



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire N série :.....
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

Caractérisation phytochimique du Genre *Origanum* et leur bioactivités

Présenté par

M^{elle} BERNAOUI Yazza

M^{elle} LOUETRI Khadidja

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{elle} RAMDANE F M.C.B Université d'El OUED

Examinatrice : M^{me} BOUTELIS S M.A.A Université d'El OUED

Encadreuse : M^{me} CHENNA A M.A.A Université d'El OUED

-Année universitaire: 2017/2018-

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents, qu'ils
trouvent ici toute ma
gratitude pour leur soutien tout au long de
mes études

A mes sœurs et mes frères .

A tous mes collègues et amies

Yazza , Khadidja

Remerciements

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

Nos plus vifs remerciements vont d'abord à notre directrice de mémoire madame CHENNA Adala maître assistante A au Département de Biologie , Université Echahid Hamma Lakhdar-El-Oued pour avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir proposé ce sujet de mémoire . Merci pour sa gentillesse, sa patience, ses précieux conseils et la totale confiance qu'elle nous a accordé.

Nos sincères remerciements vont également aux membres de jury de notre mémoire pour avoir bien voulu accepter de juger ce travail : M^{elle} RAMDANE Farah, maitre de conférence B au département de Biochimie , Université Echahid Hamma Lakhdar et Mme BOUTELIS Safia , maitre assistante A au département de Biochimie, Université Echahid Hamma Lakhdar. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect .

Notre remercie infiniment à Monsieur le docteur DEROUICHE Samir pour son aide très important et sa contribution au cours de la réalisation de ce travail .

Nos très spéciaux remerciements reviennent à Mme KADRI Mounira et Mr CHAMSA Ahmed Al khalifa et Mr KHELEF Yahya Maîtres assistants à l'Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued , pour les conseils et les remarques critiques qui nous ont été bénéfiques pour la réalisation de ce travail .

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus profonds à CHENNA Djihad microbiologiste dans le laboratoire EL Madjid , qui a fait preuve d'une grande disponibilité et de sa gentillesse et son égard , et surtout de son aide et ses conseils sans faille.

Nous tenons à remercier le directeur de laboratoire de contrôle de qualité et de la répression des fraudes pour sa participation à la réalisation des analyses antibactériennes des deux huiles étudiées , et madame le docteur KHELEF Asma directrice de laboratoire Al Mordjane des analyses médicales et microbiologiques qui nous a accueilli au sein de son laboratoire et nous a aidé ainsi à maitriser le matériel microbiologique .

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel du laboratoire de biochimie et de microbiologie :Houssam , Abdel Basset , Bouchra , Salma , Ibrahim pour leurs disponibilités et les nombreux services qu'ils nous ont rendu durant la réalisation de ce travail .

Merci à tous nos amis : Leila , Sabrine , Sara , Fadila , Sabrine , Nadia , Aicha , Belkacem et Abdelkarim , pour leurs soutien , leurs mots encourageants , pour leurs amitié sincère .

Toutes nos salutations à tous nos collègues de la promotion de mastèr Biochimie 2018. Enfin , nous adressons nos plus sincères remerciements à toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail .

Résumé

Les Objectifs de notre étude sont déterminer la composition chimique et évaluer l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne des huiles essentielles extraites de la partie aérienne d'*Origanum majorana* L collecté de la région d'El Oued et d'*Origanum vulgare* collecté de Tizi-ouzou. L'extraction des HEs a été réalisée par hydrodistillation. La composition chimique de l'huiles essentielles a été analysée par GC/MS, l'huile d'*Origanum majorana* est : Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl) bis (22,22%), Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene (10,74%), Silane, allyl(bornyloxy)methylphenyl (10,00%), (-)-Caryophyllene-(I1) (7,27%), Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro (5,34%), Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis[d (3,43%), et Naphthalene, 1,1'-(1,2-ethanediyl)bis[d (3,02%) ; l'HE d'*Origanum vulgare* contient Phénol, 2-méthyl-5-(1-méthylethyl) (65,17%) comme principale constituant.

L'étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles a été effectuée par la méthode de DPPH, les résultats des HEs de d'*Origanum majorana* L et d'*Origanum vulgare* ont montré une faible activité antioxydant avec $IC_{50} = 6800 \mu\text{g/ml}$ et $IC_{50} = 1300 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* des HE a été réalisée par la méthode de la stabilisation de la membrane des érythrocytes humaine (HRBC), à la concentration 18,47 et 74 mg/ml l'HE d'*Origanum majorana* ont une activité anti-inflammatoire très hautement significatives par rapport au témoin (diclofénac 50 mg/ml) avec un pourcentage de stabilisation HRBC $35.60\% \pm 21.9$, $39.34\% \pm 6.69$ et $40.56\% \pm 7.27$ respectivement, d'autre part à la concentration 41,55,138 mg/ml l'HE d'*Origanum vulgare* possède une activité anti-inflammatoire significative par rapport au témoin avec un pourcentage de stabilisation HRBC de $2.63 \pm 2.40\%$, $5.34 \pm 1.32\%$ et $6.02 \pm 0.52\%$ respectivement.

L'activité antibactérienne des HEs d'*Origanum majorana* L et d'*Origanum vulgare*, soit seule avec des dilution ou en synergie vis-à-vis de six souches bactériennes pathogènes (*E. coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Klebsiella pneumonia* ATCC, *Salmonella enteric* ATCC, *Bacillus cereus* ATCC et *Enterococcus faecalis* ATCC). Cette activité a été réalisée par la méthode de puits, les résultats obtenus montre que l'HE de deux plantes du genre *Origanum* attribué des activités importantes.

Mots clés : Huiles essentielles .*Origanum majorana* .*Origanum vulgare* . Activité anti-inflammatoire, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

الهدف من دراستنا هو تحديد المركبات الكيميائية و تقييم النشاط المضادة للالتهاب، النشاط المضادة للأكسدة، وكذلك النشاط المضادة للبكتيريا للزيت الطيارة المستخلص من الجزء الهوائى لنبات المردوقوش (*Origanum majorana* L) و الزعر الكاذب (*Origanum vulgare*) و تيزوزو على التوالي. و الزيت الطيارة بالتقطير و تحليل مركباته الكيميائية بواسطة GC/MS و الكيمائية الكيميائية Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene (10.74%), Silane , allyl(bornyloxy)methylphenyl (10,00%), (-)-Caryophyllene-(I1) (7,27%) , Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro (5,34%) , Naphthalene, 1,1'-(1,10 decanediyl)bis[d(3,43%), et Naphthalene, 1,1'-(1,2-ethanediyl)bis[d(3,02%) و زيت المردوقوش فهو يحتوي على 2-méthyl-5-(1-methylethyl) 65.17% Phénol.

النشاطية المضادة للأكسدة للزيت الطيار *Origanum majorana* L و *Origanum vulgare* طريقة DPPH ، بينت أن الزيت الطيار لكل من المردوقوش و الزعر الكاذب يملك نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة تقدر $IC_{50} = 1300 \mu g/ml$ و $IC_{50} = 6800 \mu g/ml$.

النشاط المضادة للالتهاب طريقة استقرار غشاء كريات الدم الحمراء للإنسان (HRBC) و التراكيز 74 mg/ml و 47 و 18 و 41, 55, 138 mg/ml و عند التراكيز 40.56%±7.27 et 35.60%±21.9 , 39.34%±6.69 : مع النسبة المئوية لاستقرار غشاء كريات الدم الحمراء تقدر : 2.63±2.40% 5.34±1.32% et 6.02±0.52% : نشاطية المضادة للالتهاب (ديكلوفناك) مع نسبة مئوية لاستقرار غشاء كريات الدم الحمراء تقدر :

التي المضادة للبكتيريا للزيت و للمردوقوش و الزعر الكاذب مع مختلف التراكيز *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* (أخرى) *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis* .

الكلمات المفتاحية : الزيت الطيار. المردوقوش. الزعر الكاذب . نشاطية مضادة للبكتيريا. نشاطية مضادة للالتهاب . نشاطية مضادة للبكتيريا.

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	La distribution du genre <i>Origanum</i> dans le monde	06
Figure 02	Présentation d' <i>Origanum majorana</i> L	07
Figure 03	Présentation <i>Origanum vulgare</i>	08
Figure 04	Les different structures sécrétrices	11
Figure 05	Structure chimique de l'isoprène	12
Figure 06	Les différent classes des constituants des huiles essentielles	13
Figure 07	Les dérivés phénoliques	14
Figure 08	Biosynthèse des terpènes à partir d'IPP	15
Figure 09	Présentation d' <i>Origanum majorana</i> (A) et d' <i>Origanum vulgare</i>	21
Figure 10	Localisation des régions d'études	21
Figure 11	Situation géographique des station de récolte	22
Figure 12	Le procédure d'extraction des huiles essentielles par l'appareil de cleverger	24
Figure 13	Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH)	26
Figure 14	Protocole de stabilisation membranaire des érythrocytaires humains	27
Figure15	Histogramme du rendement des huiles essentielles d' <i>O. majorana</i> et d' <i>O . vulgare</i>	31
Figure 16	Chromatogramme de l'huile essentielle d' <i>Origanum majorana</i>	34
Figure 17	Chromatogramme de l'huile essentielle d' <i>O .vulgare</i>	35
Figure 18	Histogramme de l' effet des HEs d' <i>O.majorana</i> sur la stabilisation des globules rouges induit par solution hypotonique et chaleur	40

Figure 19	Histogramme de l'effet des HEs d' <i>O.vulgare</i> sur la stabilisation des globules rouges induit par solution hypotonique et chaleur	40
Figure 20	Histogramme de l'effets antibactériennes des HEs d' <i>O.majorana</i> vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes	42
Figure 21	Histogramme de l'effets antibactériennes des HEs d' <i>Origanum vulgare</i> vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes	43
Figure 22	Histogramme de l'effets antibactériennes de synergie entre les deux espèces du genre <i>Origanum</i> vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes	44

