., Teaca C A . (2011) .Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine.Central European Journal of Biologie.8:388-396.
- Taofiq, O., Martins, A., Barreiro, M.F., and Ferreira, I.C.F.R. (2016). Antiinflammatory potential of mushroom extracts and isolated metabolites. Trend. Food Sci.Technol, 50: 193–210.

- Teixeira-Duarte M.C ,Mara figueira G. and Sartorutto A.,(2005).Anticandida activity of brazilain medicinal plants.journal of ethanopharmacology,97,305-311.
- Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of food engineering*, 66(4), 447- 454..
- Tharib S.M., Gnan S.O. & Veitch G.B.A.(1983). Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J. Food. Prot.* 46: 681-685.
- Ultee A., Kets E.P.W. & Smid E.J., (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.* 65(10): 4606-4610.
- Ultee A., Bennink M.H.J. & Moezelaar R., (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ Microbiol.* 68(4): 1561–1568.
- Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., and Kunz, W. (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chim*, 19: 754–765. Xia E.K.Deng G.F., Guo Y.J. et Li H .B.(2010). Biological Activities of Polyphénols from Grapes .*International Journal of Molecular Sciences.* 11 : 622-646.
- Yann. M –olivier., Hay M .,(2015)institut national polytechnique de Toulouse-la complexité des simples-caractérisations chimique et biologique de combinaison hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l’objectivation d’effets conservateurs de produits de produits phytothérapeutiques.
- Zieliński, H., Zielińska, D., and Kostyra H. (2012). Antioxidant capacity of a new crispy type food products determined by up dated analytical strategies. *Food Chem*, 130: 1098- 1104.

Les annexes

Annexe 01

Screening phytochimique :

Screening de l'huile essentielle :



Figure07: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des anthocyanes dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*



Figure08: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des tanins dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*



Figure09: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des tannins galliques dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*



Figure10: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des alcaloïdes dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*

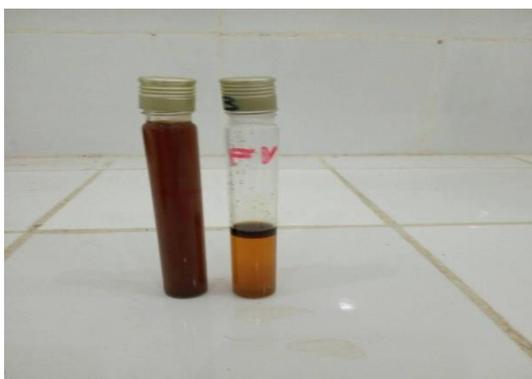


Figure11: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des flavonoides dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*



Figure12: Résultats du screening phytochimique révélant la présence du mucilage dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*



Figure13: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des glucosides dans la poudre d'*Origanum glandulosum*

Figure14: Résultats du screening phytochimique révélant la présence des tannins cathéchiqes dans l'infusé d'*Origanum glandulosum*

Analyse phytochimique de l'hydrolat:

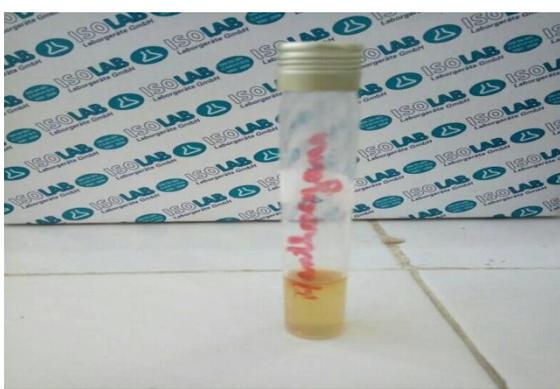


Figure15: Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des anthocyanes dans l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*



Figure16: Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des tanins dans l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*



Figure17: Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des tannins galliques dans l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*

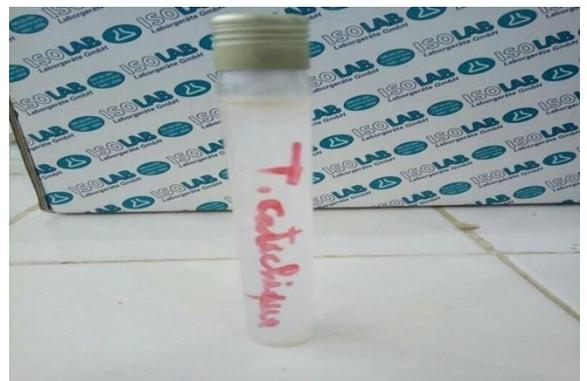


Figure18: Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des tannins cathéchiqes dans l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*



Figure19: Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des mucilages dans l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*



Figure20: Résultats du screening phytochimique révélant l'absence des flavonoides dans l'hydrolat d'*Origanum glandulosum*

Annexe 02

Activité antioxydante :

Activité antioxydante de l'huile essentielle :



Figure 21 : Résultats de l'activité antioxydant des huile essentielle dans les tube a essai.

