

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى-جيجل-
Université de Med Seddik Benyahia-Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences Agronomiques



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique
Filière : Sciences biologiques
Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Thème

***Constituants bioactifs et activités biologiques de
Satureja hispidula et Mentha pulegium***

Jury de soutenance

Présidente: M^{me} Mekircha F.

Examinatrice: M^{me} Bencharif N.

Encadrante: M^{me} Benterrouche I.

Présenté par:

Bouttine Iman

Session Juin 2018

Numéro d'ordre à la bibliothèque :.....

Laboratoire d'Ecotoxicologie de l'Université de Med Seddik Benyahia-Jijel

Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage ».

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force, la santé, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail, merci de m'avoir éclairé le chemin de réussite.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements à mon encadreur M^{elle} « BENTERROUCHE Ilhem » qu'elle fut agréable et motivante d'avancer dans ce long et périlleux travail mais tellement enrichissante et stimulante avec toute sa bienveillance, sa disponibilité, et son savoir, je remercie mes membres de jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'examiner et de juger ce modeste travail, a' s'avoir,

M^{me} Mekircha, pour avoir accepté la présidence de ce jury.

M^{me} Bencharif, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous exprimons, notre profonde gratitude à nos enseignants, sans oublier de remercier toute l'équipe du laboratoire de l'université pour leurs aides.

C'est un grand merci que j'adresse au président de la conservation des forêts : Heloulou Ahmed et Ben Garba Samir et Bouden Messaoud.

C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du laboratoire de l'université pour leurs aides. Pour leur gentillesse, leur écoute et leurs conseils.

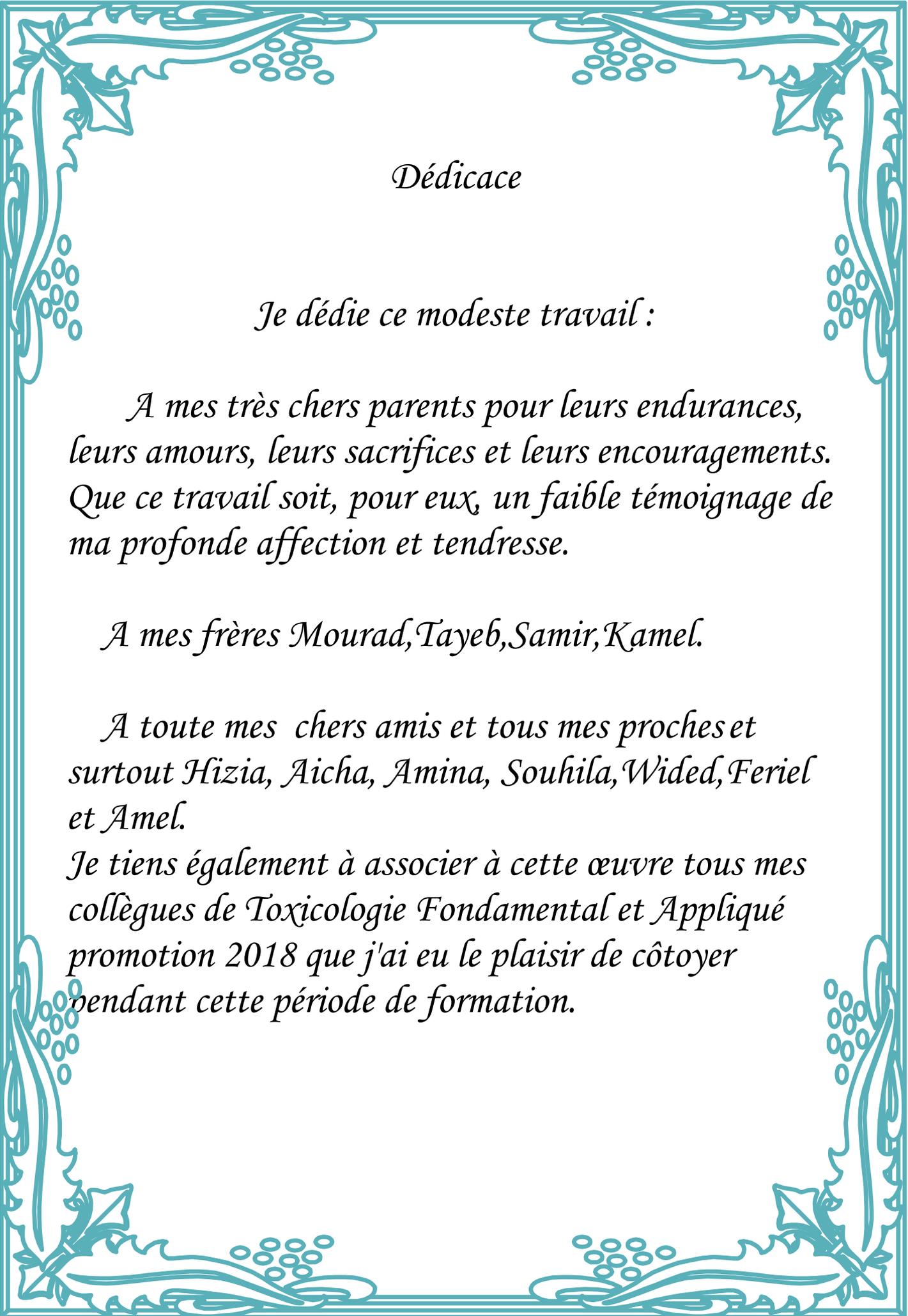
Je remercie tout particulièrement ma famille qui m'a toujours soutenu dans mes choix, et qui été présente chaque fois que cela a été nécessaire. Merci Maman, Merci Papa, mes Frères. C'est avec vous que j'ai partagé mes joies, mes peines, vous m'avez soutenu grâce à votre présence, à votre sourire, à votre amitié.

*Mes vifs remerciements vont également à tous les enseignants, qui ont assuré ma formation durant mon cycle universitaire, Un grand merci à M^r : **Sebti** et M^{me} : **Lamzeri**.*

A mes compagnons Akila, Amina et Souhila.

A ma promotion de toxicologie fondamentale et appliquée et particulièrement Hezia et Aicha.

Et enfin je remercie tous ceux qui m'aidés de près ou loin a' réaliser ce travail



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents pour leurs endurance,
leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements.
Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de
ma profonde affection et tendresse.*

A mes frères Mourad, Tayeb, Samir, Kamel.

*A toute mes chers amis et tous mes proches et
surtout Hizia, Aicha, Amina, Souhila, Wided, Ferial
et Amel.*

*Je tiens également à associer à cette œuvre tous mes
collègues de Toxicologie Fondamental et Appliqué
promotion 2018 que j'ai eu le plaisir de côtoyer
pendant cette période de formation.*

Liste des abréviations	v
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	ix
Introduction	1

Partie 1 : Recherche bibliographique

Chapitre 1 : Constituants bioactifs des plantes

1.1. Définition des métabolites secondaires	2
1.2. Fonction des métabolites secondaires	2
1.3.1. Les composés phénoliques	2
1.3.1.1. Définition des composés phénoliques	2
1.3.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques	3
1.3.1.3 Classification des composés phénoliques	4
1.3.2. Les huiles essentielles (HE)	8
1.3.2. 1 Définition et application	8
1.3.2.2. Composition chimique	8
A –Monotérpènes	8
B –Sesquiterpènes.....	9
C -Composés d’origines diverses.....	9
1.3.2.3. Méthode d’extraction	9
1.3.2.4. Toxicité des huiles essentielles	9

Chapitre 2 : Les plantes aromatiques et médicinales

2.1. Généralités sur les plantes utiles	10
2.1.1. Utilisation des plantes médicinales en Algérie	10
2.1.2. Diversité de la flore algérienne	10
2.1.3. Les facteurs qui influencent la flore	11
2.1.4. La cueillette et la récolte des plantes médicinales	11
2.1.4.1. Procédures importantes de la cueillette des plantes médicinales	11
2.1.4.2. L'efficacité des Plantes Entières	12
2.1.4.3. Précautions à prendre lors de la cueillette	12
2.1.4.4. Séchage et conservation	12
2.1.4.5. Diverses modes de préparations familiales	12
2.1.4.6. Caractéristiques des parties à utiliser	13
2.2. Les plantes étudiées	13
2.2.1. Présentation de la famille des lamiacées	13
2.2.2. <i>Satureja hispidula</i>	14
2.2.3. <i>Mentha pulegium</i>	16

Partie 2 : Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal	19
3.1.1. Origine géographique et récolte du matériel végétal	19
3.1.2. Séchage, broyage et tamisage du matériel végétal	19
3.1.3. Détermination du taux d'humidité	20

3. 2. Tests phytochimiques préliminaires	20
3.2.1. Substances polyphénoliques	20
3.2.2. Saponosides	21
3.2.3. Composées réducteurs	21
3.2.4. Coumarines	21
3. 3. Extraction des composés phénoliques	22
3. 4. Quantification des composés phénoliques	24
3. 4.1. Dosage des polyphénol totaux	24
3. 4.2. Dosage des polyphénols polaires	24
3. 4.3. Détermination des polyphénols apolaires	24
3. 4.4. Dosage des flavonoïdes totaux	25
3. 4.5. Dosage des tannins	26
3.5. Evaluation de l'activité biologique des différents extraits	26
3.5.1. Activité antioxydante	26
3.5.1.1. Pouvoir réducteur	26
3.5.1.2. Effet scavenger du radical DPPH[•]	27
3.5.1.3. Méthode de la capacité antioxydante totale (CAT)	28
3.6. Evaluation de L'activité antibactérienne (méthode d'aromatogramme)	28
3.7. Analyse statistique	30

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4.1. Test d'humidité	31
4.2. Tests phytochimiques	31
4.2.1. Tanins	32
4.2.1.1. Tanins catéchiques	33
4.2.1.2. Tanins galliques.....	33
4.2.2. Saponosides	33
4.2.3. Composés réducteurs	33
4.2.4. Coumarine	33
4.3. Extraction et dosage des composés phénoliques	34
4.3.1. Rendement en extraits secs	34
4.3.2. Dosage des phénols totaux	35
4.3.3. Dosage des phénols polaires et apolaires	37
4.3.4. Dosage des flavonoïdes	38
4.3.5 Dosage des tanins	39
4.4 Activité antioxydante	40
4.4.1 Activité anti radicalaire contre le radical libre DPPH'	40
4.4.2 Pouvoir réducteur	42
4.4.3. Evaluation de la capacité anti oxydante totale (CAT)	43
4.5. Activité antibactérienne	44
Conclusion	45
Liste des références	46

Annexe

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
C°	Degré Celsius
Cm	Centimètre
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CG	Chromatographie en phase gazeuse
CG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
Cu⁺	Ion cuivreux
Cu²⁺	Ion cuivrique
DMSO	Dimethylsulfoxyde
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
Fe²⁺	Fer ferreux
Fe³⁺	Fer ferrique
FeCl₃	Chlorure de fer
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
g	Gramme
HCL	Acide chlorhydrique
H₂O	Eau
H₂SO₄	Acide sulfurique
IC₅₀	Concentration inhibitrice de 50%
IM	Indice de mousse
KI	Iodure de potassium

K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
ml	Millilitre
mm	Millimètre
mn	Minute
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NaHCO₃	Bicarbonate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NH₄OH	Ammoniac
nm	Nanomètre
P/V	Poids à volume
T°	Température
TCA	Acide trichloroacétique
UV	Ultra violet
µg	Microgramme
µl	Microlitre
V/V	Volume à Volume
%	Pourcentage

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Voie de l'acide shikimique	3
2	Structure générale des flavonoïdes	5
3	Structure de quelque composé phénolique volatil	6
4	Exemples de tanins hydrolysables	6
5	Exemple de tanins condensés	7
6	Photo de <i>Satureja hispidula</i>	14
7	Photo de <i>Mentha pulegium</i>	16
8	Carte de situation géographique de la région de Borj T'har	19
9	Protocole de caractérisation des tanins	20
10	Protocole de caractérisation des coumarines	22
11	Schéma récapitulatif des étapes suivies pour la préparation des extraits	22
12	Ampoule à décanter	23
13	Protocole de dosage des polyphénols totaux	24
14	Protocole de dosage des polyphénols polaires	25
15	Protocole de dosage des flavonoïdes	25
16	Protocole du dosage des tannins	26
17	Protocole du pouvoir réducteur	27
18	Protocole d'étude de l'activité anti-radicalaire	27
19	Taux d'humidité des deux plantes étudiées	31
20	Test des tanins	32
21	Test des tanins catéchiques	33

22	Rendement en extraits secs de <i>Satureja hispidula</i> et <i>Mentha pulegium</i>	34
23	Phénols totaux des extraits des plantes	36
24	La teneur en polyphénols polaires des deux plantes	37
25	La teneur en polyphénols apolaires des deux plantes	38
26	Flavonoïdes des extraits des deux plantes	38
27	Tanins des extraits des deux plantes	39
28	Activité antiradicalire des extraits éthanoliques des deux plantes testées en comparaison avec l'acide ascorbique	40
29	Concentration inhibitrice de 50% du radical libre DPPH [•] de l'extrait éthanolique des deux plantes et de l'acide ascorbique	41
30	pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de deux plantes étudiées en comparaison avec l'acide ascorbique	42
31	Concentration nécessaire pour la réduction de 50% du fer des extraits éthanoliques des plantes et de l'acide ascorbique	43
32	Capacité oxydative totale des extraits éthanoliques des deux plantes	44

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Les principales classes de composés phénoliques	4
2	Principaux acides hydroxybenzoïques	4
3	Principaux acides hydroxycinnamiques	4
4	Caractéristiques géographiques de la région d'étude	19
5	Résultats des tests phytochimiques des feuilles de <i>Satureja hispidula</i> et <i>Mentha pulegium</i>	32
6	Moyennes des diamètres des zones d'inhibition en mm de l'extrait éthanolique des deux plantes	45

Introduction

Les études menées sur les métabolites secondaires des plantes ont augmenté au cours des 50 dernières années. Ces molécules sont connues pour jouer un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à leur environnement, mais représentent également une source importante de produits pharmaceutiques actifs (**Bourgaud et al., 2001**).

A cet effet, l'homme a su développer les extraordinaires vertus médicinales que recèlent les plantes, dont la connaissance et l'utilisation thérapeutique basée sur l'analyse et l'observation désigné par le terme phytothérapie (**Delille, 2007**).

De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont démontré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces différents types de substances naturelles, les composés phénoliques extraits des plantes aromatiques et médicinales, qui ont des effets pharmacologiques: comme antispasmodique, carminative, hépato protecteur, antiviraux, anticancéreux...etc.

Le choix de nos plantes est basé sur une recherche approfondie dans la littérature et une enquête ethnobotanique, au cours de laquelle plusieurs personnes ayant une vaste connaissance de la façon d'utiliser cette plante ont été interrogées. Ces plantes sont largement utilisées dans la région de Jijel pour son pouvoir curatif et guérisseur, donc nous pensons qu'ils ont une activité biologique très importante.

Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail de recherche dont l'objectif essentiel consiste à évaluer l'activité biologique (antioxydante et antibactérienne) de deux plantes médicinales (*Satureja hispidula* L. et *Mentha pulegium* L.). A cet effet, notre travail est scindé en deux parties.

La première partie propose une revue bibliographique qui est articulée en deux chapitres. Le premier chapitre concerne les constituants bioactifs des plantes, le deuxième chapitre traite les plantes médicinales et aromatiques et la monographie des plantes étudiées. Cet aperçu bibliographique a été un appui pour réaliser la deuxième partie qui est réservée à l'étude expérimentale et l'interprétation de nos résultats.

1.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires des plantes sont un groupe diversifié de molécules impliqués dans l'adaptation des plantes à leur environnement mais ne font pas partie de voies biochimiques primaires de la croissance et de la reproduction cellulaires. Il y a plus de 24 000 structures, y compris de nombreux composés qui ont des effets antinutritionnels et toxiques sur les mammifères (**Makkar et al., 2007**).

Ces métabolites secondaires ont été bientôt définis par leur faible abondance, souvent moins de 1% du total carbone (**Bourgaud et al., 2001**).

1.2. Fonction des métabolites secondaires

Czapek a clairement démontré que les produits secondaires jouent un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils ont été décrits comme antibiotique, antifongique et antiviral, et donc capable de protéger les plantes contre les agents pathogènes (Phytoalexines), et aussi anti-germinatif ou toxique pour d'autres plantes (allélopathie). En outre, ils constituent d'importants composés absorbants les UV, empêchant ainsi de graves dommages aux feuilles dus à la lumière. Ils agissent également sur les animaux, tels que les insectes (propriétés anti-alimentation) ou même des bovins pour lesquels des graminées fourragères comme le trèfle ou la luzerne peuvent exprimer des propriétés oestrogéniques et interagir avec la fertilité (**Bourgaud et al., 2001**).

1.3. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être classés sur la base de la structure chimique (par exemple, ayant des anneaux, contenant un sucre), composition (contenant de l'azote ou non), leur solubilité dans divers solvants, ou la voie par laquelle ils sont synthétisés (par ex. phénylpropanoïde, qui produit des tanins). Et généralement classés en fonction de leurs voies de biosynthèse. Trois grandes familles de molécules sont généralement considérées: les composés phénoliques, les terpènes et les stéroïdes, et les alcaloïdes (**Tiwari et Rana, 2015**).

1.3.1. Les composés phénoliques

1.3.1.1. Définition des composés phénoliques

Les composés de ce groupe important de métabolites secondaires végétaux se reconnaissent à la présence d'un ou de plusieurs groupes hydroxyles, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique. Souvent, les composés phénoliques se présentent liés à des glucosides (**Richter, 1993**).

1.3.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

Les organismes disposent de plusieurs voies réactionnelles pour synthétiser les cycles aromatiques des composés phénoliques.

-voie du shikimate : l'acide cinnamique se forme par l'intermédiaire de l'acide shikimique; cette voie est aussi responsable de la synthèse des acides aminés; parmi ceux-ci, la phénylalanine sert directement de précurseur à l'acide cinnamique.

-voie acétate-mévalonate : les mono terpènes cycliques acquièrent un caractère aromatique par déshydrogénation (thymol, par exemple). Dans l'ensemble, cette voie est peu utilisée chez les plantes supérieures (Richter, 1993).

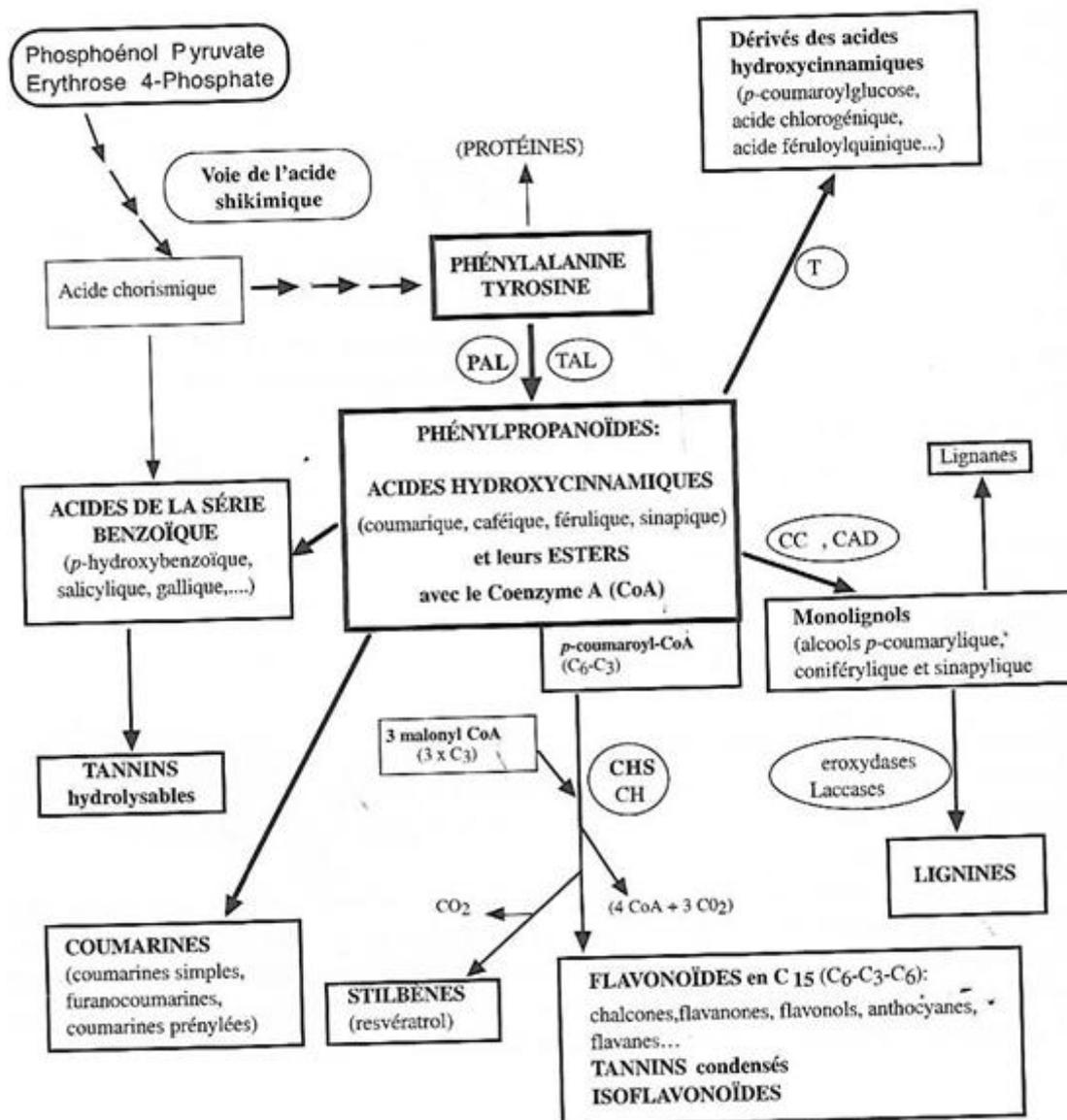


Figure 1 : Voie de l'acide shikimique (Macheix et al., 2005)

1.3.1.3. Classification des composés phénoliques

Selon Macheix et al., (2005), les composés phénoliques sont regroupés en de nombreuses classes et qui sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 01: Les principales classes de composés phénoliques (Macheix et al., 2005)

Squelette Carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ - C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ - C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C ₆ - C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ - C ₂ - C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ - C ₃ - C ₆	Flavonoïdes		
	• Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	• Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleure, fruits rouges
	• Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	• Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Déidzéine	Soja, pois
(C ₆ - C ₃) ₂	Lingnanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ - C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, Kaki

- Acides phénoliques

Les acides phénoliques réduisent considérablement la formation des nitrosamines spécifiques du cancer de nitrites et les nitrates alimentaires (Kar, 2007). Les principaux acides phénoliques sont représentés dans le tableau 2 et le tableau 3.

