



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
Université Echahid Echeikh Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de
la Vie
Département de Biologie Appliquée



MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème:

**Étude des caractéristiques physico-chimiques de l'huile
essentielle de *Salvia officinalis* et évaluation de son
potentiel antioxydant et antibactérien**

Présenté par :

Mlle. Lemita Douaa

Mlle. Mellak Ghada

Devant le jury :

Mr. Rouabhi Rachid	Professeur	President	Tébessa
Mr. Djabri Belgacem	Professeur	Rapporteur	Tébessa
Mme. Bouguerra Nadia	MAB	Co-encadreur	Tébessa
Mme Benhadj Mabrouka	MCA	Examinatrice	Tébessa

Année universitaire
2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*« Qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas
besoin d'un médecin » latin salvare*

Résumé

Cette présente étude a pour but de déterminer les caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles extraites à partir d'une plante médicinale et aromatique *Salvia officinalis* (Lamiaceae), et d'évaluer leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes vis-à-vis des bactéries isolées de la pathologie infectieuse.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation de type Clevenger. Certaines caractéristiques physicochimiques des HEs de *Salvia officinalis* (densité relative, couleur, miscibilité, indice d'acide, indice de peroxyde) ont été mesurées. L'activité antioxydante de ces HEs comparée à la vitamine C a été évaluée par l'utilisation de la méthode de réduction du radical libre DPPH. L'activité antibactérienne a été testée sur des souches bactériennes isolées à partir de la pathologie infectieuse, Gram positif : *Staphylococcus aureus* et Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*.

Le rendement en huiles essentielles du *Salvia officinalis* était de 1,73%. Les caractéristiques physicochimiques de ces HEs étaient comme suit : densité relative = 1g/mL, couleur=45.69, miscibilité= 3ml , indice d'acide=0.28, indice de peroxyde= 1.79 méq.O₂ / kg. L'étude de l'activité antioxydante montre que les HEs de *Salvia officinalis* possèdent une bonne activité antioxydante comparable à celle obtenue par la vit.C (CI₅₀=581.88 µg/mL vs 439.45 µg/mL). En ce qui concerne, le pouvoir antimicrobien des HEs de *Salvia officinalis* par la méthode de diffusion sur milieu solide montrent que nos HEs possèdent une excellente activité contre les souches des *S.aureus* par contre, il s'est révélé inactif vis à vis les *Pseudomonas* et les Enterocoques.

Ce travail montre que les HEs de *Salvia officinalis* peut être recommandée dans quelque schémas thérapeutique des infections bactériennes à *Staphylococcus* ou de maladies générées par un stress oxydatif.

Mots-clés : Huiles essentielles, *Salvia officinalis*, rendement, Caractéristiques physico-chimique, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

The present study was conducted in order to determine the physico-chemical characteristics of the essential oils extracts from the aromatic and medicinal plant, *Salvia officinalis* (Lamiaceae) and to assess their antioxidant and antimicrobial activities against bacterial strains isolated from the infectious pathology.

The extraction of essential oils was carried out by Clevenger type hydrodistillation. Certain physicochemical characteristics of *Salvia officinalis* EOs (relative density, color, miscibility, acid number, peroxide number) were measured. The antioxidant activity of these EOs compared to vitamin C was evaluated using the DPPH free radical reduction method. The antibacterial activity was tested on bacterial strains isolated from the infectious pathology, Gram positive: *Staphylococcus aureus* and Gram negative: *Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli*.

The yield of essential oils extracts from *Salvia officinalis* was 1.73%. Characteristics physicochemical properties of these EOs were as follows: relative density = 1g/mL, color = 45.69, miscibility = 3ml, acid number = 0.28, peroxide number = 1.79 méq.O₂/kg. The study of antioxidant activity shows that the EOs of *Salvia officinalis* have a good antioxidant activity comparable to that obtained by vit.C (CI₅₀ = 581.88 mg/mL vs 439.45 Mg/mL). Regarding the antimicrobial property of *Salvia officinalis* EOs by the diffusion method on solid medium show that our EOs have an excellent activity against *S. aureus* strains, however, it was found to be inactive against *Pseudomonas* and *Enterococci*. This work shows that *Salvia officinalis* EOs can be recommended in some treatment regimens for *Staphylococcus* bacterial infections or diseases caused by oxidative stress.

Keywords: Essential oils, *Salvia officinalis*, yield, physicochemical characteristics, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص

يركز عملنا على استخلاص الزيوت الأساسية العطرية من نبات الميرمية وتحديد خصائصها الفيزيائية والكيميائية ودراسة أنشطتها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات. تم إجراء استخلاص الزيوت العطرية بواسطة التقطير المائي من نوع كليفنجر. تم قياس بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت الأساسي للميرمية (الكثافة النسبية، اللون، القابلية للامتزاج، عدد الحمض، عدد البيروكسيد). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة لهذه العناصر الإلكترونية مقارنة بفيتامين C باستخدام طريقة تقليل الجذور الحرة DPPH. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على سلالات بكتيرية معزولة من الأمراض المعدية، إيجابية الجرام: المكورات العنقودية الذهبية وسالبة الجرام: الزائفة الزنجارية والإشريكية القولونية. وكان العائد من الزيوت الأساسية من الميرمية 1.73%. وكانت الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذا الزيت الأساسي كما يلي: الكثافة النسبية = 1 جم / مل، اللون = 45.69، قابلية الميل = 3 مل، رقم الحمض = 0.28، رقم البيروكسيد = 1.79 mg/kg. أظهرت دراسة نشاط مضادات الأكسدة أن الزيت الأساسي للميرمية لها نشاط مضاد للأكسدة جيد مقارنة بالنشاط الذي حصل عليه فيتامين (IC50 = 581.88 ميكروجرام/مل مقابل 439.45 ميكروجرام/مل). فيما يتعلق بالقدرة المضادة للميكروبات لزيت أساسي للميرمية من خلال طريقة الانتشار على وسط صلب، تبين أن الزيت الأساسي لديه نشاط ممتاز ضد سلالات *S.aureus* ومع ذلك، فقد وجد أنها غير نشطة ضد *Pseudomonas* و *Enterococci*. يوضح هذا العمل أنه يمكن التوصية بالزيت الأساسي للميرمية في بعض أنظمة العلاج للعدوى البكتيرية بالمكورات العنقودية أو الأمراض الناجمة عن الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية، الميرمية المخزنية، المحصول، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم.

Remerciement

Nous remercions en tout premier lieu Allah, qui nous a donné le courage, la volonté et la patience de mener à bien ce travail.

En second lieu, nous tenons à remercier Pr Djabri Belgacem d'avoir accepté de nous encadrer et de réaliser ce modeste travail

Nos remerciements adressés également à Dr Nadia Bouguerra, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lesquels ce travail n'aurait pas pu être mené.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions, ainsi que les enseignants de la faculté de SNV et tous les membres de l'université de Echahid Chikh Larbi Tebessi en générale.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

A mes parents, Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, je veux que vous sachiez que la tendresse et l'amour que vous m'avez portés ont beaucoup compté pour moi tout au long de ma vie, vous êtes mes modèles de vie pour toujours, je me sens tellement respecté et béni de vous avoir dans ma vie, je vous aime beaucoup.

A mon frère Ahmed, Je voulais juste te dire merci pour tout ton soutien. Tu as été un pilier pour moi et je suis tellement reconnaissante de t'avoir dans ma vie.

À mes sœurs Salsabil et Abir, qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur dans la famille, merci pour votre amour, votre gentillesse et votre générosité envers moi. Je vous adore, mes petits cœurs.

A mon fiancé Haithem, Merci d'exister et de me rendre meilleure. De m'aimer et de ne jamais avoir voulu me changer. D'être là dans les bons et les moins bons moments.

A ma meilleure amie Bissa, tu étais là pour me reconforter et m'aider à trouver des solutions. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi, j'ai toujours compté sur toi. Tu es une deuxième sœur pour moi.

À ma binôme Ghada, complice précieuse de ce voyage intellectuel. Entre les heures passées à rechercher, les débats animés et les moments de découragement, notre partenariat a été le pilier de notre réussite. Ta persévérance, ton soutien et ta créativité ont enrichi chaque étape. Cette mémoire témoigne non seulement de nos efforts conjoints, mais aussi de notre amitié durable. Merci pour cette expérience inoubliable.

À mon amie Manel, Ta simplicité et ton amitié sincère ont été des piliers essentiels dans l'accomplissement de ce mémoire. Merci pour ta présence inspirante et ton soutien inestimable.

"Je vous remercie tous et restez un soutien pour moi." Douaa

Dédicace

Louange à Dieu qui nous a aidés à terminer ce travail et nous a donné la
force de le faire.

C'est avec grand plaisir que je dédie cet humble travail A mon père
Pour son soutien et son amour, je dédie toute ma vie à ma mère, car sans toi
je ne serais pas qui je suis aujourd'hui.

À cher fiancé Karim pour la patience et le soutien dont il a fait preuve
pendant toute la durée de ce travail.

À ma grande sœur Nadjla

À mes frères Haithem et Ayoub

À Dr.Bouguerra Nadia pour son encadrement, sa patience et sa confiance
tout au long de ce modeste travail

À mes amis: Douaa et Loubna

Ghada

SOMMAIRE

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Remerciement	
Dédicace	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	1
Chapitre 01: LES MOLECULES BIOACTIVES D'ORIGINE VEGETALES.....	4
I.1. Huiles essentielles.....	5
I.1.1. Définition.....	5
I.1.2. Localisation des huiles essentielles.....	5
I.1.3. Caractérisation et rôle physiologique des huiles essentielles.....	6
I.1.4. Techniques d'extractions des huiles essentielles.....	7
I.1.4.1. Hydrodistillation simple.....	7
I.1.4.2. Entraînement à la vapeur.....	9
I.1.4.3. Percolation.....	9
I.1.4.4. Enflourage.....	10
I.1.4.5. Extraction par micro-onde.....	10
I.1.5. Rendement en huile essentielle.....	11
I.1.6. Compositions chimiques des huiles essentielles.....	12
I.1.6.1. Les terpènes.....	12
I.1.6.2. Les polyterpènes.....	13
I.1.6.2. Les composés aromatiques dérivés de phenylpropane.....	14
I.1.7. Facteurs influençant la composition chimique.....	14
I.1.7.1. Facteurs extrinsèques.....	14
I.1.7.2. Facteurs intrinsèques.....	15
I.1.7.3. Facteurs technologiques.....	16
I.1.8. Activités biologiques des huiles essentielles.....	17
I.1.8.1. Activité antibactérienne.....	17
I.1.8.2. Activité antifongique.....	18
I.1.8.3. Activité anti-oxydante.....	18
Chapitre 02 : SALVIA OFFICINALIS ET ACTIVITES BIOLOGIQUES.....	19
II.1. Plantes médicinales.....	21
II.2. Famille des Lamiacées.....	21
II.3. Le genre <i>Salvia</i>	22
II.4. Espèce de <i>Salvia Officinalis</i>	22
II.5. Nomenclature.....	23
II.6. Classification.....	24
II.7. Description morphologique.....	24
II.7.1. Les tiges.....	24
II.7.2. Les feuilles.....	25
II.7.3. Les fleurs.....	25
II.7.4. Les fruits.....	26
II.8. Ecophysiologie et répartition géographique.....	26
II.9. Usage de <i>Salvia Officinalis</i>	27
II.9.1. Usage médicinal et pharmaceutique.....	27
II.9.2. Usages cosmétologiques.....	28
II.9.3 Usages alimentaires.....	28
II.10. Les principaux composants de la <i>salvia officinalis</i>	28
II.11. Principes actifs de la <i>Salvia Officinalis</i>	30
II.12. Activités biologiques des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i>	30
II.12.1. Activité antibactérienne.....	30
II.12.2. Activité antioxydante.....	31
II.12.3. Activité anti-inflammatoire.....	31
II.12.4. Autres activités.....	31
II.13. Toxicité.....	32

Matériel et méthodes	33
III. Méthode d'analyse	34
III.1. Extraction des huiles essentielles	34
III. 1.1. Matériel végétal	34
III. 1.2. Matériel d'extraction	35
III. 1.3. Procédé d'extraction	35
III. 1.4. Calcul du rendement de l'huile essentielle	36
P A : Poids de la matière sèche de la plante en g	36
III.2. Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles	36
III.2.1. Mesures des indices chimiques	36
III.2.1.1. Indice d'acide	36
C : concentration en mol/l de la solution de KOH	37
III.2.2. Mesure des indices physiques	39
III.2.2.3. Miscibilité dans l'éthanol	41
II.3. Evaluation de l'activité biologique	41
III.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante	41
III.3.1.1. Matériel et réactif	42
III.3.1.2. Mode opératoire	43
III.3.1.4. Détermination del'IC50	44
III.3.2. Matériel	44
III.3.2.2. Test d'activité antibactérienne	45
Résultats et discussion	49
VI. RÉSULTATS.....	50
VI.2. Propriétés organoleptiques et rendement des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i>	50
VI.3.1. Caractères physiques	51
VI.3.2. Caractères chimiques	51
VI.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>S. officinalis</i>	55
VI.5.1. Récupération des souches bactériennes	55
VI.5.2. Aromatogramme des huiles essentielles de <i>S. officinalis</i>	55
VI.5. 3. Antibiogramme des huiles essentielles de <i>S. officinalis</i>	56
IV.5.4. Résultats de la détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques	57
VI.5.5. Etude comparative de l'activité des huiles essentielles de <i>S. officinalis</i> et des antibiotiques	57
V. DISCUSSION GENERALE	59
IV. CONCLUSION	52
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	69

LISTE DES FIGURES

Figure N°	Titre	Page
01	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile	08
02	Montage d'extraction par entrainement a la vapeur d'eau	09
03	Extraction par percolation	09
04	Enfleurage	10
05	Extraction par enfleurage	10
06	Extraction par micro-ondes	11
07	Famille lamiacée La plante	21
08	<i>Salvia officinalis</i>	22
09	Sauge - <i>Salvia officinalis</i>	23
10	<i>Salvia officinalis</i>	24
11	Tige de <i>Salvia officinalis</i>	25
12	Feuilles de <i>Salvia officinalis</i> (face inferieure)	25
13	Feuilles de <i>Salvia officinalis</i> (face supérieure)	25
14	Fleure du <i>Salvia officinalis</i>	26
15	Fleure du <i>Salvia officinalis</i>	26
16	Graine du <i>salvia officinalis</i>	26
17	La répartition géographique de la plante dans le monde	27
18	Séchage de <i>Salvia officinalis</i>	34
19	Broyage de <i>Salvia officinalis</i>	34
20	Hydro-distillation type Clevenger	35
21	Matériel utilisé pour l'indice d'acide	37
22	Solution HE & éthanolique d'hydroxyde de potassium	37
23	Solution Rose	37
24	Matériel utilisé pour l'indice de peroxide	38
25	Iodure de potassuim	38
26	Empois d'amidon	38
27	L'essai	39
28	L'essai a blanc	39
29	La mesure de la couleur d'HE	40
30	Spectrophotomètre UV-Visible	40
31	Les étapes de la densité relative	40
32	Burette	41
33	Solution limpide	41
34	Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryldrazyl)	42
35	Les étapes de test de l'activité antioxydant d'HE de <i>Salvia officinalis</i>	43
36	Activité anti-bactérienne	45
37	Huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	47
38	Réduction de DPPH par l'acide ascorbique (Vit C)	50

39	Réduction de DPPH par les HEs de <i>Salvia officinalis</i>	52
40	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (vit.C)	54
41	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations des HEs de <i>Salvia officinalis</i>	54
42	Souches bactériennes testées (<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>)	55
43	Zones d'inhibition des HEs de <i>Salvia officinalis</i>	56
44	Zones d'inhibition des antibiotiques contre les <i>S. aureus</i> testés	57
45	Zones d'inhibition des antibiotiques contre les <i>Pseudomonas aeruginosa</i> testés	57
46	Résultats de validation des tests	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°	Titre	Page
01	Classification de <i>Salvia officinalis</i>	24
02	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i>	29
03	Les valeurs nutritives de la Saugé	30
04	Liste d'appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction	35
05	Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH	42
06	Matériels de l'activité antibactérienne	45
07	Interpretation des diametres de l'aromatogramme	47
08	Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrer avec différents antibiotiques.	48
09	Propriétés organoleptiques d'HE du <i>salvia officinalis</i>	50
10	Indices des paramètres physiques	51
11	Indices des paramètres chimiques	51
12	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par la vit C et les HEs de <i>Salvia officinalis</i>	53
13	Détermination des diamètres de la zone d'inhibition (mm) des HEs vis a visles differentes souches testes	55
14	Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis a visles differentes souches testes	56

LISTE DES ABRÉVIATIONS

(-)	Résistante
(+)	Sensibilité limitée
(++)	Sensibilité moyenne.
(++)	Très sensible
Ab	Absorbance de la témoin
As	Absorbance du composé testé
CI50	Concentration inhibitrice 50%
d	Densité
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
E.coli	Escherichia coli
G	Gramme
H	Heur
H	Heur
HE	Huile essentielle
I%	pourcentage d'inhibition
mg	Mili gramme
Min	Minute
ml	Mili litre
mm	Mili mètre
Na ;SO4	Sulfate de sodium
PA	Poid de matière sèche
PB	Poid de HE
R	Rendment
RI	Indice de refraction

UV	Ultra-violet
Vit C	Acide ascorbique
µl	Micro litre

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Les plantes ont, toujours, fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. Les extraits des plantes étaient, déjà, connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales (**Fellah *et al.*, 2006**).