Activité antioxydante de l'hydrolat :

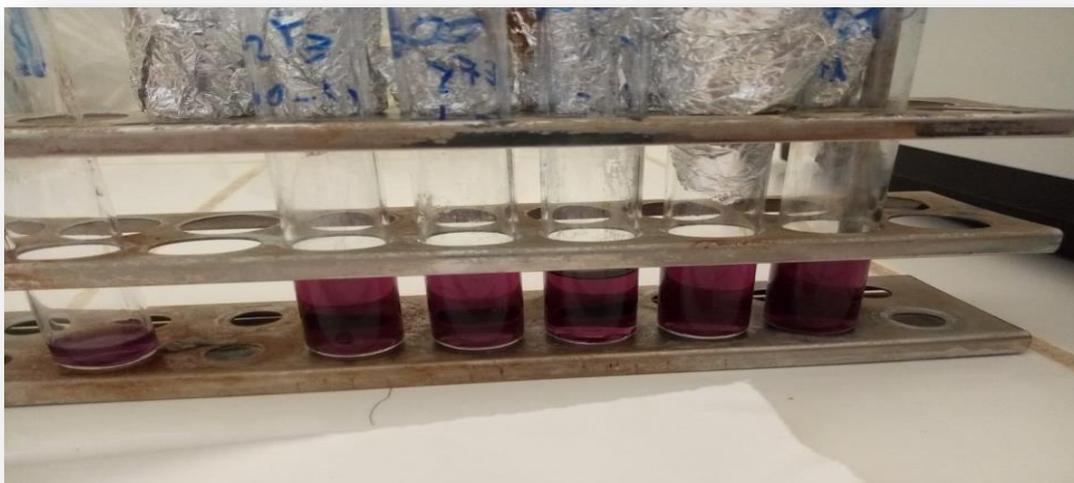


Figure 22 : Résultats de l'activité antioxydant de l'hydrolat dans les tubes à essai.

Annexe 03

Activité antimicrobienne :

Les milieux de culture :

Le milieu de culture utilisé pour la culture des bactéries est la gélose TSA.

Pour la culture des levures et moisissures le milieu utilisé est la gélose sabouraud.