Tableau 2 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-manchado et Cheyner, 2006).

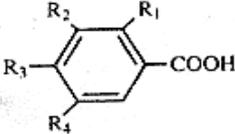
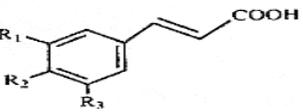
Structure	R1	R2	R3	R4	acide phénolique
	H	H	H	H	acide benzoïque
	H	H	OH	H	acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	acide protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	acide vanillique
	H	OH	OH	OH	acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	acide syringique
	OH	H	H	H	acide salicylique
	OH	H	H	OH	acide gentisique

Tableau 3 : Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-manchado et Cheyner, 2006).

Structure	R1	R2	R3	acides phénoliques
	H	H	H	acide cinnamique
	H	OH	H	acide <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	acide caféique
	OCH ₃	OH	H	acide férulique
	OCH ₃	OH	OCH ₃	acide sinapique

- Phénols simples

Les phénols simples (catéchol, guaiacol, phloroglucinol...) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae...); le plus souvent à l'état de glucoside du diphénol (arbutoside) ou de son monométhyléther (**Bruneton, 1993**).

- Lignines

Les lignines, en se disposant au niveau des parois cellulaires secondaires, leur confèrent une haute résistance à la traction et à la pression grâce à leur propre élasticité. La composition de ces dernières dans les parois cellulaires atteint 20-35 %. Du point de vue chimique, les lignines sont des mélanges de polymères amorphes de trois constituants fondamentaux, les alcools hydroxycinnamylique, coniféryliques et sinapyliques; à ces phénylpropanes secondaires s'ajoutent encore de petites quantités d'acide cinnamique et d'aldéhyde cinnamique (**Richter, 1993**).

- Coumarines

Les coumarines sont d'un grand intérêt dû à leurs propriétés pharmacologiques. En particulier, leur propriété physiologique, bactériostatique et l'activité anti-tumorale rend ces composés attrayant pour le criblage de l'épine dorsale en tant que nouveaux agents thérapeutiques (**Jain et Joshi, 2012**).

- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc (**Iserin et al., 2001**). Ce sont des dérivés du phénylpropane avec une composition de base C₆-C₃-C₆ le squelette originel du groupe est une flavone dans laquelle la liaison C₃ a formé un noyau hétérocyclique pyromane (**Hopkins, 2003**) (figure 2).

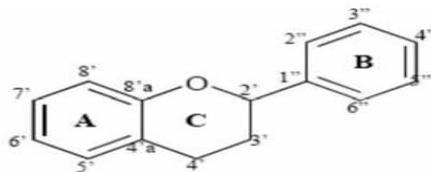


Figure 2 : Structure générale des flavonoïdes (**Collin et Crouzet, 2011**).

Les flavonoïdes ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Des flavonoïdes comme l'héspéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le sarrasin et le citronnier renforcent les parois des capillaires et préviennent

l'infiltration dans les tissus voisins. Les isoflavones, que l'on trouve par exemple dans le trèfle rouge à effets oestrogéniques, sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause (Iserin et al., 2001).

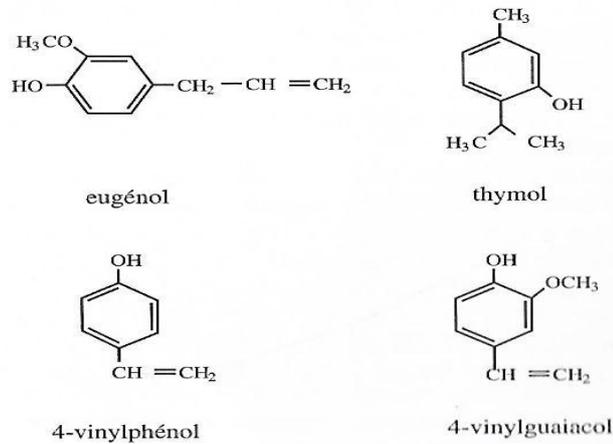


Figure3: Structure de quelques composés phénoliques volatiles (Macheix et al., 2005)

- Les tanins

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique: les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

Tanins hydrolysables sont des oligo-ou polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable de molécules d'acide gallique dans le cas des tanins galliques (figure4).

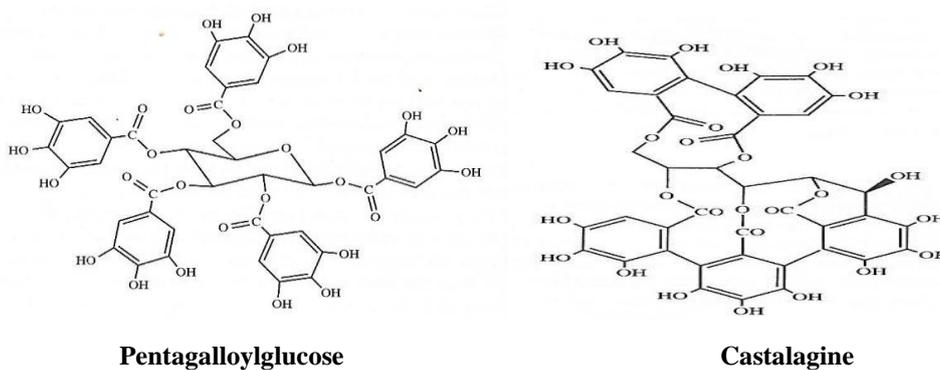
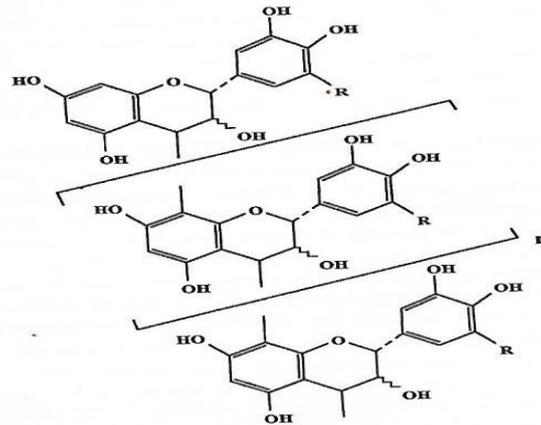


Figure4: Exemples de tanins hydrolysables (Macheix et al., 2005)

Tanins condensés (ou proanthocyanidols) sont des polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone (figure 05), non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (Hopkins, 2003). Les proanthocyanidols ont été isolés ou identifiés dans tous les groupes végétaux (Bruneton, 2009).



R=H : unité procyanidine, dérivée de la catéchine

R=OH : unité prodelphinidine, dérivé de la gallocatéchine

Figure 5: Exemple de tanins condensés (Macheix et al., 2005)

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Iserin et al., 2001).

- Saponines

Ce sont des composés tensio-actifs, qui forment des solutions colloïdales et font apparaître de la mousse comme les savons, ce sont des glycosides terpéniques. Une hydrolyse acide ou enzymatique les décompose en sucre et en un aglycone, nommé sapogénine (Richter, 1993).

- Lignines

Elle se dépose au niveau des parois cellulaires secondaires, leur confèrent une haute résistance à la traction et à la pression, grâce à leur propre élasticité. La proportion de cette dernière dans les parois cellulaires atteint 20-35% (Richter, 1993).

-Les isoprénoïdes

Les isoprénoïdes ne soient constitués que d'éléments carbonés, hydrogène et oxygène, ce groupe se distingue par le nombre inhabituellement élevé de ces composés. Tous les composés de ce groupe prennent naissance à partir d'unités en C₅ (isoprène), qui s'assemblent d'abord, par deux ou plus (radicaux prényle), en une chaîne hydrocarbonée insaturée, cette dernière est ensuite

modifiée secondairement par oxydation, par réduction ou par élimination de carbone, ce qui explique la multiplicité des isoprénoides (**Richter, 1993**).

1.3.2. Les huiles essentielles (HE)

1.3.2.1. Définition et application

Une huile essentielle (HE) est le résultat de la distillation des fleurs, des feuilles, des graines, de la racine, du bois ou de l'écorce d'une plante. Le liquide obtenu est extrêmement concentré et retient les composés aromatiques volatils de la plante. Une huile essentielle ne contient pas de corps gras, n'est pas huileuse comme une huile végétale, et se compose uniquement de molécules aromatiques volatiles et hydrophobes (soluble dans l'huile ou dans l'alcool mais pas dans l'eau). Ses vertus odorantes, thérapeutiques et gustatives lui permettent de nombreuses applications en médecine, en cosmétologie, en parfumerie, en aromathérapie et en gastronomie (**Wilson, 2010**).

1.3.2.2. Répartition, localisation et fonction

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs bien sûr mais aussi feuilles et, bien que cela soit moins habituel, dans écorces, des bois, des racines, des rhizomes, des fruits, des graines (**Bruneton, 1993**).

Elles sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante: cellules à huiles essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiaceae, poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (**Bruneton, 1993**).

Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique. On remarque que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales (agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de germination) que dans celui des interactions végétal-animal : protection contre les prédateurs-insectes, champignons-et attraction des pollinisateurs (**Bruneton, 1993**).

1.3.2.3. Composition chimique

Chaque groupe terpènes est issu de la condensation « tête- à- queue » d'un nombre variable d'unités isopréniques (**Bruneton, 1993**).

A -Monoterpènes : les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques ». On en connaît plus de mille; de structure « régulières » ils participent à la structure des pyréthrine et à la

composition de certaines huiles essentielles d'Asteraceae. La plus part des monoterpénoides existent à l'état libre (**Bruneton, 1993**).

B -Sesquiterpènes : les structures carbonées de ces composés, qui se trouvent au niveau suivant de la séquence de synthèse, sont constituées de farnésyl diphosphate ; assemblage de trois unités isoprène (**Bruneton, 1993**).

C -Composés d'origines diverses : compte tenu de leur mode de préparation, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation : carbures, acides (C₃ à C₁₀), alcools (**Bruneton, 1993**).

1.3.2.4. Méthode d'extraction

On peut les extraire par différentes techniques mais la distillation à la vapeur d'eau est la plus répandue (**Wilson, 2010**). L'hydrodistillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Bruneton, 1993**).

1.3.2.5. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue, on manque aussi de données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérogènes. On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone ou à pinocamphone : ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessite l'hospitalisation (**Bruneton, 1993**).

2.1 Généralités sur les plantes utiles

Depuis des temps reculés, les végétaux ont été classés en deux groupes : les plantes utiles et les plantes inutiles. Toutefois, cette notion varie selon l'environnement et la société : 500 plantes seront utiles à un guérisseur amazonien, tandis qu'un citadin n'en connaîtra que cinq. Pour la plupart des gens, les plantes utiles sont toutes des plantes annuelles ou herbacées comme le basilic ou même le ginseng. En réalité elles occupent tout le règne végétal des conifères géants aux plus petites, levures. On en trouve aussi bien parmi les mousses, les fougères, les conifères et même les algues que parmi les plantes à fleurs (**Bremness, 2005**).

2.1.1 Utilisation des plantes médicinales en Algérie

Selon **Baba Aissa (1999)**, l'étude de la médecine traditionnelle et du traitement par les plantes est particulièrement intéressante en Algérie pour plusieurs raisons :

- a) la richesse de la flore médicinale;
- b) la persistance de l'usage des plantes par une proportion importante de la population...

2.1.2 Diversité de la flore algérienne

Une enquête auprès de la population autochtone de la région d'Ouargla a permis d'inventorier 37 espèces; 27 ont pu être échantillonnées sur terrain. Les familles les plus importantes sont les Astéracées (13,51%), les Poacées (10,81%), les Chénopodiacées (8,10 %) et les Labiées (8,10%) (**Ould El Hadj et al., 2003**).

Neuf zones humides de la région d'Annaba ont fait l'objet d'inventaires floristiques durant trois années (2014 –2016). La flore étudiée est riche et diversifiée. Elle se compose de 190 espèces et 143 genres appartenant à 58 familles botaniques. La composition du spectre biologique global montre la dominance des thérophytes, avec 99 taxons (52.11%). La majorité des espèces recensées relève de l'ensemble phytochronique méditerranéen. Dix-huit taxons appartiennent à l'ensemble endémique. La région de la Numidie (K3, selon la subdivision proposée par Quezel et Santa et d'autres zones telles que la Kabylie et la Kroumirie en Tunisie, qui présentent une grande richesse floristique, sont classées d'après Medail et Diadema ainsi Vela et Benhouhou comme de nouveaux points chauds avec les 10 autres hot spots régionaux de biodiversité méditerranéenne déjà identifiés par Médial et Quezel. Ces points chauds sont caractérisés tant par leur richesse spécifique que par leur taux d'endémisme (**Allem et al., 2017**).

Il est vrai que dans le grand sud, on peut parcourir d'immenses espaces sans rencontrer la moindre créature végétale, quoique dans certaines régions spécifiques, nous pouvons découvrir des variétés de plantes assez surprenantes par leur aspect, et leur faculté d'adaptation. Les

zygophyllacées et les composées du genre armoise blanche et armoise rouge, en sont un bel exemple (**Baba Aissa, 1999**).

2.1.3 Les facteurs qui influencent la flore

Beaucoup de facteurs peuvent avoir une influence sur la flore: la contamination de l'environnement, par exemple les gaz d'échappement des véhicules, ou encore pire, l'épandage des produits chimiques, dans les traitements antiparasitaires sur les cultures avoisinantes. Enfin les saisons dictent aussi leur loi à l'environnement qui doit s'adapter à son rythme (**Baba Aissa, 1999**).

Les mauvaises herbes ou adventices des cultures sont des plantes qui poussent dans le mauvais endroit. Dans certains cas, leurs semences contaminent la récolte et réduisent sa valeur, mais subtil avec des effets néfastes sur les espèces de plantes et, par la suite, les animaux (**Hannachi et Fenni, 2013**).

2.1.4 La cueillette et la récolte des plantes médicinales

2.1.4.1 Procédures importantes de la cueillette des plantes médicinales

Pour une bonne réussite de l'échantillonnage, le printemps est retenu car c'est la saison où le développement et la diversité floristique sont maximaux notamment pour les espèces annuelles. La floraison des espèces pérennes facilite leur identification.

La période d'échantillonnage tient compte de la vigueur et de l'état sanitaire des plantes mais aussi des conditions du milieu. La cueillette doit se faire par beau temps, sans vent et sans pluie (**Ould El Hadj et al., 2003**).

Il s'agit d'obtenir des plantes propres : la poussière, la saleté, les produits chimiques les rendent inconsommables et parfois dangereuses.

-Il faut donc choisir des endroits reculés et à l'abri des retombées de la civilisation moderne, respecter la nature et ne prélever que la quantité qui vous est nécessaire.

-Procéder à la cueillette en début de matinée, juste après le lever du soleil ; après avoir attendu l'évaporation de la rosée.

-Opérer un soin rigoureux pour éviter que des plantes étrangères ne soient mêlées à votre récolte et ne cueillir que les parties de la plante destinée à être utilisées.

-Lors de la cueillette, veiller tout particulièrement à ne récolter que les plantes les plus saines, exemptes de traces d'insectes ou de mollusques, et retirer les parties malades, fanées ou abimées.

-Ne pas tasser les plantes, les coucher dans un panier, sur une toile, un plateau, plutôt que sur le sol.

-Essayer d'étiqueter les récoltes en prenant grand soin de les différencier en fonction de chaque espèce.

-Transporter les produits de la récolte dans des sacs en toile ou des paniers de vannerie bien aérés, éviter les sacs hermétiques (**Delille, 2007**).

2.1.4.2 L'efficacité des plantes entières

La phytothérapie, à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. De même que disséquer une plante médicinale pour isoler ses principes actifs ne suffit pas pour expliquer comment elle agit. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants. Ainsi, des chercheurs ont démontré que les principes actifs de nombreux végétaux, tels ceux du ginkgo (*Ginkgo biloba*), agissent de manière complexe et combinée pour produire un effet thérapeutique global (**Iserin et al., 2001**)

2.1.4.3 Précautions à prendre lors de la cueillette

Lors de la récolte de la plante on ne doit cueillir que la plante mature, c'est à dire lorsqu'elle a fleuri ; couper les tiges à ras du sol avec un couteau, exception faites des plantes mucilagineuses, auquel cas, on doit récolter les tiges avant leur entier développement, car les principes émoullients, mucilagineux prédominent dans les premiers temps de végétation (**Delille, 2007**).

2.1.4.4 Séchage et conservation

Aussitôt après la cueillette, rentrer la récolte dans un endroit ou un local aéré, chaud et sec. Séparer les plantes les unes des autres, ne jamais les superposer. Quand il s'agit de plantes entières, il y a lieu de les suspendre isolément la tête en bas. Tourner les plantes de temps à autres. Avant de stocker les plantes, vérifier qu'elles sont parfaitement sèches. La moindre humidité déclencherait un processus de moisissure qui rendait le produit inutilisable. Les plantes sont suffisamment sèches lorsqu'elles se brisent et ce cassent avec un bruit sec. Les plantes ainsi préparées doivent être placées immédiatement dans des récipients bien secs, boîtes en fer blanc, sacs en papier ou dans des caisses. Enfin, la conservation se fait à l'abri de la lumière, de l'air et au sec (**Delille, 2007**).

2.1.4.5 Diverses modes de préparations familiales

L'infusion, la macération et la décoction constituent l'essentiel des préparations des drogues végétales en thérapeute traditionnelle (**Ould El Hadj et al., 2003**).

Les plantes peuvent s'employer de différents manières. Voici les préparations les plus courantes :

- **Macération** : Ces préparations s'obtiennent en mettant une certaine quantité d'herbes sèches ou fraîches dans un liquide : eau, vin, liquide à froid, et en laissant en contact pendant un temps plus ou moins long, avec de l'eau quelques heures seulement (10 à 12 heures pour éviter la fermentation). Cette méthode est particulièrement indiquée pour les plantes riches en huiles essentielles et permet de profiter pleinement des vitamines et minéraux qu'elles contiennent.
- **Lotions** : liquides obtenus par infusion ou décoction de plantes émollientes ou vulnérables que l'on utilise en les passant légèrement sur la partie à soigner à l'aide d'un coton hydrophile ou un linge fin imbibé (**Delille, 2007**).

2.1.4.6 Caractéristiques des parties à utiliser

Les parties utilisées par ordre décroissant, sont les feuilles, les tiges, les fruits, les racines et les inflorescences. La prédominance d'utilisation d'un organe par rapport à un autre dans le domaine thérapeutique dérive de la concentration en principes actifs dans cet organe. Les feuilles sont les plus utilisées car elles sont en même temps :

- Recettes des modes d'utilisation des drogues végétales.
- Proportion des différents organes de plantes utilisés pour soigner les maladies.
- siège des réactions photochimiques et réservoirs de matières organiques qui en dérivent.

Les fruits trouvent leur importance par les concentrations de certaines substances amères, glucidiques ou aromatiques associées à certains pigments leur donnant une coloration caractéristique. Enfin, les fleurs trouvent leur utilisation par la concentration en huiles essentielles; il en est de même pour les racines et les graines riches en sucres et vitamines (**Ould El Hadj et al., 2003**).