Ces dernières années, l'intérêt croissant de l'utilisation des anti acaricides, des antioxydants et des antimicrobiens naturels a approuvé de nombreux chercheurs à s'intéresser aux composés actifs issus des matières végétales qui occupent de plus en plus une place importante dans le domaine thérapeutique. En effet, les plantes médicinales constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit (**Bezzina & Charaoui, 2017**). La famille des lamiacées est connue par ces propriétés antiseptiques désinfectantes, antimicrobien, acaricides et par leur effet antioxydant. La sauge est l'une des plusieurs plantes de la famille lamiacées dont on trouve plusieurs espèces de sauge utilisées : sauge officinale (*Salvia officinalis*), sauge espagnol (*Salvia Iwanduhfolia*) sauge sclarée (*Salvia sclarea*) sauge trilobée (*Sauge triloba*), la sauge rouge (*Salvia milirrhiza*) (**Iserin, 2001**). *Salvia officinalis* L. est formée de petits arbustes aux fines feuilles duveteuses (**De Figueiredo *et al.*, 2008**). Elle est bien connue en Algérie ; c'est une plante aromatique et médicinale assez largement utilisée soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait ou d'huile essentielle. À côté d'une utilisation artisanale (alimentation familiale et médecine populaire), cette plante et surtout ses huiles essentielles sont utilisées par les industries de la parfumerie et de la cosmétologie, par l'industrie alimentaire et enfin par l'industrie pharmaceutique (**Fellah *et al.*, 2006**). Une étude analogue menée par (**Hilan *et al.*, 2006**) a indiqué que l'huile essentielle de *Salvia officinalis* originaire du littoral libanais, est un liquide limpide, jaune pâle et fortement cinéoliques et celle de montagne est liquide limpide, jaune foncé et fortement cinolique. Les différences enregistrées peuvent être dues à l'origine géographique ou même au stade du cycle végétatif au moment de la récolte (**De Figueiredo *et al.* 2008**).

Plusieurs travaux ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de la sauge officinale dans différentes régions de part et d'autre du bassin méditerranéen tel que, la Yougoslavie (**Perry *et al.*, 1996**), la Bulgarie (**Tsankova *et al.*, 1994**), l'Italie (**Place & Piccaglia, 1995**) et le Maroc (**Belkamel *et al.*, 1990**) etc. En outre, l'activité antimicrobienne de cette huile est difficile à relier à un composé spécifique en raison de leur complexité et de leur variabilité. Néanmoins, certains chercheurs (**Wendakoon & Sakaguchi, 1995**) ont signalé qu'il existe une relation entre la composition chimique en éléments les plus abondants

et l'activité antimicrobienne. Les composés antioxydants naturels font actuellement l'objet de nombreuses études, à cause de leur rôle dans la piégeage des radicaux libres, conservation des denrées en industrie alimentaire et ils pourraient s'avérer utiles dans la prophylaxie ou le traitement de nombreuses pathologies (Bezzina & Charaoui, 2017).

Ce travail a eu pour objectifs de déterminer quelques effets biologiques des huiles essentielles de la sauge, de déterminer quelques caractères physiques et chimiques des extraits de la plante qui lui confèrent les propriétés thérapeutiques. Pour cela, le travail a été scindé à deux parties:

- ❖ L'une sur la recherche bibliographique sur les molécules bioactives d'origine végétales et les différentes activités biologiques des huiles essentielles extraites par *S. officinalis*.
- ❖ La deuxième partie consiste à déterminer certaines caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles extraites à partir de *Salvia officinalis* L. et d'évaluer l'activité antimicrobienne et l'activité anti-oxydante de ces huiles essentielles vis à vis des souches isolées à partir de la pathologie infectieuse.

Chapitre 01

*LES MOLECULES BIOACTIVES
D'ORIGINE VEGETALES*

I.1. Huiles essentielles

Au début du 17^{ème} siècle, **Paracelse** étudia l'extraction de ce qu'il appelait « l'âme des végétaux » sous forme de quintessence, à laquelle le nom d'esprit fut donné. Ultérieurement, ce précieux liquide reçut le nom « essence », puis celui « d'huile essentielle ». L'origine du terme « huile » trouve son explication dans la viscosité et l'hydrophobie des substances volatiles contenues dans les végétaux, qui les rendent solubles dans les huiles et les graisses. Quant à l'adjectif « essentielle », il souligne le caractère primordial des plantes à dégager des odeurs agréables et bénéfiques pour les êtres vivants.

I.1.1. Définition

L'huile essentielle, également connue sous le nom d'essence végétale, est un produit d'extrait volatile et odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie. Ces matières premières peuvent provenir de divers organes végétaux tels que les graines, les bourgeons, les fleurs, les brindilles, les écorces, le bois, les racines, les tiges ou les fruits. Elles peuvent également être obtenues à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres (**Burt, 2004**). Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes de substances volatiles constituées de plusieurs dizaines de composés, se retrouvant dans toutes les parties de la plante et dans toutes les régions climatiques du globe. Les facteurs environnementaux tels que la température, l'irradiation et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle (**Raul, 2005 ; Laurain-Mattar et al ., 2022**). Leur chimie est complexe mais, en général, elles sont un mélange de terpènes, d'alcools, d'aldéhydes, de cétones et d'esters (**Padrini & Lucheroni, 1997**). Ces composés confèrent aux huiles essentielles des propriétés et des modes d'utilisation particuliers, donnant ainsi naissance à une nouvelle branche de la phytothérapie : l'aromathérapie (**El Haib, 2011**).

I.1.2. Localisation des huiles essentielles

En principe, les huiles essentielles sont présentes dans toutes les parties d'une plante, bien que leur concentration soit souvent plus élevée dans certaines d'entre elles, notamment les brindilles, les fleurs et les graines. Il est également possible que différentes parties d'une même plante contiennent des quantités significatives d'huiles essentielles.

Ces précieuses substances sont contenues dans de minuscules glandes situées dans différentes parties de la plante aromatique. Par exemple, on les trouve dans les feuilles pour des plantes

comme le basilic et l'eucalyptus, dans les fleurs pour des variétés comme la rose, dans les fruits tels que le citron et la mandarine, dans les graines comme dans le cas de la coriandre, dans l'écorce pour des espèces comme la cannelle, et même dans les racines pour certaines plantes.

Les huiles essentielles sont sécrétées dans le cytoplasme de certaines cellules où elles forment de petites gouttelettes, typiques des substances lipophiles. Elles sont ensuite stockées dans des cavités résultant de la fusion de plusieurs cellules (**Richter, 1993**). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles s'accompagnent de structures histologiques spéciales, qui varient en fonction des familles botaniques. Parmi ces structures, on peut citer :

- ✓ Les poils sécréteurs externes des Lamiacées, situés sur les faces inférieures des feuilles.
- ✓ Les poils sécréteurs internes des Myrtacées, présents dans divers organes de la plante et parfois dans les rhizomes.
- ✓ Les poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées.
- ✓ Les cellules sécrétrices isolées des Lauracées.
- ✓ Les canaux sécréteurs des Apiacées et des Conifères.
- ✓ Les cellules sécrétrices modifiées en sacs ou en tubes huileux.

Ces réservoirs d'huiles se forment soit par division et séparation (schizogonie), soit par fragmentation et désintégration (lysogénie).

Les cellules sécrétrices sont souvent localisées à la surface de la plante (localisation exogène), près de celle-ci ou même à l'intérieur (localisation endogène). Lorsque la température est suffisamment élevée, les essences peuvent traverser la paroi cellulaire et la cuticule sous forme de vapeur vers l'extérieur, ce qui explique le parfum émanant des fleurs (**Chafaa, 2006**).

I.1.3. Caractérisation et rôle physiologique des huiles essentielles

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraîna- bles à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire (**Amiour, 2017**). Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite « eau distillée florale ». Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (**Amiour, 2017**).

Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires, par exemple les points d'ébullition du caryophylline, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°C respectivement (**Amiour, 2017**), mais d'après (**Valnet, 1984**) les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur (**Duraffourd et al., 1990 ;Tia & Adima, 2023**).

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, très réfringentes, hydrophobes, mais sont solubles dans l'éther éthylique, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'éther de pétrole, et dans l'alcool absolu, incolores ou jaunâtres, inflammables, Leur point d'ébullition se situe entre 60°et 240°C (**Padrini & Lucheroni, 2003**).

Le rôle exact des huiles essentielles dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Selon (**Bakkali et al., 2008**), les Huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante :

- ✓ Repousser ou au contraire attire les insectes pour favoriser la pollinisation.
- ✓ Comme source énergétique.
- ✓ Facilitant certaines réactions chimiques.
- ✓ Permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques.
- ✓ Réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines.
- ✓ Par protection contre la flore microbienne infectieuse.
- ✓ Action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables (**Benchaoua et al., 2021**).

I.1.4. Techniques d'extractions des huiles essentielles

I.1.4.1. Hydrodistillation simple

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 (**Bouchemma *et al.* , 2022**).

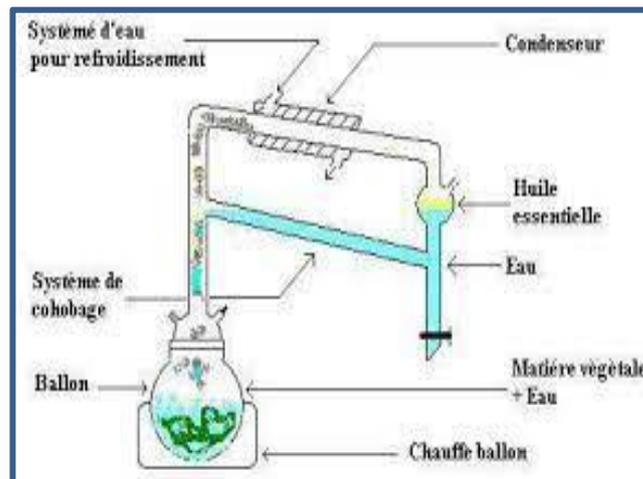


Figure 01. Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (**Hernandez, 2005**)

I.1.4.2. Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur est un procédé d'extraction des huiles essentielles qui consiste à placer de la biomasse végétale dans un alambic monté sur un ballon contenant de l'eau chauffée. La vapeur d'eau résultante traverse alors le matériau végétal, entraînant avec elle les composés volatils vers une colonne de condensation. Dans cette colonne, la vapeur se refroidit et se liquéfie, formant un mélange d'eau et d'huile essentielle. Ce mélange est recueilli dans une burette contenant de l'eau distillée. Par la suite, l'huile essentielle se sépare de l'eau par décantation. Ce processus présente l'avantage d'améliorer la qualité de l'extrait en réduisant au minimum les altérations (Bouguerra, 2019).

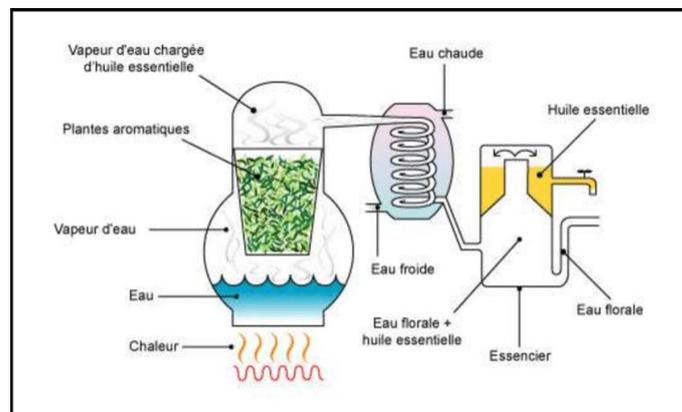


Figure 02. Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Goudjil, 2016)

I.1.4.3. Percolation

La technique de percolation implique l'envoi de vapeur d'eau générée de haut en bas dans l'extracteur. Cette méthode est caractérisée par sa rapidité, mais elle présente l'inconvénient majeur de produire un distillat chargé de substances non volatiles, ce qui donne des essences de percolation.

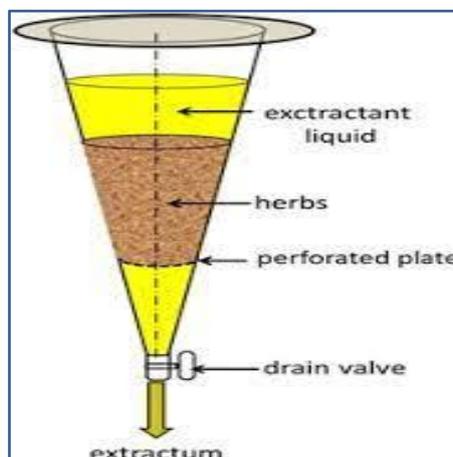


Figure 03. Extraction par percolation (Sattar, 2017)

I.1.4.4. Enfleurage

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Il consiste à déposer des pétales de fleurs fraîches sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale type saindoux). Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures (Jasmin), à 72 heures (Tubéreuse). Les pétales sont éliminés et remplacés par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (Belaiche, 1979 ; France-Ida, 1996). Pour certaines plantes, on procède à une immersion des fleurs dans de la graisse chauffée, c'est ce que l'on appelle enfleurage à chaud ou « digestion »(Bruneton, 1999). Cette méthode appelée également macération à chaud par d'autres auteurs est surtout utilisée pour les fleurs délicates qui perdent leurs arômes très rapidement après la cueillette, comme les violettes et certains lys (France-Ida, 1996). Cette technique laborieuse, qui demande une grande labilité, est de moins en moins employée au profit de l'extraction par les solvants, en raison de son faible rendement et de l'importante main d'œuvre qu'elle nécessite (Abou Zeid, 1988 ; Ghiaba & Raoudi, 2021).

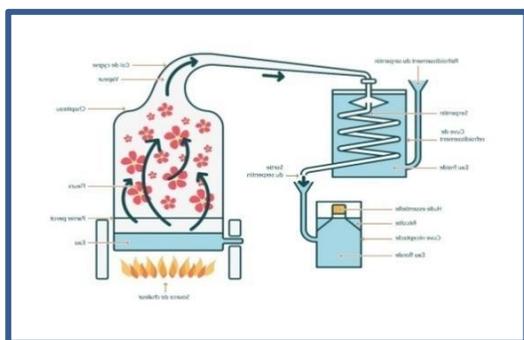


Figure 04 . Enfleurage (Beneteaud , 2011)

Figure 05. Extraction par enfleurage (TNAU)

I.1.4.5. Extraction par micro-onde

La méthode d'extraction par micro-onde repose sur l'utilisation d'une source de rayonnement micro-onde. Le matériel végétal est plongé dans un solvant qui est perméable aux micro-ondes. Ces micro-ondes induisent un chauffage de l'eau contenue dans le matériel végétal, provoquant ainsi une distension des poches à essences. Les produits volatils libérés sont alors dissous dans le solvant. Ce processus est considérablement plus rapide que les méthodes d'extraction classiques, et les huiles essentielles obtenues présentent généralement une bonne qualité (Bouguerra, 2019).



Figure 06. Extraction par micro-ondes (Chemat *et al.*, 2008)

I.1.5. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huiles essentielles varie selon plusieurs facteurs, notamment la plante utilisée, la méthode d'extraction, les conditions de culture et de récolte, ainsi que les techniques de traitement. En général, le rendement est mesuré en pourcentage, représentant la quantité d'huile essentielle obtenue par rapport à la masse initiale de matière végétale utilisée. (Boudjit *et al.*, 2022).

On définit le rendement en huile essentielle comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle (**mHE**) obtenue et la masse de matière végétale sèche (**Ms**) ou humide (**Mh**), exprimées dans la même unité de masse (Chaffa, 2006).

Le rendement en huile essentielle, exprimé en pourcentage, est donné respectivement par les relations suivantes :

$$\mathbf{Rs\ (\%)} = \mathbf{mHE \times 100 / Ms \dots\dots\dots(1)}$$

$$\mathbf{Rh\ (\%)} = \mathbf{mHE \times 100 / Mh \dots\dots\dots(2)}$$

Où :

Rs : Rendement par rapport à la matière végétale séchée.

Rh : Rendement par rapport à la matière végétale humide.

mHE : masse de l'huile essentielle.

Ms : masse de la matière végétale séchée.

Mh : masse de la matière végétale humide.

Certaines plantes peuvent avoir des rendements plus élevés que d'autres en raison de leur teneur naturelle en huiles essentielles. Par exemple, des plantes comme la lavande et la menthe poivrée ont tendance à avoir des rendements plus élevés que d'autres plantes (Hameurlaine *et al.*, 2023)

I.1.6. Compositions chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composés naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composantes à différentes concentrations (**Benchoua *et al.*, 2021**). Ils sont caractérisés par deux ou trois composantes importantes à assez hautes concentrations (20-70%) comparés à d'autres composants présentés en quantités de trace. En effet, les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux groupes conférant aux essences aromatiques leurs propriétés antibactériennes :

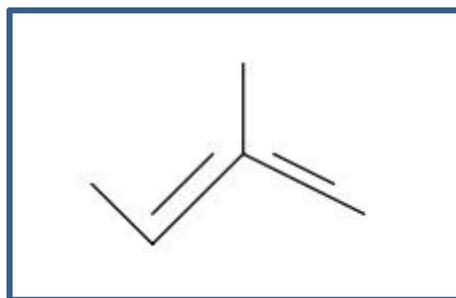
- **Le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques)**
- **Le groupe des phénylpropanoïdes (les composés aromatiques)**

I.1.6.1. Les terpènes

Les terpènes représentent une classe de composés d'origine naturelle présente principalement dans le règne végétal. Ces composés se caractérisent par leur structure hydrocarbonée très diversifiée, pouvant être acyclique, monocyclique, ou bicyclique, et parfois portant différentes fonctions.

I.1.6.1.a. Classification

Les molécules de la famille des terpènes sont considérées comme formées de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, (2-méthyl buta-1,3-diène) unité composée de cinq carbones disposés comme suit :



Ils répondent à la formule brute : $(C_5H_8)_n$. Une classification de ces composés a pu être établie, selon la valeur de n (nombre d'unités isopréniques) (**Finar, 1994**).

$n=1$: Les hémiterpéniques en C_5 .

$n=2$: Les monoterpènes en C_{10} .

$n=3$: Les sesquiterpènes en C_{15} .

$n=4$: Les diterpènes en C_{20} .

$n=5$: Les sesterpènes en C_{25} .

n=6 : Les triterpènes en C30.

n=8 : Les tetraterpènes en C40.

n>40 : Les polyterpènes.

Les unités isopréniques s'associent entre elles pour conduire à une chaîne hydrocarbonée insaturée qui sera modifiée secondairement par oxydation par réduction ou par élimination de carbone, ce qui explique la multiplicité des isoprénoïdes (**Chafaa, 2006**).

I.1.6.1.b. Constituants terpéniques des huiles essentielles

Les huiles essentielles principalement composées de terpènes, renferment surtout des monoterpènes (C10), quelques sesquiterpènes (C15), et rarement des diterpènes (C20) (**Bruneton, 1997**).