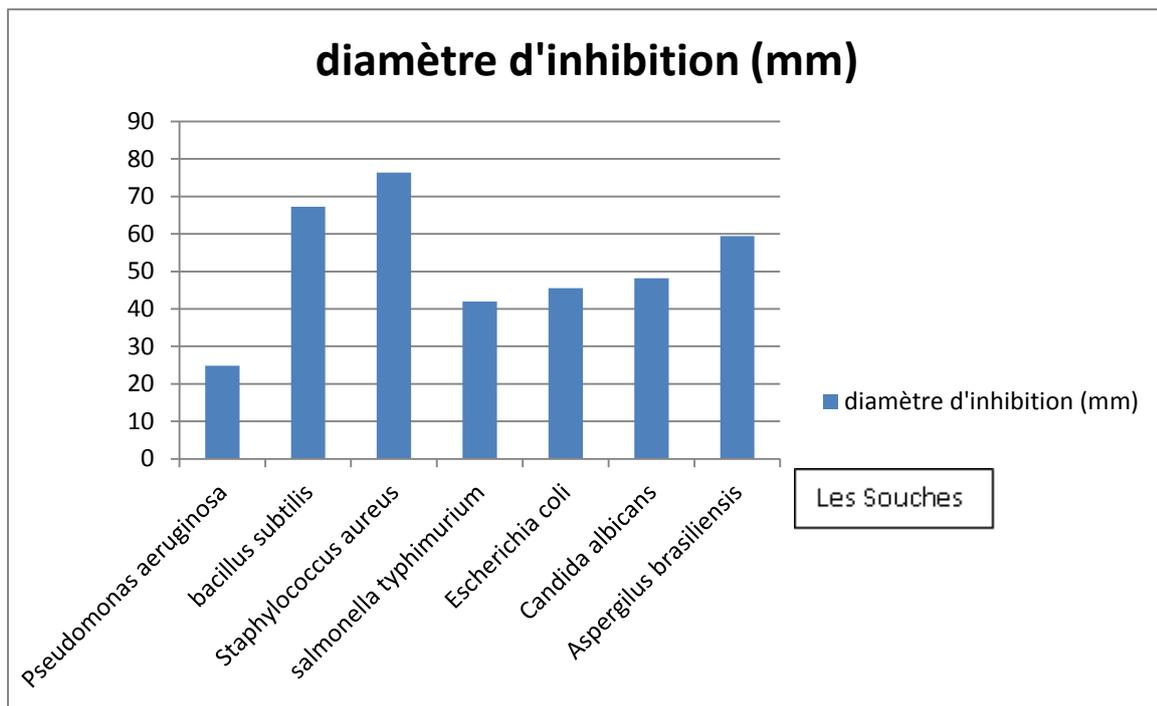
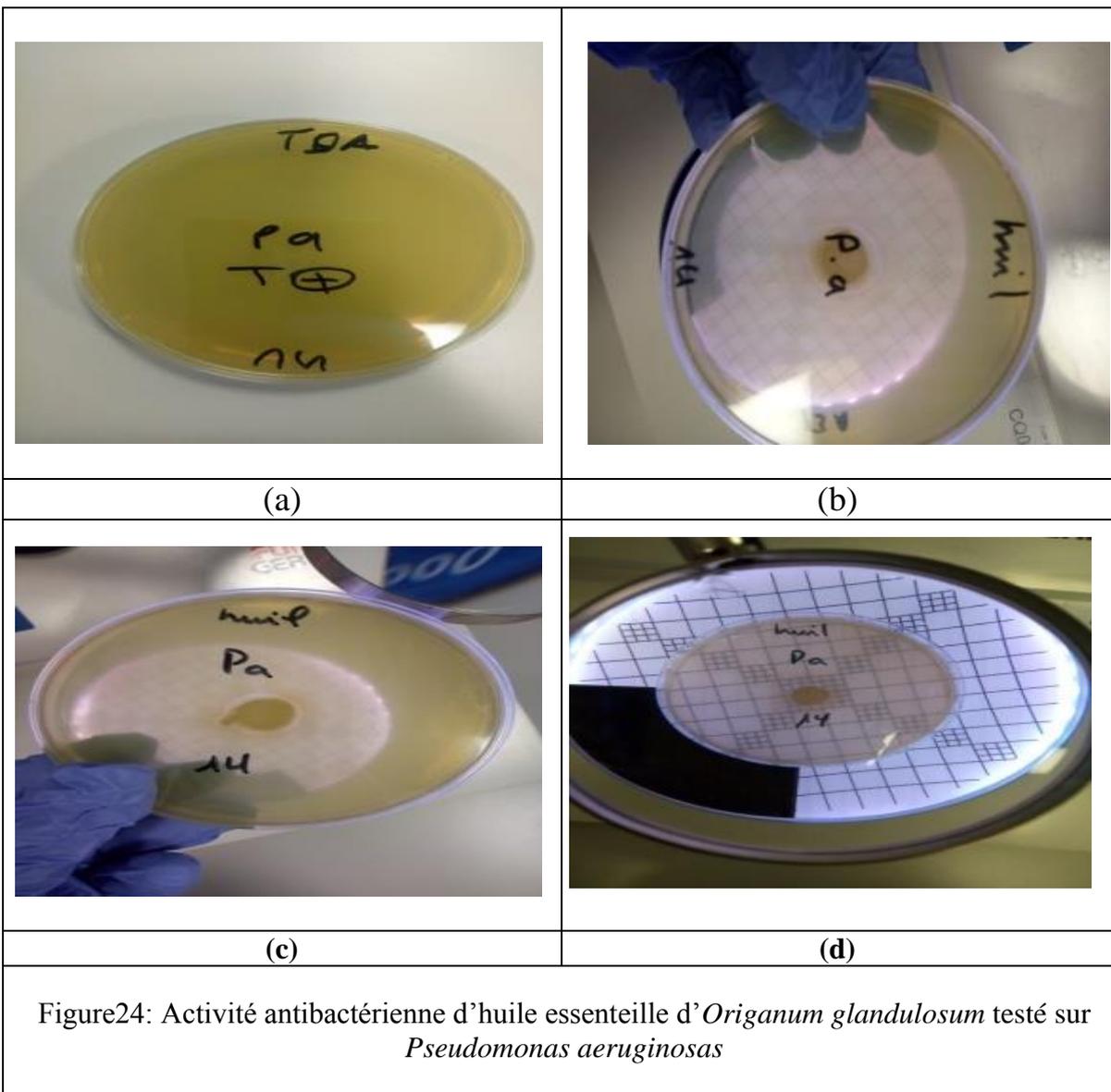
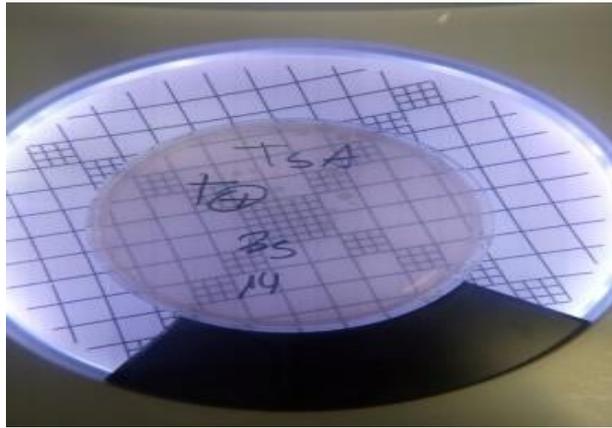
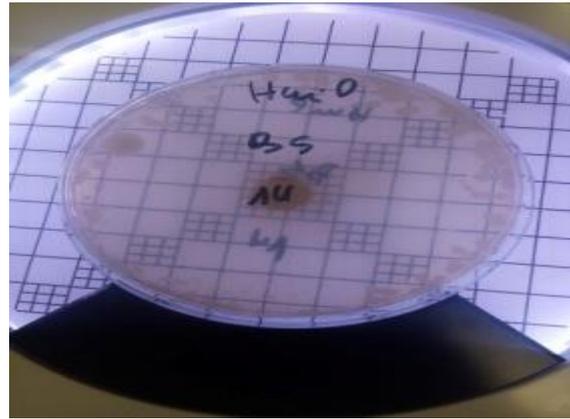