2.2. Les plantes étudiées

2.2.1. Présentation de la famille des lamiacées

La famille des Labiatae (Lamiaceae) est l'une des familles la plus grande et la plus distinctifs de plantes à fleurs, avec environ 220 genres et 4000 espèces dans le monde (**Naghibi et al., 2005, Botineau, 2010**).

Selon **Naghibi et al., (2005)**, cette famille contient une grande variété de produits chimiques tels que les terpénoïdes, iridiods, composés phénoliques et flavonoïdes. Certains des terpénoïdes à chaîne courte dans les huiles essentielles sont responsables de l'odeur et goût dans ces plantes. Les flavonoïdes se retrouvent également dans les Labiatae sous diverses formes structurelles, y compris les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols et les

chalcones. Ces plantes sont utilisées pour différents fins, mais nous pouvons regrouper leurs utilisations en trois catégories principales :

- Utilisations médicinales.
- Utilisations aromatiques et culinaires.
- Utilisations ornementales.

Les fleurs bisexuées, irrégulières groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins allongées ou en inflorescences terminales plus ou moins denses. Le calice est synsépale, bilabié et porte 5 à 15 nervures protubérantes. La corolle à tube très développé, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant une lèvre inférieure (**Guignard, 2001; Carr, 2004**). L'ovaire est supère à 2 carpelles originellement bi-ovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. Style bifide, en général gynobasique (**Quezel et Santa, 1963**). Le fruit sec se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (**Guignard, 1998**).

2.2.2. *Satureja hispidula*

Satureja hispidula est une plante odorante, à l'arôme suave du type menthe, qui appartient à la famille des lamiacées. Le nom « Satureja » vient du mot latin "saturare" =nourrir ou "satura" = pot à fleur (ornemental). Il existe plusieurs espèces, tous sont remarquables par leur odeur forte et aromatique, qui rappelle celle de la menthe (**Vârban et al., 2009**).



Figure 6: Photo de *Satureja hispidula*

- Classification

La position systématique de l'espèce *Satureja hispidula* est la suivante :

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Gamopétales
Série :	Superovariées tétracycliques
Super ordre :	Tubiflorales
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Genre :	<i>Satureja</i>
Espèce :	<i>Satureja hispidula</i> (Boiss. et Reut.)

Synonyme de *Calmintha hispidula*

- nom vernaculaire : Touret
- nom arabe: Meuta, Nabta (**Quezel et Santa, 1963**).
- Nom français : Sarriette (**Adzet et Passet, 1972**), Pouliot des montagnes (**Baba Aïssa, 1999**).

- Description botanique

Plantes vivaces. Inflorescences en cymes lâches et pédonculées. Calice restant tubuleux à maturité. Corolles roses ou violacées, bien plus longues que le calice (**Quezel et Santa, 1963**).

- Origine

Le genre *Satureja* constitue environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes, souvent aromatiques. Il est largement distribué dans la région de la Méditerranée, l'Asie et l'Amérique boréale (**Cantino et al., 1992 ; Satil et al., 2005 ; Skocibusic et al., 2006**). Cette plante herbacée est annuelle sous des climats tempérés mais vivaces dans les régions arides, ensoleillées, pierreuses et rocheuses (**Gulluce et al., 2003**).

- Composition chimique

Plusieurs études réalisées sur la plante *Satureja hispidula* ont démontré que les deux espèces *Satureja hortensis*, *Satureja thymbra*, possèdent une activité antimicrobienne due principalement à la présence du thymol, du carvacrol et de l'alpha-terpinéol (**Gören et al., 2004 ; Mihajilov-Krstev et al., 2009**).

- Utilisation

Beaucoup d'espèces de ce genre sont bien connues pour leur caractère aromatique et médicinal. Il est caractérisé par des parties aériennes ayant un goût distinctifs et peuvent être

ajoutées à plusieurs préparations culinaires ou utilisées en médecine traditionnelle, pour traiter diverses affections (Gulluce et al., 2003).

2.2.3. *Mentha pulegium*

Mentha pulegium, très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « Menthe pouliot ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. (Sivropoulou et al., 1995).

La taxonomie du genre *Mentha* a été dans un état de flux, avec plus de 3000 noms publiés depuis 1753.

Sur la base d'une analyse phylogénétique de la morphologie, chromosome les nombres, et les constituants principaux d'huile essentielle, le genre *Mentha* est redéfini pour inclure 18 espèces et 11 hybrides nommés.



Figure7 : Photo de *Mentha pulegium*

- Classification

La position systématique de l'espèce *Mentha pulegium* est :

Embranchement :	Phanérogames
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous-classe :	Gamopétales

Série :	Superovariées tétracycliques
Super ordre :	Tubiflorales
Ordre :	Lamiales
Famille :	Lamiaceae
Genre :	<i>Mentha</i>
Espèce :	<i>Mentha pulegium</i> L.

- Nom vernaculaire : Flyou, félgou, afiglou, moursal, temarsa (**Delille, 2007**).
- Nom arabe : Fliou (**Bellakhdar, 1978**) ; Feliou (**Quezel et Santa, 1963**)
- Nom français : Menthe pouliot (**Lemordant et al., 1977**).

- Description botanique

Plante herbacée vivace à odeur aromatique forte; tiges quadrangulaires, rameuses, haute de 15 jusqu'à 40 cm, velue, grisâtre ou glabrescente; feuilles petites courtement pétiolées, oblongues, longues de 15 à 25 cm, crénelées sur les bords. Fleurs pédonculées, rosées ou lilacées, multiflores, très compacts; calice velu, tubuleux à gorge fermée par des poils connivents, subbilabié à 5 dents inégales, ciliées, les deux inférieures plus étroites, corolle non gibbeuse à la gorge ; carpelles ovoïdes, lisses (**Beloued, 2001; Delille, 2007**).

- Répartition géographique

Le genre *Mentha* est très répandu dans le nord de l'Europe, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie (**Quezel et Santa, 1963; Marrotti et al., 1994**). L'espèce *Mentha pulegium* est très abondante et pousse spontanément en Algérie surtout dans le Tell (**Quezel et Santa, 1963**).

- Composition chimique

Les principaux constituants de *Mentha pulegium* sont : Menthol, tanin, enzyme, pectine (**Delille, 2007**).

La composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. a fait l'objet de nombreuses publications. Elle est caractérisée par la présence majoritaire de cétones possédant un squelette menthanique. En effet, les compositions décrites sont dominées soit par la pulégone 80,3% au Maroc (**Chebli et al., 2003**). Il est à noter que des extraits, obtenus par macération à l'hexane à partir de plants récoltés en Tunisie, possèdent une composition très proche des huiles essentielles. La pulégone (17,5-70,2%) et l'isomenthone (2,9-34,2%) sont les principaux constituants (**Mkaddem et al., 2007**).

Malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, son intérêt économique demeure limité.

- Utilisation

Connue depuis l'antiquité, la menthe pouliot figure parmi les plantes les plus communément utilisées en médecine traditionnelle (**Boullard, 2001**). Elle est surtout connue pour ses qualités culinaires et célèbre par le plat très populaire (le ragout de pommes de terre au pouliot) « Batata fliou ». Cette plante qui est riche en pulégone qui a des propriétés antispasmodique, Tonique, anti-vomitif et stomachique. Aussi l'emploie-t-on fréquemment pour calmer les douleurs abdominales et contre les gripes et les refroidissements (**Baba Aissa, 1990**)

Une infusion de feuilles et/ou de sommités fleuries est recommandée contre la toux, l'asthme, la fièvre, les brûlures, l'eczéma, les démangeaisons ou bien pour arrêter la sécrétion lactée (**Sijelmassi, 1991**), et a des propriétés insecticide, cholagogue, antiseptique, antispasmodique, antitussive, conseillée pour l'hygiène buccale, contre les maux de tête, les frissons et les infections broncho-pulmonaires (**Lorenzi et Matos, 2002**).

Par ailleurs, elle est digestive, carminative, expectorante et béchique (**Beloued, 2001**). Stomachique, carminatif, anti-vomitif, antispasmodique, tonique, insecticide (**Delille, 2007**). Eloigne les fourmis et puces (**Bremness, 2005**). Elle est toxique à forte dose et peut provoquer l'avortement.

Sivropoulou et al., (1995), ont testé le pouvoir antimicrobien des produits naturels de cette espèce, par la méthode de diffusion sur disques, contre les bactéries suivantes : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Ils ont constaté que cette huile présente une faible activité contre l'ensemble des souches testées. **Daferera et al., (2003)**, avancent également une faible activité antifongique de l'huile essentielle de cette même plante. De même, **Teixeira Duarte et al., (2005)**, ont déterminé le pouvoir antifongique de cette huile contre *C. albicans* qui se révèle moyennement sensible. Cette faible activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a déjà été confirmé par **Arras et Usai, (2001)**.

3.1. Matériel végétal

3.1.1. Origine géographique et récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette présente étude est représenté par deux espèces : *Satureja hispidula* connu sous le nom vernaculaire «Touret» et *Mentha pulegium* connu sous le nom vernaculaire « Fliou» qui sont des espèces médicinales en région méditerranéenne. Le choix de ces espèces se justifie par leur abondance dans la région d'étude et leur utilisation par la population locale. La récolte des feuilles a été réalisée entre le mois de Mars et Avril de l'année 2018, dans la forêt domaniale Bnieder section El-khaba ; municipalité de Borj T'har (figure 8). Les caractéristiques géographiques sont représentées dans le tableau 4.

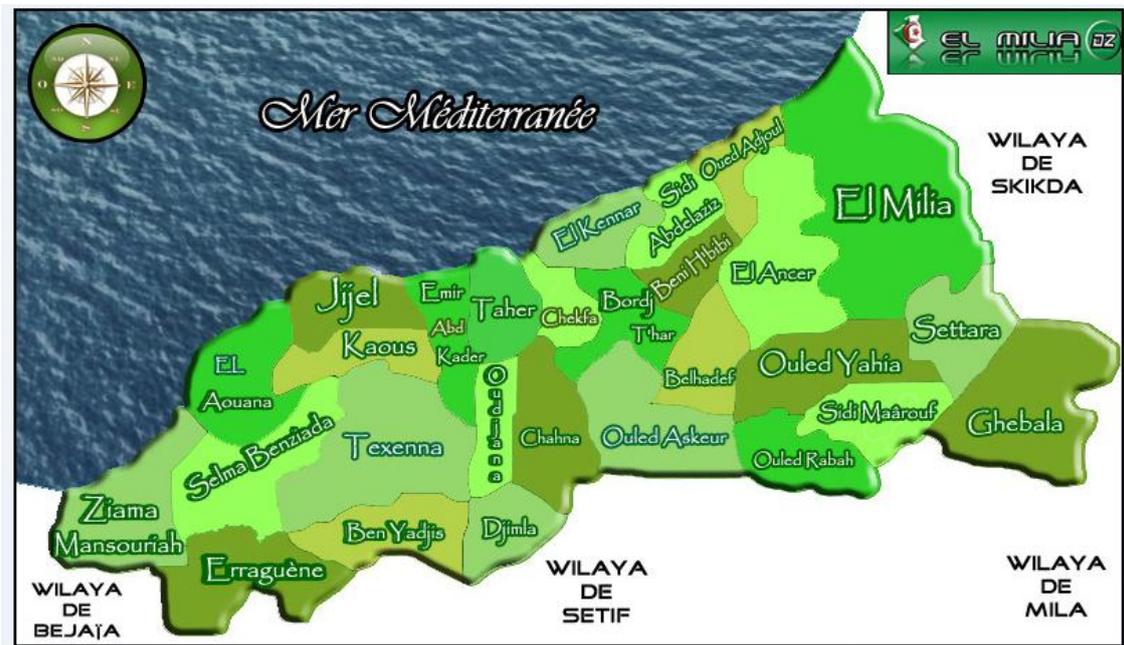


Figure 8: Carte de situation géographique de la région de Borj T'har (Anonyme, 2018).

Le prélèvement des feuilles a été réalisé d'une manière aléatoire et d'une façon à couvrir l'ensemble de la couronne des végétaux.

Tableau 4 : Caractéristiques géographiques de la région d'étude.

Espèce	Caractéristiques géographiques
<i>Saturejahispidula</i>	: X36, 76805 Y05, 99780 424m
<i>Menthapulegium</i>	: X36, 7680 Y05, 99780 424m

3.1.2. Séchage, broyage et tamisage du matériel végétal

Après la récolte, le matériel végétal a été séché à l'air libre et à l'abri de la lumière. La matière sèche obtenue a été réduite, à l'aide d'un moulin électrique, en poudre fine. Par la suite, cette dernière a été tamisée à l'aide d'un tamis de granulométrie de **100 µm** afin d'optimiser l'extraction des composés phytochimiques.

3.1.3. Détermination du taux d'humidité

Ce test vise à déterminer le taux d'humidité en réalisant le séchage de la plante jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Il a été effectué comme suit: pour chaque plante trois échantillons de 1g, 10g et 100g sont portés à 105 °C pendant 4 heures selon la norme française (NF V 04-401). La teneur moyenne en eau des échantillons étudiés est calculée comme suit :

$$T\% = [(x-y) / x] * 100$$

Considérons :

x: poids de l'échantillon

y: poids de l'échantillon après déshydratation

T% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage

3. 2. Tests phytochimiques préliminaires

3.2.1. Substances polyphénoliques

❖ Solution à analyser :

Nous avons projeté 5 g de poudre dans 100ml d'eau bouillante contenue dans un erlenmeyer de 250 ml. Après infusion de 15mn, nous avons filtré et complété le filtrat à 100ml avec l'eau distillé.

❖ Caractérisation

- Tanins

Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 ml d'infusé à 5% et ajouté 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (**Trease et Evans, 1987**).

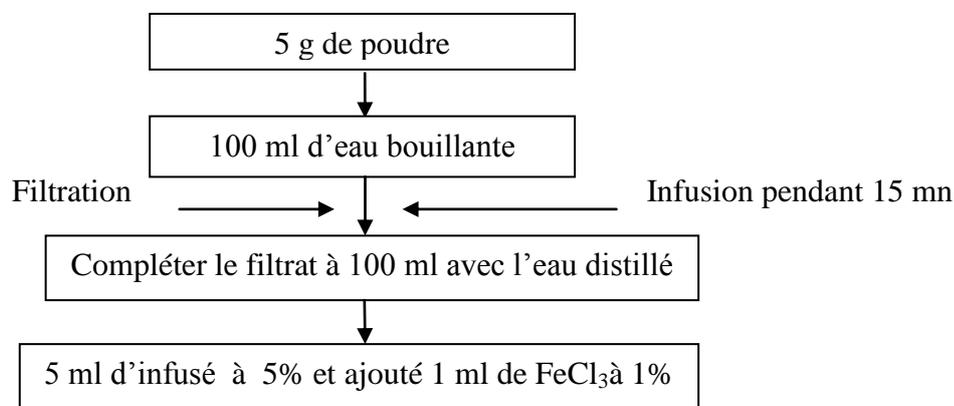


Figure 9 : Protocol de caractérisation des tanins (**Trease et Evans, 1987**)

- **Tanins catéchiques**

A 5ml d'infusé à 5%, nous avons ajouté 5ml d'HCl concentré. L'ensemble a été porté à ébullition pendant 15 mn puis filtré sur papier filtre. En présence de tanins catéchiques, il se forme un précipité rouge soluble dans l'alcool iso-amylque (**Trease et Evans, 1987**).

- **Tanins galliques : réaction de Stiasny**

A 30 ml d'infusé à 5%, nous avons ajouté 15 ml de réactif de Stiasny (10ml de formol à 40% et 5ml d'HCl concentré), puis nous avons chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 mn environ. Après filtration, le filtrat a été saturé par 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. Nous avons ensuite ajouté 1 ml goutte à goutte d'une solution de FeCl₃ à 1%. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins galliques (**Trease et Evans, 1987**).

3.2.2. Saponosides

❖ **Décocté à 1%**

Nous avons porté à ébullition 100 ml d'eau distillée dans un erlenmeyer de 250 ml et ajouté 1 g de poudre puis maintenir une ébullition modérée pendant 15 mn. Après filtration, nous avons ajusté le filtrat à 100 ml (**Trease et Evans, 1987**).

❖ **Caractérisation**

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, nous avons reparti successivement 1,2,.....10 ml du décocté à 1 % préparé et ajusté le volume dans chaque tubes à 10 ml avec de l'eau distillé. Ensuite, chaque tube a été agité dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde. Après avoir laissé au repos pendant 15 minute nous avons mesuré la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm indique l'indice de mousse (**Trease et Evans, 1987**).

3.2.3. Composés réducteurs

Nous avons introduit 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans un bécher de 100 ml et évaporé à sec au bain -marie. A ce résidu, il a été ajouté 1 ml de réactif de Fehling (0.5 ml de réactif A et 0.5 ml de réactif B, mélange extemporané). L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs (**Trease et Evans, 1987**).

3.2.4. Coumarines

Placer 1g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain-marie pendant quelques minutes.

Ajouter 0.5 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultra-violette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines (**Rizk, 1982**).

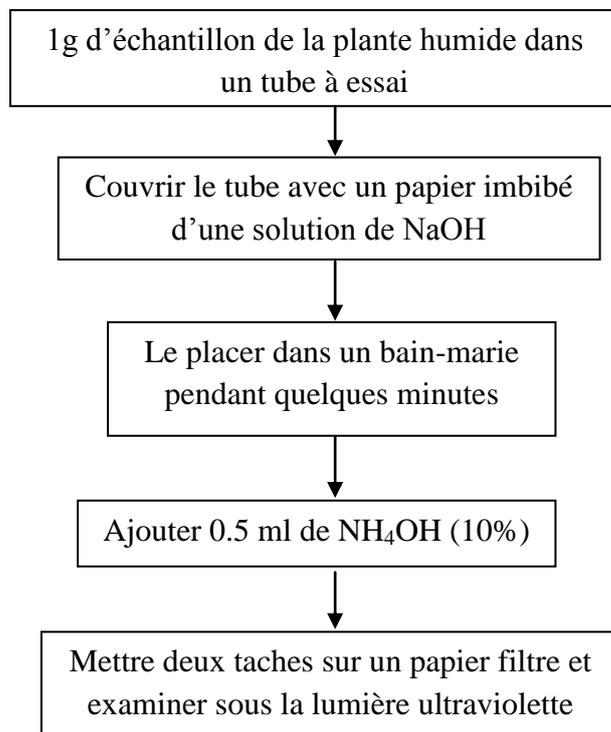


Figure 10 : Protocol de caractérisation des coumarines (**Rizk, 1982**).

3. 3. Extraction des composés phénoliques

Dans cette étude, une extraction sélective à plusieurs solvants a été faite selon le protocole de **Chiang et al. (1994)**, avec quelques modifications.

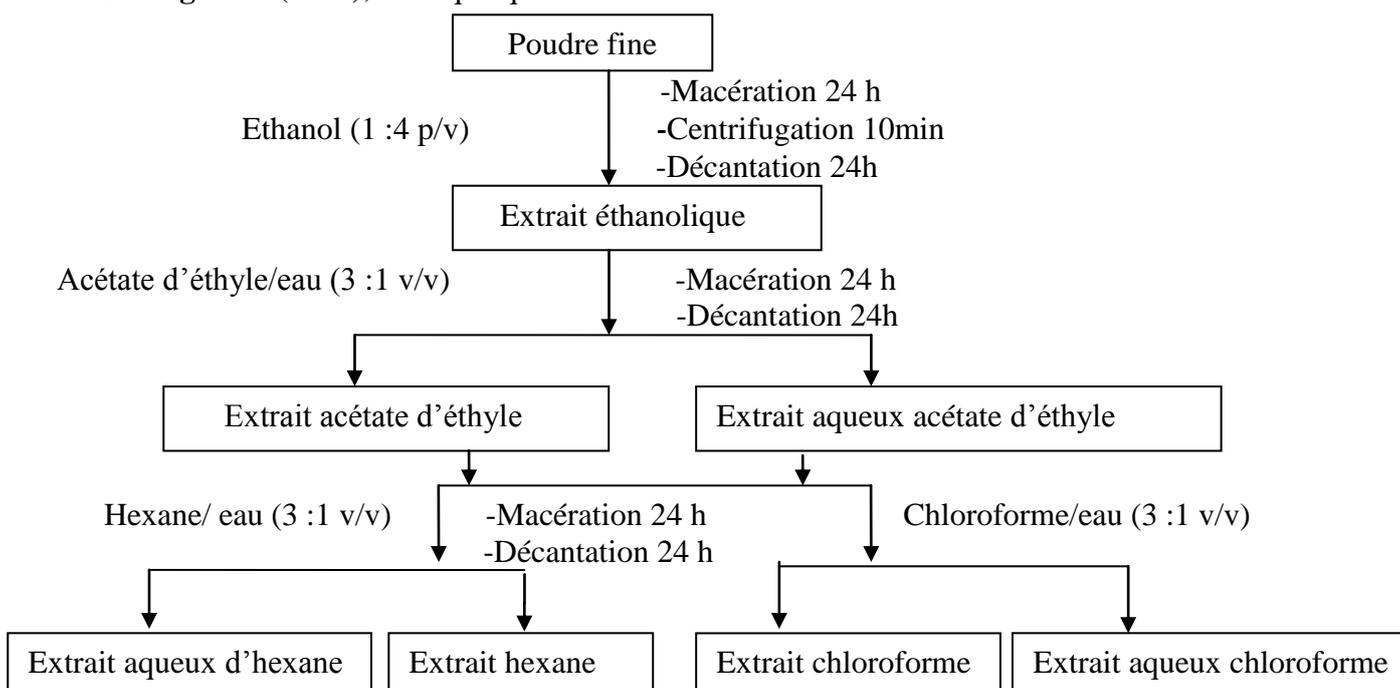


Figure 11 : Schéma récapitulatif des étapes suivies pour la préparation des extraits.