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Localisation des huiles essentielles dans les organes de la plante	11
Tableau 02	Les souches bactériennes utilisées	28
Tableau 03	Transcription des diamètres d'inhibition	29
Tableau 04	Criblage phytochimique d' <i>O. majorana</i> et <i>O. vulgare</i>	30
Tableau 05	Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles	30
Tableau 06	Caractéristiques physiques des huiles essentielles d' <i>Origanum vulgare</i> et de l' <i>Origanum majorana</i>	31
Tableau 07	Activité antioxydant des huiles essentielles d' <i>Origanum majorana</i> et <i>Origanum vulgare</i>	37
Tableau 08	L'Effet des HEs d' <i>O.majorana</i> et de l' <i>O.vulgare</i> sur la stabilisation des globules rouges induit par solution hypotonique et chaleur	39
Tableau 09	Effets antibactériennes des HE d' <i>O.majorana</i> vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes .	42
Tableau 10	Effets antibactériennes des HE d' <i>O.vulgare</i> vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes	43
Tableau 11	Effets antibactériens de synergie entre HEs d' <i>O.majorana</i> et <i>O.vulgare</i>	44

ABREVIATIONS

BSA : Albumine de sérum bovin

C° : Degré Celsius

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

R : Rendement

ATCC : American Type Culture Collection

CG: Chromatographie gazeuse

Cm : Centimètre

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

Fe²⁺: Fer ferreux

Fe³⁺: Fer ferrique

FeCl₃: Chlorure de fer

g : Gramme

GEN : Gentamicine

Gram⁺ : gram positive

Gram⁻ : gram négative

MH:Mueller Hinton

GN : Gélose nutritive

m : Masse en grammes

tr/min : Tour/minute

AFNOR : Association Française de Normalisation

RMN : Résonance magnétique nucléaire

IR : Infra rouge

HE : Huile Essentielle

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %

IPP : Isopentenyl pyrophosphate

m : Mètre

mg/ml : milligramme/millilitre

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mn: Minute

mole/l : Mole par litre

N: Normal

NaOH: Hydroxyde de sodium

NH₄OH: Ammoniac

T° : Température

Tr : Temps de retention

UFC : Unité formant colonie

µg : Microgramme

µl : Microlitre

OMS : Organisation mondiale de la santé

OM : *Origanum majorana*

OV : *Origanum vulgare*

INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale

HRBC : Méthode de la stabilisation de la membrane des érythrocytes humaine

% : Pourcentage

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
résumés	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01

PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Genre *Origanum*.....04

I. Description botanique de la famille lamiacée04

II. Genre *Origanum*.....04

II.1. Nomenclature.....04

II.2. Position systématique05

II.3. Présentation botanique et géographique du genre *Origanum*.....05

II.3. 1. Présentation botanique05

II.3.2. Répartition géographique de genre *Origanum*06

Chapitre II : Huiles essentielles.....10

I. Huiles essentielles.....10

I.1. Définitions.....10

I.2. Répartition systématique (Les structures sécrétrices).....10

I.3. Localisation dans la plante.....10

I.4. Composition chimique des huiles essentielles.....11

II. Chémotype14

III. Biosynthèse des huiles essentielles.....	14
IV. Caractéristiques des huiles essentielles.....	16
IV.1. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	16
V. Toxicité des huiles essentielles	16
VI. Les procédés d'extraction.....	17
VII. Méthodes d'identification des huiles essentielles.....	18
VIII. Rôle des huiles essentielles.....	19
IX. Activités biologiques des huiles essentielles.....	20

PARTIE II :PARTIE PRATIQUE

Chapitre I: les matériels et les méthodes.....	21
I. Matériel.....	21
I.1.Matériel végétal	21
II. Méthodes.....	22
II.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux.....	22
II.2. Screening phytochimique	22
II.3. Extraction des huiles essentielles.....	23
II.3.1.Caractéristiques des huiles essentielles.....	24
II.3.1.3) Identification des composées par GC/MS.....	25
III. Activités biologiques.....	25
III.1. Activité antioxydante.....	25
III.2. Activité Anti-inflammatoire	27
III.3. Activité antibactérienne.....	27
IV) Analyse statistique des résultats.....	29

Chapitre II : Résultats et discussions	30
I.1.Screening phytochimique.....	31
I.2. Extraction des huiles essentielles.....	32
II. Identification des composées par GC/MS.....	32
II.2. Identification des composées majeurs des huiles d' <i>Origanum majorana</i>	32
II.3. Identification des composées majeurs des huiles essentielles d' <i>Origanum vulgare</i>	33
III. Bioactivités de genre <i>Origanum</i>	34
III.1. Activité antioxydante des huiles essentielles.....	34
III.2. Effet des huiles essentielles d' <i>Origanum majorana</i> et d' <i>O.vulgare</i> sur la..... stabilisation de la membrane des érythrocytes.....	34
III.3. Activité antibactérienne	37
Conclusion générale.....	48
Références bibliographiques.....	50
Annexes	61

Introduction général

Un grand nombre des plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent des application dans divers domaines tels que les industries pharmaceutiques , la médecine .Ces plantes représentent une nouvelle sources de composés actifs . En effet , les métabolismes secondaires font l'objet de nombreuses recherches in vivo et in vitro , notamment la recherche de nouveaux constituant naturels tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles (HAZZIT et *al* 2015) .

Les huiles essentielles (HEs) extraites des plantes aromatiques qui constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives (OUELHADJ et *al* 2017) . Elles possèdent des propriétés antimicrobiennes , antioxydantes, anti-inflammatoires , antiprolifératrices et anticancéreuses (BOUYAHYA et al ,2016) .

Au cours de ces dernières années , nous assistons à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels . C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale (BOUHADDOUDA ., 2016).

Aujourd'hui , la modernité facilite et améliore notre niveau et moyen de vie ; malgré elle a des aspects négatifs sur notre santé , tel que l'absence d'un environnement sain par la assiduité des radiation , des rayons ultraviolets , des xénobiotiques , sont les principaux fournisseurs de radicaux libre (PELISSIER., 2012) . Peuvent être absorbés de différentes façons (voie cutanée , orale , pulmonaire...) et distribués dans différents tissus de manière active ou passive . Des différences existent selon la nature de la barrière à franchir (peau , poumon , paroi intestinale...) (GRONEMEYER ., 2004)

En faisant apparaitre des molécules biologiques anormales et la surexpression de certains gènes , le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer , syndrome de détresse respiratoire aigüe , œdèmes , vieillissement accéléré ,néanmoins les médicaments et les compléments alimentaires synthétisés ; comme les antioxydants synthétique largement utilisés , et suspectés à long terme a des effets tétragènes , mutagènes) (LAIB., BARKAT., 2011) .

L'automédication des antibiotiques qui est présumée responsable de la fréquence élevée des résistances bactériennes (OMS., 1993). Ce n'est pas la première fois que les antibiotiques , déjà responsables de l'apparition de bactéries résistantes , sont suspectés d'affecter la flore intestinale . L'INSERM avait déjà établi "que des antibiothérapies répétées

pourraient induire une évolution progressive et définitive du microbiote, potentiellement délétère BURCELIN et *al* (2016) et différents effets indésirables (néphrotoxiques, ototoxiques peuvent provoquer des allergies cutanées, hépatotoxicité, photosensibilisation, troubles neurologiques...etc). Pour échapper à ces graves conséquences de la modernité, on a un grand trésor, des plantes aromatiques et médicinales possédant des propriétés biologiques très intéressantes, sans effets indésirables (avec précaution et posologie prescrite) (HAZZIT et *al.*, 2015)

Les plantes aromatiques constituent une source potentielle de molécules naturelles bioactives (OUELHADJ et *al.*, 2017), tel que l'huile essentielle est utilisée en aromathérapie par différentes voies tel que la voie externe : massage, inhalation, des préparations galéniques, auprès de la voie interne, traitement de nombreuses maladies infectieuses avec des préparations pharmaceutiques. Les chercheurs sont intéressés au pouvoir antimicrobien (CHOUITAH., 2012), antifongique, anti-inflammatoire, Le pouvoir antioxydant, antiprolifératrice et anticancéreuse (BOUYAHYA et *al.*, 2016)etc.

En phytothérapie et en aromathérapie, les huiles essentielles sont utilisées dans le traitement de nombreuses maladies infectieuses et sont aussi utilisées dans les préparations pharmaceutiques. L'effet antimicrobien marqué de certaines essences sur le développement des micro-organismes a été démontré. Les chercheurs se sont intéressés à tester le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques sur les bactéries, les levures et les moisissures (CHOUITAH., 2012).

Les plantes aromatiques sont largement répandues dans la nature, l'Algérie a une richesse floristique renferme d'un ensemble d'espèces importantes et variées. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier deux espèces de genre *Origanum* : *O. majorana* cultivées dans la région d'El-Oued et *O. vulgare* plante spontanée a été récoltée à la région de Tizi-Ouzou.

Les objectifs de notre étude sont déterminer la composition chimique et évaluation de l'activité antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne des huiles essentielles extraites à la partie aérienne d'*Origanum majorana* L et d'*Origanum vulgare* cultivées dans la région d'El Oued et Tizi-Ouzou respectivement. Est-ce que les principes actifs d'origine végétale peuvent remplacer les médicaments synthétisés et les compléments alimentaires ?

Dans le cadre de cette étude, on a subdivisé notre travail en deux parties. La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en deux chapitres.

Le premier chapitre est consacré à l'étude de genre *Origanum* . Suivi par un deuxième chapitre sur les huiles essentielles . Dans la seconde partie nous avons décrit en détail le matériel végétal , screening phytochimique , puis l'extraction des huiles essentielles et enfin , l'étude de leurs bioactivités . Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés . Le travail est accompli par une conclusion générale .