Figure23 : Diamètre des zones d'inhibition de chacune des souches étudiées.

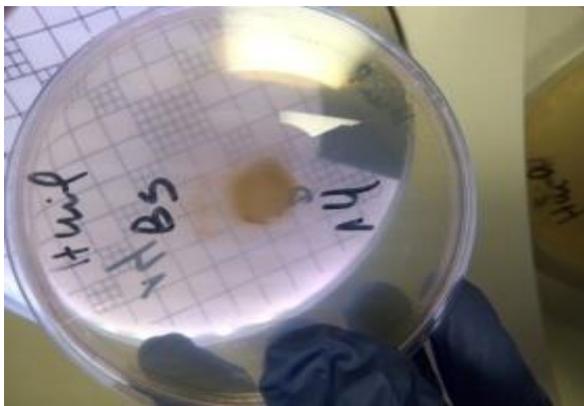




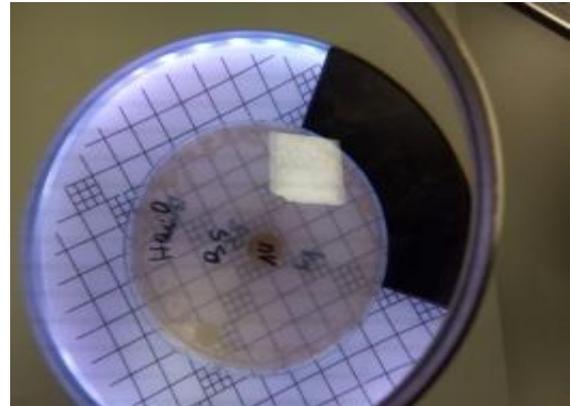
(a)



(b)

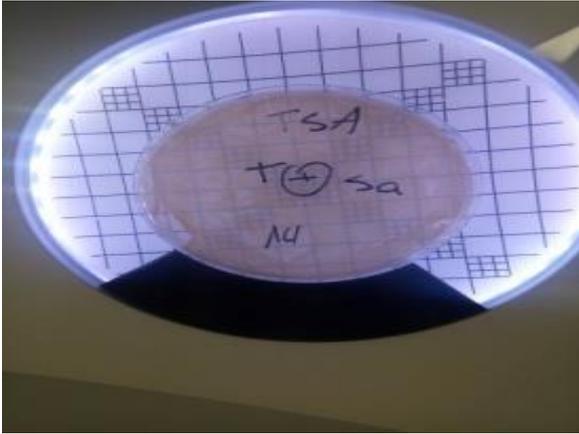


(c)

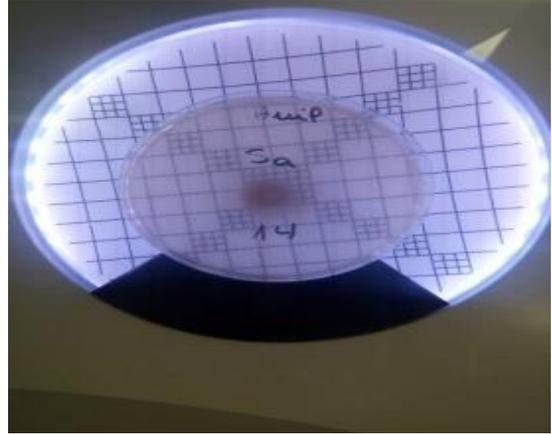


(d)