Le but de cette extraction est de pouvoir séparer les composés phénoliques en diverses phases, selon leurs polarités en fonction de la nature du solvant utilisé. L'extraction débute par l'éthanol afin d'extraire le maximum de composés phénoliques. Le protocole d'extraction est schématisé dans la figure 11.

La première étape de l'extraction des composés phénoliques est la macération de la poudre fine dans de l'éthanol 95% avec un rapport masse /volume de 1 :4 (P : V) pendant 24h. Par la suite, une centrifugation pendant 10 min suivie d'une décantation de 24h, donnant naissance à deux phases bien distinctes dont le surnageant représente l'extrait éthanolique. Ce dernier est versé dans des cristallisoirs et soumis à un séchage à l'air libre et à l'abri la lumière, jusqu' à stabilisation complète de son poids sec.

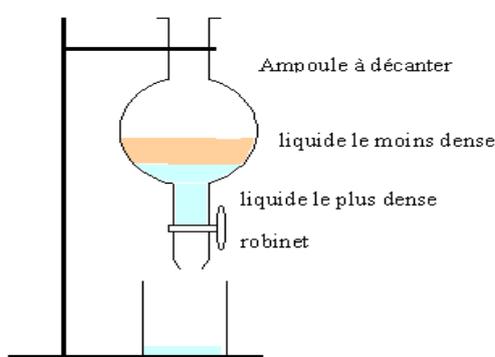


Figure 12: Ampoule à décanter

La deuxième étape de l'extraction est la macération de l'extrait éthanolique, dans un mélange d'acétate d'éthyle/eau avec un rapport volumique de 3:1 (V:V). Après 24h de macération, la décantation suivante a donné naissance à deux phases non miscibles (une phase aqueuse et une phase organique d'acétate d'éthyle). Ces dernières ont été séparées à l'aide d'une ampoule à décanter (figure 12) et laissées sécher dans les mêmes conditions précédemment citées.

La troisième et dernière étape de l'extraction est la macération d'une partie de l'extrait organique d'acétate d'éthyle, qui est divisé en deux parties: une est transférée dans un mélange hexane /eau et l'autre dans un mélange chloroforme/eau, avec un rapport volumique de 3 :1 (V:V). Après 24h de macération, suivie d'une décantation, les quatre phases résultantes ont été séparées et laissées sécher jusqu'à stabilisation complète de leur poids sec.

Calcul du rendement en extraits secs

Le taux d'extraction de chaque étape est calculé par la formule suivante:

$$\text{Taux d'extraction(\%)} = [(P_1 - P_0) / E] \times 100.$$

P₁: Poids de l'extrait après évaporation.

P₀: Poids initial du cristallisoir ou de la boîte de Pétri ou du ballon vide.

E: Poids de l'échantillon (la matière végétale) initial (Poudre ou extrait sec de la phase précédente).

3.4. Quantification des composés phénoliques

3.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le taux de composés phénoliques des extraits a été estimé par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la procédure d'Othman et al., (2007) avec quelques modifications. Le mode opératoire est schématisé sur la figure 13.

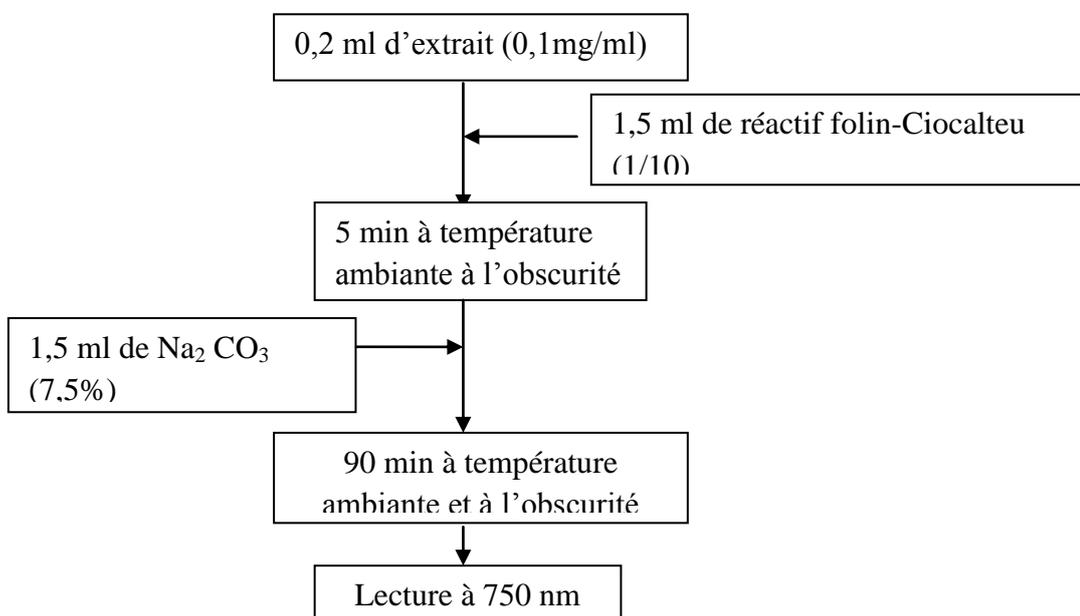


Figure 13: Protocole de dosage des polyphénols totaux

La concentration en polyphénols a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (figure 1 en annexe). La teneur moyenne en polyphénols est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mgEq AG/g d'extrait).

3.4.2. Dosage des polyphénols polaires

La méthode utilisée est celle rapportée par Owen et Johns, (1999). Le mode opératoire est schématisé sur la figure 14.

La concentration en polyphénols polaires a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (figure 2 en annexe). La teneur moyenne en polyphénols apolaires est exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mgEqAG/gE).

3.4.3. Détermination des polyphénols apolaires

$$T_{ap} = T_t - T_p \text{ (Owen et Johns, 1999)}$$

Où :

T_{ap} : Taux de polyphénols apolaires.

T_t : Taux de polyphénols totaux.

T_p : Taux de polyphénols polaires.

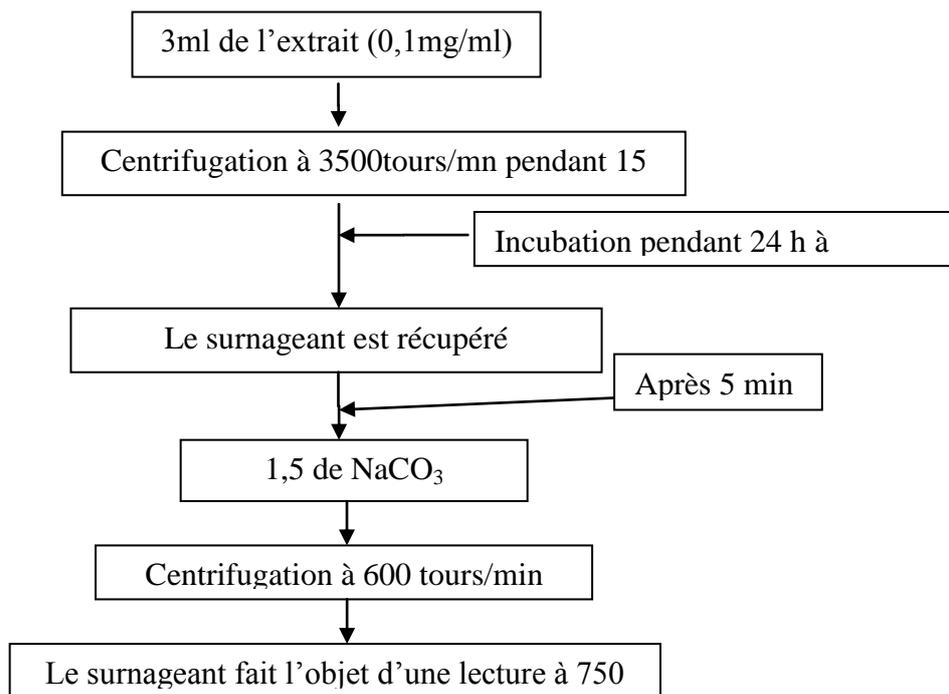


Figure 14 : Protocole de dosage des polyphénols polaires

3.4.4. Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont déterminés par la méthode de chlorure d'aluminium décrite par Maksimovié et al., (2004). Le protocole est présenté dans la figure 15.

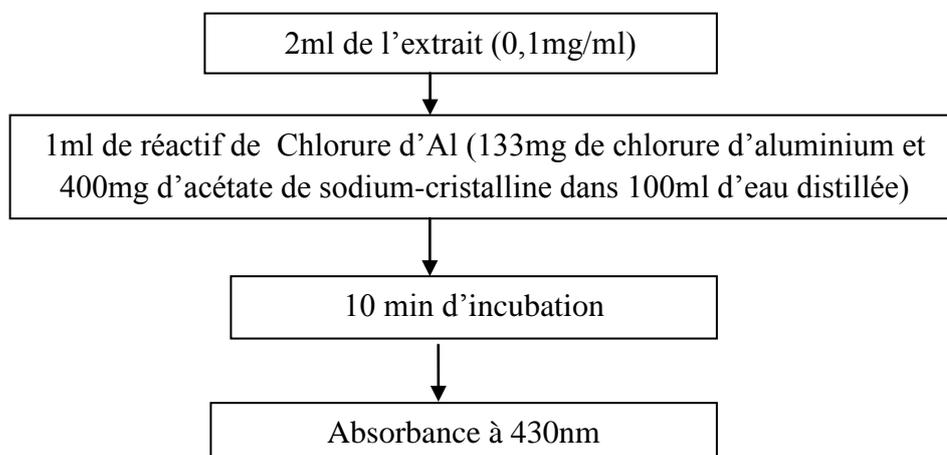


Figure 15 : Protocole de dosage des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine (figure3 en annexe) et sont exprimés en mg équivalent Quercétine/g d'extrait (mg EqQ/g E).

3.4.5. Dosage des tannins

Les tannins sont déterminés par la méthode décrite par d'Hagerman et Butler, (1978). Le protocole est présenté sur la figure 16.

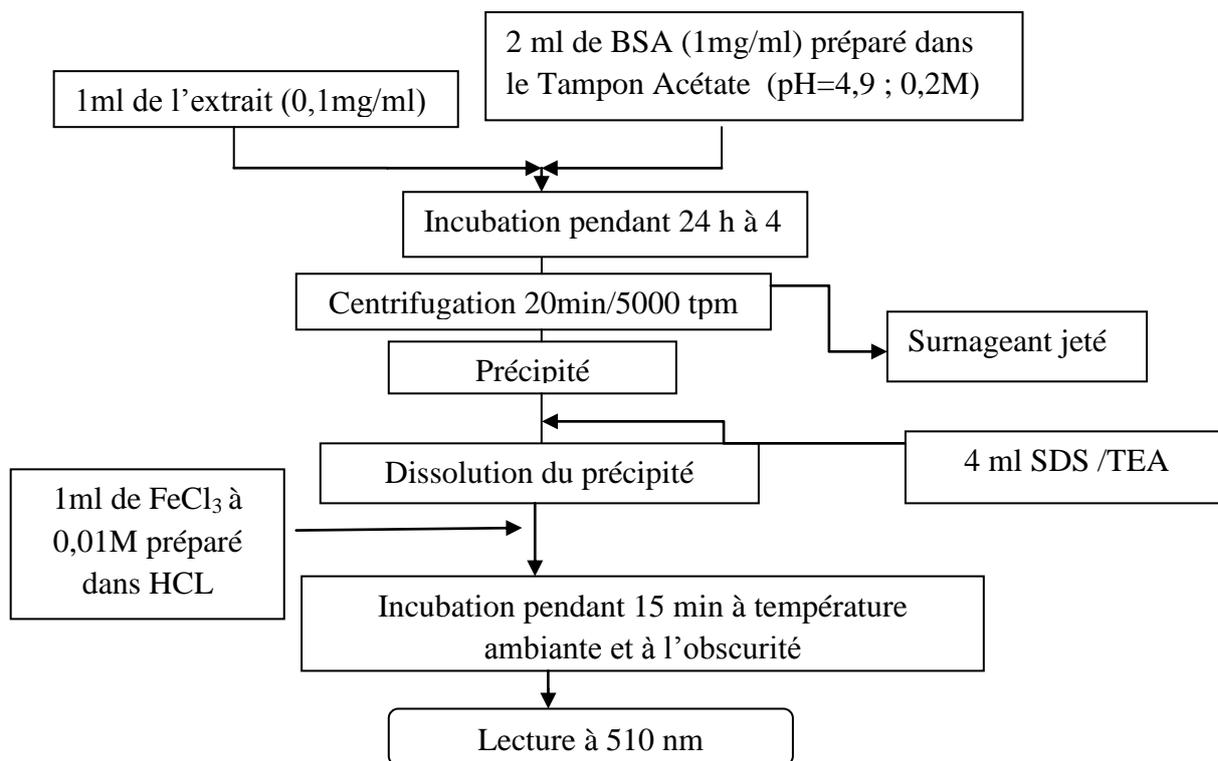


Figure 16 : Protocole du dosage des tannins.

En se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide tannique (figure 4, annexe), les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide tannique par g d'extrait (mg EAT/gE).

3.5. Evaluation de l'activité biologique des différents extraits

3.5.1. Activité antioxydante

3.5.1.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique en fer ferreux en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ et de l'acide trichloracétique (milieu acide). Il est déterminé par la méthode décrite de (karagozler et al., 2008) et qui illustrée sur la figure 17.

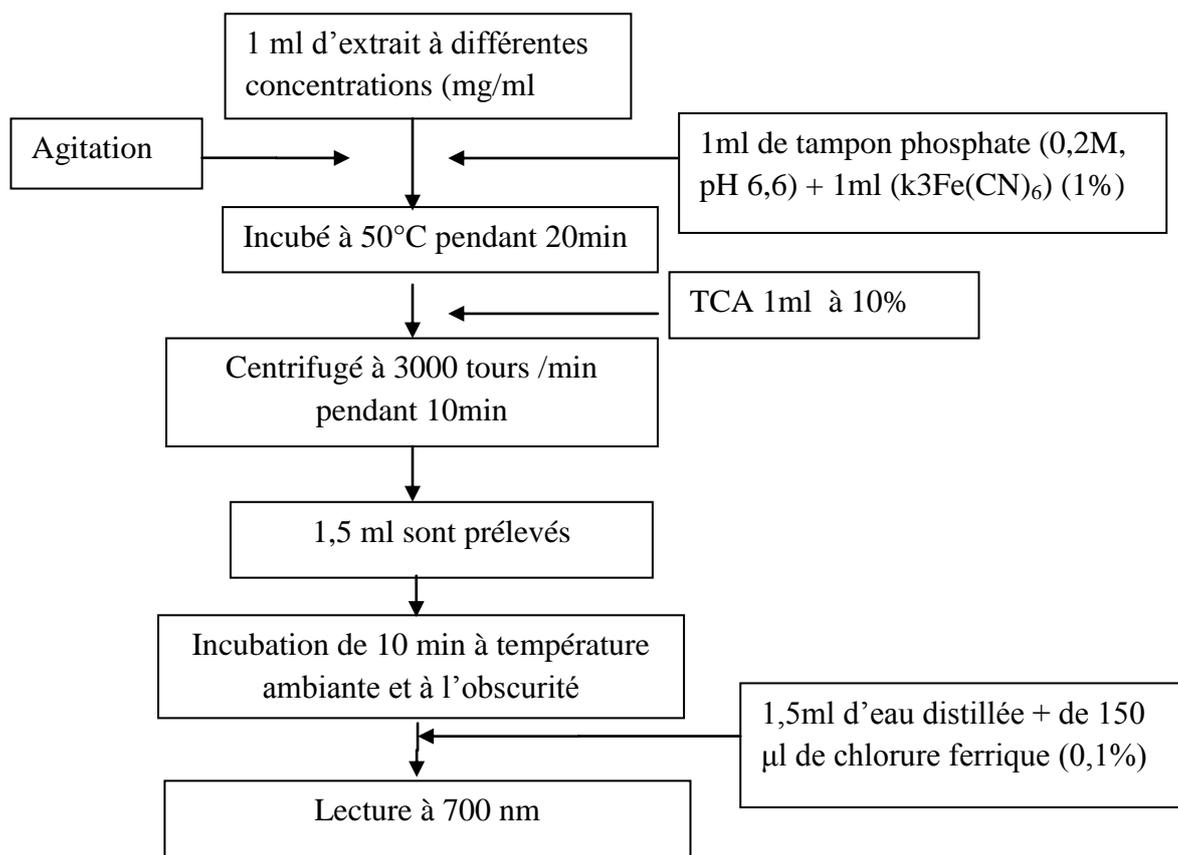


Figure 17: Protocole du pouvoir réducteur

3.5.1.2. Effet scavenger du radical DPPH[•]

L'activité antiradicalaire des extraits a été mesurée par la méthode décrite par **Ba et al., (2010)**. Le protocole est illustré par la figure 18.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH[•] est donné par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage de réduction du DPPH} = [(A_t - A_e)/A_t] \times 100$$

A_t : Absorbance du témoin ;

A_e : Absorbance de l'échantillon

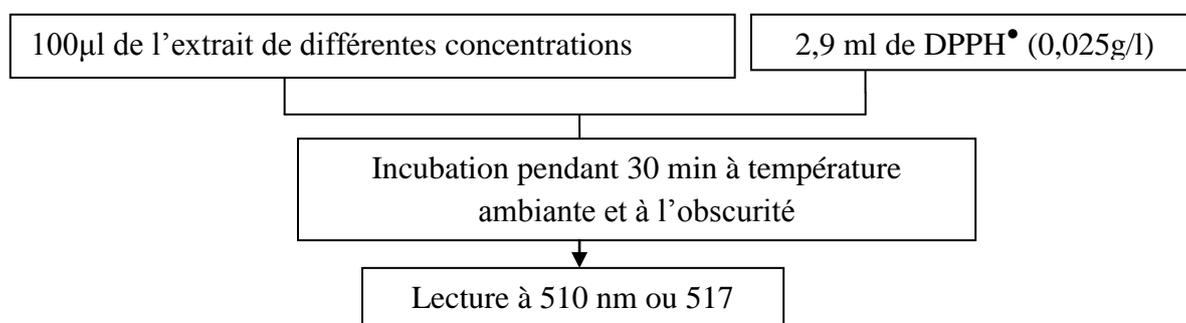


Figure 18: Protocole d'étude de l'activité anti-radicalaire.

3.5.1.3. Méthode de la capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de (Prieto et al., 1999). Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate à molybdène Mo (V) MoO_2^+ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à PH acide.

Dans un tube à vis un volume de 0.3 ml de l'extrait, préparé à une concentration de 0,01 mg/ml, est mélangé avec 3 ml de la solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Ensuite, les tubes sont vissés à demis et incubés dans un bain Marie à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml de l'éthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. L'étalonnage consiste à préparer une gamme de concentration croissante d'acide ascorbique à différentes concentrations, 3ml du Réactif de molybdate/phosphate doit être ajoutée, après agitation et homogénéisation les tubes vissés vont subir les mêmes conditions que l'échantillon. La courbe d'étalonnage (figure 12 en annexe) nous a permis de calculer la capacité antioxydante totale de chaque extrait. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/g MS).

3.6. Evaluation de L'activité antibactérienne (méthode d'aromatogramme)

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des deux espèces est réalisée d'abord par la méthode de diffusion des disques (méthode d'aromatogramme), en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries.

▪ Choix des bactéries

Les germes qui ont été testés pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des extraits de *Satureja hispidula* et de *Mentha pulegium* sont les suivants: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Vibrio cholera*

Deux souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) et deux souches provenant de l'hôpital de Jijel.

- *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram négative).
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positive).
- *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négative).
- *Vibrio cholera* (Gram positive).