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre I

Genre *Origanum*

I. Description botanique de la famille lamiacée

L'ordre des Lamiales est un ensemble important comprenant actuellement 17.800 espèces réparties en 21 familles ; l'une des principales est celle des Lamiacées , anciennement appelée Labiées (BELMONT., 2013) , est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes , d'arbustes et d'arbres (DJAHRA., 2014) . Elle est contient énormément importantes plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle et moderne et dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, le Romarin, le Thym, l'Origan et la Sauge, ce sont les plantes plus populaires dans les remèdes traditionnels (NIETO., 2017) .

Les feuilles de cette famille sont opposées décussées , simples , parfois composées (SPICHIGER et al ., 2004) , leur tige est carrée , certaines espèces sont dressées , d'autres couchées portant des feuilles opposées ou verticillées (LABIOD., 2016) , **Les inflorescences** formées par de faux verticilles axillaires ou glomérules proviennent de la réunion de 2 cymes bipares (CAILLAUD. ,2013). **les fleurs** typiquement zygomorphe à deux lèvres , plus rarement à un lèvre , parfois à symétrique radiaire (MARTIN ., 2014) , sont mauves relativement petites , la longueur de 5 à10 mm (AGYAKWA et al ., 2014) , **les fruits** sont un tétrakènes (AYAIDIA., 2011) .

II. Genre *Origanum*

D'une point de vue taxonomique , le genre *Origanum* a été complètement remanié par J. H. Ietswaart en 1980 qui divisé en 3 groupes , 10 sections , regroupant au total 38 espèces : avec 6 sous-espèces et une autre avec 3 variétés et 17 hybrides naturels (ALLARD., 2015) . La classification de Ietswaart basé sur les caractères morphologie (longueur de la tige , nombre des branches , forme des feuilles) (CAILLAUD ., 2013) .

II.1. Nomenclature

L'*Origanum* vient de deux mots grecs , "*oros*" qui veut dire montagne et "*ganos*" qui signifie éclat ; ce mot signifierait "ornement des montagnes" (BOUHADDODA ., 2016) , le terme française apparaît au XIII siècle , les «Oregano» européens (*Origanum* sp) et mexicains (*Lippia* sp) , Le nom «Oregano» est communément utilisé à travers le monde pour définir un arôme et une saveur épicés (SIMONNET et al., 2011) .

II.2. Position systématique

La classification taxonomique d'après Deysson1967(FIGUEREDO .,2007)

Embranchement : Spermaphytes
Sous-embranchement : Angiospermes
Classe : Dicotylédones
Sous-classe : Gamopétales
Série : Superovariées tétracycliques
Super ordre : Tubiflorales
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Sous-famille : Népétoïdées
Genre : *Origanum*

II.3. Présentation botanique et géographique du genre *Origanum*

II.3. 1. Présentation botanique

L'*Origanum* est une plante herbacée vivace (AIBOUD., 2012) , leur **tiges** sont plus basses , généralement ligneuse , on trouve plusieurs tiges dressées , de section quadrangulaire ou ramifié , ces tiges peut persister l'hiver à l'état sec (CAILLAUD ., 2013) .

Ils portent des branches latérales sur le quart ou la moitié supérieure,de longueur très variable de 10 à 60 cm , la plupart des tiges portent des poils , au moins à la base dans toutes les espèces , les poils sont simples (PADULOSI., 1997) .

Les Feuilles sont simples , opposées , ovales portent des poils glandulaires ou non sur leur surface (EL BRAHIMI., 2014) , elles portent des poches sécrétrices sessiles ou pédonculées , ces glandes sécrétrices sont aussi présentes sur tiges , bractées , calices et corolles (CHICKOUNE., 2007) .

Les inflorescences sont portées par chacune des tiges et chacune des branches ; l'aspect en panicule sera fonction du nombre de branches , les bractées sont arrondies , ovales ou lancéolées , les plus petites ressemblent à des feuilles , les plus grandes sont fines et membraneuses , souvent pourpres ou de couleur jaune-vert(FIGUEREDO ., 2007) .

II.3.2. Répartition géographique de genre *Origanum*

II.3.2.1. Dans le monde

Le genre *Origanum* sont largement répandues dans les régions euro-sibérienne et irano-sibérienne (BEKHECHI et al., 2008) . Elles sont principalement distribués sur le pourtour du bassin méditerranéen, dont près de 80 % exclusivement présents dans l'Est méditerranéen (SIMONNET., 2011) . la plupart sont originaires ou limitées à l'est partie de la zone méditerranéenne , Europe , Asie et Nord Afrique (HUSSAIN et al., 2010). est principalement réparti en Turquie , en Grèce et au Moyen Orient (EL BRAHIMI., 2014) .

Les espèces appartenant à ce genre font partie des plus importantes nous pouvons citer *O. vulgare* (*Origan commun*, ou *Marjolaine sauvage*) , *O. Compactum* (*Origan compact*) , *O. majorana* (*marjolaine* ou *Origan des jardins*) , *O. dictamnus*, *O. onites* , *O. heracleoticum* et *O. syriacum* (ALLARD ., 2015) .

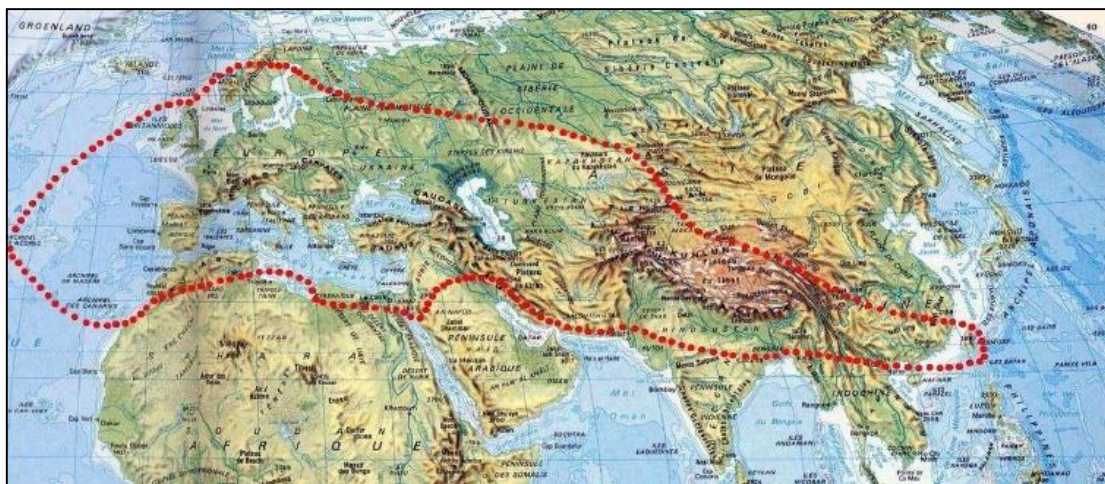


Figure 01 : La Distribution du genre *Origanum* dans le monde (ZENASNI., 2014)

II.3.2.2. Distribution géographique du genre *Origanum* en l'Algérie

Le genre *Origanum* est une plante répandue en Algérie (CHIKHOUNE., 2007) , elle est représentée par trois espèces spontanée phylogénétiquement proche *Origanum majorana* et *Origanum vulgare ssp glandulosum Desf* endémique algérotunisienne et *Origanum floribundum* endémique algérienne (DAOUDI-MERBAH., 2013) .

II .3.2.2.1. *Origanum majorana* L (*O. majoranoides* , *Majorana hortensis*)

Le nom vernaculaire: Mardkouch , *Marjolaine vraie* , Marjoram (*Majorana hortensis* Moench) , *Marjolaine douce* est une plante pousse en Europe du Sud, l'Afrique du Nord et la Turquie (FATHY et al., 2009) , est une arbuste sensible au froid (DIPALI et al., 2016) , a une odeur pénétrante et agréable à saveur chaude et aromatique (CHACHA ., MAYOU., 2015) .

❖ Description botanique de l'*Origanum majorana* L

Selon la Pharmacopée française 2016 « *Origanum majorana* L est une plante vivace , ligneuse à la base , pubescente , atteignant environ 30 cm , la tige présente une section quadrangulaire , dressée , ramifiée , de coloration rougeâtre » (CHACHA.,MAYOU., 2015) .

Les fleurs a couleur blanche , des feuilles ovales et duveteuses (AGRIMER .,2012) , elles sont simples , opposées , pétiolées , allongées , à bords lisses , mesurant environ 2 cm de long sur 1 cm de large , inflorescences en épis globuleux, axillaires et terminaux(PHARMACOPEE FRANÇAISE ., 2016) .



Figure 02 : Présentation d'*Origanum majorana* L (SCHAAL ., 2010)

❖ Composition chimique d'*Origanum majorana* L

L'*Origanum majorana* contient des coumarines , flavonoïdes , sucre , tannins , stéroïdes et L'huile essentielle (SANJU et al., 2016) .

❖ Composition chimique de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* L

Particulièrement à des caractères organoleptique spécifiques : un aspect liquide, limpide, une couleur jaune pâle a foncé (KAHOULI., 2010) . Odeur très aromatique, saveur chaude , qui renferme des hydrocarbures terpéniques et de la terpinéol (PARI , MOYSE ., 1971) . Principalement ils contient des acides , des hydrocarbones , des phénols glycosides , des terpénoïdes phénoliques des composés actifs sont : Esters terpéniques , monoterpénols(DIPALI et al., 2016) .

Les principaux constituants sont cariophyllène , p-cymène , sabinène , linalol , linalyl acétate , terpinène , eucalyptol , menthone , linonène , myrcène et myrtenal (HILAN et al., 2011) . Les espèces montrent une grande , divers chémotypes de marjolaine , un terpinen-4-ol / sabinène riche en hydrates et riche en thymol / carvacrol (FATHY et al., 2009) .