I.1.6.1.b.1. Les monoterpènes

Les monoterpènes présentent une variété fonctionnelle considérable, comprenant des hydrocarbures, des alcools, des cétones, etc.

- a. Hydrocarbures** : Les hydrocarbures sont généralement présents à plus de 90% de l'huile essentielle. Ils peuvent être acycliques (comme le myrcène, l'ocimène), mono cycliques (tels que l' α et le γ terpinène), ou bi cycliques (comme l' α et le β -pinène, le 3 carène, le camphène, le sabinène, etc.).
- b. Alcools** : Les alcools peuvent être acycliques (comme le géraniol, le linalol, le citronellol), mono cycliques (tels que le menthol, l' α terpinéol), ou bi cycliques (comme le bornéol, le fenchol).
- c. Aldéhydes et cétones** : Les dérivés carbonylés sont principalement acycliques (comme le géraniol, le néral, le citronellal, la tagétone), mais peuvent aussi être monocycliques (comme la menthone, la carvone, la pulégone) ou bi cycliques (comme le camphre, le fenchone, le thuyone).
- d. Esters** : On trouve des esters acycliques (tels que les acétates ou propionates de linalyle, les acétates de citronellyle, les acétates de géranyle) et monocycliques (comme les acétates de menthyle, ou d' α -terpényle).

I.1.6.1.b.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes, tout comme les monoterpènes, présentent une grande diversité fonctionnelle, comprenant principalement des hydrocarbures, des alcools, et des cétones (Chafaa, 2006).

I.1.6.2. Les composés aromatiques dérivés de phenylpropane

Les composés phénylpropanoïdes sont moins courants que les terpénoïdes. Ils sont souvent des allyles et des propénylphénols. Parfois, on trouve des aldéhydes aromatiques spécifiques dans certaines huiles essentielles de la famille des apiaceae, telles que l'anis, le fenouil, le persil, etc. Certaines huiles essentielles contiennent des composés en C6-C3, comme le cinnamaldéhyde ou l'estragole (présents dans l'essence de basilic) (Bruneton, 1999). Dans d'autres essences, on peut trouver des acides benzoïque et cinnamique. On rencontre également des aldéhydes phénoliques tels que l'aldéhyde protocatéchique ou l'aldéhyde salicylique, présents dans la reine-des-prés. Les aldéhydes aromatiques et les phénols contribuent aux arômes caractéristiques des condiments tels que les clous de girofle (contenant de l'eugénol) et la cannelle (contenant du cinnamaldéhyde)(El Abed &Kambouche, 2003).

I.1.7. Facteurs influençant la composition chimique

La quantité et la qualité d'une huile essentielle sont soumises à l'influence de nombreux paramètres d'origine extrinsèque et intrinsèque, ainsi que de facteurs technologiques. Une brève revue des éléments pouvant affecter la quantité et la qualité d'une huile essentielle sera présentée.

I.1.7.1. Facteurs extrinsèques

Ce sont des paramètres qui touchent particulièrement les conditions écologiques (climatiques, pédologiques).

I.1.7.1.1. Origine géographique

Les rendements et la composition des huiles essentielles varient en fonction de l'emplacement géographique des plantes. Par exemple, les feuilles d'une même espèce de Romarin cultivées dans différents pays produisent des essences avec des rendements d'extraction variant de 0,43 à 0,73 % en Espagne, de 0,38 à 0,80 % en France, de 1,00 à 5,00 % en Turquie, de 1,5 à 2,10 % en Yougoslavie, etc (Vernou ,1979).

I.1.7.1.2. Facteurs écologiques

Les conditions écologiques jouent un rôle crucial dans la détermination de la qualité et de la quantité des huiles essentielles.

I.1.7.1.2.a. Facteurs climatiques

Les variations telles que la durée d'exposition au soleil, les températures diurnes et nocturnes, l'humidité, les régimes de vent, et la pluviométrie, sont des facteurs qui influencent directement la proportion et la composition chimique des huiles essentielles. Ces paramètres sont particulièrement prononcés chez les espèces présentant des structures histologiques superficielles, telles que les poils sécréteurs des Lamiaceae (Clarck & Menery, 1980).

Un exemple frappant est celui de la menthe poivrée, où la formation du menthol est favorisée par des nuits froides. En revanche, des journées longues et des nuits tempérées peuvent conduire à une plus grande quantité d'huile essentielle riche en menthofurane.

I.1.7.1.2.b. Facteurs pédologiques

La nature du sol (calcaire, siliceux, etc.), les pratiques culturales comme la densité de plantation, l'apport d'engrais, le nombre de récoltes par an, et l'irrigation, ont un impact significatif sur la qualité et le rendement des huiles essentielles (Chafaa, 2006).

I.1.7.2. Facteurs intrinsèques

I.1.7.2.1. Origine botanique

La provenance botanique des huiles essentielles est un facteur intrinsèque crucial qui détermine leur composition et leurs propriétés. Elle comprend la famille, le genre, l'espèce et la variété de la plante mère, ainsi que son biotope. La provenance botanique peut avoir un impact significatif sur la composition chimique des huiles essentielles. Par exemple, dans le cas de la menthe (*Menthapiperita* L.), des différences de composition chimique ont été observées entre les bords et le centre de la feuille (Dike & Asuquo, 2012). De même, dans le cas du pin sylvestre d'Auvergne (*Pinussylvestris* L.), deux chimiotypes ont été identifiés, le type A et le type B, qui diffèrent par la cyclisation du cation terpinyle (Brophy *et al.*, 2013).

I.1.7.2.2. Les chimiotypes

La provenance botanique des huiles essentielles est étroitement liée au concept de chimiotypes, qui fait référence aux variations de composition chimique au sein de la même espèce botanique. Ces variations sont déterminées par l'équipement enzymatique spécifique de chaque variété, qui est génétiquement déterminé et influence la biosynthèse vers la formation préférentielle d'un constituant spécifique (Munjuga *et al.*, 2015).

I.1.7.2.3. Organe du végétal producteur

La composition des huiles essentielles peut varier en fonction de la partie de la plante utilisée pour leur extraction. Par exemple, les huiles essentielles de menthe peuvent être extraites des feuilles, des tiges ou des fleurs, et chaque partie peut contenir des composés chimiques différents (**Bockish, 1993**).

Le rendement des huiles essentielles, ainsi que leurs contenus, dépendent du nombre de glandes sécrétrices existant et de leur localisation au niveau des différents organes de la plante. La teneur en huile essentielle est plus importante dans les fleurs que dans les feuilles (**Werker et al ., 1985**). Les fleurs, les rameaux et l'écorce des hespéridés fournissent trois huiles essentielles différentes en quantité et en qualité (**Garnero, 1976**). La racine, les feuilles et l'écorce du cannelier de ceylan produisent des essences diverses.

I.1.7.2.4 Cycle biologique

Le cycle biologique de la plante productrice peut également affecter la composition des huiles essentielles. Par exemple, les huiles essentielles extraites de plantes en croissance peuvent différer de celles extraites de plantes matures (**Dike & Asuquo, 2012**).

I.1.7.2.5. Conservation du matériel végétal

La période de récolte, le séchage ainsi que le stockage du matériel végétal peuvent entraîner des modifications significatives sur l'essence (**Garnero, 1985**).

À titre d'exemple, les mousses de chêne, après un stockage d'au moins quatre mois, développent différents principes actifs. En effet, elles contiennent des molécules sans odeur comprenant deux cycles benzéniques diversement substitués et reliés entre eux par le groupement ester appelées des épides. Ces composés se dégradent en produits odorants par hydrolyse, alcoolyse, et fermentation bactérienne au fil du temps(**Mouchem, 2015**).

I.1.7.3. Facteurs technologiques

Le processus d'extraction d'une huile essentielle laisse son empreinte sur le rendement et la composition chimique de celle-ci. En effet, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau ne produisent pas la même quantité et qualité d'essence. La durée et la vitesse de distillation, ainsi que la quantité de végétal traité, exercent une grande influence. Lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, des réactions chimiques d'altération peuvent se produire sous l'effet de l'eau, de l'acidité et de la température, notamment l'hydrolyse, l'élimination, la cyclisation, le réarrangement, et d'autres réactions, sur les composés terpéniques thermosensibles de l'essence (**Morin et al ., 1985**). Ces réactions peuvent entraîner la formation d'artefacts dans les huiles essentielles, comme l'azulène dans la camomille.

En plus de ces facteurs, d'autres éléments tels que les hybridations, les mutations, les maladies causées par les parasites, etc., peuvent également avoir un impact sur le produit final.

Ces multiples et divers paramètres sont liés entre eux et constituent un ensemble qui interfère au niveau du produit obtenu (Richter, 1993).

I.1.8. Activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle dépend de sa composition chimique, des groupes fonctionnels des composés majoritaires et de leurs effets synergiques (Dorman & Deans, 2000 ; Ultee *et al.* , 2002). Les composés chimiques de plus grande efficacité sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinène-4-ol et linalool), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les terpènes. En effet, les alcools agissent généralement en dénaturant les protéines, comme solvants ou comme agents de déshydratation. Les aldéhydes peuvent induire des réactions de transferts d'électrons et réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie tels que protéines et acides nucléiques (Dorman & Deans, 2000).

I.1.8.1. Activité antibactérienne

Les mécanismes d'action des huiles essentielles (HE) en tant qu'agents antibactériens sont complexes et mal compris en raison de la diversité de leur composition chimique. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un seul mécanisme, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Dorman & Deans, 2000).

Les terpènes et les flavonoïdes, par exemple, peuvent induire une rupture de la paroi et de la membrane microbienne, entraînant la libération du contenu cellulaire et la mort cellulaire (Tsuchiya *et al.* , 1996 ; Bouguerra, 2019).

Les HEs peuvent également inhiber la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides, et peuvent interférer avec le métabolisme cellulaire des bactéries (Johansen *et al.* , 1997). L'effet synergique entre deux ou plusieurs composants chimiques des HE peut jouer un rôle important dans leur activité biologique, y compris leur activité antibactérienne. Cette synergie peut permettre de réduire le développement de la résistance des micro-organismes pathogènes (Elshafie *et al.* , 2016). Par exemple, des composants tels que le carvacrol, le terpinène et le p-cymène peuvent être plus efficaces lorsqu'ils sont combinés, avec le p-cymène qui agit comme un médiateur pour le transport du carvacrol à travers les composants de la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique (Elshafie *et al.* , 2016 ; Bouguerra, 2019).

Des études ont montré que les huiles essentielles de certaines espèces d'agrumes, telles que le citron et l'orange, ont des activités antimicrobiennes importantes et peuvent remplacer avec succès les antibiotiques qui montrent leur inefficacité contre les micro-organismes résistants (**Hoshi et al ., 2010**). Les composés phénoliques des HE, tels que le carvacrol et le thymol, ont une activité antibactérienne particulièrement forte contre les bactéries à Gram négatif (**Hoshi et al ., 2010**).

I.1.8.2. Activité antifongique

Les huiles essentielles (HE) ont une activité antifongique qui dépend de leur composition chimique complexe. Les composés terpéniques, en particulier les phénols et les aldéhydes, sont considérés comme les plus antifongiques. Ils interagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des cellules fongiques. Les alcools et les lactones sesquiterpéniques ont également une activité antifongique (**Guenther, 1948**). Des études ont montré que certaines HE ont une activité antifongique particulièrement forte contre des champignons spécifiques. Par exemple, le thymol et le carvacrol ont une activité antifongique contre *Cryptococcus neoformans*, un champignon opportuniste associé au SIDA (**Hajlaoui et al ., 2009**).

Le carvacrol, qui est le composé majoritaire de *Thymus capitatus*, a également une activité antifongique contre *Penicillium digitatum*. Cependant, il est important de noter que l'effet des composés minoritaires quantitativement dans une HE ne doit pas être négligé (**Sardari et al ., 2017**). Des études ont montré que l'activité antifongique des HE peut varier en fonction de la concentration utilisée et de la souche fongique testée.

En général, les HE sont considérés comme une alternative prometteuse aux fongicides conventionnels, en particulier en raison de leur activité antifongique et de leur potentiel de réduction de la résistance des champignons. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour comprendre pleinement les mécanismes d'action des HE et pour optimiser leur utilisation en tant qu'agents antifongiques (**Hayes, 2018**).

I.1.8.3. Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante des huiles essentielles (HEs) est essentielle pour contrer le stress oxydatif, associé à diverses maladies telles que la maladie d'Alzheimer. Les HE de cannelle, de muscade, de clou de girofle, de basilic, de persil, d'origan et de thym sont riches en composés antioxydants, notamment le thymol et le carvacrol, qui se distinguent par leur structure phénolique. Ces composés ont des propriétés oxydo-réductrices qui neutralisent les radicaux libres et décomposent les peroxydes. Outre les phénols, certains alcools, éthers,

cétones, aldéhydes monoterpéniques et monoterpènes contribuent également à l'activité antioxydante des HE. L'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique par les HE est principalement influencée par la présence de composés phénoliques, confirmée par plusieurs études (**Bouguerra, 2019**).

Chapitre 02

*SALVIA OFFICINALIS ET
ACTIVITES BIOLOGIQUES*

II.1.Plantes médicinales

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle, et au moins certaines d'entre elles ont une valeur médicinale. Leur effet provient de leurs composés (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés existants (**Sanago, 2006**).

Les plantes médicinales sont utilisées en raison de leurs propriétés spéciales qui sont bénéfiques pour la santé humaine. En fait, ils sont utilisés de différentes manières, décoction, infusion et macération. Une ou plusieurs parties d'entre elles, racines, feuilles, fleurs peuvent être utilisées (**Dutertre, 2011**). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Farnsworth, 1986**).

II.2. Famille des Lamiacées

Les Lamiacées sont nommées d'après le genre *Lamium*, lamier. Cette famille était jadis connue sous le nom de labiées. Ce dernier terme provient de latin *labia*, lèvre, car les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres (**Couplan, 2012**). Les Lamiacées est l'une des familles de plantes à fleurs les plus grandes et les plus distinctives, avec environ 258 genres et près de 6900 espèces dans le monde (**Naghibi et al ., 2005**). Ils comprennent de nombreuses espèces économiquement importantes telles que les herbes médicinales et culinaires (**Miller et al ., 2006**). Beaucoup de Lamiacées sont utilisées en pharmacie et en parfumerie pour leurs essences telles que : Hysope, Lavande, Mélisse et *Salvia officinalis* (**Dupont & Guignard, 2015**).



Figure 07. Famille des lamiacées (**Bouaoune & Chrayette, 2022**)

II.3. Le genre *Salvia*

Le genre *Salvia* comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les tiges sont généralement quadrangulaires inclinées comme les autres membres de la famille des lamiacées. Les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales (Scully, 2008). Le genre *Salvia* (Sauge) fait partie des genres les plus importants de la famille des Lamiacées, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde entier. L'Algérie compte 23 espèces du genre *Salvia* (Ghorbani & Esmailizadeh, 2017).



Figure 08. *Salvia officinalis* (Bouaoune & Chrayette, 2022)

II.4. Espèce de *Salvia Officinalis*

Salvia officinalis ou sauge commune est un arbuste rond vivace de la famille de Labiatae Lamiaceae (Rice-evans *et al.* , 1995). Elle est connue aussi sous le nom Essalma chez les Andalous et porte en Algérie le nom de Souek ennebi (Meyer, 1881) ; cultivée dans le monde entier en particulier dans la région méditerranéenne (Li *et al.* , 2019). Qui ajoute qu'elle est appelée "Salbia" par les botanistes en Espagne. La sauge est une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiaceae.

C'est une famille cosmopolite d'arbres contenant environ 31 genres et 2700 espèces. En Algérie, 30 espèces végétales sont répertoriées dans diverses régions et classées selon leurs caractéristiques morphologiques. (Longaray *et al.* , 2007 ; Maksinovic *et al.* , 2007). Cette plante a été largement utilisée dans la préparation de nombreux aliments ; en effet dans la médecine traditionnelle, elle a été utilisée pour le traitement de divers types de

troubles, notamment convulsions, ulcères, goutte, rhumatismes, inflammations, vertiges (Ghorbani & Esmailizadeh, 2017).



Figure 09. Sauge - *Salvia officinalis* (Photo personnelle, 2024)

II.5. Nomenclature

Le nom du genre *Salvia* vient du latin *salvare* qui signifie « sauver » et « Guérir » (Pujuguet, 2008). En plus il y a plusieurs appellations ont été données à *Salvia officinalis*:

Synonyme : Herbe sacrée, thé d'Europe, thé de Grèce, thé de France, thé de Provence, grande Sauge, Sauge franche, herbe sage (Fabre *et al.*., 1992).

- ✓ Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment "Essalma" ;
- ✓ Nom targui ou berbère : Tazzourt, Agourim, Imeksaouen
- ✓ Nom allemand : Salbei, Garten-salbei, Edl-salbei.
- ✓ Nom anglais : Common sage, Garden sage, Sawge (Azzi, 2013 ; Ghourri *et al.*., 2013), Calamen the vulgare .
- ✓ Nom scientifique : *Salvia Officinalis*
- ✓ Nom vernaculaire : Sâlniya, Mrimra
- ✓ Nom français : Sauge (Grieve, 1984).
- ✓ Nom Espagne : salbia

Les Algériens lui confèrent l'expression "souek ennebi" comme synonyme de Salème et la nomment aussi mayramia (Longaray *et al.*., 2007) (Maksinovic *et al.*., 2007).

II.6. Classification

- Nom scientifique : *Salvia officinalis* L.
- Nom commune : Saugue officinale (Français), Agourin Imeksaouen, Tazzourt, marramia (Berbère), Souak El-nabi (Arabe).

Tableau 01. Classification de *Salvia officinalis* (Quezel & Santa, 1963)

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe :	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Salvia</i>
Espèce	<i>Salvia officinalis</i> . L

II.7. Description morphologique

Salvia officinalis est une plante vivace à tige ligneuse à la base, avec un dessous blanchâtre et vert grisâtre au-dessus, atteignent généralement une hauteur de 30 à 70 cm (Pereira *et al* ., 2010). Selon (Beloued, 2001), la floraison s'étend entre mars et mai et selon Cabaret (1986) elle s'étendrait de mai à juillet, avril pour les climats les plus doux, cependant ne fleurit pas sous les climats trop frais (Anonyme, 2007).