- **Choix des milieux de culture**

Le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne est l'Agar de Muller Hinton (AMH) parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

- **Enrichissement des bactéries**

Une aliquote bactérienne (*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Vibrio cholera*) est mise en culture dans des tubes à essais contenant 5 ml de bouillon nutritif, ces derniers sont ensuite incubés à l'étuve pendant 24 h à 37° C.

- **Préparation des disques**

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman, avec un diamètre de 6 mm. A l'aide d'un perforateur. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube à essais et stérilisés à l'autoclave pendant 20 minutes à 120C°, puis stockés à une température ambiante dans un tube à essai hermétiquement fermé.

- **Préparation des boîtes de Pétri**

La gélose de Muller-Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles. L'épaisseur de la gélose est de 4-5 mm répartie uniformément dans les boîtes, ces derniers sont placés à côté du bec bunsen jusqu'à la solidification de la gélose.

- **Ensemencement des souches**

L'ensemencement consiste à prélever quelques gouttes de suspension fraîchement préparée par une pipette pasteur stérile puis l'étaler sur la totalité de la surface gélosée.

- **Dépôt des disques**

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques du papier Wattman imbibé par 15µl de l'extrait de chaque plantes à différentes concentrations (1000µg/ml, 500µg/ml, 100µg/ml, 50 µg/ml et 10µg/ml) sont déposés sur la gélose, précédemment inoculé avec le microorganisme choisi. Les boîtes sont maintenues à 4C° pendant 1 heure pour assurer une bonne diffusion de l'extrait dans la gélose. Le disque d'antibiotique, utilisé pour les essais de diffusion par disque est l'amoxicilline qui représente notre test positif. Aussi, la dilution des extraits est effectuée dans du DMSO.

- **Incubation des boîtes**

Les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve pendant 17-24h à 37C°.

- **Lecture**

La lecture des résultats s'effectuant par mesure des diamètres d'inhibitions autour des disques à l'aide d'une règle (en mm).

3.7 . Analyse statistique

Pour le calcul des statistiques élémentaires et pour une meilleure illustration des résultats nous avons procédé au calcul des moyennes et d'écart types.

Pour illustrer nos résultats, nous avons réalisé des histogrammes.

Tous les calculs ont été effectués en utilise le logiciel : Excel-2007.

4.1. Test d'humidité

Le séchage des échantillons récoltés est une étape essentielle qui sert à éliminer l'eau libre pour conserver et maintenir leurs constituants hors toute dégradation. Dans cette optique, le test d'humidité est réalisé dans le but d'évaluer la teneur en eau des plantes étudiées et de déterminer la durée du séchage de chaque plante. En effet, cette durée varie d'une espèce à une autre selon son humidité. Le temps de séchage des échantillons étudiés est de 15 jours à l'air libre.

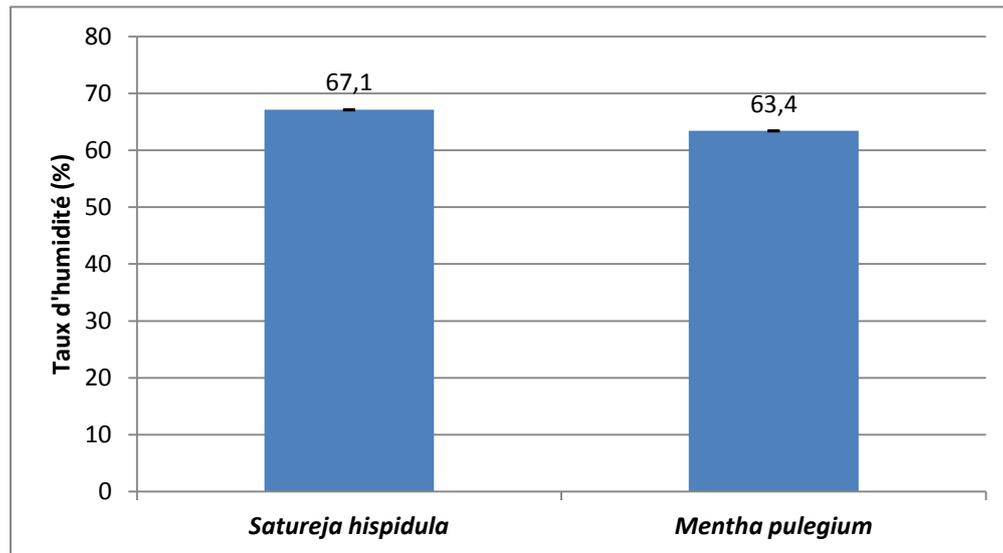


Figure 19: Taux d'humidité des deux plantes étudiées.

Les résultats obtenus du taux d'humidité sont représentés dans la figure 19 et qui indiquent une richesse hydrique moyenne pour les deux plantes étudiées, la teneur en eau varie en moyenne de 67,1 à 63,4% pour respectivement *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*.

Ce résultat est identique à celui trouvé par **Khadraoui et al., (2015)** qui ont relevé un taux de 61.5%- 68.7% pour l'espèce *Mentha pulegium* collectée de la région de Tarik Ibn Ziad de Ain-Defla.

4.2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur des extraits préparés à partir des feuilles de *Satureja hispidula* et de *Mentha pulegium* en utilisant différents réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos plantes. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

Les résultats de l'analyse phytochimique des extraits des deux plantes étudiées sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5: Résultats des tests phytochimiques des feuilles de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*.

Composantes	<i>Saturejahispidula</i>	<i>Menthapulegium</i>
Tanins totaux	+++	++
Tanins cathéchiques	+++	++
Tanins galliques	+++	++
Composés réducteurs	-	-
Saponosides	++	+
Coumarines	++	-

+++ : Fortement positive

++ : Moyennement positive

+ : faiblement positive

- : négative

4.2.1. Tanins

Le développement d'une coloration verdâtre ou bleu noirâtre confirme la présence des tanins pour les deux espèces *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*, la figure 20 représente nos résultats.



Figure 20: Test des tanins

4.2.1.1. Tanins catéchiques

Comme la montre la figure 21 et le tableau 5, les tanins catéchiques sont présents avec une intensité importante dans les deux plantes et particulièrement dans *Satureja hispidula*. Sa présence est confirmée par la formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool iso-amylique.



Figure 21: Test des tanins catéchiques

4.2.1.2. Tanins galliques

La réaction de Stiasny permet l'obtention d'un précipité qui confirme la présence de tanins gallique.

4.2.2. Saponosides

On remarque la présence d'une mousse de 0,8 cm chez *Satureja hispidula* dans le tube 8 (8 ml de décocté à 1 % + 2 ml de l'eau distillé) et une mousse de 0,4 cm chez *Mentha pulegium* dans le tube 9 (9 ml de décocté à 1 % + 2 ml de l'eau distillé) ce qui indique la présence des saponosides.

4.2.3. Composées réducteurs

L'absence de composées réducteurs chez les deux espèces est confirmée par une réaction négative avec le réactif de Fehling (absence d'une coloration rouge- brique).

4.2.4. Coumarine

Les coumarines sont présentes seulement chez *Satureja hispidula*, ceci est confirmé par l'apparition d'une fluorescence sous une lumière ultra-violette qui indique leur présence.

En conclusion, il convient de dire les deux plantes *Satureja hispidula* et *Mentha pulégium* ont révélé la présence des tanins totaux, des tanins galliques, tanins catéchiques, des saponosides qui ont fortement positive chez *Satureja hispidula* par apport à celui de *Menthapulégium*. Les

coumarines sont présentes dans les feuilles de *Satureja hispidula* seulement. Tandis que les composés réducteurs se sont révélés négatifs pour les deux espèces.

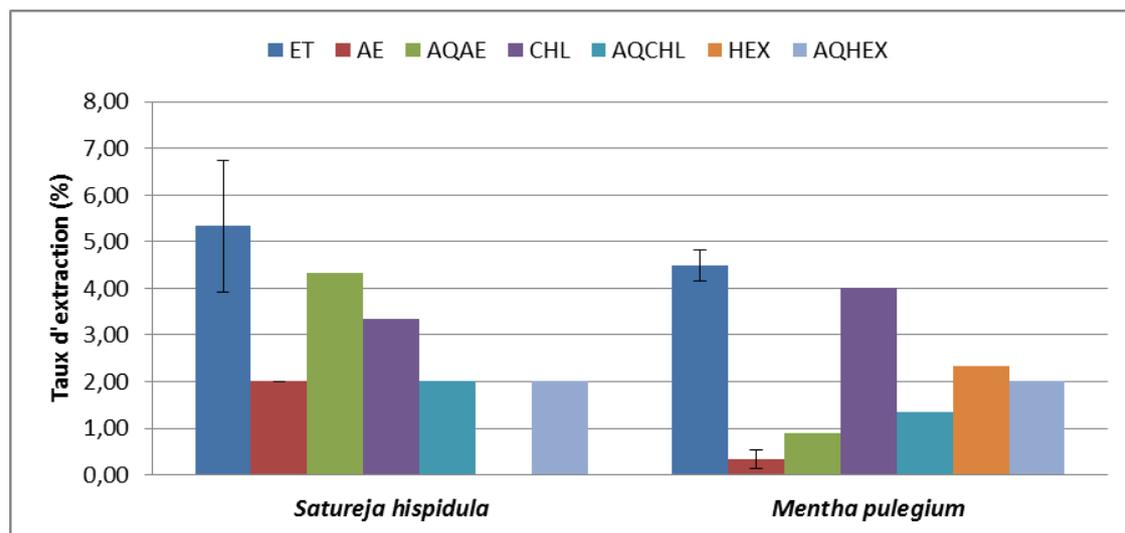
Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres chercheurs qui ont travaillé sur d'autres espèces mais appartenant au même genre, *Mentha piperita* (Rajinder et al., 2015) et *Mentha rotundifolia* (Seladji et al., 2014) où ils ont constaté la présence des flavonoïdes, des tanins et des terpénoïdes dans l'extrait aqueux, chloroformique, éthanolique et acétate d'éthyle dans les feuilles de *Mentha piperita* récoltées en Libye et sur la richesse en flavonoïdes et tanins, et à un degré moindre, les saponosides dans les feuilles et les tiges de *Mentha rotundifolia*.

Les résultats obtenus pour le test phytochimique de *Satureja hispidula* sont comparables à ceux de la bibliographie. En effet, Belmekki, (2009) a constaté la présence des tanins et des flavonoïdes dans la partie aérienne de *Satureja verbenaca*.

4.3. Extraction et dosage des composés phénoliques

4.3.1. Rendement en extraits secs

Les résultats du rendement d'extraction obtenus sont représentés par la figure 22. On constate que les rendements sont variables selon le solvant utilisé et la plante testée. Le taux d'extraction le plus élevé a été obtenu par l'éthanol (95%) pour les deux plantes avec 5,33% et 4,50% pour respectivement *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*, alors que l'acétate d'éthyle a donné le plus faible taux pour les deux plantes également avec 2% et 0,33% pour respectivement *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*.



ET :Ethanol , AE :Acétate d'éthyle, AQAE :Aqueux acétate d'éthyle , CHL :Chloroforme AQCHL :Aqueux chloroforme, HEX :Hexane, AQHEX : Aqueux hexane.

Figure 22: Rendement en extraits secs de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*

A partir de ce résultat, on peut dire que l'éthanol possède une polarité plus importante que les autres solvants testés ce qui a conduit à un taux d'extraction le plus élevé. Aussi, l'éthanol (95%) est un solvant volatil, possède l'avantage d'être éliminé facilement ce qui permet d'extraire le maximum de composés phénoliques. L'utilisation de solvants à polarité différentes permet de séparer les composés selon leur degré de solubilité. On peut conclure que les deux plantes possèdent des composés de polarités variables.

Aussi, selon une étude menée par **Khadraoui et al., 2015** sur *Mentha pulegium* de la région de Tarik Ibn Ziad de Ain-Defla, le rendement d'extraction pour l'extrait éthanolique est de 6,84%-7,4% et pour l'acétate d'éthyle est de 0,77-1,62%. Ce rendement reste toujours supérieur à celui obtenu dans notre étude.

Selon **Bougandoura, (2011)**, le rendement en extrait méthanolique de *Calamintha* est de 8,58%. Ce rendement reste supérieur à celui trouvé dans notre étude. Cela est peut-être due à la différence des techniques d'extractions utilisées qui affectent ainsi le taux total en phénols et flavonoïdes (**Lee et Lee., 2010**).

Le critère de rendement en extrait brut sec n'est pas suffisant pour préconiser la richesse d'un extrait en composés phénoliques car les extraits de plantes contiennent d'autres constituants (pigments). Cette évidence est montrée dans l'étude de quantification des phénols totaux, phénols polaires, phénols apolaires et flavonoïdes présentés ci-dessous.

4.3.2. Dosages des phénols totaux

Dans le but d'évaluer les teneurs en constituants bioactives des extraits préparés à partir des feuilles de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*, un dosage des polyphénols totaux, phénols polaires, phénols apolaires, flavonoïdes, tannins a été effectué. La principale raison pour le choix de ces constituants réside dans le fait que la majorité des effets thérapeutiques des plantes leurs sont attribués.

La quantification des phénols totaux s'est effectuée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=aX+b$) réalisée par une solution étalon (acide gallique) à différentes concentrations (tableau1, annexe). La teneur en phénols de chaque extrait est exprimée en mg/ml équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mgEAG/gE). Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 23.

D'après ces résultats, on constate que les teneurs des extraits varient de 6,918 mg EAG/gE pour l'extrait chloroforme de *Satureja hispidula* à 360,377 mg EAG/gE pour l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium*.

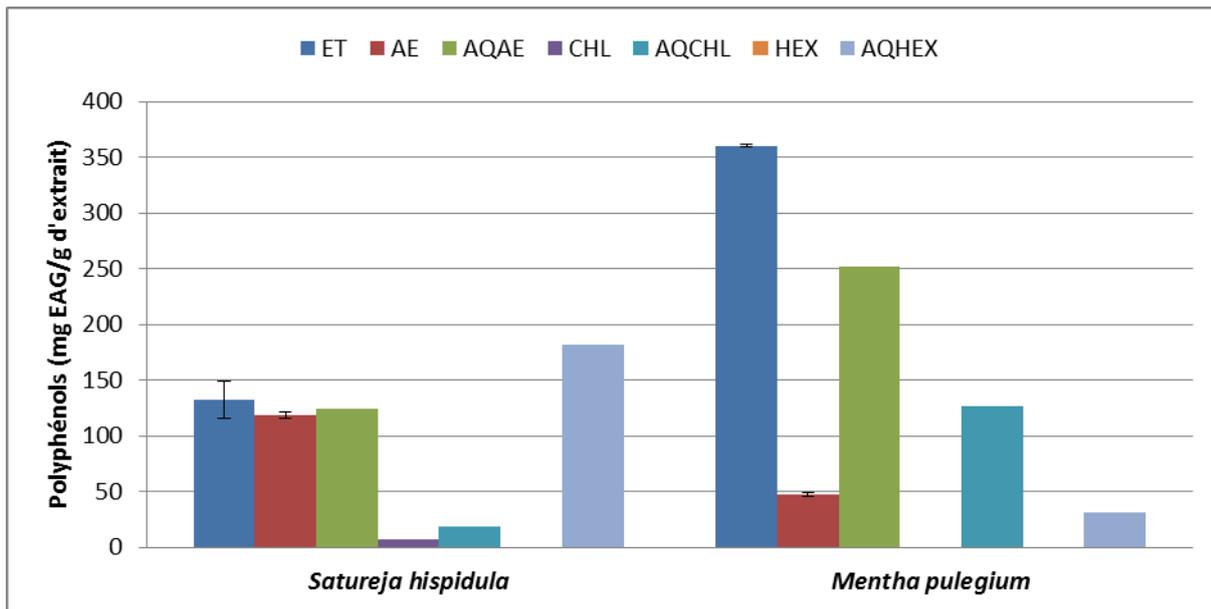


Figure 23 : Phénols totaux des extraits des plantes.

La teneur en phénols totaux la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux acétate d'éthyle pour *Mentha pulegium* avec une teneur de 360,377 et 252,201 mg EAG/gE respectivement. Pour *Satureja hispidula*, la teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait aqueux hexane (181,76 mg EAG/gE) suivi par l'extrait éthanolique (132,70 mg EAG/gE) tandis que la teneur la plus faible se trouve dans l'extrait chloroforme pour *Satureja hispidula* avec 6,918 mg EAG/g E.

La très faible teneur en phénols totaux pour *Satureja hispidula* a été enregistrée dans l'extrait chloroforme (6,918 mg EAG/g E) et pour *Mentha pulegium*, dans l'extrait aqueux hexane (30,818 mg EAG/g E).

Jusqu'ici peu d'études ont été réalisées sur la quantification des polyphénols dans les extraits de *Satureja hispidula*. L'extrait méthanolique a fait l'objet d'une étude réalisée par **Bougandoura et Bendimerad, (2012)** et qui ont trouvé une teneur de 2,968 mg EAG/g EB, et qui sont largement inférieures à nos résultats pour tous les extraits (132,7-6,9 mg EAG/g E).

Les résultats obtenus sont plus ou moins proches de ceux obtenus par **Bencheikh, (2012)** réalisés sur l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* qui sont de l'ordre de 183,45 mg/g.

Aussi, une étude entreprise par **Kanyonga et al., (2011)** sur *Mentha vulgare* a démontré que le taux le plus élevé de polyphénols se rencontre dans l'extrait eau/Me OH (102,69 mg EAG/gE).

Par ailleurs, si on compare ces résultats à ceux obtenus par **Khadraoui et al., (2015)**, qui ont travaillé sur l'extrait acétate d'éthyle de *Mentha pulegium* de la région de Tarik Ibn Ziad de Ain-Defla, et qui ont relevé des teneurs de l'ordre de 0,277 et 0,061 mg GAE/g, valeurs très

inférieurs à nos résultats pour le même solvant d'extraction (47,799 mgEAG/g) ceci est peut-être dû à la technique d'extraction utilisé et la méthode de séchage (rotavapeur).

En effet, le séchage à l'air libre et à température ambiante de l'extrait éthanolique permet d'extraire le maximum de composés phénolique et à prévenir toute modification ou dénaturation probable liée aux températures élevées utilisées. Dans cette optique, **Cacace et Mazza, (2001)** ont rapporté que certains composés de structure sensible et instable comme la catéchine peuvent être réduits à des températures qui dépassent 35°C°.

4.3.3. Dosages des phénols polaires et apolaires

- Polyphénols polaires

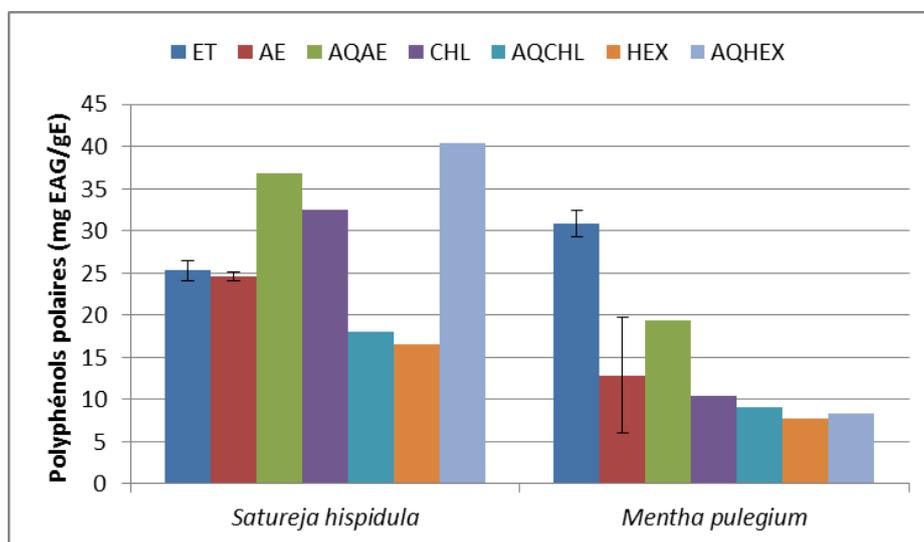


Figure 24 : La teneur en polyphénols polaires des deux plantes.

Les résultats obtenus dans la figure 24 montrent que le taux des polyphénols polaires le plus élevé est enregistré chez l'extrait aqueux hexane de *Satureja hispidula* avec (40,45 mg EAG/gE) puis l'extrait aqueux acétate d'éthyle avec (36,78 mg EAG/gE), ces valeurs sont largement supérieures à celles enregistrées chez *Mentha pulegium* dont (8,28 mg EAG/gE) et (19,38 mg EAG/gE) pour l'extrait aqueux hexane et l'extrait aqueux acétate d'éthyle.

D'une manière générale, on remarque que la teneur en phénols polaires est plus grande chez *Satureja hispidula* par rapport à *Mentha pulegium*, ce qui confirme sa richesse en polyphénols polaires.