❖ Utilisation de l'huile essentielle de l'*Origanum majorana*

La marjolaine possède des vertus stomachiques , tonique , calmante , diurétique , et expectorante , elle a des propriétés stimulantes et antispasmodique sédatrice et utilisée pour troubles digestifs (GUERRA-BOONE et *al.* , 2015) , soulage les flatulences et les problèmes respiratoires (PAUL., 2001) . Elle est connue aussi pour ses propriétés anaphrodisiaques , antiseptique , antitoxique, (KAHOULI ., 2010) . Elle est utilisée comme médicament antiasthmatique et antiparalytique , il a également été utilisé pour traiter le cancer (CHISHTI ., 2013) . Le rhume et la rhinite ; utilisée contre les crampes , la dépression , maux de tête (FATHY et *al.*, 2009) , et crampes , vertiges (BRESSAN WALLER et *al.* , 2016) .

II .3.2.2.2. l'*Origanum vulgare*

Est une plante aromatique odorante , qui appartient à la famille des Lamiacées , (DE FALCO., 2013) , elle pousse spontanément dans le nord de l'Afrique ; elle est endémique en Algérie et en Tunisie en particulier dans les montagnes , a une altitude de 300 à 1600 m , surtout dans les endroits rocheux (BEKHECHI et *al.*, 2008) . Très commune dans les endroits secs et ensoleillés tels que le Tell , elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude , principalement sur les substrats calcaires (BOUHADDOUDA., 2016) .

❖ Description botanique de l'*Origanum vulgare*

C'est une arbuste vivace qui pousse dans les montagnes de la Méditerranée (COCCIMIGLIO et *al.*, 2016) , a tige dressée rameuse , arrondies , rougeâtres , de 20 à 80 cm de haut . Les feuilles sont ovales , entières . Les inflorescences terminales comportent des bractées rouges ou violacées entourant les fleurs pourpres ou blanches (PARI ., MOYSE ., 1971) . La corolle a une lèvre inférieure qui est bien plus longue que la lèvre supérieure (BOUCHIKHI., 2011) . À un calice tubuleux à 5 dents égales . Il y a 4 étamines saillantes dont les anthères sont pourpres (BEKHECHI., 2008) , le fruit est un tétrakène , lisse , brun , de 1 mm de long (GOETZ ., 2012) .



Figure 03 : Présentation *Origanum vulgare* (HALLIL ., 2017)

❖ Composition chimique d' *Origanum vulgare*

L'*Origanum vulgare* comportent les flavonoïdes , les terpènes , les tanins catéchiques , les anthocyanes et les saponosides (BOUHADDOUDA., 2016) .

❖ Composition de l'huile essentielle de l' *Origanum vulgare*

Leur huile essentielle est caractérisée par un pourcentage élevé de composés monoterpéniques hydrocarbonés et oxygénés (BOUHADDOUDA., 2016) , qui renferme des acides phénoliques , Thymol , carvacrol , p-cymene et γ -terpinène (LAUSEUR ., 2017) , la composition chimique varie largement en fonction du chimiotype ainsi qu'en fonction de la période de récolte , le plus souvent ; la carvacrol est majoritaire et accompagne de γ -terpinene , p-cymene , myrcene , limonene , ocimene , caryophyllene , s-bisabolene , germacrene , α -pinene , camphene , α -terpinen , α -phellandrene (GOETZ ., 2012) .

❖ Utilisation de l'huile essentielle de l' *Origanum vulgare*

L'*Origanum vulgare* est considérée essentiellement comme une plante médicinale pour traiter des maladies sévères (BOUCHIKHI., 2011) , l'huile essentielle de cette plante possède une activité antioxydant considérable , due à la présence des composés phénoliques , cette plante est connue pour ses qualités médicinales , il est utilisée contre la coqueluche , la fièvre et la bronchite (BEKHECHI., 2008) . anti- rhumatismes , toux , rhume et troubles digestifs (MECHERGUI et *al.*, 2015) . En effet, est utilisée comme bactéricide , sédatif , antispasmodique , antiseptique des voies respiratoires (ALLANE., 2009) , apéritif , stomachique , expectorant , parasiticide et antalgique , des épices (utilisation alimentaire) (SAIMI ., 2014) .

Chapitre II

Huiles essentielles

I. Huiles Essentielles

I.1. Définitions

L'huile essentielle est un liquide hydrophobe (AYAIDIA., 2011), un mélange de substances aromatiques présentes sous forme de minuscules gouttelette (AISSANI., 2015), odorants, volatils et qu'on obtient par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques (BOUHADDOUDA., 2016), sont des substances de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides (JOUAULT., 2012).

Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965) « les huiles essentielles (essences = huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (ZENASNI., 2014).

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme: «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (DAHMANE., 2011).

Issus de différentes voies de biosynthèse au métabolisme secondaires de la plante, un moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes (monoterpènes, sesquiterpènes,...) (AYAIDIA., 2011).

I.2. Répartition systématique (les structures sécrétrices)

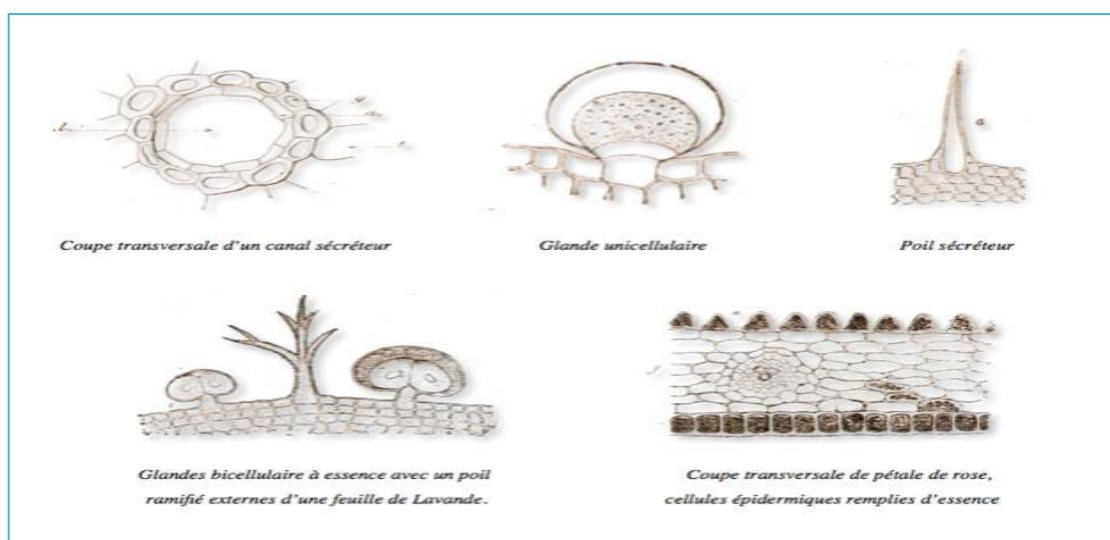
Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles (DJAHRA., 2010). Il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles (HENI., 2016). Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue les Lamiacées (Thym, Menthe, Lavande, Origan), les Apiacées (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre), les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus) et les Lauracées (Camphrier, Laurier-sauce, Cannelle) (BOUHADDOUDA., 2016).

I.3. Localisation dans la plante

Les huiles essentielles peuvent exister à la fois dans différents organes à la même plante, où la composition chimique peut varier d'un organe à un autre. Ces huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante aromatique (BOUCHIKHI TANI., 2011).

Tableau 01: Localisation des huiles essentielles dans les organes de la plante

L'organe	Genre	L'espèce	Référence
Racine	Vétiver	<i>Vetiveria zizanioides Stapf</i>	YAGOUBI.,2017
Rhizome	Gingembre	<i>Zingiber officinalis Roscoe</i>	
Ecorce	Cannelier	<i>Cinnamomum zeylanicum Blume</i>	
Bois	Camphrier	<i>Cinnamomum camphora Sieb</i>	SAMATE .,2002
Tige	Romarin	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	YAGOUBI.,2017
Feuille	Menthe	<i>Mentha piperita L</i>	SAMATE .,2002
Aiguille	Pin	<i>Pinus sylvestris L</i>	
Fleur	Giroflier	<i>Syzygium aromaticum L</i>	
Graines	Muscadier	<i>Myristicafragrans Houtt</i>	
Fruit	Bigaradier	<i>Citrus aurantium L.</i>	

**Figure 04 :** Les différents structures sécrétrices (HENI ., 2016)

I.4. Composition chimique des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles est très variée. Elles peuvent contenir un nombre très élevé de molécules différentes , caractérisées par leurs fonctions chimiques (ALLARD ., 2015) . Qui appartiennent de façon quasi exclusive , à deux groupe caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les groupe des terpénoïdes , d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (DJAHRA ., 2010) .

- **Les terpénoïdes**

Sont largement rencontrés dans les huiles essentielles , ce sont des hydrocarbures naturels , de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte ; formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthyl buta-1,3-diène (molécule de base) ou appelé encore l'isoprène (ZENASNI., 2014) .

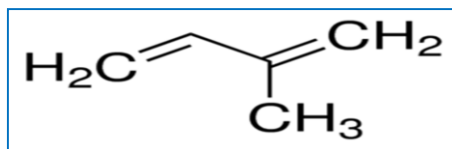


Figure 05 : Structure chimique de l'isoprène(BOUHADDOUDA., 2016)

On distingue selon le nombre de carbone les constituants des molécules de ces groupe , les terpènes simples ou monoterpènes , formés de deux isoprènes $C_{10}H_{16}$ sont une classe de terpènes à 10 atomes de carbone , représentent la majorité des constituants des huiles essentielles . Ils peuvent être acyclique , monocyclique ou bicyclique . A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique : Alcools , Aldéhydes , Cétones , Esters , Peroxydes (LABIOD., 2016).