Figure 10. *Salvia officinalis* (Photo personnelle, 2024)

II.7.1. Les tiges

Forment quadrangulaires (Benkherara *et al* ., 2011), et caractérisée par de nombreux rameaux dressés et droits avec l'apparence des noeuds, sur lesquels les feuilles sont placées (Amirouche & Belkolai, 2013).



Figure 11. Tige de *Salvia officinalis*(Photo personnelle, 2024)

II.7.2. Les feuilles

La forme et la taille des feuilles sont fonction de leur position sur la tige. Pétiolées, lancéolées et assez grandes, elles sont sessiles, étroite, aigues et plus petites lorsqu'elles sont au sommet. La face supérieure est gris-vert et finement granuleuse, la face inférieure est blanche et pubescente (Rombi & Robert, 2007). Si on les frotte, elles dégagent l'odeur (Jakovljević *et al.* , 2019).Elles sont persistantes, elles tombent si l'hiver est très rigoureux (Anonyme, 2007).



Figure 12. Feuilles de *Salvia officinalis* face inférieure (Photo personnelle, 2024)



Figure 13. Feuilles de *Salvia officinalis* face supérieure (Photo personnelle, 2024)

II.7.3. Les fleurs

Les fleurs sont de couleur bleu violacé, Elle est d'environ 2cm de long, à corolle bien violet nettement bilabée à pédoncules courts, tubuleuse groupées par trois faux verticilles (Bruneton, 1993).Elles sont zygomorphes, leur calice est pubescent, persistant et ponctue de glandes sécrétrices, en forme de clochettes ovales de 1 à 14cm de long (Teuscher *et al.* , 2005).



Figure 14. Fleure du *Salvia officinalis*
(Photo personnelle, 2024)

Figure 15. Fleure du *Salvia officinalis*
(Iserin, 2001)

II.7.4. Les fruits

En forme de tétra akènes (Madi, 2010). Casque et lèvres inférieures trilobées (Hans, 2007), font leur apparition vers le mois de mai, le début de l'été et restent ouvertes au début de l'automne (Kintzios, 2000). Les fruits sont des petits akènes reposant sur des cupules ouvertes (Paris & Hurabiel, 1981). Les graines sont petites brunes et rondes (Vilmorin *et al.*, 1883).



Figure 16. Graine du *Salvia officinalis*(Iserin, 2001)

II.8. Ecophysiologie et répartition géographique

Salvia officinalis est cultivable jusqu'à 1800 m d'altitude ; elle supporte des climats et des sols très variés, au pH allant de 5 à 9. La plante adulte résiste à la température de -10°C, mais il est préférable de pailler le jeune plant (Guy, 2005).

Salvia officinalis, native d'Europe du sud, est une plante au feuillage persistant et très aromatique. Cette *salvia* se rencontre sur les sols arides et calcaires des plaines, des garrigues et en basse montagne jusqu'à 800 mètres d'altitude. Elle croit dans le bassin méditerranéen, en Amérique du nord et dans l'Asie occidentale (Goutier, 2009).

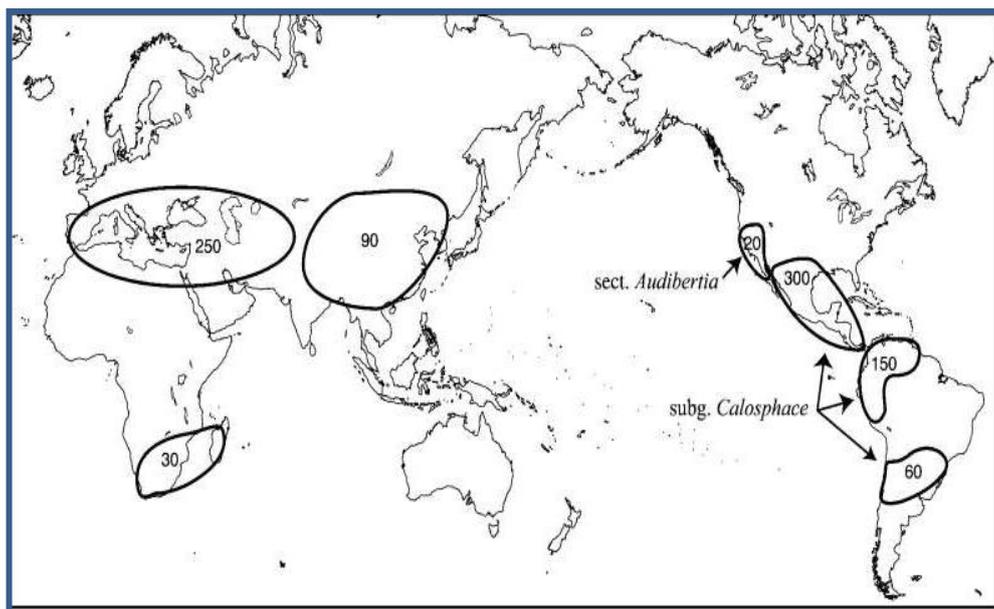


Figure 17. La répartition géographique de la plante dans le monde (Walker *et al.* , 2004)

II.9. Usage de *Salvia officinalis*

Les sauges ont été employées comme des plantes à plusieurs propriétés pendant des millénaires.

II.9.1. Usage médicinal et pharmaceutique

La sauge (*salvia officinalis*) est une des plantes les plus utilisées, vu ses propriétés importantes ; elle est considérée comme un stimulant pour les gens anémiques, aussi pour les personnes stressées et déprimées, elle est conseillée pour les étudiants en période d'examen. Pour usage externe, elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies (Djerroumi & Nacef, 2004). Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles digestifs et les problèmes du système nerveux (Radulescu *et al.* , 2004). Cette herbe aromatique est employée dans la cuisine, pour son goût puissant, légèrement amer et camphré (Duling *et al.* , 2007).

Les sauges (*salvia officinalis*) ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des millénaires. La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis* L.) montrent une gamme des activités biologiques ; antibactérienne, antifongique, antivirale (Baricevic & Bartol, 2000).

La sauge (*salvia officinalis*) s'est avérée active dans les préparations combinées pour le traitement de la bronchite aiguë et chronique. Les études in vivo, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central (Newall *et al.* , 1996), et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices (Farag *et al.* , 1986).

II.9.2. Usages cosmétologiques

L'espèce *Salvia* présente un grand intérêt en cosmétologie. Peut être utilisée l'huile essentielle de sauge dans les préparations de masque pour peaux grasses ou à tendance acnéique (Anonyme, 2013). Facial et ses crèmes sont souvent appliquées sur les boutons de fièvre près de la bouche (Radulescu *et al.* , 2004). Elle est utilisée dans les soins capillaires, car la sauge aide à combattre les pellicules et donne de la brillance aux cheveux.

II.9.3 Usages alimentaires

Les feuilles servent en cuisine à parfumer les viandes surtout le gibier, quelques feuilles glissées dans les aliments gras tels que les farces et les ragouts leur donnent une saveur piquante très appréciée. Aussi dans les bouillons et dans les vinaigres aux fins herbes (Chaumeton, 1959). La sauge officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation ; vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées (Radulescu *et al.* , 2004).

II.10. Les principaux composants de la *salvia officinalis*

La sauge contient de nombreux composés biologiquement actifs qui peuvent être divisés en monoterpènes, diterpènes, triterpènes et composants phénoliques.

- **Polyphénols de *Salvia Officinalis***

Des études plus récentes sur la sauge ont révélé la présence d'un grand nombre de diterpénoïdes et des acides phénoliques tels que : Acide gallique, acide caféique, acide saugerinique, acide rosmarinique...etc (Lu & Foo, 2002). Et des Flavonoïdes et dérivés (apiginin, luteolin, et leurs dérivés, cirsimaritrine ,7- glucoside ...etc.) (Santos *et al.* , 2002 ; Amin & Hamza, 2005).

- **Huiles essentielles**

Plus de 50 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de tiges et de feuilles de la plante *Salvia officinalis* (Santos & Ferreira, 2001).

La teneur en huiles essentielles des feuilles sauvages séchées est entre 1,5 et 3,5% (Raal *et al.*, 2007). Déterminés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sont illustrés dans le **Tableau 02** (Khedher *et al.*, 2017).

Tableau 02. Composition chimique des huiles essentielles de *Salvia officinalis* (Khedher *et al.*, 2017)

Constituant	Quantité (%)
Camphre	25,14%
α -pinène	1,7 à 13,1%
β -pinène	0,5 à 17,9%
1,8-cinéole	14,14%
β -thujone	4,46%
α -thujone	18,83%
Viridiflorol	7,98%
β -caryophyllène	3,30%
Bornéol	2,81%
α -humulène	2,48%
β -myrcène	1,93%
Limonène	1,43%
α -terpinéol	1,33%
Acétate de bornyle	1,05%

- **Tanins**

Les tanins sont des molécules à poids moléculaire relativement élevé, ils possèdent deux sous-groupes : tannins hydrolysables et tannins condensés. (Sarmi & Cheymer, 2006).

- **Autres composées de *Salvia officinalis***

Essence aromatique, saponine, résine, oestrogène, asparagine (Gérard & François, 2008-2009). Plus la vitamine K, le fer et des composés organiques.

Tableau 03. Les valeurs nutritives de la Sauge (Pomerleau *et al.*, 2006).

Composés	Sauge moulue, 15ml/2g
Calories	6,0 g
Protéines	0,2 g
Glucides	1,2 g
Lipides	0,3 g
Fibres alimentaires	0,8 g

II.11. Principes actifs de la *Salvia Officinalis*

La plante contient de l'huile essentielle (les cétones monoterpéniques sont considérées des constituantes principales), des tanins catéchiques, des acides polyphénol carboxyliques (rosmarinique, caféique, chlorogénique, p-comarique, férulique), des principes amers diterpénique, des triterpènespenta cycliques (acides ursolique, cratégolique, oléanolique etc.), des phytostérols, des flavones (Said *et al.*, 2002).

II.12. Activités biologiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis*

II.12.1. Activité antibactérienne

Cette activité est due à la richesse des extraits de la plante en substances inhibitrices. Il s'agit probablement des phénols qui sont doués d'une forte activité antibactérienne. La puissance de cette activité prouve de plus en plus l'efficacité de ces substances face à ces bactéries pathogènes (Benkherara *et al.*, 2011).

Les composés possédant la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : le thymol, le carvacrol et l'eugénol.

- Le carvacrol est le plus actif de tous reconnu pour être non toxique. Il est utilisé comme agent de conservation et comme arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations.
- Le thymol est l'ingrédient actif des rince-bouches.
- L'eugénol est utilisé dans les produits cosmétiques, alimentaires et dentaires.

Ces composés ont un effet antibactérien contre un large spectre de bactérie est elles : *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus aureus* ... (Fabian *et al.*, 2006). Les alcools monoterpéniques viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité

antibactérienne. Les plus connus sont : le géraniol, le linalool, le thujanol, le myrcénol, le terpinéol, le menthol et le pipéritol. (Onawunmi *et al.*, 1984).

II.12.2. Activité antioxydante

Le stress oxydatif joue un rôle important dans l'initiation et la progression de plusieurs maladies, comme le cancer, les troubles cardiovasculaires, le diabète et les maladies neurologiques (Toyokuni, 2016). Les antioxydants naturels protègent les cellules contre la ROS, alors que plusieurs études suggèrent que *Salvia officinalis* possède de puissantes activités antioxydantes (Horvathova *et al.*, 2016).

Selon, (Kokalis-Burelle & Rodríguez-Kábana, 1994); les plantes peuvent synthétiser de nombreuses substances chimiques qui sont des métabolites secondaires. Ces dernières interviennent dans les mécanismes de défense de la plante qu'elle produit contre les agents phyto-pathogènes ainsi que les ravageurs. Le pouvoir antioxydant de l'huile est développé comme substitut dans la conservation alimentaire, ce sont surtout les flavonoïdes et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard & Peyron, 1992).

II.12.3. Activité anti-inflammatoire

Salvia officinalis L. communément appelée sauge, qui appartient à la famille des Lamiaceae (Labiatae) est considérée comme la reine des herbes. Elle est largement utilisée dans les préparations médicinales comme anti-inflammatoire (Martins *et al.*, 2015).

Pour son activité antiseptique et anti-inflammatoire (Devansh, 2012). De nombreuses recherches se sont concentrées sur l'extraction des composés phénoliques de *S. officinalis* et la valorisation de ces composés en évaluant différentes activités, en particulier l'activité anti-inflammatoire. Certains constituants de la plante, comme les triterpènes oléanoliques et les acides ursoliques ou le diterpène carnosol, ont été montrés présenter des propriétés anti-inflammatoires ou des activités biologiques connexes. De plus, l'acide ursolique, est considéré comme une mesure de contrôle de qualité dans les préparations de sauge utilisé pour leur activité anti-inflammatoire topique (Baricevic *et al.*, 2001).

II.12.4. Autres activités

Il y a aussi d'autres activités d'huiles essentielles de *Salvia Officinalis*. La sauge commune est bien connue dans la médecine traditionnelle palestinienne pour ses propriétés antimicrobiennes (El Asta *et al.*, 2005).

En 2008, une étude taxonomique et pharmacologique des plantes thérapeutiques en Jordanie indique les principales utilisations traditionnelles de *Salvia officinalis* comme antiseptique, antigale, antisiphilitique et anti-inflammatoire, fréquemment utilisée contre les maladies de la peau et des yeux et également dans la pleurésie (Amr&Dorđevi'c, (2000) ; Al-Qura'n, (2008)). En Jordanie et dans le Moyen-Orient, il est également signalé l'utilisation de la sauge commune pour la fièvre, les troubles digestifs et les maux d'estomac (Lima *et al.*, 2005).

II.13. Toxicité

L'huile essentielle de sauge peut contenir jusqu'à 50% de thuyone qui peut se révéler épileptisante et neurotoxique. Néanmoins, aucune toxicité aigüe ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour) (Iserin, 2001). Cependant, la thuyone provoque non seulement un effet local irritant, mais également des effets centraux psycho mimétiques, après sa résorption. Une consommation chronique de thuyone peut ainsi conduire à des troubles irréversibles du système nerveux central, à des perturbations des fonctions hépatiques, rénal et cardiaques, et aussi peut être dangereuse pour les enfants. Elle peut provoquer des convulsions épileptiques, dans la mesure où la quantité de drogue employée à des fins culinaires reste faible, pour les consommateurs, (Bruneton, 1996).

La sauge comporte des effets indésirables Comme toute substance active si on ne respecte pas les doses recommandées : nausées, vomissements, bouffées de chaleur, accélération des battements du cœur, vertiges et convulsions (Teuscher *et al.*, 2005)

Matériel et méthodes

III. Méthode d'analyse

Les différentes recherches effectuées dans cette étude ont été réalisées au niveau du Laboratoire pédagogique du département biologie appliquée.

III.1. Extraction des huiles essentielles

III. 1.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé comme matériel végétale : la plante *Salvia officinalis* présentée dans le chapitre précédent. La récolte a été effectuée dans la région de Tébessa au mois de mars 2024. Pour faciliter l'extraction des extraits bruts à partir des feuilles de sauge deux opérations de prétraitement de ces matériels ont été effectuées : séchage et broyage.

- ✓ **Séchage** : Le séchage des feuilles de *salvia officinalis* L. est effectué à l'ombre, à l'abri de l'humidité durant trois semaines (21 jours) et à une température ambiante (**figure 18**).
- ✓ **Broyage** : Les feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un moulin à café puis tamiser par un tamis de diamètre 0.5 mm jusqu'à obtenir une poudre. Ce dernier a été conservé dans des bouteilles en verre scellées et exclue de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation (**figure19**).



Figure 18. Séchage de *Salvia officinalis* (Photos personnelles, 2024)



Figure 19. Broyage de *Salvia officinalis* (Photo personnelle, 2024)

III. 1.2. Matériel d’extraction

Le Tableau ci-dessous représente les différents matériels et les instruments utilisés pour la procédure d’extraction.

Tableau 04. Liste d’appareils, verreries et produits utilisés pour l’extraction

Appareil	Verreries et Autres	Solvant et Soluté
Balance (Scout Pro)	Eprouvette de 500 ml	Eaudistillé
Hydro-distillateur de type Clevenger:	Bécher de 50 ml	Acétone
	Flacon en verre du 5 ml	
Chauffe-ballon	Pissette	
	Ballonenverrepyrex 2000 ml	
Une colonne	Entonnoir	
Un réfrigérant		
Un collecteur	Papier aluminium	

III. 1.3. Procédé d’extraction

Cent grammes (100g) des feuilles de *salvia officinalis* séchés ont été introduits dans un ballon à fond rond de 2000 ml, auxquels 1000 ml d’eau distillée a été ajoutée. L’ensemble est porté à ébullition pendant 03 heures. Le chauffe-ballon permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. La vapeur d’eau provenant de l’échauffement du ballon est condensée dans un réfrigérant. L’huile essentielle étant de densité faible est séparée de l’eau dans un collecteur en verre. L’huile essentielle a été récupérée dans un flacon ambré et stocké à une température de réfrigération jusqu’à son utilisation.



Figure 20. Hydro-distillation type Clevenger (Photos personnelles, 2024)

III. 1.4. Calcul du rendement de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et celles de la matière sèche utilisée selon la formule suivante :

$$R = [\Sigma PB / \Sigma PA] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

ΣPA : Poids de la matière sèche de la plante en g (somme des trois répétitions)

ΣPB : Poids de l'huile en g (somme des trois répétitions)

III.2. Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles caractérisées par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, d'ester réfraction). En outre, les huiles essentielles peuvent être caractérisées par des propriétés organoleptiques qui comprennent l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile.

III.2.1. Mesures des indices chimiques

III.2.1.1. Indice d'acide

L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une H.E, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage. Il se définit comme le nombre de milligrammes (mg) d'hydroxyde de potassium KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle (NF ISO 1242 : 1999 (T 75-103) (Lion, 1995).