Polyphénols apolaires

D'après la figure 25, on remarque que la teneur en polyphénols apolaires est plus grande chez *Mentha pulegium* ; dont (329,52 mg EAG/gE) et (117,34 mg EAG/gE) pour l'extrait éthanolique et

aqueux chloroforme respectivement. Tandis que la teneur est de (120,05mg EAG/gE) et (9,21 mg EAG/gE) respectivement chez *Satureja hispidula*.

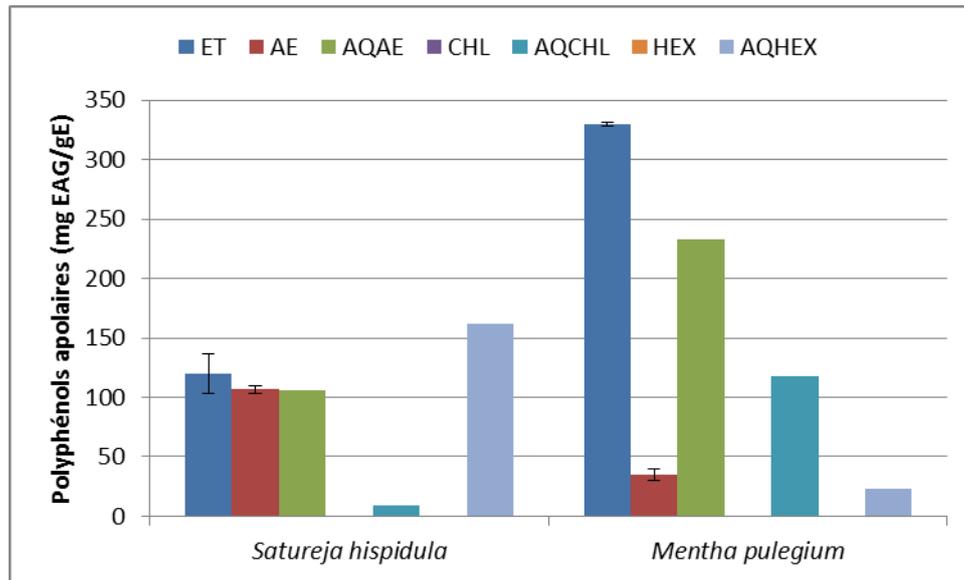


Figure 25 : La teneur en polyphénols apolaires des deux plantes.

4.3.4. Dosage des flavonoïdes

La quantification de flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=aX+b$) réalisé par une solution étalon (Quercétine) à différentes concentrations (Figure 3 en annexe). La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été alors calculée à partir de cette courbe dont les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/gE). Les résultats relatifs aux flavonoïdes sont représentés dans la figure 26.

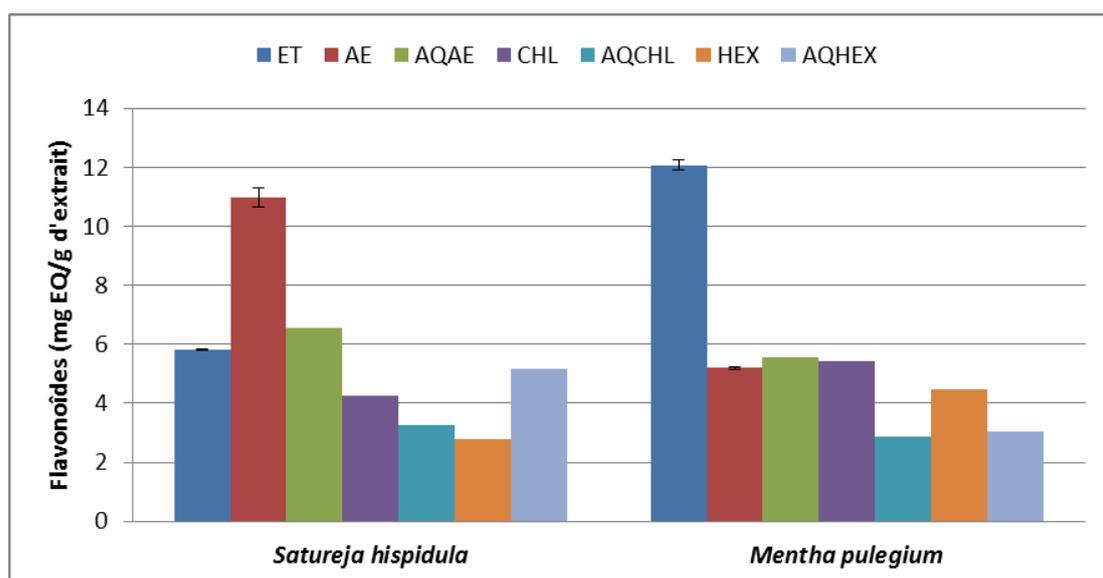


Figure 26: Flavonoïdes des extraits des deux plantes.

La teneur en flavonoïdes la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium* (12,07 mgEQ/gE) en comparaison avec l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* (5,820 mgEQ/gE). Tandis que les teneurs les plus faibles se trouvent dans l'extrait aqueux chloroforme pour *Mentha pulegium* et l'extrait hexane pour *Satureja hispidula* avec 2,860 mgEQ/gE et 2,80 mgEQ/gE respectivement.

4.3.5. Dosage des tanins

La quantification des tanins a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=aX+b$) réalisée par une solution étalon (Acide tannique) à différentes concentrations (Figure 4 en annexe). La teneur en tanins de chaque extrait a été alors calculée à partir de cette courbe dont les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg EAT/gE). Les résultats relatifs aux tanins sont représentés dans la figure 27. En premier lieu, on constate que la teneur en tanins varie en fonction de l'extrait et de la plante.

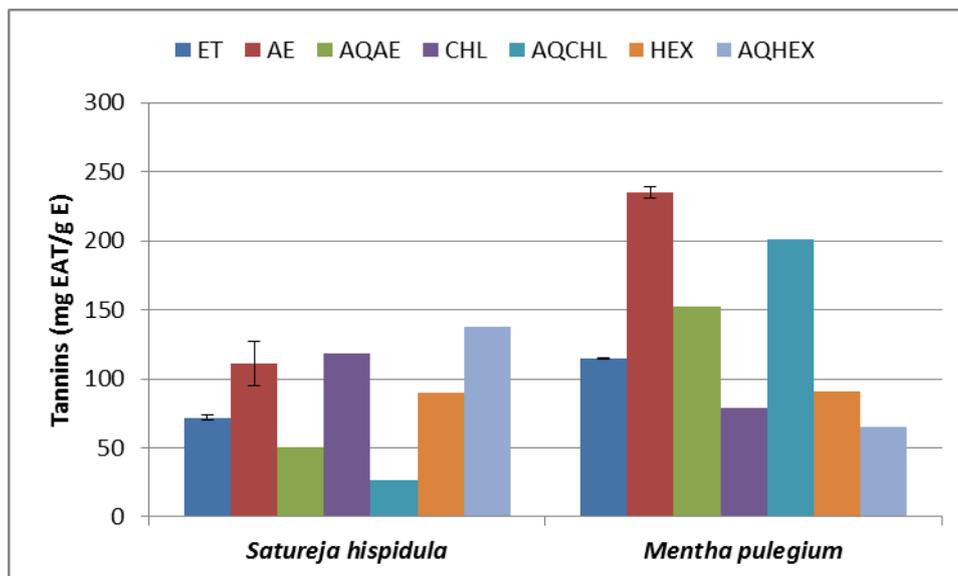


Figure 27: Tanins des extraits des deux plantes.

La teneur en tanin la plus élevée a été enregistrée dans l'extrait acétate d'éthyle pour *Mentha pulegium* (235,5mgEAT/gE) et l'extrait aqueux hexane pour *Satureja hispidula* (137,28mgEAT/gE). Tandis que la teneur la plus faible se trouve dans l'extrait aqueux chloroforme de *Satureja hispidula* et l'extrait aqueux hexane de *Mentha pulegium* avec 26,5 mgEAT/gE et 64,81 mgEAT/gE respectivement.

La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est due probablement aux conditions biotiques (espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques), la nature du sol et le type du microclimat et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes (Atmani et al., 2009).

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres de l'extraction des polyphénols : la température, la taille des particules et le type du solvant d'extraction, le volume du solvant, le nombre d'étapes d'extraction et le poids initial de la poudre (**Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003**).

4.4. Activité antioxydante

4.4.1 Activité anti radicalaire contre le radical libre DPPH'

L'activité antioxydante des différents extraits de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium* vis-à-vis du radical DPPH' a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm.

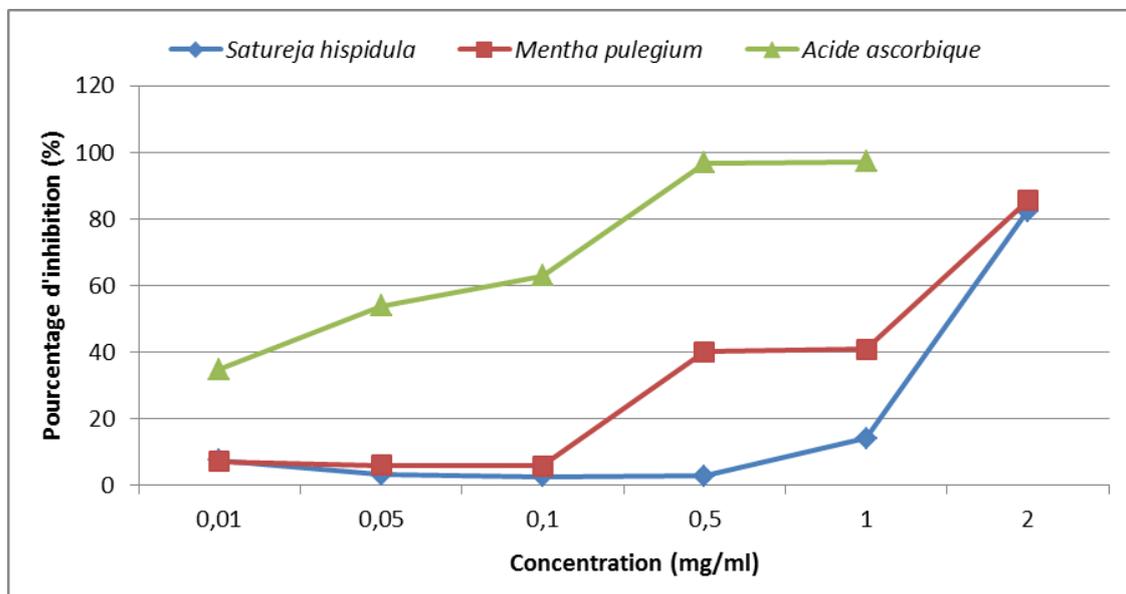


Figure 28 : Activité antiradicalaire des extraits éthanoliques des deux plantes testées en comparaison avec l'acide ascorbique.

Selon les résultats obtenus dans la figure 28, on constate que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait ou de l'acide ascorbique. Les pourcentages d'inhibition des extraits éthanoliques varient entre 7,45 % et 82,28% pour *Satureja hispidula*, entre 7,22 % et 85,57% pour *Mentha pulegium*, entre 34,76% et 97,19% pour l'acide ascorbique. Donc l'acide ascorbique a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH' Plus important par rapport aux extraits éthanoliques des deux plantes.

Calcul de l'IC₅₀

La valeur IC₅₀ (Concentration d'inhibition à 50%) aussi appelée EC₅₀ (Efficient concentration 50) est définie comme étant la concentration de la substance nécessaire à diminuer de 50% du DPPH.

Les IC₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important. L'IC₅₀ de l'extrait éthanolique des deux espèces et de l'acide ascorbique est déduit à partir des équations des droites de régression représentées dans la figure 5,6 et 7 en annexe. Les valeurs trouvées sont représentées par la figure 29.

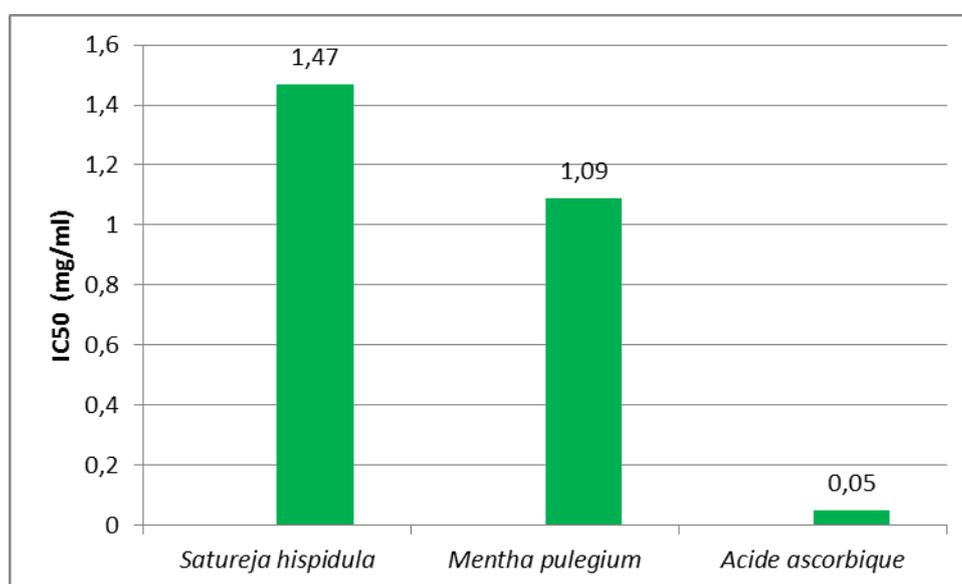


Figure 29 : Concentration inhibitrice de 50% du radical libre DPPH de l'extrait éthanolique des deux plantes et de l'acide ascorbique.

En comparant les IC₅₀ des différents extraits testés pour les deux espèces par rapport de l'acide ascorbique, on constate que 50% des radicaux libres ont été éliminés par l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* à partir d'une concentration de 1,47mg/ml, et 1,09 mg/ml pour *Mentha pulegium* contre une concentration de 0,05mg/ml pour l'acide ascorbique qui est un antioxydant très puissant. Cette activité peut être due à la présence des composés polyphénoliques dans l'extrait.

L'acide ascorbique a donné la meilleure activité, suivi de l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium*. *Satureja hispidula* a montré une faible activité par rapport à substance de référence, mais reste presque identique à l'activité de *Mentha pulegium*.

4.4.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est basé sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) par les composés antioxydants. Une augmentation de l'absorbance est indicatrice d'un pouvoir réducteur élevé.

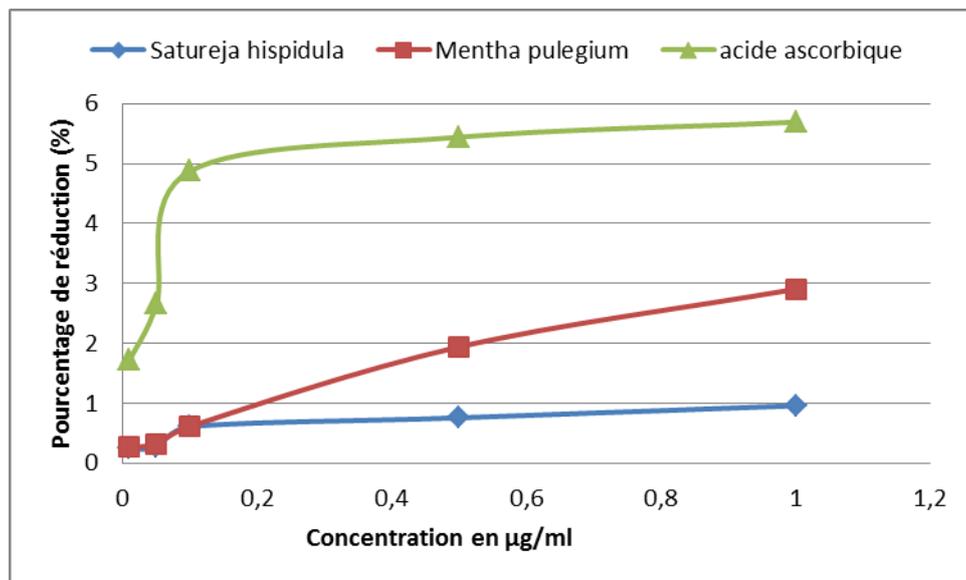


Figure 30 : pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de deux plantes étudiées en comparaison avec l'acide ascorbique.

D'après les résultats présentés dans la figure 30, on remarque en premier lieu que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle aux concentrations utilisées. En second lieu, on remarque que tous nos extraits ont des activités moins importantes que la substance de référence (l'acide ascorbique). Pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0,5 $\mu g/ml$.

Les absorbances des extraits éthanoliques de l'acide ascorbique oscillent entre 1,72 et 5,69, de *Mentha pulegium* entre 0,27 et 2,91 et *Satureja hispidula* entre 0,24 et 0,96.

Détermination de $CR_{0,5}$:

Pour comparer l'activité antioxydants des deux espèces *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium* de l'extrait éthanolique nous avons calculé $CR_{0,5}$ qui est considérée comme la concentration qui donne une absorbance de 0,5 à 700 nm qui représente la réduction de 50% du fer. Les $CR_{0,5}$ obtenus à partir des courbes de régression représentées par les figures 8, 9 et 10 en annexe.

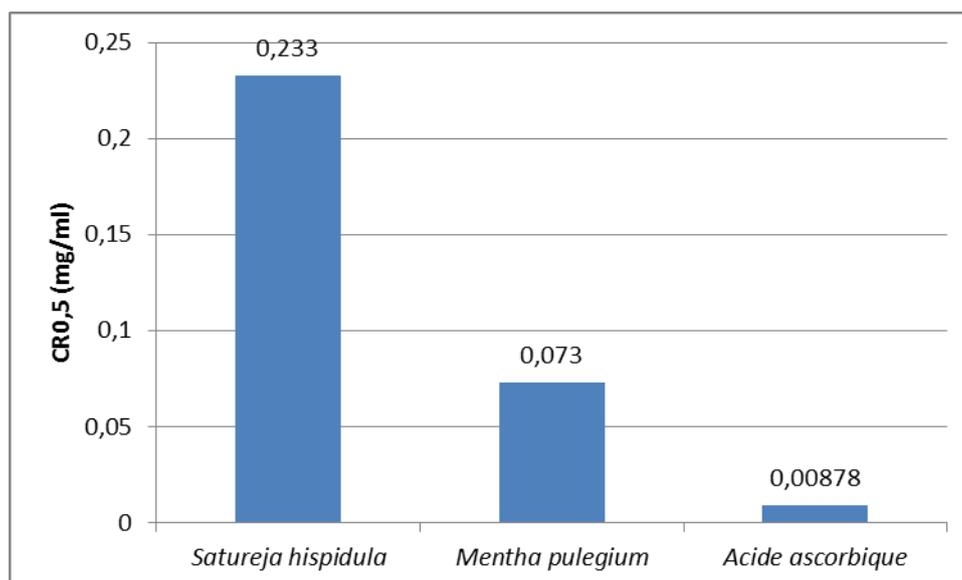


Figure 31 : Concentration nécessaire pour la réduction de 50% du fer des extraits éthanoliques des plantes et de l'acide ascorbique.

D'après la figure 31, on remarque que l'acide ascorbique a montré la meilleure activité (0,0088 $\mu\text{g/ml}$) par rapport aux deux plantes. La plus faible activité a été obtenue pour l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* ($\text{CR}_{0,5} = 0,233 \mu\text{g/ml}$)

On conclut que la capacité de réduire le fer est variable, elle est très importante pour l'acide ascorbique suivie par *Mentha pulegium* et enfin *Satureja hispidula*.

4.4.3. Evaluation de la capacité anti oxydante totale (CAT)

La méthode de la Capacité Anti oxydante Totale (CAT) permet de déterminer la quantité des espèces anti oxydantes présentes dans les extraits. La capacité antioxydante totale des extraits éthanoliques de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium* est exprimée en équivalents d'acide ascorbique. A cet effet, une courbe d'étalonnage a été effectuée en parallèle, dans les mêmes conditions, en utilisant l'acide ascorbique comme étalon (Figure 11 en annexe). Les résultats sont présentés dans la figure 32.