- **Les monoterpènes acycliques :** Le géranyl pyrophosphate (GPP) , est le précurseur de cette catégorie de monoterpènes (BAYALA.,2014; ZENASNI., 2014).
- **Les monoterpènes monocycliques :** Ces composés sont formés à partir du géranyl pyrophosphate (GPP) , on distingue 4 groupes de composés aromatiques dans cette catégorie (TOUREDAOUDA.,2015) ,les hydrocarbures en $C_{10}H_{16}$ (D-limonène) , les hydrocarbures en $C_{10}H_{18}$ (les terpinéols) , Les hydrocarbures en $C_{10}H_{20}$: Les menthanes (hydrocarboné saturés) n'existent pas à l'état naturel , mais on trouve leurs dérivés alcool et cétone dérivés alcool et Les hydrocarbures en $C_{10}H_{20}$ contenant un oxyde (le cinéole) (AYAIDIA., 2011) .
- **Les monoterpènes bicycliques :** La plupart de ces monoterpènes font partie des familles pinane , bornane ou thujane(AYAIDIA., 2011 ;ZENASNI., 2014) **Les sesquiterpènes :** Formés de trois isoprènes , Ils comportent trois unités d'isoprène , leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demi la molécule de monoterpène , ils peuvent être acycliques (farnésol) , monocycliques (humulène) ou polycycliques (matricine) (BOUHADDOUDA ., 2016) .

- **Les diterpènes** : Formés de quatre isoprènes , sont Composés terpéniques à 20 carbones , On retrouve parmi les dérivés de diterpènes le tocophérol (vitamine E) et de la phylloquinone (vitamine K1) (LOGRADA ., 2010) .
- **Les triterpènes**(six isoprènes) : qui forme par oxydation , conduisent à de nombreuses résines . Comprennent des substances importants sur le plan biologique tels que stérol , saponines , hormones stéroïdes , acides galliques et vitamine D (DJAHRA., 2010) .
- **Les tétraterpènes** (huit isoprènes) : Comportent en particulier les caroténoïdes dont un pigment photosynthétique majeur (le beta-carotène) mais également des pigments aux propriétés anti-oxydantes comme le lycopène de la tomate (LOGRADA., 2010) .
- **Les polyterpènes**(n isoprènes) : qui comprennent en particulier , le caoutchouc (BAYALA., 2014) .

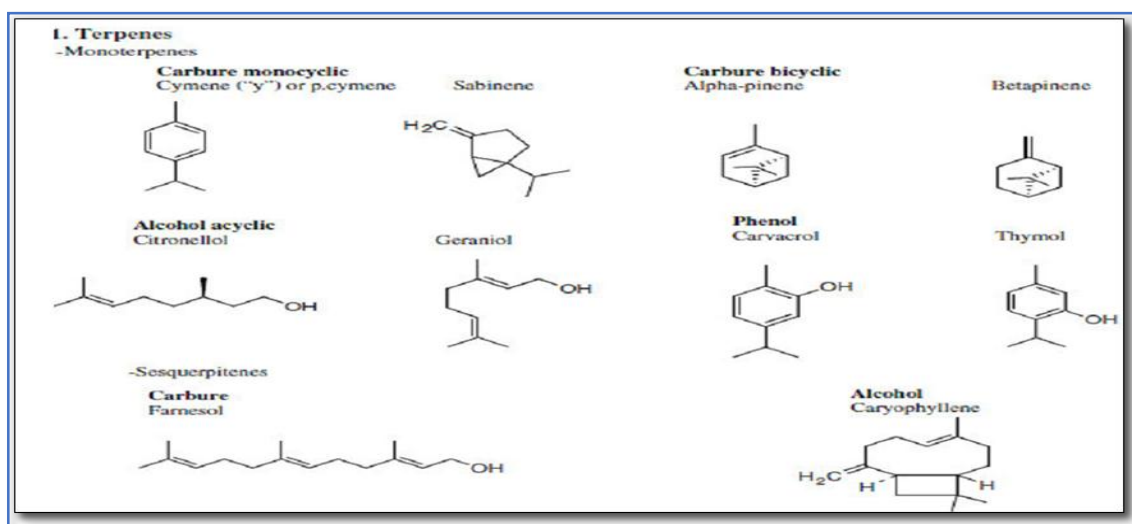


Figure 06: Les différent classes des constituants des huiles essentielles

(TOURE DAOUDA ., 2015)

- **Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les terpènes (AYAIDIA., 2011) . Ces composés aromatiques empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes et ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles , cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline , thymol , l'eugénol , l'anéthole , l'estragole (ZENASNI., 2014) .

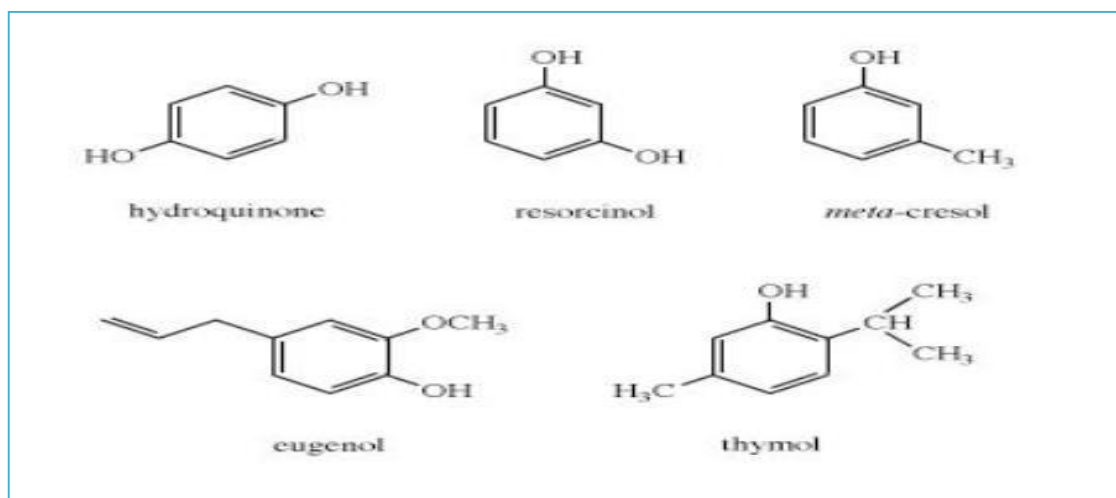


Figure 07 : Les dérivés phénoliques (HENI ., 2016)

II. Chémotype

Le chémotype ou (chimiotype) est la dénomination originale destinée à caractériser une huile essentielle d'un point de vue botanique et biochimique (HILAN.,2011) . La composition d'une même huile essentielle peu varier considérablement en fonction de sa provenance géographique , de la nature des sols , de l'ensoleillement (ALLARD ., 2015) , l'exposition des végétaux à des facteurs phytosociologiques et la période de récolte (LABIOD ., 2016) . Le chémotype est l'essence produite par deux plantes de la même espèce , malgré leur génotype et leur morphologie très semblables , pourra présenter de grandes variations de composition chimique (POIROT., 2016) .

III. Biosynthèse des huiles essentielles

III.1. Biosynthèse des terpènes

Tous les composés de ce groupe prennent naissance à partir d'unités isoprène (RHOURRI-FRIH ., 2009) , les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène . (KANOUN ., 2010) . Elle débute par l'enchaînement de trois chaînes acétyle (sous forme d'acétylCoA) dans l'acide B-hydroxy B-méthyl glutarique (sous forme d'acétylCoA) qui réduction, aboutit à la libération d'acide mévalonique celui-ci , une fois activé , subit une déshydratations interne et une décarboxylation pour donner le pyrophosphate d'isopentenyle , qui peut isomériser en pyrophosphate de diméthyl (DJAHRA., 2010) , la condensation de ces molécules aboutit à la formation de prényltransférases pour donner le GPP (géranyl diphosphate) , le FPP (farnésyl

diphosphate) et le GGPP (géranylgeranyl diphosphate), précurseurs des monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes, respectivement (ZENASNI., 2014). Deux molécules de pyrophosphate de farnésyle peuvent se lier pour former un triterpène, à partir des squalène se formeront, d'une part les stéroïdes, et d'autre part les triterpènes cycliques (DJAHRA., 2010).