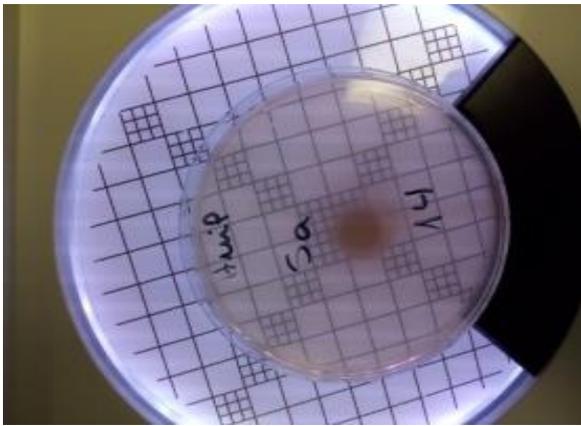
Figure25 : Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* testé sur *Bacillus subtilis*



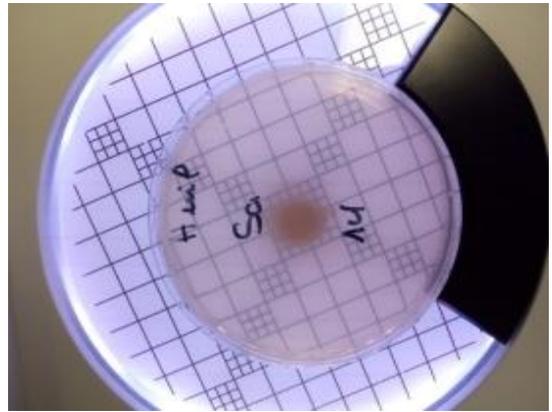
(a)



(b)

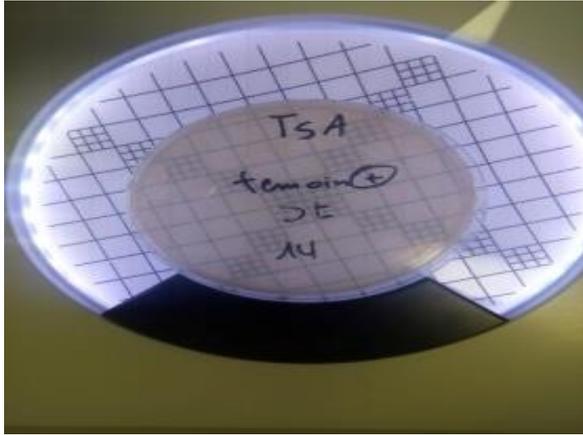


(c)



(d)

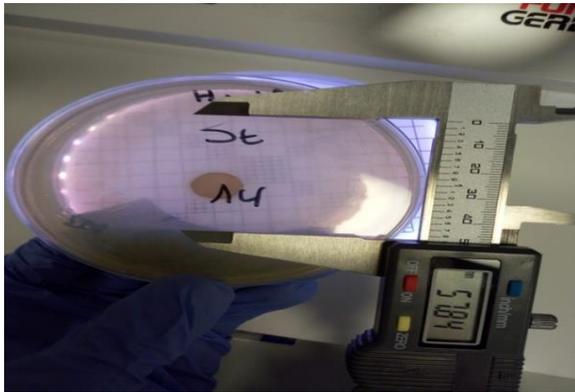
Figure26 : Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* testé sur *Staphylococcus aureus*



(a)

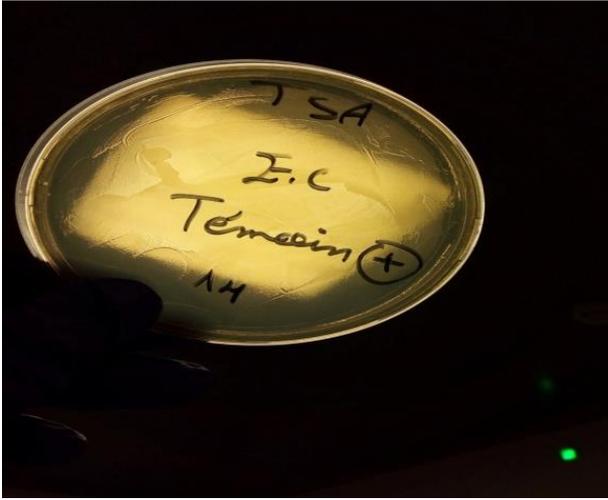


(b)