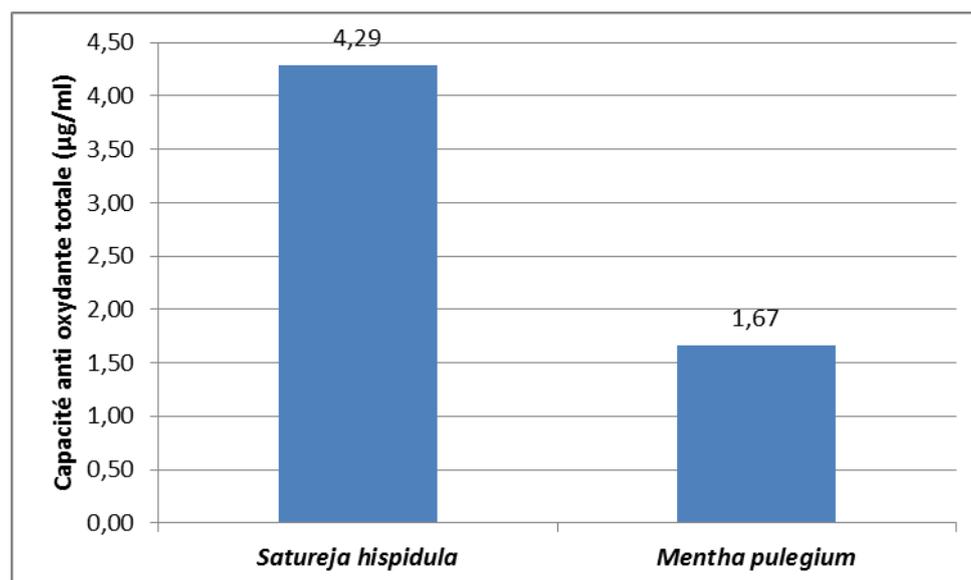


Figure 32 : Capacité oxydative totale des extraits éthanoliques des deux plantes

On remarque que la capacité oxydative totale de l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* (4,29µg/ml) est plus importante que la capacité de *Mentha pulegium*(1.67µg/ml).Ceci est peut être expliquée par la présence des certaines substances polyphénoliques plus importantes chez *Satureja hispidula* que *Mentha pulegium* (Tanins totaux, Tanins cathéchiques, Tanins galliques, Saponosides et Coumarines)retrouvés lors du test phytochimique et qui possèdent peut être d'autres capacités antioxydantes (activité scavenging contre le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, le radical hydroxyle OH[•], superoxyde O₂^{•-} ...etc.).

En conclusion, il convient de dire que l'acide ascorbique présente une meilleure activité antioxydante vis-à-vis du radicale DPPH[•]et du pouvoir à réduire le fer par rapport à l'extrait éthanolique des deux plantes testées. Aussi, l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* présente une meilleure activité que l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium*. Cette activité peut être expliquée par leurs richesses en substances polyphénoliques et plus spécialement par les composés apolaires que l'on trouve dans les extraits éthanolique.

4.5. Activité antibactérienne

Face aux problèmes de la résistance bactérienne aux antibiotiques synthétiques, beaucoup de travaux ont été mené sur le pouvoir antimicrobien des extraits des plantes. L'objectif de notre travail est de mettre en évidence par la technique de diffusion sur disques en papier une éventuelle activité antibactérienne des extraits éthanoliques de deux plantes (*Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*) contre quatre souches bactériennes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Vibrio cholera*.

Tableau 6: Moyennes des diamètres des zones d'inhibition en mm de l'extrait éthanolique des deux plantes.

<i>Satureja hispidula</i>	0,01 (mg/ml)	0,1 (mg/ml)	0,5 (mg/ml)	1 (mg/ml)	2(mg/ml)
<i>Escherichia coli</i>	15,81	12,18	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	11,49	11,49	11,49	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6	6	6	6
<i>Vibrio cholera</i>	6	18,68	10,06	11,49	6
<i>Mentha pulegium</i>	0,01 (mg/ml)	0,1 (mg/ml)	0,5 (mg/ml)	1 (mg/ml)	2(µg/ml)
<i>Escherichia coli</i>	7,33	6	6	9,77	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,33	7,33	7,33	7,33	7,33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6,51	7,33	8,14	9,77
<i>Vibrio cholera</i>	7,33	8,14	6	6	6

D'après les résultats du tableau 6, on constate que les extraits éthanoliques des deux plantes agissent différemment sur les souches testées. L'activité de l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* est plus importante contre *Vibrio cholera* et *Escherichia coli* que l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium*.

Le diamètre de la zone d'inhibition le plus élevé est obtenu par l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula* contre *Vibrio cholera* (18,68 mm) et *Escherichia coli* (15,81 mm) et *Staphylococcus aureus* (11,49 mm). La souche *Pseudomonas aeruginosa* a présenté une résistance à cet extrait.

Par contre, l'activité de l'extrait éthanolique de *Mentha pulegium* présente des diamètres de la zone d'inhibition moins importants que *Satureja hispidula* avec des diamètres de 9,77mm contre *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et 8,14mm *Vibrio cholera*. La souche *Staphylococcus aureus* a présenté une résistance à cet extrait.

Les travaux rapportés par **Khadraoui et al., (2015)** sur différents extraits de *Mentha pulegium* confirment en partie les résultats trouvés dans cette présente étude, mais les diamètres de la zone d'inhibition restent moins importants, *Escherichia coli* (19-24mm), *Pseudomonas aeruginosa* (8-11mm). Par contre, *Staphylococcus aureus* n'a pas présenté une résistance comme et a présenté plutôt des diamètres de 16 à 20 mm.

Les zones d'inhibition obtenues contre les différentes souches bactériennes peuvent être dues aux composés phénoliques présents dans les extraits tels que les polyphénols : phénols, tanins et flavonoïdes, ...qui inhibent fortement la croissance bactérienne. Ceci a été constaté par plusieurs auteurs (**Shan et al., 2007; Treki et al., 2009**).

Conclusion

A la lumière de cette étude qui représente une contribution à la valorisation de certaines plantes médicinales de la flore Algérienne, il ressort de l'analyse des résultats obtenus que les deux plantes étudiées possèdent des teneurs importantes en eau qui varient de 63,4% et 67,1%, ce qui confirme leurs richesses hydriques. Le rendement d'extraction est assez considérable pour l'extrait éthanolique. Quand à leur étude phytochimique, les deux plantes renferment différentes classes de composés phénoliques, les polyphénols totaux varient de 360,377 mEAG/gE (*Mentha pulegium*) et 132,7 mEAG/gE (*Satureja hispidula*), les polyphénols apolaires sont supérieurs aux polyphénols polaires, la teneur en flavonoides varie 12,07 mgEQ/gE (extrait éthanolique de *Mentha pulegium*) et 5,820 mgEQ/gE (l'extrait éthanolique de *Satureja hispidula*), tandis que la teneur en tanins est plus importante (entre 26,5 mgEAT/gE et 235,5mgEAT/gE).

Donc, les différents extraits de la partie aérienne de *Satureja hispidula* et de *Mentha pulegium* renferment des teneurs très variables en composés phénoliques et par conséquent ont des activités différentes. Ces teneurs varient en fonction des solvants d'extraction. Parmi ces solvants, l'éthanol est le plus recommandé dans ce type d'extraction.

L'activité biologique trouvée est suffisamment importante pour permettre l'utilisation de ces plantes comme nouvelle source naturelle d'antioxydant et antibactérien dans divers domaines: en pharmacie, cosmétologie et industries agroalimentaires.

Il convient de dire que malgré les teneurs en composés phénoliques constituent un facteur de valorisation de la capacité antioxydante et antibactérienne des espèces végétales, la qualité de ces molécules serait plus intéressante puisqu'elle détermine l'ampleur de leurs propriétés biologiques

Les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits éthanoliques des deux plantes étudiées sont confirmées, c'est ainsi que cette étude permis d'apporter une base scientifique à l'utilisation traditionnelle de ces plantes.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches. De cet effet, et comme perspectives on propose:

- Evaluation de l'effet antioxydant in vitro en utilisant d'autres techniques et d'autres extraits
- Evaluation de l'effet antioxydant in vivo
- Tester ces extraits sur d'autres souches bactériennes.
- Etudier d'autres activités biologiques à savoir l'activité anti-inflammatoire, anti-insecticide...etc.
- Caractérisation des composés actifs (CCM, HPLC).

Références bibliographiques

-A-

Allem M., Hamel T., Tahraoui C., Boulemtafes A., Bouslama Z., (2017). Diversité floristique des mares temporaires de la région d'Annaba (Nord-Est Algérien), ISSN: 0020-7233 (Print) 1029-0400 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/genv20>.

Adzet T., Passet J., (1972)., Chemotaxonomie du genre *Satureja-Calamintha*. *Rivista Italiana*, 54, 482 - 486.

Arras G., Usai M., (2001)., Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions.

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N., (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* 112: 303-309.

-B-

Ba K., Tine E., Destain J., Cissé N., Thonart P., (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*14(1), 131-139.

Baba Aissa F., (1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie, Ed. Librairie moderne-Ruiba .p P3, p5, P6, 109.

Bellakhdar J., (1978). Médecine traditionnelle et toxicologique Ouest Saharienne, contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Ed. Techniques Nord-africaines, Rabat.

Belmekki N., (2009). Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de *Saccocalyx satureio* ; des, *Salvia verbenaca* et *Teucrium polium* de la région Ouest d'Algérie. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Magister en Biologie. Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers.

Beloued A., (2001). Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des publications universitaires. pp.136, 196.

Bencheikh D., (2012). Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. And *Matricaria camomilla* L, Thèse de magister, université de Ferhat Abbas Sétif, P 55.

Botineau M., (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC& DOC, Lavoisier, Paris. P : 1021-1043.

Bougandoura N., (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha* ssp *nepta* (nabta) et *Ajugaiva* L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Thèse de magister en biologie. Laboratoire des Produits Naturels, Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen.pp. 52, 56, 62, 65.

Bougandoura N., Bendimrad N., (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques de *Satureja calamintha* ssp. *Nebeta* (L) Briq. Revue « Nature &Technologie » B-Sciences Agronomiques et biologiques, 9, 14-19.

Boullard B., (2001). Dictionnaire : plantes médicinales du monde. (Réalités et Croyances)Ed. ESTEM. pp.348.

Bourgaud F.,Milesi S.,Gravot A.,Gontier E., (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; *Plant Science* 161, p: 839-851.

Bray L., (2005). Phylogénie des Angiospermes. Consulter le 22/07/2012 sur : <http://www.botanique.org>

Bremness E., (2005). Plantes aromatiques et médicinales, ISBN:978-2-03-5 60405-7, P10.

Bruneton J., (1993). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Tec&Doc Lavoisier, (2^eEd), Paris, P212 p413, p416. p387, p395, p409.

Bruneton J., (2009).Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, Tec& Doc Lavoisier, (4eEd), Paris, P1292.

-C-

Cacace J.E., Mazza G., (2003). Optimization of Extraction of Anthocyanins from Black Currants with Aqueous Ethanol, journal of food science—Vol. 68 (1) ,P240-248.

Cantino P.D., Harley R.M., Wagstaffs J. (1992). Genera of Labiatae: Status and Classification. In R.M. Harley & T. Reynolds (Eds.), Avances in Labiatae Science. Kew: Royal Botanical Gardens, P : 511–522.

Carr G., (2004). Vascular plant family. Consulter le 25/05/2011 sur : <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/carr/pfamilies.htm>.

Chebli B., Achouri M., Idrissi Hassani M., Hmamouchi M., (2003). Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four postharvest citrus pathogens Phytopathol. Mediterr. 42, 251–256.

Chiang H., Lo Y., Lu F., (1994). Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophilaspinus* (Hook) Tryon. Journal of Enzyme inhibition, 8(1), 61–71.

Collin S., Crouzet J., (2011). Polyphénols et procédés. Lavoisier. p 6.

-D-

Daferera D. J., Ziogas B. N., Polissiou M. G., (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis*. Crop Protection, 22, 39 – 44.

Delille L., (2007). Les plantes médicinales d'Algérie, Berti, Alger P5, p13, P16, p18, P161-162.

Djahra A.B., (2014). Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat en science. Université Badji Mokhtar – Annaba.

Djahra A. B., Bordjiba O., Benkherara S., (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare* L.). Phytothérapie, 11, 348-352.

-E-

Escribano-Bailon M.T., Santos-Buelga C., (2003). Polyphenols Extraction from Foods. in: Methods in Polyphenol Analysis (eds.C. Santos-Buelga, G. Williamson). Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, pp. 1–16.

-G-

Guignard J.L., (1996). Biochimie Végétale. Ed Masson, Paris.

Guignard J.L., (1998). Abrégé botanique. 11^{ème} Edition Masson, Paris.

Guignard J.L., (2001). Botanique systématique moléculaire. Ed Masson, Paris

Guignard J. L., Dupont F. (2004). Botanique : Systématique moléculaire. 13^{ème} éd. Masson.pp. 237.

Gulluce M., Sokmen M., Daferera D., Agar G., Ozkan H., Kartal N., (2003). In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil, methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *J. Agri.Food. Chem.* 51: 3958–3965.

Gulluce M., Aslan A., Sokmen M., Sahin F., Adiguzel A., Agar G., Sokmen A., (2006). Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatiaglauca*, *Ramalinapollinaria*, *Ramalinapolyomorpha* and *Umbilicarianylanderiana*. *Phytomedicine.* 13: 515–521.

Gören, A.C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Wilkinson, J.M., Cavanagh Heather M.A., (2004). Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation thermal desorber and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural Product Research*,18, 189-195.

-H-

Hagerman A .et Butler L., (1978).Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins, *J. Agric. Food Chem.* 26 (4), pp 809–812.

Hannachi.A et Fenni M., (2013). Etude floristique et écologique des mauvaises herbes des cultures de la région de Batna (Algérie). REVUE AGRICULTURE U...., / Revue Agriculture. 05 (2013) 24 – 36.

Hopkins., (2003). Physiologie végétale, 2eme édition. Boeck p276-280.

-I-

Iserin P, Masson M, Restellini J.P. (2001); Encyclopédie des plantes médicinales ; Ed 2 : LAROUSSE ; p : 11,14.

-J-

Jain P. K.et Joshi H., (2012). Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile, Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (06); P236-240.

-K-

Kanyonga M.P., Faouzi M.Y.A., Zellou A., Cherrah Y.,(2011). Effects of methanolic extract of *Crataegus oxyacantha* on blood homeostasis in rat. J. Chem., Pharm., Res., 3: 713-717.

Kar A., (2007). Pharmacognosy and pharmacobiotechnologie, Ed 2: New Age International Publishers, P751.

Karagozler A.A., Erdag B., EmekY., Uygum D.A., (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. Food chemistry 111.400-407.

Khadraoui A., Hachama K., Khodja M., Khelifa A., Mehdaoui A., Harti H., Abid S., Agnieszka Najda B., Chahboun N., (2015). Extraction study and the antibacterial activity of phenol and flavonoid contents in *Mentha pulegium* L. from Algeria, 6 (9), 2501-2508.

-L-

Lee OK-H.,Lee B.Y.,(2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract, Bioresource Technology, V101, Issue 10, Pages 3751-3754.

Lemordant D., Boukef, K., Bensalem, M., (1977). Plantes utiles et toxiques de Tunisie. *Fitoterapia*, 48, 191 -214.

Lorenzi H., Matos F. J. A.,(2002). Plantas medicinais do Brasil : Nativas e exóticas cultivadas. *Instituto Plantarum*. pp. 512.

-M-

Macheix JJ ., Fleuriet A .,Jay-allemard C., (2005). les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique , 1^{ère} édition , presses polytechniques et universitaires romandes , ISBN 2-88074-625-6.

Maksimovic Z.; Malencić N.D., Kovacević N., (2004). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bio resource Technology*, 96 (8): 873-877.

MAKKAR H. P. S., Sidhuraju P., Becker K., (2007). Plant Secondary Metabolites, *Methods in Molecular Biology*, vol 393; Ed: HUMANA PRESS, P V.

Marotti, M., Piccaglia R., Giovanelli E., (1994). Effects of planting time and mineral fertilization on Peppermint (*Mentha piperita L.*) essential oil composition and its biological activity. *J. Flavour and Fragrance*, 9,125 – 129.

Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Zlatković, B., Ristić, M., Branković, S., (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of *Satureja hortensis L.* essential oil. *Cent. Eur. J. Biol.*, 4, 411-416.

Mkaddem M., Boussaid M.,Fadhel N., (2007). Variability of Volatiles in Tunisian *Mentha pulegium L.* (Lamiaceae). *J. Essent. Oil Res.*, 19, 211–214.

-N-

Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M., Ghorbani A.,(2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.

-O-

Othman A., Ismail A., Ghani AN., Adenan I., (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100, pp 1523–1530.

Ould el hadj M.D.,Mahammed M .H.,Zabeirou H.,Chehma A., (2003). Importance des plantes spontanées médicinales dans la pharmacopée traditionnelle de la région de ouargla (Sahara septentrional -Est algérien), *Sciences&Technologie C–N°20,*) , pp. 73-78.

Owen P.L., Johns T., (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of north eastern North American plant remedies used for gout. *J. Ethnopharmacol.* 64: 149-160.

-P-

Prieto P., Pineda M., Aguilar M., (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269 (2): 337–341.

-Q-

Quezel P., Santa S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, P : P781, 788-789.

-R-

Rajinder S., Shuchni M .A.M ., Belkheir A., (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* (L). *Arabian Journal of Chemistry*,8, 322-328.

Richter G., (1993). Métabolisme des végétales physiologies et biochimie. Presses polytechnique et universitaires romandes, Paris, p287, p296, p303, P 317, p322.

Rizk A. M., (1982). Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*, 52 (2): 35-42.

-S-

Sarni-Manchado P., Cheynier V., (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Tec& Doc.Ed Lavoisier. Paris.P: 2, 10

Satil F., Kurkcuoglu M., Baser KHC., Tumen G., (2005).In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some Satureja essential oils. *Flavour Fragrance J*;20:587–91.

Seladji M., Belmekki N., Bekhechi C., Bendimerad N., (2014). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of *Mentha rotundifolia* (L). from Algeria. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 40, 228-234.

Shan B., Cai Y.Z., Brooks J.D., Corke H., (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food Microbiology*, 117: 112-119.

Skoc̆ibus'ic' M.,Bezic' N., Dunkic V., (2006). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. *Food. Chem.*96: 20–28.

Sijelmassi A., (1991). Les plantes médicinales du Maroc. *2éme Ed. Le fennec.*

Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., (1995). Antimicrobial activity of mint essential oils. *J Agric. Food Chem.*, 43, 2384 - 2388.

-T-

Teixeira Duarte M. C., MaraFigueira G., Sartoratto A., Rehder V. L. G.,Delarmelina C., (2005). Anti- candida activity of Brazilian medicinal plants *.J. of Ethnopharmacology*, 97, 305-311.

Tiwari R., et Rana C.S., (2015). Plant secondary metabolites: a review, *International Journal of Engineering Research and General Science* Volume 3, Issue 5, P662.

Trease E., et Evans W.C., (1987). Pharmacognosie, Billiaire Tindall., Edition, London, pp61-62.

Treki A S.,Merghem R.,Dehimat L., (2009). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences et Technologie*, pp.25-29.

-V-

Vârban D I., Duda M., Vârban R., Muntean S., (2009). Research Concerning the Organic Technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. Bulletin UASVM Agriculture, 66,225-229.

-W-

Wilson M., (2010). Huiles essentielles *pour* la cuisine et le bien-être, ED : Fides, P23.

Willis R. et Allen P., (1988). Improved method for measuring hydrolysable tannins using potassium iodate. In. Alain P, Banga B .Environmental factors affecting the concentration of phenolic compounds in *Myrciamentosa* leaves. Analyst.P. 435-439.

Anonyme(2018) : www.google.com.