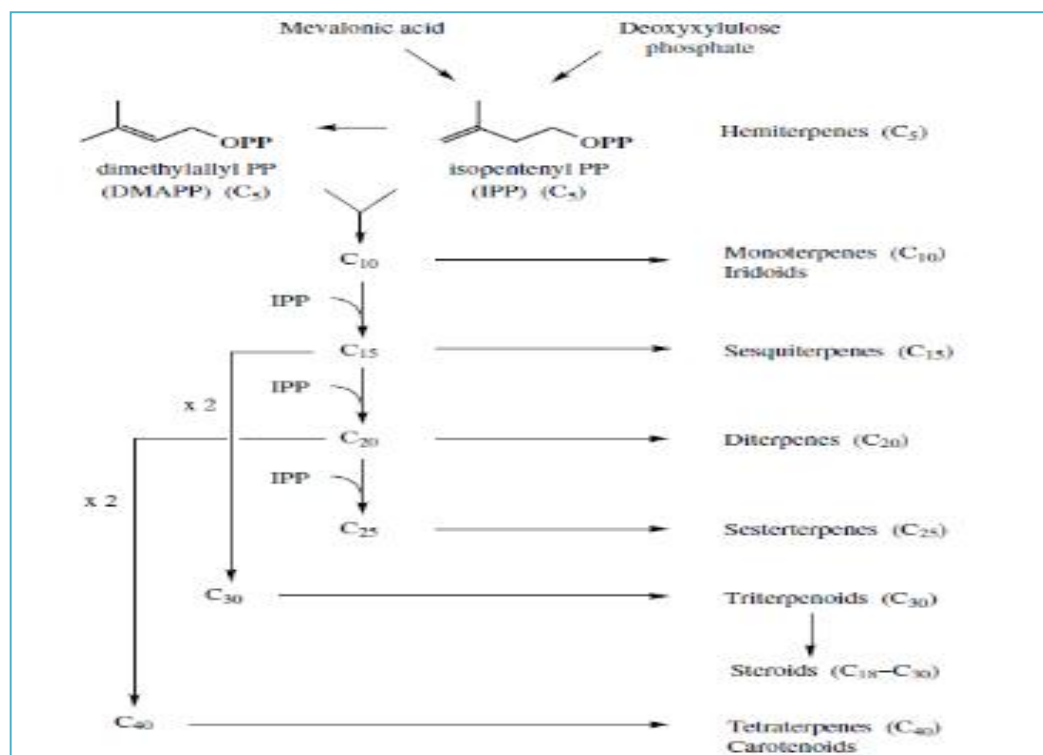


Figure 08 : Biosynthèse des terpènes à partir d'IPP (ATTOU., 2011)

III.2. Biosynthèse des dérivés du phénylpropane (Les composés aromatiques)

Les phénylpropanes sont synthétisés à partir du phénylalanine, ils détiennent leur nom des six carbones aromatique phénol et des 3 carbones propènes produits lors de la première étape de la biosynthèse des phénylpropanoïdes. Ils représentent un petit pourcentage au sein des HEs, ceux qui ont été les plus étudiés sont l'eugénol, iso-eugénol et vanille (HENI., 2016).

IV. Caractéristiques des huiles essentielles

IV.1. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Ils doivent répondre à des critères physiques imposés par le norme AFNOR :

- **La densité** est en général inférieure à celle de l'eau (de 0.850 à 0.950) , Cependant , il existe des exceptions telles que l'huile essentielle de cannelle et de girofle dont la densité est comprise entre 1.025-1.070 et 1.044-1.057, respectivement .
- **Le point d'ébullition** varie de 160° à 240° C .
- **La Solubilité**, sont solubles dans les alcools , dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques .
- **L'indice de réfraction** est assez élevé , par exemple : coriandre : 1.4620-1.4700 (CHICKOUNE., 2007; SAIDJ., 2007; LABIOD ., 2016) .

IV.2. Propriétés organoleptiques

- **l'odeur** est un sens chimique très sensible et des l'habilité des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parvient à dossier les produits naturels.
- **La couleur** La coloration d'une huile dépend des produits qui la constituent.
- **l'aspect** physique d'une essence végétale change selon les produits qui la constituent, cette essence peut apparaître sous forme solide , liquide , ou semi-solide (AHMED ABD EL MALEK ., YAGOUBI., 2017) .

V. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent des milliers de composants elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses (KESBI ., 2011) . Alors que il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage et la durée ainsi que le mode d'application interne ou externe est nocive (OUI., 2015) . À partir de la peau, la toxicité touche différentes système physiologique du corps varie entre aiguë et chronique chez les animaux .

Les HEs d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 50g/Kg . En ce qui concerne la Sarriette et l'Origan . La toxicité est un peu plus élevée autour de 1,4g/Kg (observés chez l'animal) (HENI., 2016) . Les effets toxiques sont très variables d'une huile essentielle à l'autre et dépendent beaucoup de la sensibilité des consommateurs (LABIOD ., 2016) .

Les HEs de Thym et de Lavande sont cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois , par ailleurs les HEs d'Origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaine dérivées de cancer (HENI., 2016) .

VI. Les procédés d'extraction

VI.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction , le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable (CHICKOUNE ., 2007) . Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées . L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (AISSANI ., 2015) .

VI.2. Extraction par enfleurage

Les organes fragiles (fleurs d'orange , pétales de rose) sont mis en contact à la température ambiante avec un corps gras qui se sature en essence au bout de quelques jours , la pommade obtenue est épuisée par l'alcool absolu , l'alcool est ensuite évaporé sous vide (DJAHRA ., 2010) .

VI.3. Extraction par expression à froid

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux agrumes ,le principe de la méthode est très simple ; les « zestes » sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé physique (DELERME et *al.*, 2008) .

VI.4. Extraction par les solvants organique volatils

Les solvants les plus utilisés sont des carbures aliphatiques (pentane, hexane) ou des carbures aromatiques (benzène) . On opère le plus souvent à la température ordinaire , c'est méthode en plus utilisée dans l'industrie des parfums (DJAHRA ., 2010) .

VI.5. Extraction par hydro-distillation

C'est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles . La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon , le tout est ensuite porté à l'ébullition . Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité. (BOUHADDOUDA ., 2016) .

VI.6. Extraction par hydro-diffusion

Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau + huile essentielle » dispersé dans la matière végétale . Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau (AYAIDIA., 2011) .

VI.7. Extraction par CO₂ super critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux (SUTOUR ., 2010) . Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal , après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (AYAIDIA ., 2011) .

VI.8. L'extraction par micro-ondes

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes , le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé (HENI ., 2016) . Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante , libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant . On filtre et on récupère ensuite l'extrait(BOUHADDOUDA ., 2016) .

VII. Méthodes d'identification des huiles essentielles

Les méthodes d'identification des molécules présentes dans les huiles essentielles sont précises , rapides et fiables (FIGUEREDO., 2007) , sont normalisées dans la Pharmacopée européenne V^{ème} édition , ainsi que dans les normes AFNOR NF T 75-400 et 401 , équivalent ISO 7359 et 7609 (JOUAULT.,2012) . Elles concernent l'identification qualitative et quantitative des différents constituants d'une huile essentielle . On peut utiliser les méthodes suivantes : CPG,CG/SM, RMN, FT-IR(AYAIDIA., 2011) .

VII.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

Est une méthode de référence à l'analyse des huiles essentielles ; elle permet l'analyse de mélanges, qui peuvent être très complexes, de nature volatil très variées (CHIKHI ., 2014) . Elle consiste à injecter le mélange complexe diluée dans un solvant (non retenu par la phase stationnaire) dans une colonne (HENI ., 2016) . les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification (LABIOD ., 2016) .

VII.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG). C'est la technique la plus utilisée, car elle permet de réaliser une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile. Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (BOUHADDOUDA., 2016)

VII.3. Analyse par RMN du carbone-13

La RMN du carbone-13 est utilisée pour confirmer l'identification, réalisée en général par CPG-SM des constituants des mélanges complexes; la plupart des études continuent à utiliser la RMN comme méthode de confirmation plutôt que méthode d'identification (SUTOUR., 2010) est basée sur l'étude du spectre de RMN du carbone-13 du mélange, sans séparation préalable pour l'identification et parfois pour la quantification des principaux constituants de mélanges naturels (BEKHECHI., 2008).

VIII. Rôle des huiles essentielles

VIII.1. Rôle physiologique

Les huiles essentielles auraient un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. elles réguleraient la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs constituants insaturés (LOGRADA., 2010). Ils conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques et pour repousser ou attirer les insectes (favoriser la pollinisation) (BOUHADDOUDA., 2016).

VIII.2. En l'industrie

Pour leur saveur et odeur utilisé en l'industrie des produits qui donnent aux condiments (poivre, gingembre, ...) et aux aromates (menthe, anis,...) De même la vanille sert à aromatiser les biscuits, les chocolats, les glaces (LABIOD., 2016) Par ailleurs, le pouvoir antioxydant de certaines essences permet la conservation des aliments en évitant les moisissures (KEBSI., 2011), ils rentrent dans la fabrication des savons de toilette, des aérosols, des lotions désodorisantes, les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle(AISSANI., 2015)

VIII.3. En pharmacie

Les HEs sont anti-catarrhales contre l'inflammation des muqueuses se traduisant par une hypersécrétion(NOUIOUA., 2012), ils ont effet irritant et anesthésiant utilisé contre les douleurs rhumatismales(ATTOU.,2011). Ont propriétés antiseptiques pour les poumons et les reins ou comme bain de bouche, dépuratives, cicatrisante et faire action stimulante sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication(LABIOD., 2016) et action sur le système

nerveux central , en exerçant des effets sédatif ou narcotique , relaxant et déstressant(ATTOU., 2011) .

IX. Activités biologiques des huiles essentielles

IX.1. Activité antioxydant

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire . Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (LAIB., 2011) .

IX.2. Activité antibactérienne

L'action des HEs sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaires des bactéries en perturbant les systèmes de transport ionique ; le transport des électrons et la production de l'énergie . Le mode d'actions de HE dépend du type de microorganisme (SAIMI ., 2014) . En général bactérie GRAM⁻ sont plus résistantes que les GRAM⁺ grâce à la structure de leur membrane interne (OUI ., 2015) .

IX.3. Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des HEs des plantes aromatiques contre les moisissures allergisantes et contre les champignons pathogènes et opportunistes tel que *Candida albicans* (SAIMI ., 2014) .

IX.4. Activité antivirale

Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des HEs tel que les monoterpénols et les monoterpénals(SAIMI ., 2014) . De nombreuses pathologies virales sévères traitées avec des HEs (ZENASNI ., 2014) .

IX.5. Activité anti-tumorale

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers . L'huile essentielle de *Nigella sativa* L démontre une activité cytotoxique contre différents lignées tumorales (TOURE., 2015) . ainsi que l'huile essentielle de *Myrica gale* exerce un effet inhibiteur sur la croissance des cellules cancéreuses des poumons , et du colon. (LEMAOUI., 2011) .