- **Principe** : Le test consiste en la neutralisation de la solution d'huile essentielle dissoute dans l'éthanol, à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur coloré.
- **Mode opératoire** : 0,25g d'huile essentielle est introduit dans une erlenmeyer de 25ml, on ajoute 1,25 ml d'éthanol à 96% et environ 2 gouttes de l'indicateur coloré phénolphthaléine. Puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium KOH à 0,1N jusqu'à ce jour de la solution rose. A la fin, on prend le volume exact de KOH consommé pour le calcul de l'indice d'acide par la relation suivante :

$$Ia = V.C (56.11/m)$$

V : volume en ml de la solution de KOH utilisé pour le titrage

C : concentration en mol/l de la solution de KOH

m : masse en g d'huile



Figure 21.Matériel utilisé pour l'indice d'acide (Photo personnelle , 2024)

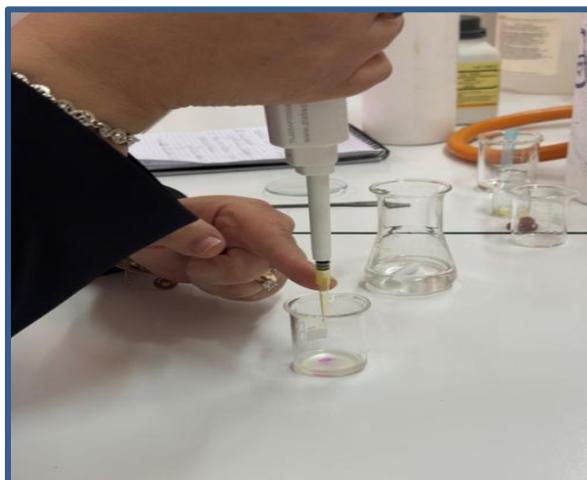


Figure 22.Solution HE & éthanolique d'hydroxyde de potassium (Photo personnelle, 2024)



Figure 23.Solution Rose (Photo personnelle, 2024)

III.2.1.2. Indice de peroxyde

1g d'HE sont mis dans un flacon de 100ml, puis on ajoute 5ml de chloroforme et on agite. On ajoute ensuite au mélange 7.5ml d'acide acétique pur et 1ml d'une solution d'iodure de potassium saturée. On laisse reposer pendant 5 mn à l'obscurité et on ajoute 37.5 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon (1%). L'iode libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium 0,01N. Un essai à blanc est parallèlement réalisé dans les mêmes

conditions. L'indice de peroxyde (Ip) est calculé selon la formule suivante :

$$Ip = [(V_0 - V) / P] \times 10 (\text{még. O}_2 / \text{Kgd'HE})$$

V : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai.

V₀ : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

P : prise d'essai en gramme.



Figure 24. Matériel utilisé pour l'indice de peroxide (Photo personnelle, 2024)



Figure 25. Iodure de potassium (Photo personnelle, 2024)

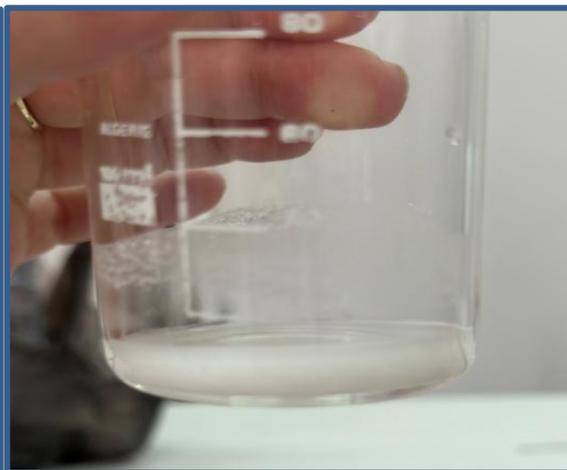


Figure 26. Empois d'amidon (Photo personnelle, 2024)

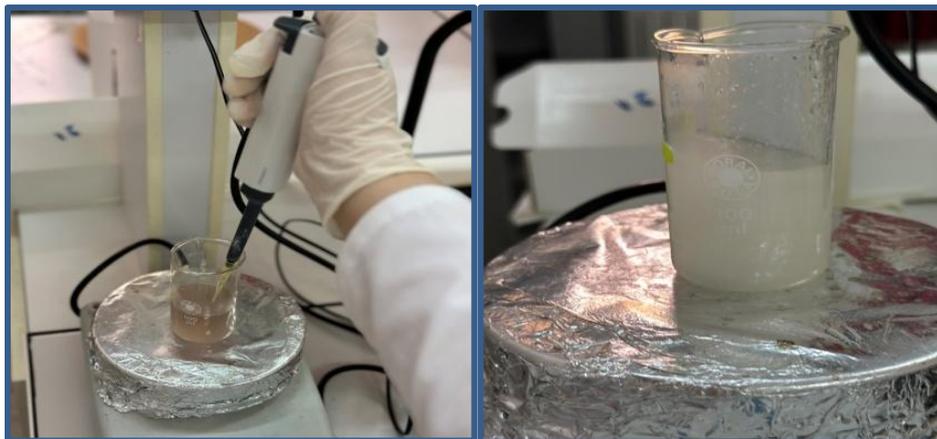


Figure 27. L'essai (Photo personnelle, 2024)

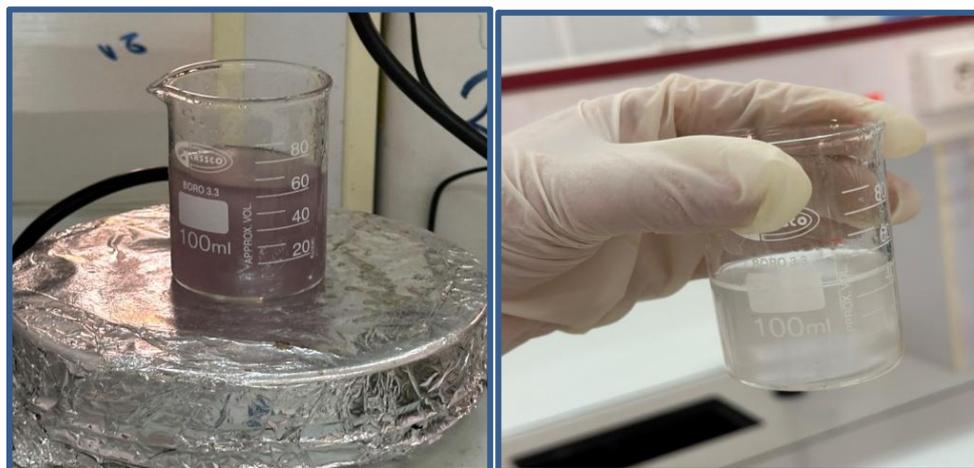


Figure 28. L'essai a blanc (Photos personnelles, 2024)

III.2.2. Mesure des indices physiques

III.2.2.1. Couleur

➤ Mode opératoire

La mesure de la couleur d'une huile essentielle est basée sur le détermination de l'absorbance (A) de celle-ci à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à des longueurs d'onde : 460 nm, 550 nm, 620 nm et 670 nm. La valeur de la couleur se calcule par le formule proposée par American Oil Chemists Society AOCS (Karteskind, 1992).

$$\text{Couleur (A.O.C.S)} = 0.710 A_{460} + 0.282 A_{550} + 0.164 A_{620} + 0.191 A_{670}$$

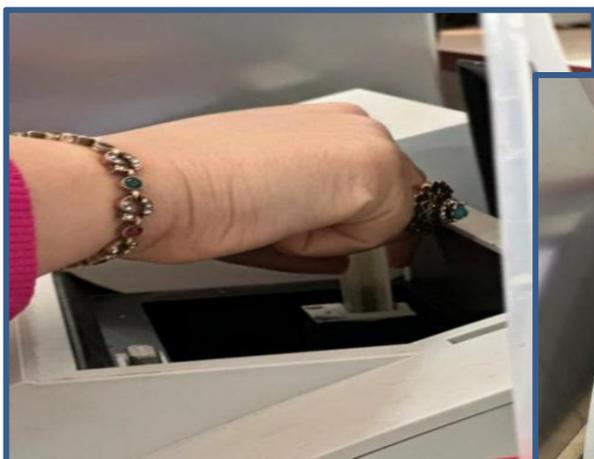


Figure 29. La mesure de la couleur d'HE
(Photo personnelle, 2024)



Figure 30. Spectrophotomètre UV-Visible
(Photo personnelle, 2024)

III.2.2.2. Densité relative

La densité de l'huile essentielle est estimée à l'aide d'une seringue par manque du pycnomètre. Le volume prélevé est de 0,5 ml pour chaque répétition ainsi que pour l'eau. La densité a été calculée selon la formule suivante :

$$D = (m_1 - m_0) / (m - m_0)$$

m₁ : masse en g de la seringue contenant 0,5 ml d'HE.

m₀ : masse en g de la seringue vide.

m : masse en g de la seringue contenant 0,5 ml d'eau distillée.



Figure 31. Les étapes de la densité relative (Photos personnelles, 2024)

III.2.2.3. Miscibilité dans l'éthanol

➤ Mode opératoire

La miscibilité de l'HE a été déterminée dans l'éthanol à 70%. Dans un Erlen contenant 1ml d'huile essentielle, on verse de l'éthanol à 70% par fraction de 0,2ml à l'aide d'une burette en agitant après chaque ajout. Lorsqu'une solution limpide est obtenue, on note le volume d'alcool ajouté.

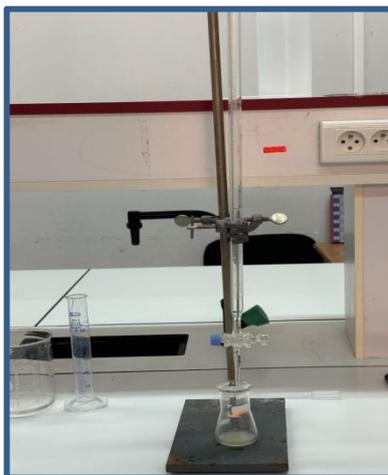


Figure 32.Burette
(Photo personnelle, 2024)



Figure 33.Solution limpide
(Photo personnelle, 2024)

II.3. Evaluation de l'activité biologique

III.3.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles de *Salvia officinalis* a été évaluée dans ce travail en adoptant deux types de tests *in vitro*. Il s'agit de la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle).

- **Principe**

Le DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure- activité antioxydante des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand *et al.* , 1995). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Popovici *et al.* , 2009). La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette (Figure 18) se réduit en 2,2 Diphenyl- 1- picryl hydrazine de couleur jaune selon la réaction suivante : (Maataoui *et al.* , 2006).



DPPH* : 2,2 diphényle- 1- picryl-hydrazyl

AH : un composé capable de céder un H au radical DPPH

A* : le composé oxydé après la réduction de DPPH

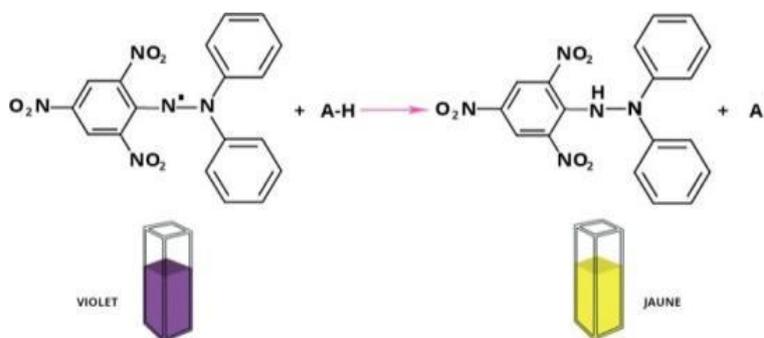


Figure 34. Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)

III.3.1.1. Matériel et réactif

Les différents matériels et les réactifs utilisés sont résumés dans le Tableau 05.

Tableau 05. Liste d'appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH

Appareil	Verreries et Autres	Réactifs et Autres	Solvant et Soluté
Spectrophotométrie UV-VISIBLE1700 (Pharma-S-pec SHIMADZU)	Verre de montre	le DPPH (2,2 diphényle-1- picryl hydrazyl)	Eau distillé
Micropipettes: 100ul-1000ul 10ul-100ul	Fiolejaugé:100ml 50ml	etAcide ascorbique	Méthanol
Balance analytique (ALS286 4N)	Tube à hémolyse verre de 05 ml avec un portoir	H.E de <i>salvia officinalis</i>	
	Bécher de 50 ml		
	Eprouvettes graduées de 25 ml		
	Entonnoir		

MATERIEL ET METHODES

Les embouts jaunes et Bleus	
Spatule	
Papier aluminium	

III.3.1.2. Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**, 25 μ l de chacune des solutions méthanolique d'huile essentielle testée à différentes concentrations (200 μ g/ml, 400 μ g/ml, 600 μ g/ml, 800 μ g/ml et 1000 μ g/ml) sont mélangées avec 2,5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%) qui est préparée par la solubilisation de 0,004g de DPPH poudre dans 100ml de Méthanol. Pour déterminer la cinétique de la réaction, l'absorbance a été lue à 517 nm à différents temps (0, 5, 10, 15, 20, 25, et 30 min). Pour des fins de comparaison, l'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée avec les mêmes concentrations et dans les mêmes conditions. Tous les essais ont été effectués en triple.

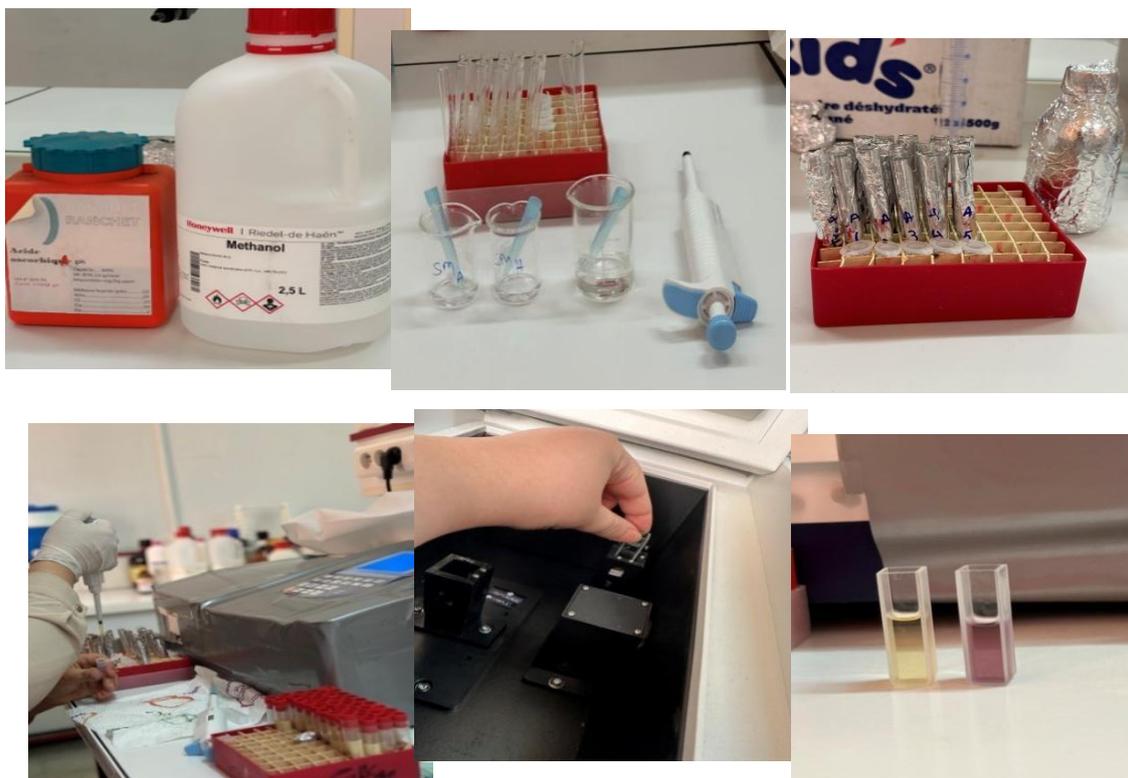


Figure 35. Les étapes du test de l'activité antioxydante des HEs de *Salvia officinalis* (Photos personnelles, 2024)

III.3.1.3. Détermination de pourcentage d'inhibition

Selon (Sharififar *et al.*, 2007), l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) a été calculée de la manière suivante :

$$\% DPPH = \frac{Abs T - Abso E}{Abs T} \times 100 \quad (\text{Wang et al., 2002})$$

Abs blanc : absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai)

Abs HE : absorbance d'huile essentiel.

III.3.1.4. Détermination del'IC50

La cinétique des réactions des H.Es et de l'acide ascorbique avec le DPPH a été inscrite à chaque concentration examinée. A la fin des réactions, les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations en H.E et en acide ascorbique ont été tracés pour obtenir à l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour réduire 50% de la concentration initiale de DPPH (Khoudali *et al.*, 2014). La CI50 a été déterminée graphiquement en utilisant la formule issue de la régression linéaire.

III.3.2.Evaluation de l'activité antibactérienne

III.3.2.Matériel

Tableau 06. Matériels de l'activité antibactérienne

Appareil	Verreries et Autres	Réactifs et Autres	Solvants et Solutés
Balance de précision (ALS 286 4N)	Tube à vis 16×160 mm etportoir	Milieu solide MH	Eau physiologique stérile
Micropipette de 10-100µl	Erlenmeyer 1000ml	Gélose nutritive	Eau distillée
Plaque chauffante/agitateur magnétique (IKA RH basic2)	Deux flacons de 200 ml	H.E de C. sinensis	Eau de javel
	Spatule		
Etuve (DLAB TECH DAIHAN co LTD)	Anse platine		
	Pipette Pasteur		
Etuve (Heraeus typ 5042)	Ecouvillon		
Autoclavage	Boîtes pétri		

Bec benzene	Disques stériles/Pince	
	Embouts jaunes	
	Papier aluminium	

III.3.2.2. Test d'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne, des HEs nous avons adopté la méthode d'aromatogramme, c'est une méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles de papier WATTMAN. Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien en gélose, avec une concentration standard pendant un certain temps de contact entre les huiles et les bactéries cible. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. L'activité antibactérienne sera qualifiée de bonne, très bonne et excellente ou absente (Meddour *et al.*, 2013).

III.3.2.2.1. Isolats bactériens

Pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites à partir de *S. officinalis*, des isolats bactériens de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ont été utilisés pour tester nos huiles essentielles ainsi que nos antibiotiques.