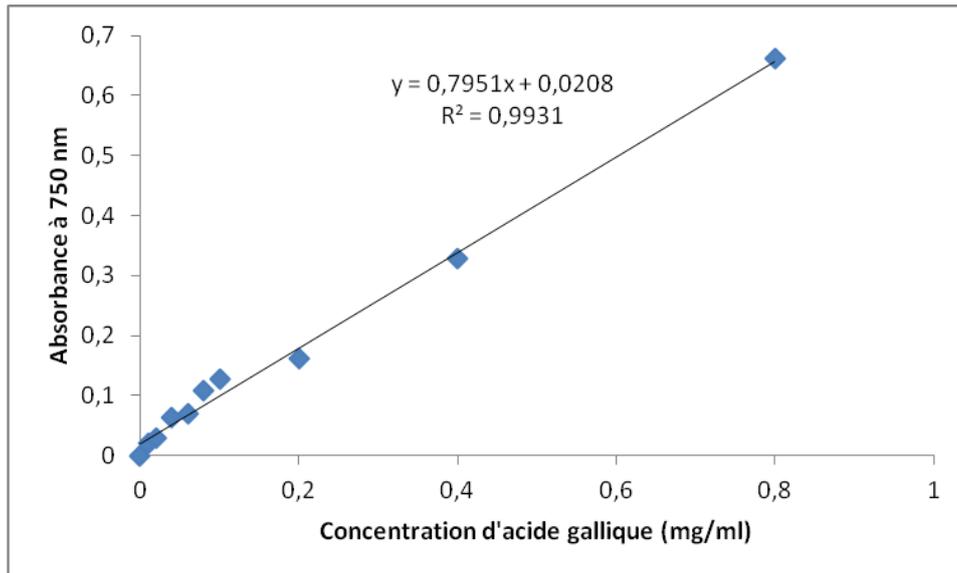


Figure1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

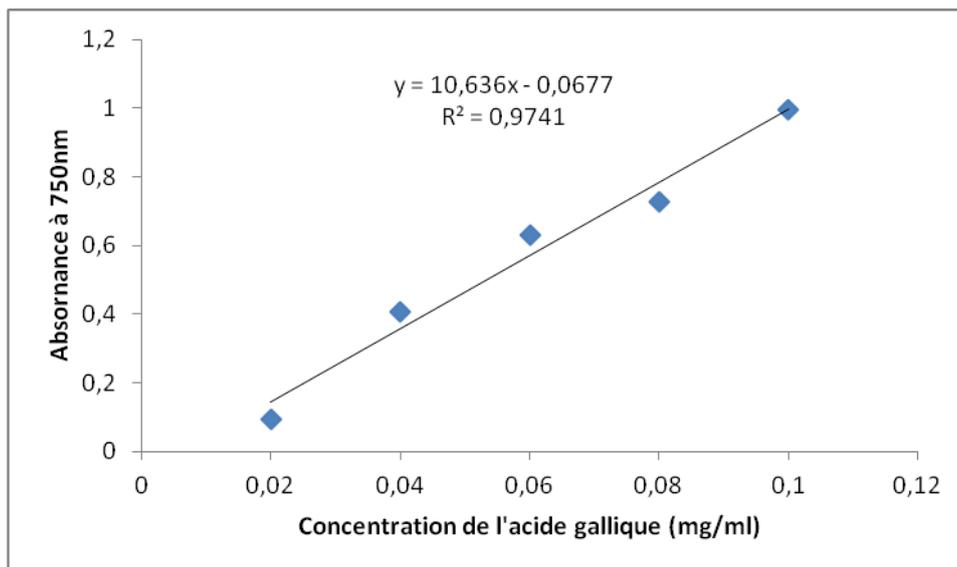


Figure2: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols polaires

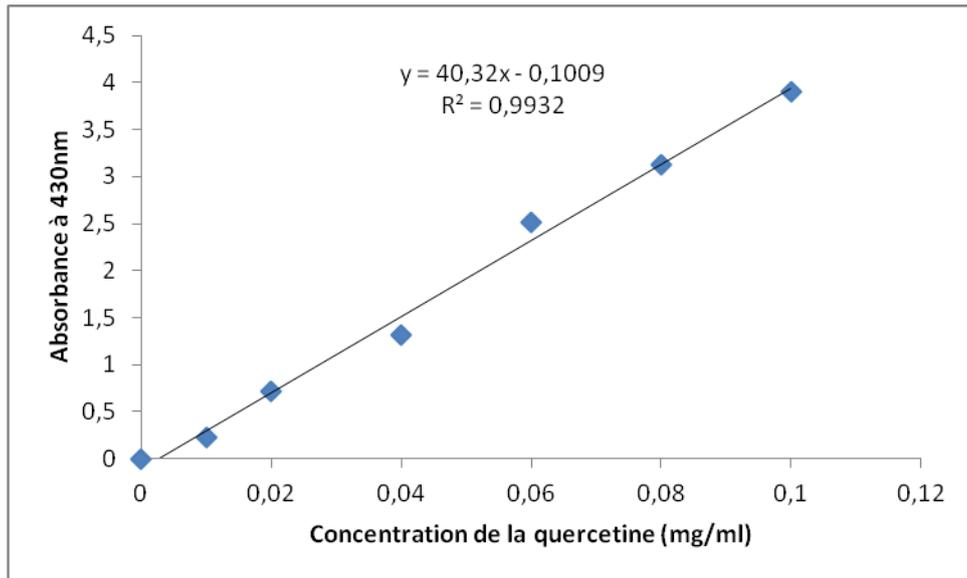


Figure3:Courbe d'étalonnage de la quercetine pour le dosage des flavonoïdes

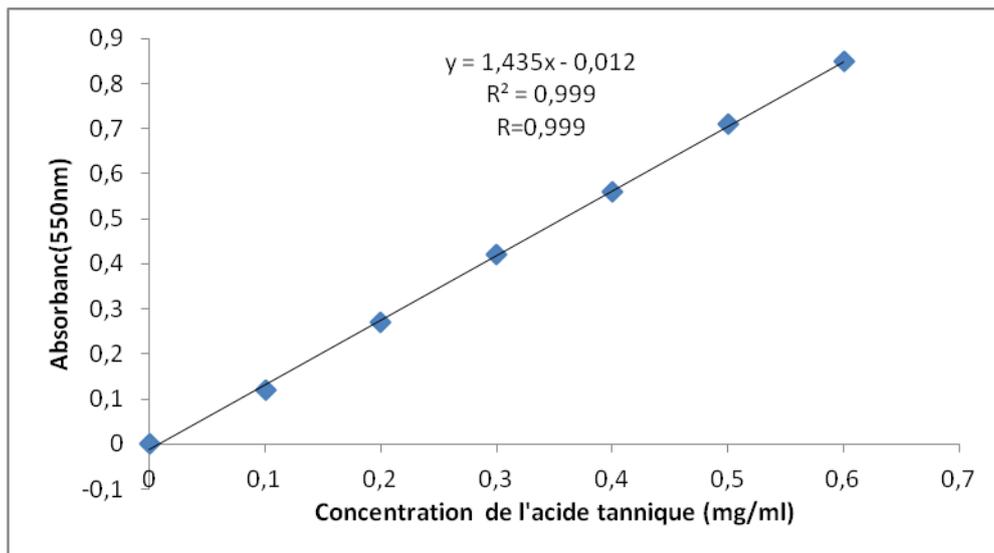


Figure4:Courbe d'étalonnage de l'acide tannique pour le dosage des tannins

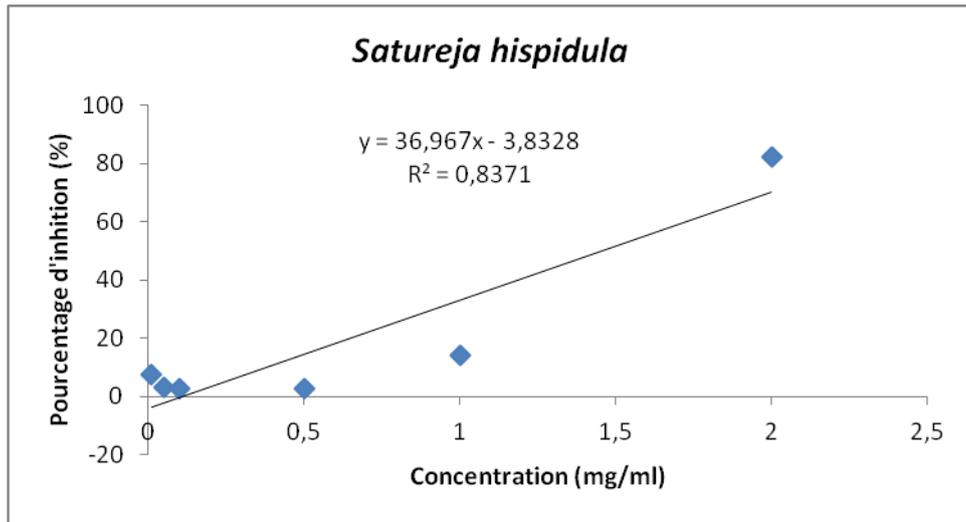


Figure5: Régression linéaire pour le calcul de l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique de *S. hispidula*

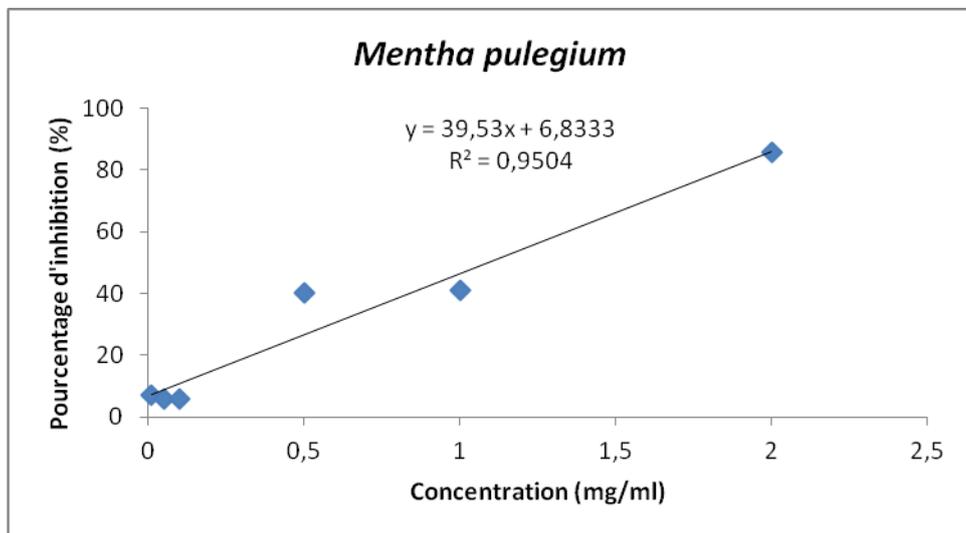


Figure6: Régression linéaire pour le calcul de l'IC₅₀ de l'extrait éthanolique de *M. pulegium*

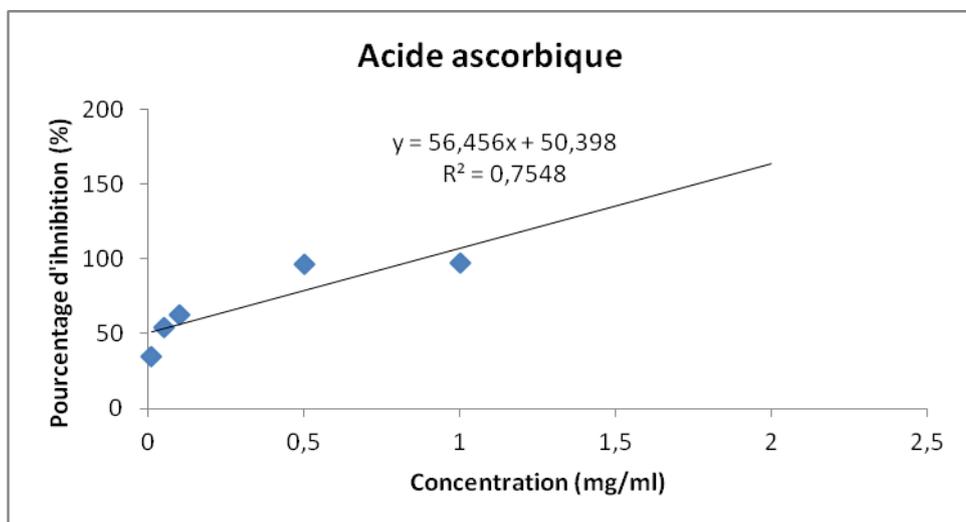


Figure7: Régression linéaire pour le calcul de l'IC₅₀ de l'acide ascorbique

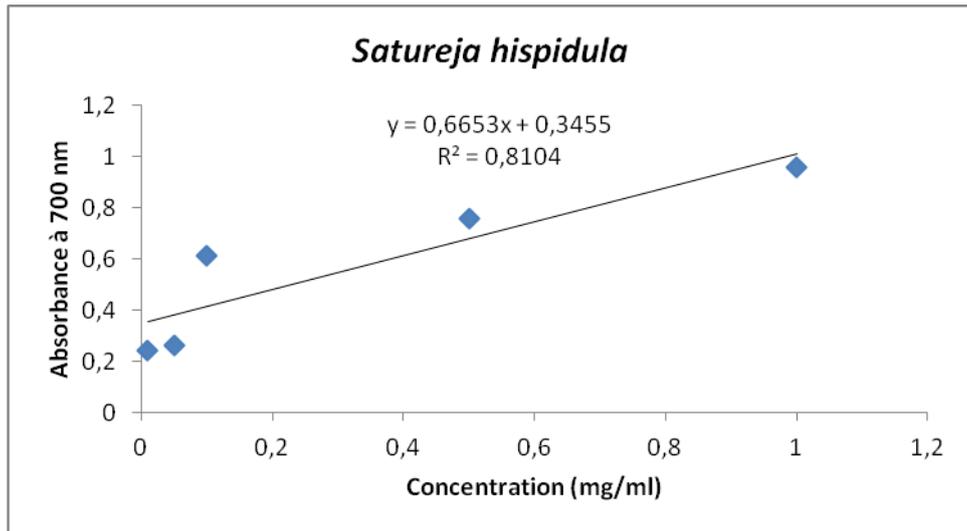


Figure8: Régression linéaire pour le calcul du $CR_{0,5}$ de l'extrait éthanolique de *S. hispidula*

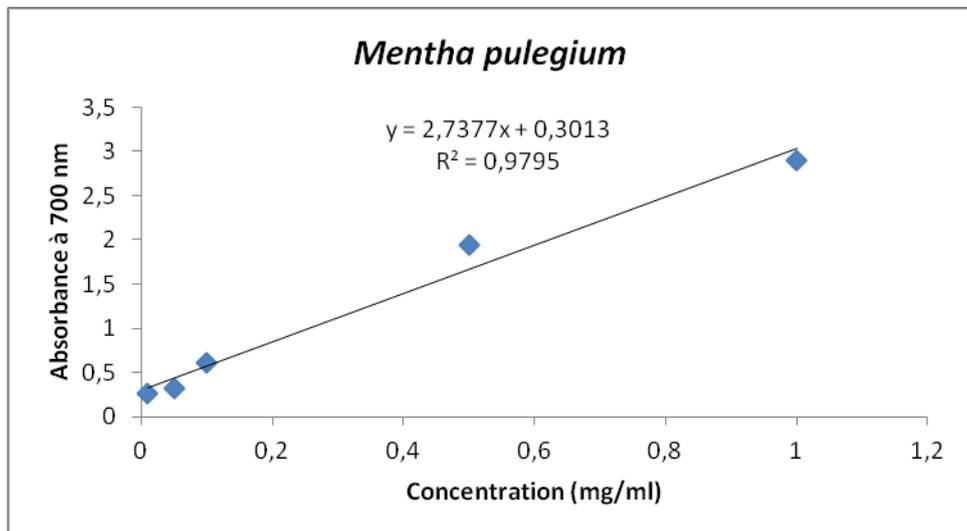


Figure9: Régression linéaire pour le calcul du $CR_{0,5}$ de l'extrait éthanolique de *M. pulegium*

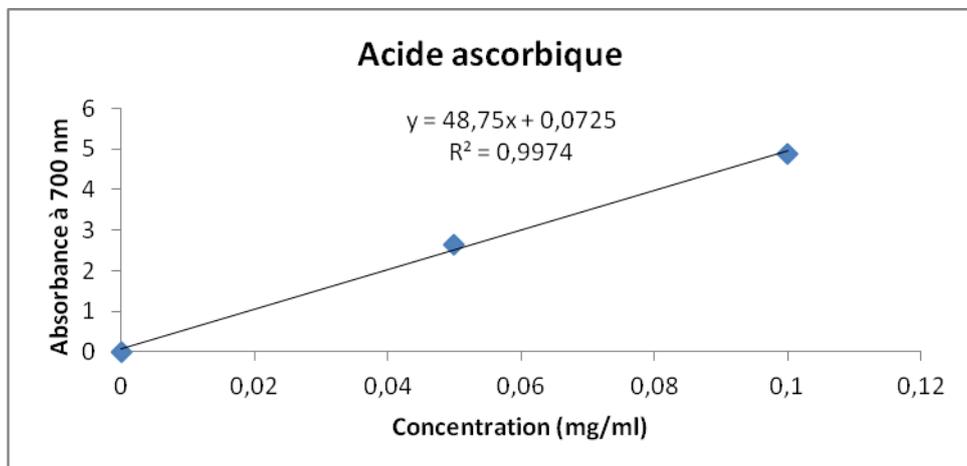


Figure10: Régression linéaire pour le calcul du $CR_{0,5}$ de l'acide ascorbique

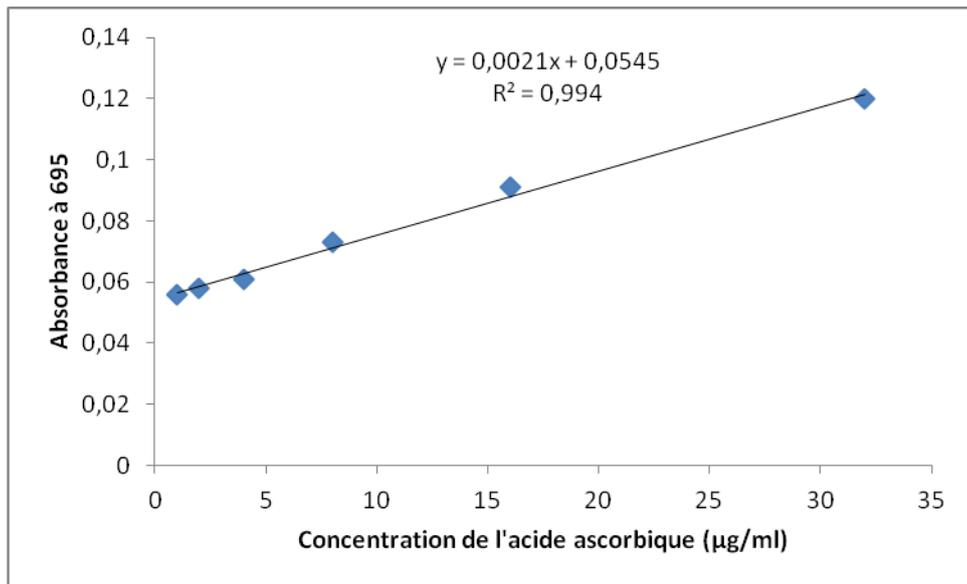


Figure 11: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la CAT

Thème

Constituants bioactifs et activités biologiques de *Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*

Réalisé par
Bouttine Iman

Jury de soutenance :
Présidente : M^{me} : Mekircha F.
Examinatrice : M^{me} : Bencharif N.
Encadrante : M^{me} : Benterrouche I.

Résumé

Dans le cadre de la découverte de nouvelles substances antioxydantes et antibactériennes à partir des sources naturelles, nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude des constituants bioactifs et l'évaluation de l'activité biologique de deux plantes aromatiques et médicinales (*Satureja hispidula* et *Mentha pulegium*). L'Activité antioxydante a été déterminée par 3 méthodes (pouvoir réducteur, test du DPPH et la capacité oxydatif totale) et l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en milieu gélosé testée vis-à-vis de quatre souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats obtenus indiquent des teneurs importantes en composés phénoliques qui varient en fonction des solvants d'extraction. Parmi ces solvants, l'éthanol est le plus recommandé dans ce type d'extraction. L'activité biologique trouvée est suffisamment importante pour permettre l'utilisation de ces plantes comme nouvelle source naturelle d'antioxydant et d'antibactérien dans divers domaines: en pharmacie, cosmétologie et industries agroalimentaires.

Mots clés : *Satureja hispidula*, *Mentha pulegium*, principes actifs, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

In the context of the discovery of new antioxidant and antibacterial substances from natural sources, we are interested in this work to the study of bioactive constituents and the evaluation of the biological activity of two aromatic and medicinal plants (*Satureja hispidula* and *Mentha pulegium*). The antioxidant activity was determined by 3 methods (reducing power, DPPH test and total oxidative capacity) and the antibacterial activity by the method of diffusion in agar medium tested against four strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* and *Pseudomonas aeruginosa*).

The results obtained indicate significant contents of phenolic compounds which vary according to the extraction solvents. Among these solvents, ethanol is the most recommended in this type of extraction. The biological activity found is important enough to allow the use of these plants as a new natural source of antioxidant and antibacterial in various fields: pharmacy, cosmetology and food industries.

Keywords: *Satureja hispidula*, *Mentha pulegium*, active substances, antioxidant activity, antibacterial activity.

ملخص

في إطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للأكسدة ومضاد للبكتيريا من مصادر طبيعية ، نحن مهتمون بهذا العمل لدراسة المكونات البيولوجية النشطة وتقييم النشاط البيولوجي لنبتتين عطريتين وطببتين (فليو و التورت) مع تحديد النشاط المضاد للأكسدة عن طريق ثلاث طرق (قوة الإرجاع، الاختبار DPPH وإجمالي الطاقة الإنتاجية للأكسدة) والنشاط المضاد للبكتيريا لأربع سلالات (الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية ، ضمة الكوليرا و الزانفة الزنجارية).

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى محتويات هامة للمركبات الفينولية التي تختلف باختلاف مذيبات الاستخلاص. من بين هذه المذيبات ، يعتبر الإيثانول هو الأكثر موصى به في هذا النوع من الاستخلاص. النشاط البيولوجي وجدت كبيرة بما فيه الكفاية للسماح باستخدام هذه النباتات من مضادات الأكسدة الطبيعية الجديدة ومصدر للبكتيريا في مجالات مثل الأدوية ومستحضرات التجميل والصناعات الغذائية.

الكلمات الرئيسية: *Satureja hispidula* ، *Mentha pulegium* ، المكونات النشطة ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد

للبيكتيريا.