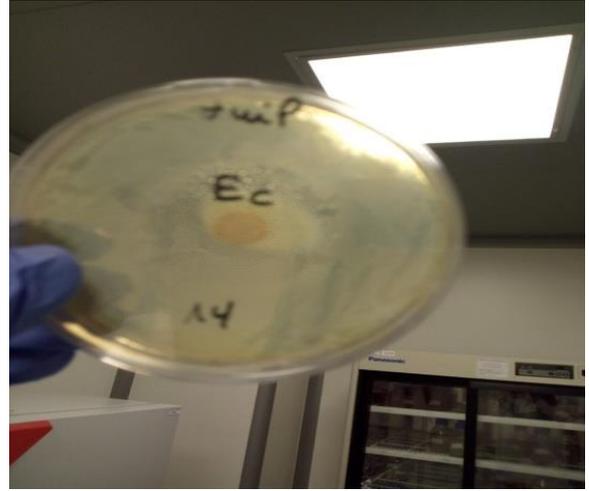


(c)

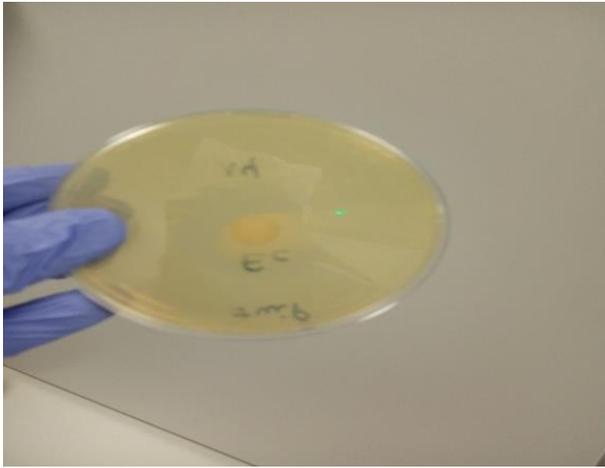
Figure 27 : Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* testé sur *Salmonella thyphimurium*



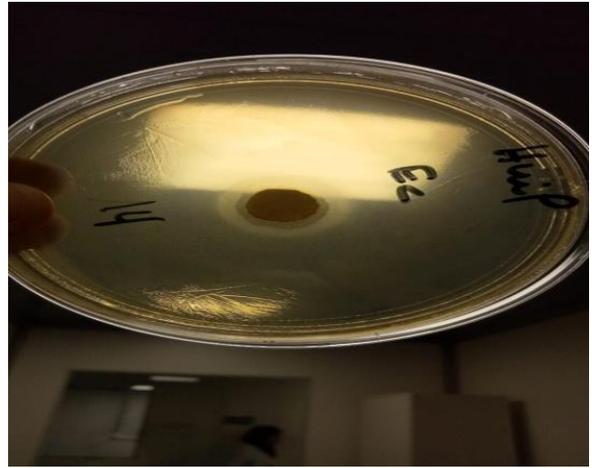
(a)



(b)

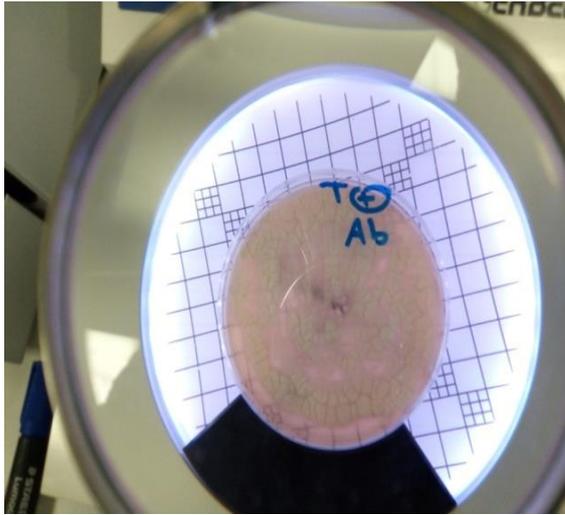


(c)

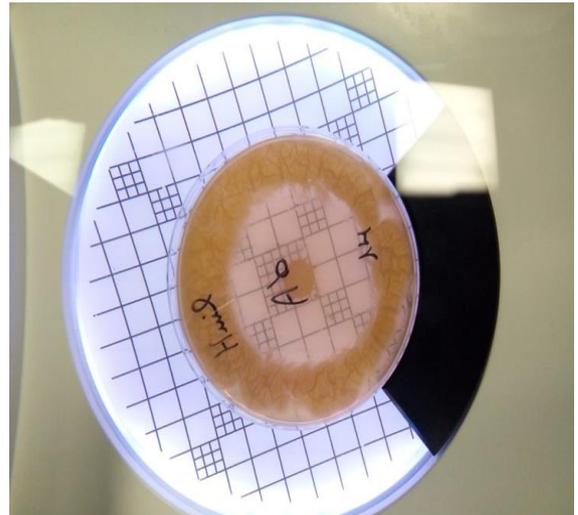


(d)