III.3.2.2.2. Milieu de culture

Pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes traitées par huile essentielle de *Salvia officinalis*, nous avons utilisé le milieu MH qui est le plus employé pour l'aromatogramme. La préparation de ce dernier se fait comme suite :

- Peser avec précision une quantité de poudre déshydratée du MH équivalente 15,2g dans un Erlenmeyer, en y ajoutant 400 ml d'eau distillée.
- Le mélange de poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux.
- Le milieu préparé est ensuite réparti dans deux flacons stériles avant d'être Autoclavé pendant 20 min à 120°C.

III.3.2.2.3. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *S. officinalis* (Aromatogramme)

Une quantité suffisante de souches bactériennes pures a été récupérée à l'aide d'une anse de platine. La réactivation des souches se fait dans des tubes à vis contenant 5 ml de l'eau physiologique stérile puis homogénéisation par une faible agitation manuelle. Ensuite, un ensemencement d'une suspension bactérienne a été réalisé sur des boîtes pétris, contenant le milieu MH avec une épaisseur de 4mm à l'aide des écouvillons. Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24 h dans une étuve réglée à une température de 37 °C.

Trois disques stériles de papier wattman de 06 mm de diamètre contenant 5, 10 et 15µl des huiles essentielles de *Salvia officinalis* ont été déposés sur chaque disque, puis déposés sur la culture de chaque bactérie étalée sur le milieu MH.



Figure 36.Activité anti-bactérienne (Photos personnelles, 2024)

III.3.2.4. Lecture des resultats de l’aromatogramme

La lecture se fait par la mesure du diamètre des zones d’inhibitions qui a apparu autour les disques à l’aide d’une pied a coulisse, les résultats expérimentaux sont représentés dans le **Tableau 07**.

Tableau 07.Interpretation des diametres de l’aromatogramme(**Poncet al.,2003; Hamidi, 2013**)

Diamètre du halo d’inhibition (X)	Activite	Résultats
$X \leq 6 \text{ mm}$	Absence	-
$6 \text{ mm} < X < 10 \text{ mm}$	Faible	+
$10 \text{ mm} < X < 15 \text{ mm}$	Bonne	++
$15 \text{ mm} < X < 20 \text{ mm}$	Très bonne	+++
$X \geq 20 \text{ mm}$	Excellente	++++

III.3.2.5. Etude de l’activite antibacterienne des antibioitiques (*Antibiogramme*)

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes était étudié par la méthode de diffusion de disque selon le comité de standardisation de l’antibiogramme (**CLSI, 2018**),en utilisant une gamme de disques chargés d’antibiotiques commercialisée pour évaluer leur action antibactérienne par rapport aux huiles essentielles de *S. officinalis*. Des suspensions bactériennes ont été préparées et ajustée à une densité optique de 0,5 McFarlan qui correspond à $1 \text{ à } 2 \times 10^8 \text{ UFC/ml}$. La répartition de la suspension bactérienne sur la surface de la glose Mueller-Hinton par écouvillonnage de haut en bas en stries serrées. Opération répétée deux fois en tournant la boîte de pétri à 60° de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter l’écouvillon sur lui-même, finir l’ensemencement en passant l’écouvillon sur la périphérie de la gélose. Les disques d’antibiotiques sont déposées sur cette surface ensemencée ; les boîtes sont incubés à l’étuve à 37 pendant 24 h.

III.3.2.6.Lecture et interprétation des résultats de l’antibiogramme des différents souches testés

Après la mesure des diamètres des zones d’inhibition, nos résultats ont été interpréter en utilisant la table réaliser par le comité **CLSI, (2018) (Tableau 08)**.

Tableau 08. Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrer avec différents antibiotiques.

ATBs	Diamètres des zones d'inhibition		
	S	I	R
Rifampicine	≥15	13-14	≤12
Erythromycine	≥23	14-22	≤13
Acide Fusidique	≥21	16-20	≤15
Spiramycine	≥21	15-20	≤14
Cefoxitine	≥22	17-20	≤21
AMX+Ac clavunalique	≥18	14-17	≤13
Gentamycine	≥15	13-14	≤12
Cefotaxime	≥26	23-25	≤22
Ciprofloxacine	≥31	21-30	≤20
Colistine	≥15	/	≤14

Résultats et discussion

VI. RÉSULTATS

VI.2. Propriétés organoleptiques et rendement des huiles essentielles de *Salvia officinalis*

L'extraction par hydrodistillation de la matière sèche de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis* fournit des huiles essentielles ayant une coloration jaune pâle (**Figure 37**), de fortes et persistantes odeurs et avec un rendement de 1,73 % (**Tableau 08**).

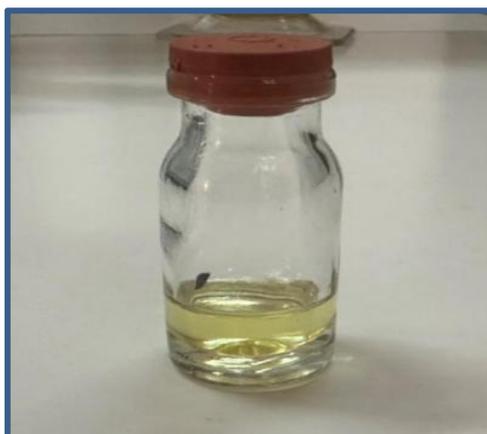


Figure 37. Huile essentielle de *S. officinalis* (Photo personnelle, 2024)

Tableau 09. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles du *Salvia officinalis*

Caractéristiques	<i>Salvia officinalis</i>
Aspect	Liquide
Couleur	Jaune pâle
Odeur	Une forte odeur agréable
Rendement	1.73%

VI.3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *S. officinalis*

Les propriétés physico-chimiques telles que : le pouvoir rotatoire, la densité relative, l'indice d'acide, l'indice de peroxyde....ect, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par la pharmacopée européenne. Ainsi, nous avons reporté dans les tableaux(10 & 11) les résultats des caractères physico-chimiques de l'huile extraite. Confirmés avec celle de la (**Pharmacopée Européenne 2007**).

VI.3.1. Caractères physiques

Les résultats de la détermination des propriétés physiques telles que la couleur, la densité relative et la miscibilité à l'éthanol sont affichés dans le tableau 10.

Tableau 10. Indices des paramètres physiques

Paramètres	Résultats
Couleur	45.69
Densité relative	1
Miscibilité dans l'éthanol	3ml

VI.3.2. Caractères chimiques

Les résultats de la détermination des propriétés chimiques : indice acide, acidité, et indice peroxyde de l'HE de *L. angustifolia* sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11. Indices des paramètres chimiques

Paramètres	Résultats
Indice d'acide	0.28
Acidite	0.0007 %
Indice de peroxyde	1.79 méq.O2 /Kg

VI.4. Activité antioxydante des huiles essentielles de *S. officinalis*

VI.4.1. Etude cinétique de la réduction par le test DPPH

Les valeurs obtenues de nos HEs et de vit C ont permis de tracer des courbes présentées dans la figure 38 et 39. D'une manière générale, les absorbances enregistrées pour les HEs et la Vit.C diminuent en fonction du temps. Quelle que soit la concentration utilisée, la réaction entre le DPPH et l'acide ascorbique (donneurs d'électron) atteint l'équilibre rapidement après 5 min. Ensuite l'évolution reconnaît une allure stationnaire jusqu'à 30 min. En ce qui concerne les HEs de *Salvia*, l'équilibre est atteint un peu plus tard (après 15 min). On observe également que l'intensité de la réaction est dose-dépendante pour la vit.C et même pour les HEs. En effet, les valeurs de l'absorbances diminuent avec l'augmentation de la dose utilisée.

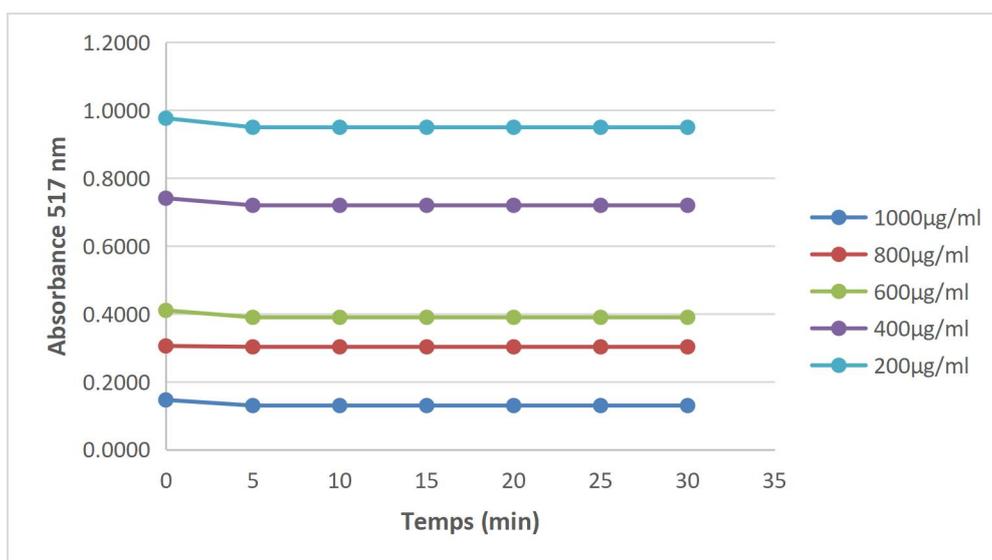


Figure 38. Réduction de DPPH par l'acide ascorbique (Vit C)

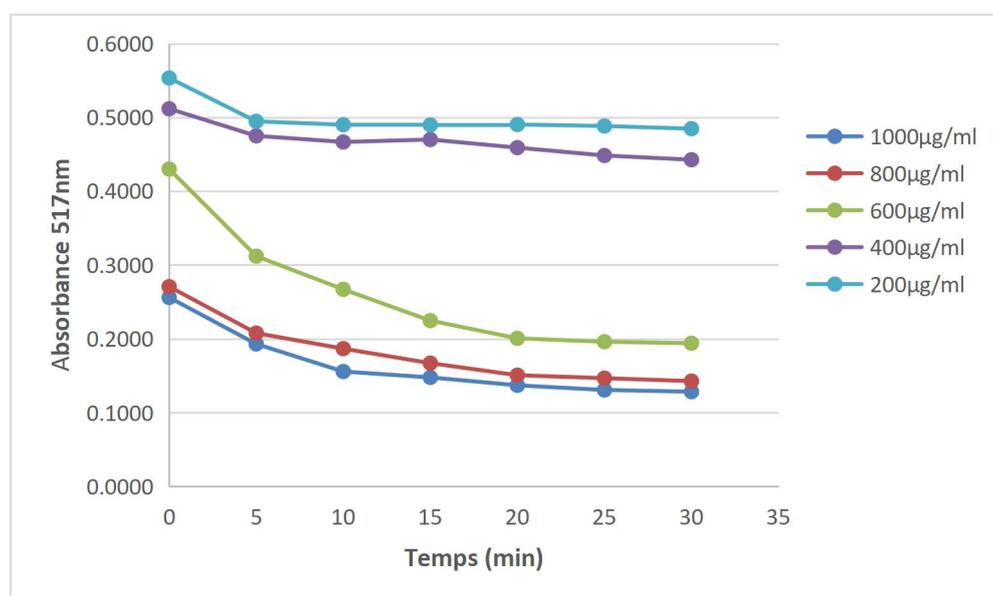


Figure 39. Réduction de DPPH par les HEs de *Salvia officinalis*

VI.4.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été examiné pour chaque concentration des HEs de *S. officinalis* et de vitamine C. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Ces résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre de la vit C ainsi que les HEs de *Salvia* augmente avec l'augmentation des concentrations. On observe pour les doses de

1000 µg/ml, le pourcentage d'inhibition du radical libre des HEs est proche à celui de la vitamine C (77.68% vs 90.21%) respectivement, et pour la dose de 200 µg/ml le pourcentage d'inhibition des HEs est de (15.71%) alors qu'il est de 28.46% pour l'acide ascorbique.

Nos résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical enregistrées pour la Vit.C est eleve que celles enregistrées pour les HEs de *S. officinalis*.

Tableau 12. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par la vit C et les HEs de *Salvia officinalis*

Concentration (µg/ml)	1000	800	600	400	200
Pourcentage d'inhibition Vit C %	90.210	77.183	70.632	45.783	28.463
Pourcentage d'inhibition HEs %	77.681	75.188	66.260	23.014	15.710

VI.4.3. Détermination de l'IC₅₀ (Concentration inhibitrice 50%)

À des fins comparatives, nous avons évalué l'IC₅₀ des deux composés (HEs et vit.C). Cet indicateur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire décroître la concentration initiale du DPPH[•] à la moitié (50%). L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Cela veut dire que la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC₅₀ est petite. Les valeurs de l'IC₅₀ ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire comme c'est illustré dans la **Figure 40**.

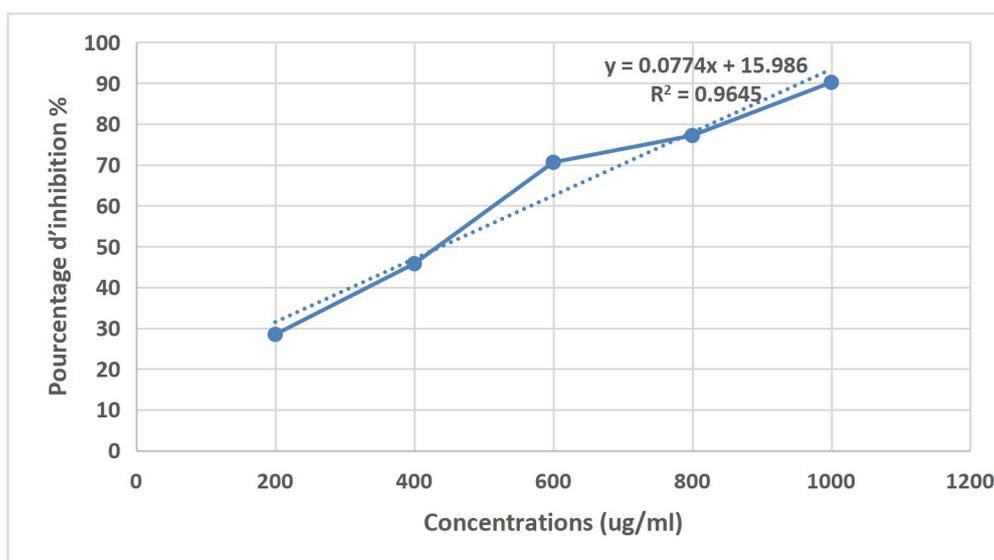


Figure 40. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (vit.C)

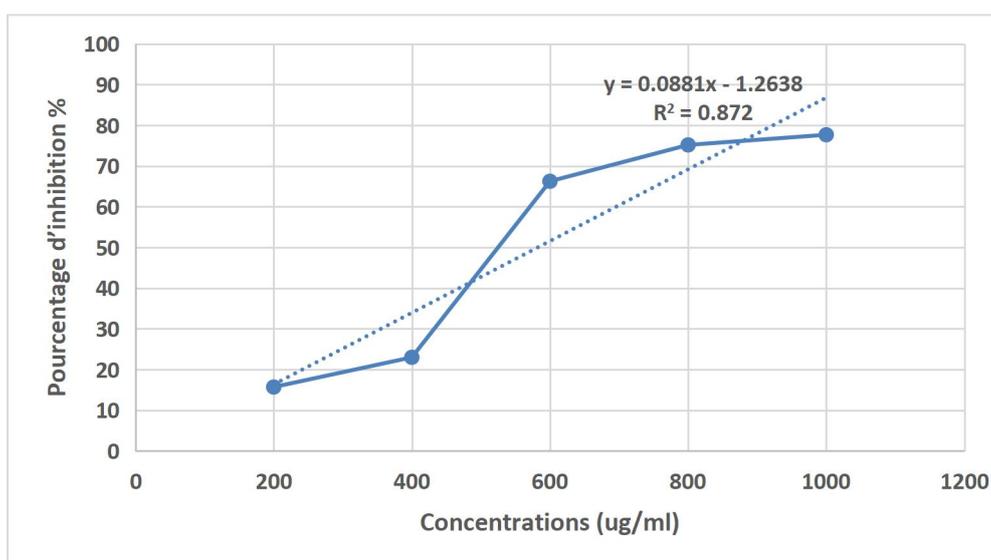


Figure 41. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations des HEs de *Salvia officinalis*

Concernant les HEs de *Salvia officinalis*, l'IC₅₀ est de 581.88 µg/ml montrant un pouvoir antioxydant comparable à celui de l'acide ascorbique (vit C), qui marque une valeur d'IC₅₀ de 439.45 µg/ml. D'après ces résultats, notre huile essentielle possède un potentiel anti-oxydant intéressant par rapport à notre molécule témoin la vit C.

VI.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *S. officinalis*

VI.5.1. Récupération des souches bactériennes

Après incubation de notre souche bactérienne à 37° pendant 24h, on a obtenu des colonies isolées (**figure 42**) avec lesquels on a préparées des suspensions mères de différentes souches afin d'effectuer des antibiogrammes et des aromatoigrammes.



Figure 42. Souches bactériennes testées (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) (Photo personnelle, 2024)

VI.5.2. Aromatoigramme des huiles essentielles de *S. officinalis*

Les résultats de l'activité antibactérienne des HEs de *S. officinalis* sont illustrés dans le tableau 13. Nos résultats montrent que les HEs de *S. officinalis* exercent un effet antibactérien sur toutes les souches de *S. aureus* par contre *P. aeruginosa* et *E. coli* n'ont pas montré aucune zone d'inhibition tout autour des disques contenant les HEs.

La mesure de la zone d'inhibition des huiles essentielles a permis de conclure que l'activité antibactérienne des HEs de *S. officinalis* a été excellente avec toutes les souches testées avec un diamètre supérieur à 20 mm.