Deuxième partie

Partie expérimental

Chapitre I

Matériels et méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel végétal

Les deux espèces végétales utilisés dans cette pratique appartenant à la famille des Lamiacées sont *Origanum majorana* et *Origanum vulgare*. Les parties aériennes ont été récoltées au mois de juillet 2017 à région Guemar wilaya d'El-Oued, la wilaya Tizi-Ouzou respectivement. Les plantes ont été collectées et séchées à température ambiante. L'identification botanique des plantes a été réalisée par les botanistes de la direction des affaires agricoles EL-Oued (DAA) : AIT-YAHYA Souad et CHOUIYA Abdel Ouahed.



Figure 09 : Présentation d'*Origanum majorana* (A) et d'*Origanum vulgare* (B)(photo original, 2018)

❖ Situation géographique

Notre zone d'étude se constitue englobant deux wilayas ; Wilaya d'El Oued est située au Sud- Est algérien du grand Erg oriental (Fig. 10) avec une superficie de 35706 km² avec une altitude moyenne de 60 m (BEN DOYEM., 2015), la ville de Tizi-Ouzou occupe une surface de 102,36 km², est situé à environ de 100 km d'Alger (SBARGOUD., 2009).



Figure 10 : Localisation des régions des études(RHD-NJM)

❖ Climat des zones d'étude

Le climat d'El-Oued est caractérisé par une aridité extrême (climat hyperaride). L'hyper aridité et la chaleur sont ses caractères essentiels (BOULIFA., 2012). La température de Tizi-Ouzou augmente d'une façon significative au mois de Janvier au mois d'Aout, par la suite il y a diminution jusqu'au mois de janvier. La région de Tizi-Ouzou présente un régime pluvial de type HPAE (Hiver, Printemps, Automne et Eté), la saison la plus humide est l'Hiver avec 42,81% des

précipitations moyennes annuelles soit 321,88 mm, la quantité de pluie reçue en Automne et au printemps (SBARGOUD.,2009) .



Figure 11 : Situation géographique des zones d'étude « Guemar El Oued » (A) et « Tizi-Ouzou » (B) (Google Maps) .

II. Méthodes

II.1. Méthode de préparation de l'extrait aqueux

Dans un ballon monocol , surmonté d'un réfrigérant, 30 g de matériel végétal est mis en présence de 180 ml d'eau . L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait aqueux est soumis aux tests screening chimique (LABIOD., 2016)

II.2. Screening phytochimique

L'extrait aqueux préparés pour faire quelques tests phytochimique à fin de détecter la présence ou l'absence de certaines familles chimiques. Pour cela nous avons réalisé sur nos extraits préparés de la plante en milieu aqueux par des techniques de caractérisation qualitatives (HADJMOUSSA., 2012)

❖ Les flavonoïdes

A 5 ml de chaque extrait , on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium . La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (HADJMOUSSA., 2012) .

❖ Les tanins

Un volume de 2 ml de chacun des deux extraits , est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl3 à 1%. Après quelques minutes d'incubation , le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre qui indique la présence des tanins (BOUKEZATA., 2014) .

❖ Les alcaloïdes

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : on ajoute 5 ml d'HCL 1% à 1ml de chaque extrait , le tout est chauffé au bain marie , puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer , l'autre par le réactif de Wagner . La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes (TAHRAOUI ., 2014) .

❖ Saponosides

Dans un tube à essai, nous avons introduit 10 ml de l'extraits aqueux .Le tube est agité pendant 15 secondes , puis laissé au repos pendant 15 min . Une hauteur de mousse persistante , supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (GHARBI ., ZEGHIB ., 2016) .

❖ Les quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées . L'apparition d'une couleur qui vire au jaune , rouge ou violet indique la présence des quinones libres (TAHRAOUI ., 2014) .

❖ Les terpénoïdes

A 5 ml de chaque extrait , on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml de H₂SO₄concentrée . la présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase (BOUKEZATA., 2014) .

❖ Les anthraquinones

A 10 ml de chacun de nos extraits , on ajoute 5 ml de NHOH à 10% et on agite . L'apparition de couleur violette indique un test positif (BOUKEZATA., 2014) .

❖ Les sucres réducteurs.

On ajoute 1 ml de liqueur de Fehling à 5 ml de chaque extrait . Un test positif est Indiqué par l'apparition d'un précipité rouge brique (GHARBI ., ZEGHIB ., 2016) .

II.3. Extraction des huiles essentielles

Nous avons utilisé la méthode d'hydrodistillation de deux plantes . La distillation a été effectuée par un appareil de Clevenger dans un ballon 50 g des parties aériennes de la plante sont mises en contact avec 750 ml d'eau distillée ; L'ensemble est porte a pendant 3h au maximum . L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau elle est ensuite condensée en passant par le condensateur . Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée , conservés au réfrigérateur (4°C) dans des flacons bien fermés . Après chaque extraction , nous avons déterminé le rendement des huiles essentielles qui est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse végétale sèche à traiter (BEKHECHI., 2008 ; SAID HASSANE., 2011; LABIOD., 2016) .



Figure 12 : Le procédé d'extraction des huiles essentielles par l'appareil de clevenger
(phto. originale ., 2018)

II.3.1) Caractéristiques des Huiles essentielles

II.3.1.1) Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

L'analyse sensorielle est une source d'information essentielle qui , reflète les attentes et les tendances des consommateurs . L'analyse a été effectuée en observant et en inhalant directement l'huile essentielle . L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle . Dans cette étude , trois critères sont considérés pour évaluer la qualité organoleptique : L'odeur , la couleur , l'aspect .

II.3.1.2) Analyse physico-chimiques

II.3.1.2.1) Indices physiques

❖ Détermination des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle (R) est le rapport entre le poids de l'huile extraite (P') et le poids de la plante traitée (P) ; Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante

(LABIOD., 2016) : $R\% = (P'/P) \times 100$

R% : Rendement de l'huile en (%)

P': Poids de l'huile en (g)

P : Poids de la plante en (g)

❖ Mesure de pH

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre .

❖ Mesure de la densité

La densité d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à la masse d'un égal volume d'eau distillée, la densité est donnée par la formule suivante : $D = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$

Où ;

m_0 : La masse de flacon vide.

m_1 : la masse de flacon remplie d'eau distillée.

m_2 : La masse de flacon remplie d'HE (BOUKHATEM ., 2010 ; KHOLKHAL ., 2014 ; OUIS., 2015)

II.3.1.3) Identification des composées par GC/MS**❖ Principe**

Le principe de cette technique de couplage consiste en une séparation des solutés dans le premier appareil (CPG-Ir) . Ces derniers pénètrent ensuite dans l'ordre de leur élution dans le spectromètre de masse (SM) où ils vont subir une ionisation , puis une dissociation en fragments chargés positivement pour être analysés qualitativement (BEKHECHI., 2008) .

❖ Mode opératoire

L'appareil Varian CP-3800 GC équipé du CP-8400 l'autosampler et le spectromètre de masse Saturn 2200 utilisé pour analyser d'huile essentielle d'*O.majorana* et '*O.vulgare* . Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 250 et 290 ° C, respectivement. La colonne capillaire VF-5MS était d'environ 30 m x 0,25 mm ; 0,25 µm d'épaisseur de film et la température de la colonne a été programmée à partir de 50 à 280 ° C à 5 ° C / min et le débit du le gaz porteur (hélium) était de 1,0 ml / min. Un échantillon de 1,0 µL a été injecté en mode sans division. La spectrométrie de masse était en mode d'énergie d'ionisation à 70 eV (gamme de balayage 40-450 m / z) . L'identification des composants a été faite par comparaison des données de bibliothèque .

III. Activités biologiques**III.1. L'activité antioxydante****III.1.1. La méthode de DPPH****❖ Principe**

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable . Le DPPH est caractérisé par une couleur violette(CHIKHI., 2014) . La stabilité de la molécule est assurée par la délocalisation des électrons au sein de la molécule . La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydante entraîne une décoloration de la solution . Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517 nm (LARABA et al ., 2016) ; L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (BOUDJOUREF., 2011) .

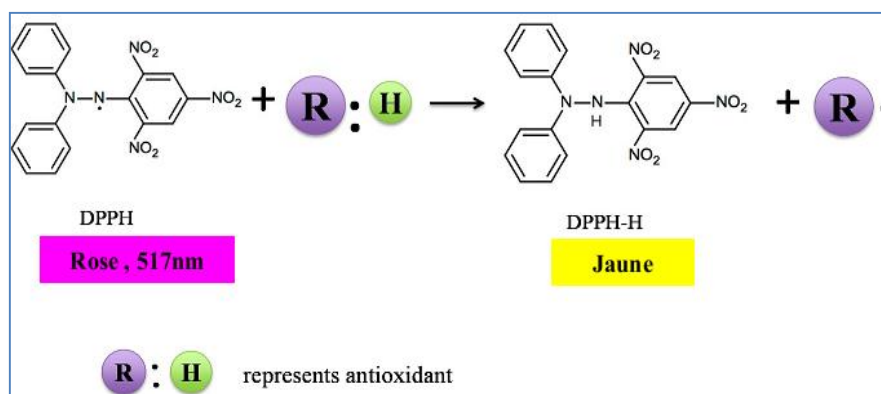


Figure 13 : Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydante (RH) (GOUDJIL., 2016) .

❖ Mode opératoire

La capacité de l'huile essentielle de plante à piéger les radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) a été évaluée en utilisant la méthode décrite par (BOUHADDOUDA et al., 2016), suivi du calcul de l'IC₅₀. La solution mère de l'huile essentielle de plante a été préparée dans du méthanol pour atteindre la concentration de 2000 µg / ml. De plus, des dilutions au double ont été effectuées pour obtenir des concentrations de 1000 µg / ml à 7,81 µg / ml. Des solutions diluées d'extrait (500 µl chacune) ont été mélangées avec 500 µl de solution méthanolique de DPPH (80 µg/ml). Après 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été lue dans un spectrophotomètre à 517 nm. Les échantillons témoins consistaient en 500 µl de méthanol ajoutés à 500 µl de solution de DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif. L'expérience a été réalisée en trois fois.