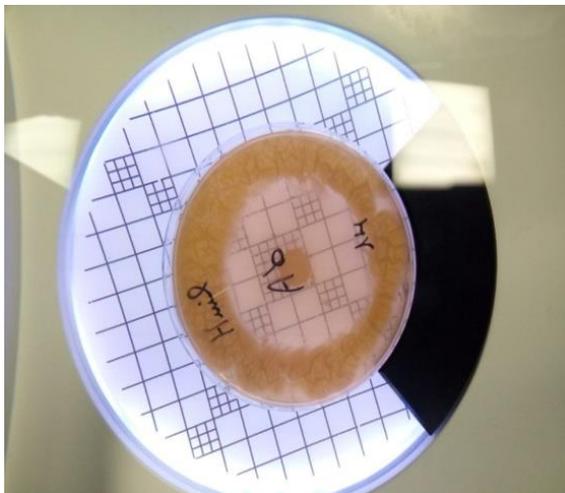
Figure28: Activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* testé sur *Escherichia coli*



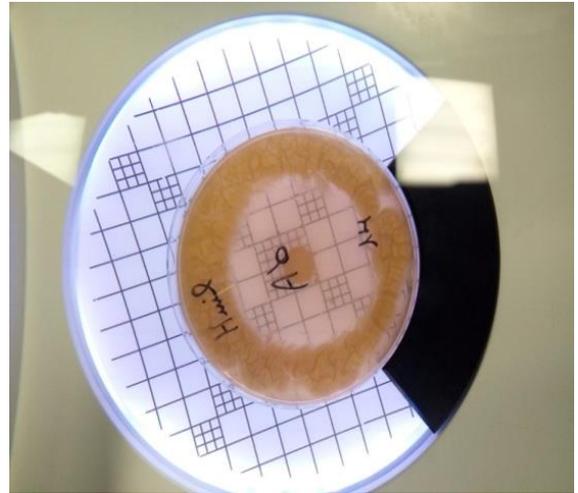
(a)



(b)

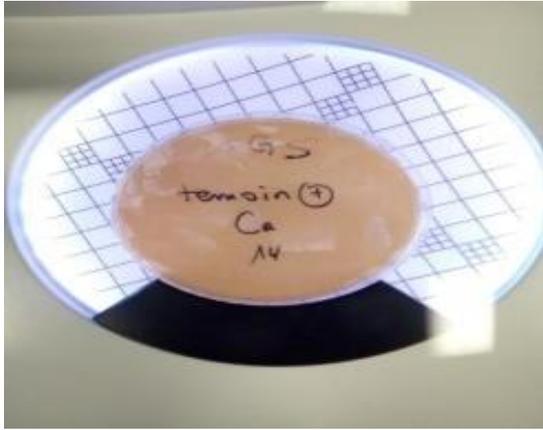


(c)

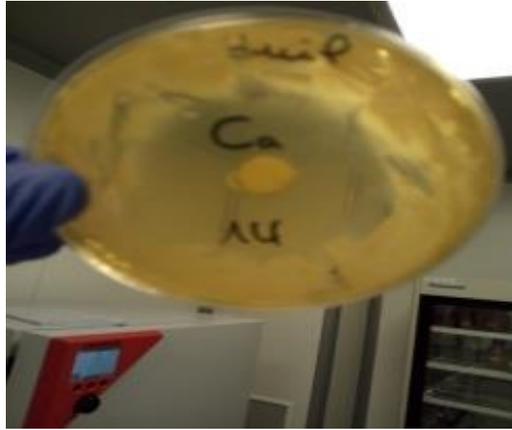


(d)

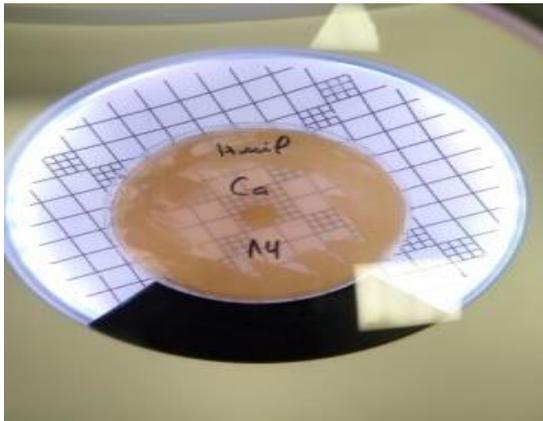
Figure29 : Activité antifongique d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* testé sur *Aspergillus brasiliensis*



(a)