Tableau 13. Détermination des diamètres de la zone d'inhibition (mm) des HEs vis à vis des différentes souches testées

Souches	Huiles de <i>S. officinalis</i>		
	5ul	10ul	15ul
<i>S. aureus 1</i>	23mm	21mm	25mm
<i>S. aureus 2</i>	45mm	45mm	48mm
<i>S. aureus 3</i>	22mm	22mm	25mm
<i>E. Coli</i>	≤ 6 mm	≤ 6 mm	≤ 6 mm
<i>P. aeruginosa</i>	≤ 6 mm	≤ 6 mm	≤ 6 mm



Figure 43. Zones d'inhibition des HEs de *Salvia officinalis* (Photos personnelles, 2024)

VI.5. 3. AntibioGramme des huiles essentielles de *S. officinalis*

Les résultats des tests de l'activité antibactérienne des antibiotiques sont illustrés dans le **tableau 14**. Nos résultats montrent que les souches de *S. aureus* présentent différents profils avec une résistance de haut niveau observée avec la cefoxitine $\leq 6\text{mm}$ ce qui rend nos souches résistantes à toutes les classes des Beta-lactamines. Alors que, une résistance d'*E. coli* à l'amoxicilline/Ac clavulanique a été enregistrée, la souche de *P. aeruginosa* a montré une résistance à la colistine (**Figure 45**).

Tableau 14. Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis de différentes souches testées

Souches	Antibiotiques				
	Rifampicine	Spiramicine	Acide fucidique	Erythromicine	cefoxitine
<i>S. aureus 1</i>	39mm	27mm	14mm	$\leq 6\text{mm}$	$\leq 6\text{mm}$
<i>S. aureus 2</i>	43mm	31mm	36mm	$\leq 6\text{mm}$	$\leq 6\text{mm}$
<i>S. Aureus 3</i>	32mm	23mm	29mm	18mm	$\leq 6\text{mm}$
	AMX+Ac clavulanique	Gentamycine	Cefotaxime	Ciprofloxacine	
<i>E. Coli</i>	8mm	32mm	35mm	24mm	
	Ciprofloxacine	Gentamycine		Colistine	
<i>P. aeruginosa</i>	27mm	19mm		12mm	

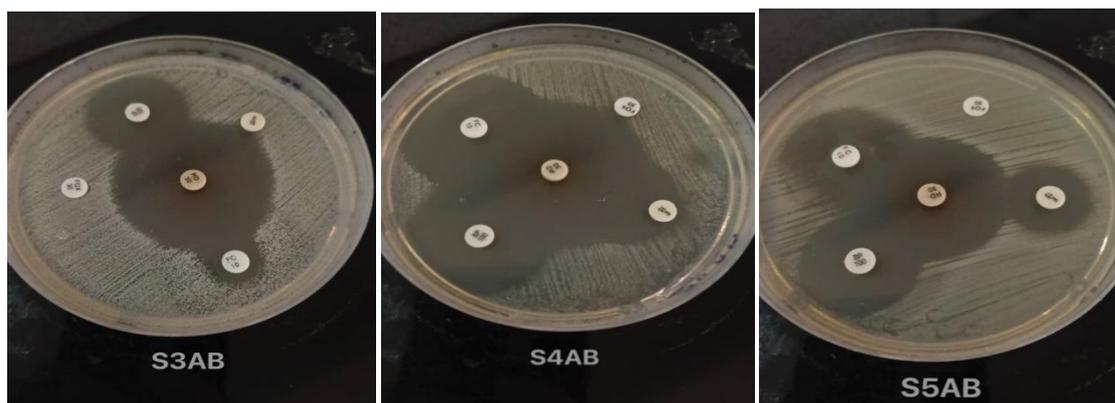


Figure 44. Zones d'inhibition des antibiotiques contre les *S. aureus* testés (Photos personnelles, 2024)

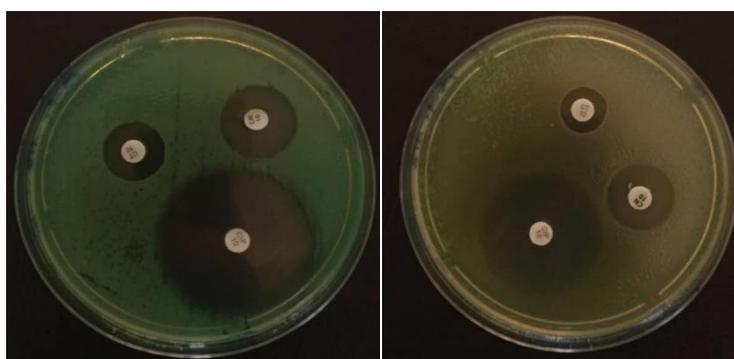


Figure 45. Zones d'inhibition des antibiotiques contre les *Pseudomonas aeruginosa* testés (Photos personnelles, 2024)

IV.5.4. Résultats de la détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a permis de déterminer les profils suivants:

- ✓ *S. aureus* 01: Le profil (S R S S R)
- ✓ *S. aureus* 02: Le profil (S R S S R)
- ✓ *S. aureus* 03: Le profil (S R S I R)
- ✓ *E. coli*: Le profil (RS S S)
- ✓ *P. aeruginosa*: Le profil (SS R)

VI.5.5. Etude comparative de l'activité des huiles essentielles de *S. officinalis* et des antibiotiques

L'étude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles avec celles des antibiotiques testés a permis d'enregistrer une excellente activité à l'égard des trois souches de *S. aureus* présentant différents profils d'antibiorésistance, et une absence d'activité avec *E. coli* et *P. aeruginosa*.

VI.5.6. Validation des tests

Les souches testées ont été utilisées pour valider l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *S. officinalis* par l'utilisation du (DMSO) comme témoin négatif (**Figure 33**) et témoin positif représenté par les disques d'antibiotiques testés (sensible).



Figure 46. Résultats de validation des tests (Photo personnelle, 2024).

V.DISCUSSION GENERALE

Le rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation de la partie aérienne de *Salvia officinalis* enregistré une valeur de 1,73 %. Ce même rendement (1,73%) a été rapporté par (Laraqui, 2016) et (Taleb-Toudert, 2015) chez la même espèce. Cependant, El-Azrak, (2017) avait obtenu les rendements d'HE de sauge de 1,01; 2,05; 2,50; 2,90 et 0,09 % pour la Tunisie, France, Hongrie, Portugal et l'Iran respectivement. Par ailleurs, les études faites par Gomes *et al.*, (2004) ont montré l'influence de la méthode d'extraction d'une part et d'autre part l'influence du cycle végétatif sur le rendement et la qualité des HEs. Plusieurs facteurs déterminent le rendement des plantes en huiles essentielles à savoir l'espèce de plante utilisée, l'aire de sa répartition géographique, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction, la température, la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante (Tchoumbounganget *al.*, 2005 ; 2006).

L'application d'une huile essentielle nous oblige à vérifier ses qualités à savoir : ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur) et ses caractéristiques physicochimiques (densité, indice de réfraction, potentiel d'hydrogène, et indice acide....etc). Les HEs de *S. officinalis* extraite par hydrodistillation présente les propriétés organoleptiques suivantes : liquide mobile, couleur jaune claire avec une odeur agréable. D'après la Pharmacopée Européenne, (2008) l'aspect des huiles essentielles de la sauge est liquide, de couleur jaune-brun avec une odeur caractéristique. Par contre la sauge d'Espagne est un liquide mobile d'une couleur jaune pâle avec une odeur rappelant celle du camphre. Les extractions des HEs de la sauge avaient fourni une couleur jaunâtre avec une très forte et persistante odeur (Laraqui, 2016).

Selon Hilan *et al.*, (2005), les caractères organoleptiques sont en relation avec la période de cueillette; la sauge du Liban *Salvia libanotica* a un aspect liquide avec une couleur jaune pâle au printemps et jaune foncée en automne et odeur fortement cinéolique. Les HEs possèdent des critères organoleptiques communs comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau. Cependant, certaines propriétés organoleptiques restent propres à chaque HE (Franchomme *et al.*, 2011). Les HEs sont volatiles, c'est ce qui les rend entraînaibles à la vapeur et particulièrement odorantes. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou fixes. La volatilité étant très liée à la composition chimique, les monoterpènes sont par exemple beaucoup plus volatiles que les sesquiterpènes (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2012). Chaque composé par sa volatilité, dégage une odeur propre, ainsi certaines plantes peuvent avoir une odeur similaire due à une

molécule commune présente en quantité notable dans l'huile essentielle (Nakahara et al., 2003).

La détermination de la couleur des huiles renseigne sur les pigments qui peuvent éventuellement exister dans une huile (**Morin, 1992**). La couleur est déterminée en analysant l'huile par spectrométrie dans le visible selon le mode opératoire décrit par l'A.O.C. Les résultats obtenus sont en moyenne de 45.69. Selon **Karleskind, (1992)**, les valeurs comprises entre 24,33 et 39,77 correspondent à une coloration jaune, ce qui est en accord avec nos résultats. Ceci laisse penser qu'en plus de la chlorophylle, les huiles sont riches en pigments de caroténoïdes et xanthophylles (**Franchomme et al ., 2011**). Le β -carotène se rencontre dans toutes les huiles végétales. C'est un colorant particulièrement sensible à la chaleur et à l'oxydation. Il est transformé en un composé incolore par hydrogénation. La chlorophylle est présente en grande quantité dans les huiles. Les colorants d'origine oxydative sont responsables de la couleur brune de certaines huiles (**Kartika, 2005**).

La détermination de la densité d'une huile, nous renseigne sur sa pureté. Elle est en fonction de la composition chimique de l'huile et la température (**Karleskind, 1992**). Dans notre étude, on a déterminé ce critère de pureté à une température de 20°C dont les résultats révèlent que la densité de notre huile est de 1. La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau. Selon **Garnero,(1996)**, la densité renseigne sur la composition chimique ; ainsi une densité inférieure à 0,9 indique la présence dans cette huile de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques. Les huiles essentielles de la sauge présente une densité de 1.cette valeur est conforme à celle donnée par **la Pharmacopée Européenne, (2007)** dans l'intervalle [0.907 et 0.932], et aussi selon **Fellah et al, (2006)** qui ont obtenus une densité de 0.9268.Les HEs de la sauge est miscible à un volume maximal égal à 3 ml, conformémant aux valeurs de la **Pharmacopée Européenne, (2007)**, qui indiquent 1 ml à l'éthanol 80%.

L'indice d'acide ou l'acidité est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation d'acides libres contenus dans un gramme d'huiles essentielles. C'est un critère de qualité permettant de déterminer la teneur en acides gras libres qui renseigne sur l'activité des lipases, la stabilité d'une huile ainsi que sur la qualité du fruit. Les acides gras libres dérivent de l'hydrolyse des triglycérides (**Chimi, 2005**). Dans notre étude, cet indice est de 0,28 mg (< 1), avec un pourcentage d'acidité de 0,0007 %. Un indice

d'acide faible indique que les huiles essentielles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation car l'huile en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acidité (**De Cliff & Harerimana, 2013**). L'indice d'acide de l'huile essentielle de sauge est égale à 0,28 mg. Cette valeur est conforme aux normes de la **Pharmacopée Européenne, (2007)** qui signifie la valeur maximale 2, et proche de la valeur donnée par **Fellah et al., (2006)** qui ont trouvés un indice acide de 1,41.

L'indice de peroxyde est un critère de qualité mesuré afin d'évaluer le degré d'oxydation de l'huile, et de contrôler les premières étapes de l'altération oxydative (**Chimi, 2005**). L'indice de peroxyde (encore appelé indice de Léa) est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant (UV, eau, enzyme, trace de métaux,...). Les premiers composés formés au cours de l'oxydation sont les peroxydes ou les hydroperoxydes. Ceux-ci vont ensuite évoluer vers des composés plus stables : aldéhydes, cétones, acides (**Cheftel et al., 1984**).

Nos résultats montrent que l'indice de peroxyde des huiles essentielles testées est de 1,79 méq.O₂ /Kg. Les valeurs de l'Ip varient de 0,25 à 4,1 méq.O₂ /Kg (**Hilali, 2005**) ou de 0,2 à 11,5 méq.O₂ /Kg (**Afssaps, 2002**). Ces valeurs sont généralement inférieures à 10 meq.O₂/Kg ; ce qui caractérise la plupart des huiles conventionnelles. Cela, peut s'expliquer par la richesse de l'huile en tocophérols qui sont des substances antioxydantes naturelles (**Codex Alimentarius, 1992**). Les HEs sont altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (**Rakotonanahary, 2012; Barkat & Laib, 2011**). Une huile essentielle sera déclarée de bonne qualité si elle est conforme en tous points à la spécification des normes. Une marge de variabilité est toutefois tolérable.

Pour l'étude des activités biologiques des huiles essentielles de *S. officinalis*, nous avons passé en revue la littérature scientifique existante sur la plante. Nombreuses études phytochimiques, pharmacologiques et toxiques ont été effectuées sur les différentes parties de la plante comparées avec les résultats des recherches bibliographiques. Notre étude avait aussi pour but de tester in vitro l'activité antioxydante des huiles essentielles de *S. officinalis* réalisée par la méthode de 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles a été mesurée par un test DPPH « la capacité de piégeage des radicaux libres ». Les résultats obtenus ont montré que les HEs de *S. officinalis* ont un bon piégeage des radicaux libres qui est comparable à celui obtenu

avec des antioxydants synthétiques (vit. C) ou le pourcentage d'inhibition du radical libre enregistrées pour les HEs est proche que celles enregistrées par la vit C (77.68% vs 90.21%). Des résultats similaires ont été signalés par **Bozin et al. (2006)** qui ont montré que l'huile essentielle de *S. officinalis* et *Melissa officinalis* possède un excellent piégeage des radicaux libres. Selon **Mimica Dukic et al. (2003)**, les composés de piégeage les plus puissants sont le β -thuyone, le camphre, le bornyle, et le 1,8-cinéol et la meilleure activité de piégeage de l'huile essentielle de *S. officinalis*, pourrait être due au contenu élevé en cinéol 1,8.

Les vertus antimicrobiennes des HEs sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles (**Carla et al, 2000**) et des applications sans bases scientifiques précises. Les résultats de l'activité antimicrobienne « *in vitro* » obtenue à l'aide de la méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme) montrent une excellente activité antibactérienne des HEs vis-à-vis les Gram+ (*S. aureus*) testées et aucune activité n'a été observée chez les souches de Gram- testées (*E. coli* et *P. aeruginosa*). Les huiles essentielles de la sauge *S. officinalis* ont une excellente activité antibactérienne contre la bactérie à gram positif, *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibition variant entre 21 et 48 mm de diamètre. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Pereda-Miranda et al. (1992)** et **Farag et al. (1989)** qui ont montré que les huiles essentielles de la sauge de Serbie et d'Égypte sont très actives contre les bactéries à gram positif (*Staphylococcus aureus*). L'huile essentielle de la sauge a une activité antibactérienne très puissante contre la bactérie à gram positif, *Bacillus subtilis* avec une zone d'inhibition de 27 mm (**Chabou et Kouaci, 2013**). D'après **Kalembe et Kunicka (2003)**, la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés de l'HE et du microorganisme lui-même. Il est bien connu que les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles aux HEs que les bactéries à Gram (-). Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs confirment ce phénomène (**Poole, 2001 ; Cimanga et al., 2002 ; Burt, 2004 ; Bekhechi et al., 2008**). La grande résistance des bactéries à Gram (-) aux HEs est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram (+) (**Poole, 2001 ; Burt, 2004a ; Busatta et al., 2008**). L'effet antimicrobien de la sauge des huiles essentielles de *S. officinalis* a une excellente activité grâce à la présence de 1-8 cinéol, le β -thuyone et le camphre (**Kustrak & Pepeljnjak, 1989**). Cependant la comparaison de l'efficacité des HEs à travers les différentes publications dépend de différents paramètres comme la composition chimique des HEs qui varie selon les conditions environnementales de la plante, même au sein

d'une même espèce. Donc les activités antimicrobiennes d'une HE diffèrent selon la composition chimique, les génotypes, les méthodes employées pour évaluer l'activité antimicrobienne (la technique de diffusion par disque sur agar ou par méthode de dilution). Les résultats obtenus peuvent être différents ; selon le choix et conditions physiologiques des microorganismes, la période de l'exposition du microorganisme à l'HE, aux doses des HEs utilisées, le choix de l'émulsifiant pour solubiliser les HEs. Ceux-ci autant de facteurs pouvant expliquer parfois des résultats contradictoires des différentes études (**Hellal,2010**).

Conclusion
Et
perspectives

IV. CONCLUSION

Ce modeste travail, s'inscrit dans une dynamique visant à valoriser et préserver une plante aromatique et médicinale *S. officinalis*, très utilisée traditionnellement par les populations locales pour le traitement de certaines maladies. Les méthodes et les techniques utilisées nous ont permis d'extraire les huiles essentielles et d'étudier certaines activités biologiques.