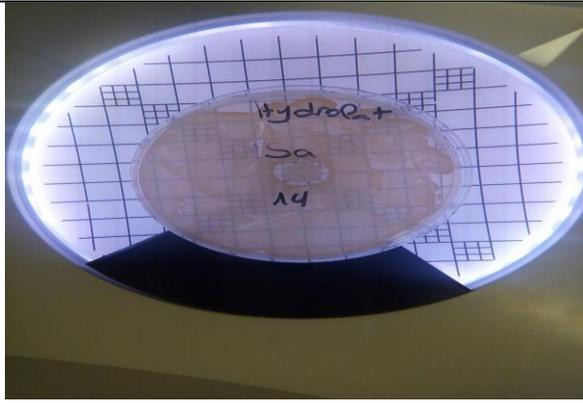


(b)



(c)

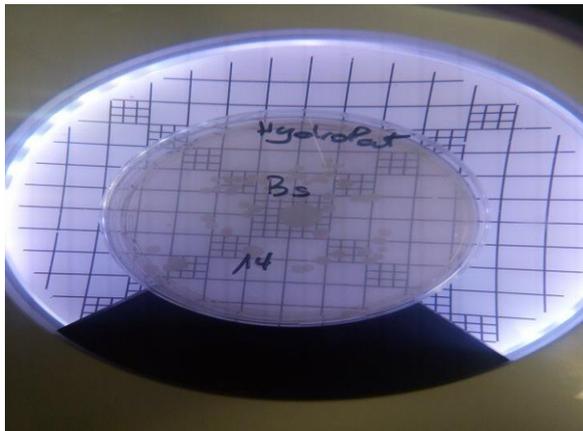
Figure30 : Activité antifongique d'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* testé sur *Candida albicans*



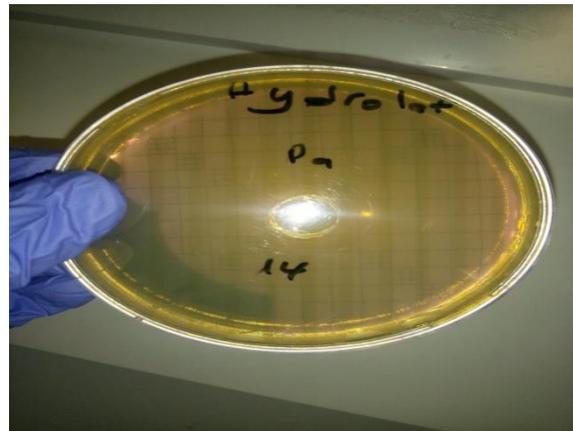
(a)



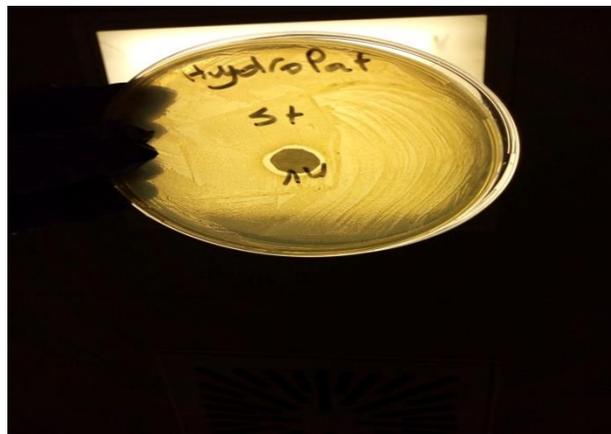
(b)



(c)



(d)

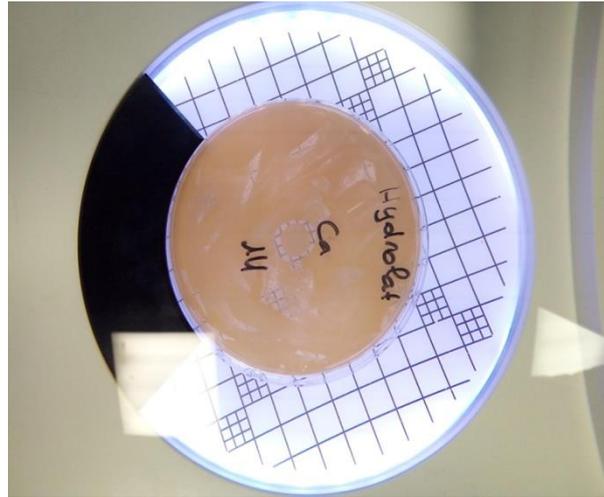


(e)

Figure31 : Activité antibactérienne d'hydrolat d'*Origanum glandulosum* testé sur les souches *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhimurium*



(a)



(b)

Figure32 : Activité antifongique d'hydrolat d'*Origanum glandulosum* testé sur les souches *Aspergillus brasiliensis* et *Candida albicans*