- ✓ L'extraction par hydrodistillation de type clevenger, a révélé un bon rendement de 1.73%.
- ✓ L'analyse physicochimique établi peut juger partiellement la qualité de notre huile essentielle extraite à partir de la plante médicinale *S. officinalis* (de la région de Tébessa) par hydrodistillation grâce aux critères suivants :
- ✓ Leurs caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur, couleur) qui sont du même ordre que celles retrouvées dans la littérature affirment la bonne identification de notre espèce.
- ✓ Une densité relative de valeur de 1 est très proche à celui cité par la littérature, témoigne son haute pureté.
- ✓ De même, les paramètres chimiques ont trouvés, une valeur d'indice peroxyde égale a 1.79 méq.O₂ / kget d'indice acide égale a 0.28. Cette faible valeur traduit la stabilité des huiles essentielles sur le plan d'oxydation (caractère antioxydant). Ce qui nous ramène à dire initialement que notre huile est de bonne qualité.
- ✓ Les HES de *S. officinalis* ont montré une bonne activité antioxydante proche a celle obtenue par lavit.C (CI₅₀ = 581.88 µg/ml vs 439.45 µg/ml).
- ✓ Concernant l'activité antimicrobienne nous avons constate que les huiles essentielles de *S. officinalis*, présentent un excellent effet inhibiteur sur les souches microbiennes testées de *S. aureus*.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter le présent travail par :

- ❖ Caractérisation de la composition chimique des HES extraites a partir de *Salvia officinalis* par GC-MS.
- ❖ Purification des composés majoritaires et minoritaires de ces HES et étudier leurs effets anti-oxydant et antibactérien.
- ❖ Evaluation de l'impact des variations saisonnières sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité de ces huiles essentielles

*Références
bibliographiques*

-
- Allinger , N.L., M, P, Gava,C.r Dejogle, C.R.jonhson, N.A Lebel, et C.L Stevens, (1975).** Chimie organique, Ediscience MC Graw. Hill, Paris, 813.
- Al-Qura'n S. (2008).** "Taxonomical and pharmacological survey of therapeutic plants in Jordan," Journal of Natural Products, vol. 1, pp. 10–26.
- Amin, A., & Hamza, A. A. (2005).** Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. Life sciences, 77(3), 266-278.
- Amirouche R., Belkolai F., 2013.** Effet in vitro de l'association des huiles essentielles de Salvia Officinalis, Melaleuca alternifolia et deux composés majoritaires sur les bactéries, Mémoire de Master, Université de Bejaia.
- Amr S. and S. Dorđevi'c. (2000).** "The investigation of the quality of sage (Salvia officinalis L.)," Originating from Jordan, vol. 1, no. 5, pp. 103–108.
- Anonyme (2007) 1,2 .** <http://fr.wikipedia.org/wiki/sauge.html>. Le 22 Mars 2007.
- Anonyme (2013) 4.** <http://larodz.chez-alica.fr/plants/sauge.html>. Le 03 Mai 2013.
- Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A., & Zupancic, A. (2001).** Topical anti-inflammatory activity of Salvia officinalis L. leaves: the relevance of ursolic acid. Journal of ethnopharmacology, 75(2-3), 125-132.
- Bekhechi, C., Atik-Bekkara, F., & Abdelouahid, D. E. (2008).** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'Origanum glandulosum d'Algérie. *Phytothérapie*, 3(6), 153-159.
- Beloued A.E.K., (2001) .** Plantes médicinales d'Algérie. O.P.U. Alger, 277p.
- Benavente-Garcia O., Castillo J&Lorente J. (2000).**Antioxidant activity of phenolics extracted from oleaeuropaea L leaves, Food Chem, 68: 457-462.
- Beneteaud, E. (2011).** Les techniques d'extraction. Comité français du parfum, France, 2-7.
- Benkherara Salah, Ouahiba Bordjiba & Ali Boutlelis Djahra., 2011 .** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : Salvia officinalis L. sur quelques entérobactéries pathogènes ; Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar, BP 12, Annaba 23000, Algérie. Revue Synthèse N°23,2011 ; page 72-80.
- Beylier-Maurel, M. F. (1976).** Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. *Rivista Italiana*, 58, 253-256.
- Bezzina Raziqa&Charaoui Zohra.(2017).**Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de la sauge (Salvia officinalis).Mémoire de Master.
- Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. & Botrel A. (2001) .** Larousse des plantes

médicinales : identification, préparation, soins. Edition Larousse.

Bockish, J. Manuel, (1993). technologie alimentaire - Graisses et huiles alimentaires ; Eugen Ulmer Limited and Co. : Stuttgart, Allemagne, p. 240.

Bouguerra, N. (2019). Efficacité comparée des extraits de deux plantes, Thymus vulgaris et Origanum vulgare à l'égard d'une espèce de moustique, Culex pipiens: Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs.

Brophy J.J., Craven L.A. et Doran J.C. (2013). Melaleucas : leur botanique, leurs huiles essentielles et leurs utilisations. Monographie ACIAR n°156. Centre australien de recherche agricole internationale : Canberra. 415 pages.

Bruneton J. Pharmacognosie, (1999). photochimie, plantes médicinales. Edition technique et documentation. 3^{ème} édition Lavoisier .Paris.

Bruneton J., (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . Ed.,Lavoisier, TEC et DOC., Paris 1^{ère} édition, 440 p.

Bruneton J., (1995). Pharmacognosy, Phytochemistry and medicinal plants. Technique et documentation. Ed., Lavoisier, paris, 526 p.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

Chaffa,I, (2006), Extraction de l'huile essentielle de Salvia officinalis L. par différents procédés.

Chaumeton H., (1959). Les plants aromatiques, comment les reconnaître.Paris.Solar.355-358p.

CHELLOUAI, S., & HAMZI, A. (2022). Etude de l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de: sauge, thymus et romarin (étude comparative) (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., ... & Vlietinck, A. J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology*, 79(2), 213-220.

Clarck R.O.J , et R.C.Menery, (1980). Environmental and cultural factors affecting de yield and composition of peppermint oil (Mentha pepireta), XIII congrés international des huiles essentielles, France.

Devansh, M. (2012). Salvia officinalis Linn: Relevance to modern research drive. *Planta Activa*, 4, 203-07.

-
- Dike, M.C.; Asuquo, M.E, (2012).**Composition proximale, phytochimique et minérale des graines d'*Allanblackia floribunda*, *Garcinia kola* et *Poga oleosa* de la forêt tropicale du Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 11, 11096-11098.
- Djerroumi A., et Nacef M. (2004).** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 -131.
- Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000).**Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- Duling E.N., Owen J.C., Joh B.G., Rosmaru F.W., Kevin A.M., Yeap L.F & Nigel B.P.,(2007).** Extraction of phenolic and essential oil from dried sage (*salvia officinalis*) using ethanol water mixture. *Food chemistry*, 101:1417-1424.
- Dupont, F., & Guignard, J. L. (2015).**Botanique: les familles de plantes. Elsevier Masson.
- Dutertre, J. (2011).**Enquete prospecive au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de réunion: à propos des plantes médicinales. France: Univ.Bordeaux 2-victor segalen U.F.R des sciences médicales (thèse doctorat).33p.
- Elshafie, E. E., & Camele, V. (2016).** Synergistic antibacterial activity of carvacrol, thymol, and p-cymene against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Frontiers in microbiology*, 7, 1894.
- F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle –Féat T., F.Vernou, et H.Richard,(1979).** Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. *APRIA.*, 2, 10, 151-166.
- Fabian, D., Sabol, M., Domaracké, K., Bujnéková, D. (2006).** Essential oils their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability.*Toxicol. Invitro* 20, 1435-1445.
- Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques &Moget Elisabeth.(1992)** .Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples,Pour Resoudre Les Problemes Simples, p 93.
- Farag R. S., Salem, H., Badei, A., &Hassanein, D. E. (1986).** Biochemical studies on the essential oil of some medicinal plants. *Fette Seifen Anstrichmittel.*, 88 (2), pp. 69 -72.
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M., & El-Baroty, G.S.A.(1989).**Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of food protection*, 52(9), 665-667.
- Farnsworth, Norman R., Akerele, Olayiwola, Bingel, Audrey S., Soejarto, Djaja D. & Guo, Zhengang.(1986).** Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin*

de l'Organisation mondiale de la Santé 1986; 64(2) : 159-175, 64 (2), 159 - 175. MAR. 11:33.

Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M. (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. I cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal-Societe Algerienne De Chimie*, 16(2), 193.

Finar, Organic chemistry. Ed Longman Scientific and technical, 1994, Vol II, pp 354-356.

François Couplan. (2012). Editions Quae, 14 juin. Les plantes et leurs noms. - 224 pages

Garnero, J. 1976, Journée de demopharmacie , France, 22-23 Mai, 1-23.

Gérard Debuigne et François Couplan. (2008-2009). Petit Larousse des plantes médicinales. Faculté libre des sciences et technologies L3 environnementaliste Monographie *Salvia officinalis*, 352, 6.

Ghada, K., & Manar, Z. (2023). Enquête ethnobotanique et étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du laurier (*Laurus nobilis* L.) et du thym (*Thymus vulgaris* L.) (Doctoral dissertation, university center of abdalhafid boussouf-MILA).

Ghiaba, I., & Raoudi, A. (2020). Etude de l'effet inhibiteur des huiles essentielles de *Anacyclus valentinus* L sur la corrosion de l'acier X70 dans un milieu d'acide H₂SO₄ (0.5 M (Doctoral dissertation, Université KASDI-MERBAH Ouargla).

Ghorbani, A., & Esmailizadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of traditional and complementary medicine*, 7(4), 433-440.

Ghourri Mohamed., Zidane Lahcen & Douira Allal. (2013) . usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocaine (Tan-Tan), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17:1, 2388-2411

Goutier, J., (2009). L'herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales, La Maison Rustique Flammarion.

Grieve M. (1984). A Modern Herbal. Savvas Publishing. ISBN unknown.

Guy Gilly .(2005). Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse: Botanique-Culture-Chimie-Production et marché. *Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse*, 1-418.

Ha Maiga, (2022). Extraction et application de l'huile essentielle de Myrte sauvage.

Hadjer, B. O. U. K. H. R. O. U. F. A., & Imene, H. A. F. I. A. N. E. (2021). Activité larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi Tébessa).

Hans W.K.2007. Plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. Pereira, O., Catarino, M., Afonso, A., Silva, A., & Cardoso, S., 2018. *Salvia elegans*, *Salvia greggii* and *Salvia officinalis* Décoctions :Antioxydant Activités and Inhibition of Carbohydrate and Lipid Metabolic Enzymes. *Molécules*, 23, 3169p.

Hilali, M., Charrouf, Z., Aziz Soulhi, A. E., Hachimi, L., & Guillaume, D.(2005).Influence of origin and extraction method on argan oil physico-chemical characteristics and composition. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 2081-2087.

Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S. (2006). Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. *Lebanese Science Journal*, 7(2), 13-22.

Horvathova E., Srancikova A., Regendova-Sedlackova E, (2016). Enriching the drinking water of rats with extracts of *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris* increases their resistance to oxidative stress. *Mutagenesis*.31: 51-59

Hoshi, K., Murata, Y., & Nakamura, Y. (2010). Antimicrobial activities of essential oils and their major constituents against oral bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(16), 8952-8958.

Iserin P. (2001) . Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypoly Edith Ybert, Tatiana Delasalle- Feat.01: p335.

Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., MoulardJakovljević, M., Jokić, S., Molnar, M., Jašić, M., Babić, J., Jukić, H., & Banjari, I. (2019). Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations.*Plants*, 8(3), 55-60.

Johansen, J. D., Abraham, A. P., & Eberhardt, M. V. (1997). Antibacterial action of essential oils and some of their constituents against respiratory tract pathogens. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 40(5), 565-573.

Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.

Kamatou, G. P., Makunga, N. P., Ramogola, W. P. N., & Viljoen, A. M. (2008). South African *Salvia* species: a review of biological activities and phytochemistry. *Journal of ethnopharmacology*, 119(3), 664-672.

Kambouche, N., & El-Abed, D. (2003).Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Oran (Algeria). *Journal of Essential Oil Research*, 15(1), 39-40.

-
- Khedher, M. R. B., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., & Hammami, M. (2017).** Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI journal*, 16, 160.
- Kintzios, S.E., 2000.** Sage the Genus *Salvia* ; Harwood Academic Publisher : Amsterdam, The Netherlands.
- Kokalis-Burelle.,Rodríguez-Kábana., (1994).**Evaluation of powdered pine bark for contrôle of Meloidogyne aranaria and Hetrodira glycines on soybean, 162-168 p.
- Laurain-Mattar, D., Couic-Marinier, F., & Aribi-Zouioueche, L. (2022).** Huile essentielle d'Origan vulgaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 61(619), 57-59.
- Li, L., Wei, S., Zhu, T., Xue, G., Xu, D., Wang, W., ... & Kong, L. (2019).**
- Lima C. F., P. B. Andrade, R. M. Seabra, M. Fernandes-Ferreira, and C. Pereira-Wilson.(2005).**“The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 97, no. 2, pp. 383–389,
- Longaray Delmare A.P., Ivete T.M.P., Luciana A.S., Sergio E. (2007).**Antibacterial activity of the essential oils if *Salvia officinalis* and *salvia trilobacultivated* in south brazil. *Food chemistry*, 100: 603-608 .
- Lu, Y., & Foo, L. Y. (2002).** Polyphenolics of *Salvia*—a review. *Phytochemistry*, 59(2), 117-140.
- Ma Makhloufi Nadjeh , (2021).**Application de l'huile essentielle de Citrus limon pour la conservation de certains produits alimentaires.
- Madi, A. (2010).**Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques,. *Research Master, Mentouri Constantine University, Constantine*.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C.(2015).** Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food chemistry*, 170, 378-385.
- MB RAYANE, MS AMIRA, (2021).**Etude théorique sur l'activité antibactérienne et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis*.
- Miller, R. E., Mc Conville, M. J., & Woodrow, I. E. (2006) .** Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 67(1), 43-51.
- Morin P. , C. Gunther, L. Peyron, H. Richard. (1985).** Etude des phénomènes physico-chimiques intervenant lors du procédé d'hydrodistillation, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 5 921–930.

-
- Munjuga, M. ; Ofori, D.A. ; Asaah, E. ; Sesiwa, H. ; Peprah, T. ; Tsobeng, A. ; Schmidt, L. ; Kijazi, M. ; Ofori, E. ; Henneh, S. ; et al. (2015).** Protocole de propagation d'Allanblackia ; Rapport technique ; Centre mondial d'agroforesterie : Nairobi, Kenya.
- Naghibi, F., Mosadegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A.B. (2005).** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 63-79.
- Newall C., A., Anderson, L.A., & Phillipson J D., (1996).** A guide for Health-care Professionals. London.
- Onawunmi C, Militello M, Settanni L, Aleo A, Mammina C, Moschetti G, Giammanco G.(1984).**Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil. *Curr Microbiol.* 62, 1274-81.
- Paris M., Hurabiel., 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome I. Masson. Paris. France.
- Pellerin P., Perfume, Flavor, (1991).**Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry. *Perfum. Flavor*, 16(4), 37-39.,16 (07-08), 37-39.
- Pereira, C. G., & Meireles, M. A. A.(2010).**Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 340-372.
- Place, L., & Piccaglia, R. (1995).***J. essent. Oil. Res*, 7, 443.
- Pomerleau M.,Anunton R., (2006).** Plantes thérapeutique. Ed. Lavoisier .99p.
- Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., & Roura, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- Poole, K. (2001).** Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 3(2), 255-264.
- Pujuguet pierre. (2008).**Entre capitelles et lavognes découvrez la flore de la garrigue, Sentier Botanique Vignerons, Bourg-Saint-Andéol Ardèche.
- Quezel P., et Santa S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Ed. C.N.R.S. Paris. p603,781-793.
- Raal, A., Orav, A., & Arak, E. (2007).** Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Natural product research*, 21(5), 406-411.

-
- Radulescu V., Silvia C & Eliza O. (2004).** Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of salvia officinalis. *Journal of chromatography a*, 1027:121-126.
- Rhayour, K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*.
- Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995).** The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-383.
- Richard H. et Peyron F., (1992).** Epices et aromates, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 339.
- Richter, G., (1993).** Métabolismes des végétaux. Physiologie et biochimie. Presses polytechniques et universitaires. Romandes, p292.
- Rojas, A., Hernandez, L., Pereda-Miranda, R., & Mata, R. (1992).** Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 35(3), 275-283.
- Rombi M., Robert D., (2007).** « 120 plantes médicinales ». Ed., Alpem 09, avenue Albert II Mc- 98000 MONACO, 225-227.
- Rouzet, M., Belkamel, A., Derbesy, M., & Dugo, G. (1990).** Profil Chromatographique et contrôle de qualité des huiles essentielles. *RIVISTA EUROPEA PER LE SCIENZE MEDICHE E FARMACOLOGICHE*, 12, 413-415.
- Said, O., khalil, K., Fulder, S., Azaizels, H. (2002).** Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region ; *Journal of ethnopharmacology*, 83 :251-263.
- Santos-Gomes, P. C., & Fernandes-Ferreira, M. (2001).** Organ- and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2908-2916.
- Santos-Gomes, P. C., Seabra, R. M., Andrade, P. B., & Fernandes-Ferreira, M. (2002).** Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.), *Plant Science*, 162(6), 981-987.
- Sarmi M.P., et Cheymer V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier, 2-10.
- Satter Mohammed 2017.** Extraction, characterization and evaluation of the plant extract of *Tamarix* as an antibiotic to treat types of burns bacteria.

-
- Scully, R., (2008).** Key to lamiaceae of colorado (MintFamily). Colorado, USA Univ Colorado Press.
- Seu SabernoM., et Bla BewayJ., (1987).** La mousse de chêne, une base de la parfumerie pour la science, Ed Française de scientific American, , Mai 83.
- Taleb-Toudert, K. (2015).** *Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien): évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé Callosobruchus maculatus (Coleoptera: Bruchidae)* (Doctoral dissertation, Universite Mouloud Mammeri).
- Tchoumboungang, F., Zollo, P. A., Avlessi, F., Alitonou, G. A., Sohounhloue, D. K., Ouamba, J. M., ... & Menut, C. (2006).** Variability in the chemical compositions of the essential oils of five Ocimum species from tropical African area. *Journal of Essential Oil Research*, 18(2), 194-199.
- Teuscher E., Anton R. et Lobstein A. (2005)** .plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris . Ed., Lavoisier, Paris, 444 p.
- Tia, E. V., Adima, A. A., & Menut, C. (2023).**Étude des caractéristiques physicochimiques et de l'activité antifongique des huiles essentielles d'Erigeron floribundus (Kunth.) Sch. Bip. *Phytothérapie*, 21(2-3), 87.
- Toyokuni S. (2016).** Oxidative stress as an iceberg in carcinogenesis and cancer biology. *Arch BiochemBiophys*. 595: 46-49.
- Tsankova, E. T., Konaktchiev, A. N., & Genova, E. M. (1994).** Constituents of essential oils from three Salvia species. *Journal of Essential Oil Research*, 6(4), 375-378.
- Tsuchiya, T., Miyazawa, M., & Aiba, S. (1996).**Antibacterial activity of flavonoids and terpenes from the leaves of Eucalyptus citriodora against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Journal of natural medicines*, 50(4), 358-362.
- Vilmorin-Andrieux et Cie., 1883.** Les plantes potagères description et culture des principaux légumes des climats tempérés. Deuxième Edition, 546 p.
- Walker. J. B, Kenneth. J, Treutlein. J & Wink. M. (2004).** Salvia (lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematic, radiation, and ecological specializations' of Salvia and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91 (7), 111.
- Wendakoon, C. N., & Sakaguchi, M. (1995).** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of Enterobacter aerogenes by active components in spices. *Journal of food protection*, 58(3), 280-283.

Werkere., Putievskye., Ravidu., Dudain. , Katziri. (1994) Glandular hairs, secretory cavities, and the essential oil in leaves of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2:19-32.