L'activité antioxydante est exprimée comme le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Activité Antioxydant (\%)} = 100 \times [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}]$$

; Où :

$A_{\text{contrôle}}$: représente l'absorbance de l'échantillon contrôle

$A_{\text{échantillon}}$: représente l'absorbance de l'huile essentielle

La concentration inhibitrice (IC₅₀) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydante (en %) en fonction de différentes concentrations de l'huile testée. Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH.

L'indice de l'activité antioxydant (AAI) est calculé selon l'équation suivante (BOUHADDOUDA., 2016) : $\text{AAI} = \text{concentration finale de DPPH (\mu\text{g/ml})} / \text{IC}_{50} (\mu\text{g/ml})$.

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suit :

$\text{AAI} < 0.5 \rightarrow$ faible activité antioxydante, $2 > \text{AAI} > 1 \rightarrow$ forte activité antioxydante

$\text{AAI} > 0.5 \rightarrow$ activité antioxydante modérée, $\text{AAI} > 2 \rightarrow$ très forte activité antioxydante.

III.2. Activité Anti-inflammatoire

III.2.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains

Le sang a été prélevé chez un donneur humain en bonne santé ne consommant aucun médicament stéroïdien depuis deux semaines . Le sang a été soumis à une centrifugation et la partie surnageant a été soigneusement pipetée avec des pipettes stériles . Les cellules emballées ont été remis en suspension avec un volume égal de sérum physiologique normal (pH 7,4) et centrifugés à nouveau . Le processus a été répété quatre fois jusqu'à ce que les surnageant clairs (GADAMSETTY et *al.*,2013)

III.2.2. Méthodes de la stabilisation de la membrane des érythrocytes humaines

❖ Protocole

4,5 mL de mélange réactionnel constitué de 2 mL de solution saline hypotonique (0,25 % NaCl) , 1 mL de tampon phosphate de sodium (pH 7,4) et 1 ml d'extrait ont été dissous dans du sérum physiologique normal . Ensuite , 0.5 ml de HRBC a également été ajouté . Le mélange a été incubé à 56 ° C pendant 30 minutes . Les tubes ont été refroidis sous courant de l'eau pendant 20 minutes et le mélange a été centrifugé à 3000 tr / min , les surnageant ont été séparés lus à 560 nm (GADAMSETTY et *al.*, 2013) . Le diclofénac sodique a été utilisé comme médicament de référence . Dans la solution de contrôle au lieu de hyposaline , 2ml de distillée l'eau a été ajoutée . Le pourcentage de stabilisation de la membrane (HRBC) a été calculée par la formule suivante (LATHA et *al.* , 2011):
 Pourcentage de stabilisation de la membrane = $100 - (\text{densité optique de l'échantillon traité ou de standard} / \text{densité optique de contrôle}) \times 100$.

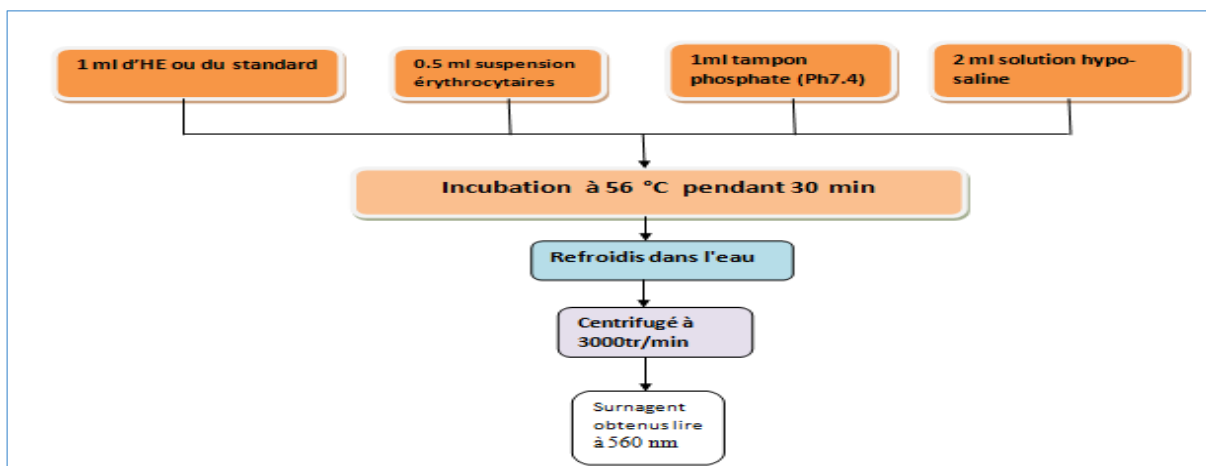


Figure 14: Protocole de stabilisation membranaire érythrocytaires humains (GADAMSETTY et *al.*, 2013) .

III.3. Activité antibactérienne

III.3.1. Les souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC), il s'agit de : *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) et *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) en plus *Bacillus cereus* , *Enterococcus faecalis* , *Salmonella enteritidis*.

Tableau 02 : Les souches bactériennes utilisées

souches	Gram
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	
<i>Bacillus cereus</i>	
<i>Salmonella enteritidis</i>	
<i>Enterococcus faecalis</i>	Positif

III.3.2. Antibiotique

L'antibiotique utilisé dans notre étude est la gentamycine (GEN) à une charge de 50 µg/disque . Notre choix s'est porté sur GEN vu qu'il possède un large spectre d'action , à la fois actif sur les Gram positive et sur les Gram négative , permettant ainsi de déterminer la sensibilité de toute la gamme de bactéries étudiées vis-à-vis de cet antibiotique .

III.3.3. Préparation des milieux de culture

❖ Préparation de gélose nutritive (GN)

Milieu d'isolement et de conservation non sélectif, préparé comme suit : Dissoudre 7g de la gélose nutritive dans 250 ml d'eau distillée . Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète , puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri .

❖ Préparation de gélose Mueller Hinton (MH)

Milieu pour l'étude de la sensibilité des bactéries , en milieu solide , vis-à-vis de l'antibiotique, des huiles essentielles , préparé comme suit : Dissoudre 47 g de la gélose Muller-Hinton dans 1.15l d'eau distillée . Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri .

III.3.4. Réactivation des souches

La réactivation des souches bactériennes a été faite par ensemencement sur un milieu solide puis incubation à 37°C pendant 18 à 24h .

III.3.5. Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes sur gélose nutritive , on prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 5 ml d'eau physiologique stérile , on agite au vortex pendant quelques secondes . La standardisation de la suspension à 10^6 UFC/ml , est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 620 nm . Selon Mac Farland , on admet qu'une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de 10^6 germes/ml (HADJI., 2013) .

III.3.6. Préparation des dilutions

Les dilutions sont préparées à partir de la solution mère (huiles essentielles pures des deux huiles essentielles . et de la synergie entre le deux huiles) en utilisant tween 80 comme émulsifiant ,

les dilutions ont été faites de façon à obtenir des concentrations 1/2 ; 1/4 ; 1/8 pour chacune des deux solutions mères (AHMED ABDELMALEK ., YAGOUBI ., 2017)

III.3.7. Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits)

❖ Principe

Elle assure une diffusion radiale de l'huile essentielle à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'huile essentielle de concentration connue. L'huile essentielle diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (HADJI ., 2013).

❖ Mode opératoire

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antibactérien a été évaluée en utilisant la méthode décrite par (KUETE et al., 2004 ; KHEBICHAT., 2013 ; TOTY et al ., 2013 ; LAKHDAR ., 2015 ; BOUZAID et al., 2016). La gélose de Mueller Hinton (MH) est ensemencée dans les boîtes de Pétri par écouvillonnage. Puis on laisse sécher pendant 15 min, des puits de 6mm sont creusés, sont remplies de l'huile pure et leur différents dilutions à une concentration de 1/2 ; 1/4 ; 1/8 (environ 40 µl par puits). La gentamycine en disque de 50ug est utilisée comme contrôle positif est introduit dans le puits central, Tween 80 pure est utilisé comme contrôle négatif. Les boîtes de pétri sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. La mesure du diamètre des zones d'inhibitions est transcrite dans différents symboles à l'activité (Tableau 03).

Tableau 03 : Transcription des diamètres d'inhibition (GOUDJIL ., 2016)

Diamètre d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité du germe
<8	-	Non sensible
9-14	+	Sensible
15-19	++	Très sensible
>20	+++	Extrêmement sensible

IV. Analyse statistique des résultats

Les analyses statistiques des résultats ont été réalisées en utilisant les deux logiciels, Excel et Minitab. Excel aide pour tracer les histogrammes et Minitab pour calculer les moyennes $\pm$ écart-type et les valeurs P, si $p > 0,05$ la différence entre les valeurs n'est pas significative, et si $p < 0,05$ la différence entre les valeurs est considérée significative, si $p < 0,01$ cette différence est considérée comme hautement significative, et si $p < 0,001$ cette différence est considérée comme variation très hautement significative.

Chapitre II

Résultats et discussions

Résultats et discussion

I.1. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits préparés à partir de la partie aérienne d'*Origanum majorana* et *Origanum vulgare* permis de mettre en évidence la présence de certains groupes et l'absence d'autres de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes . La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais des réactions de précipitation et de turbidité , un changement de couleur spécifique . Les résultats sont récapitulés dans le tableau 04 .

Tableau 04 : Criblage phytochimique d'*O. majorana* et *O. vulgare*

Groupes chimiques		<i>O. majorana</i>	<i>O. vulgare</i>
Flavonoïde		+	+
Tanin		+	+
Saponosides		+	+
Quinone libre		-	-
Anthraquinone		-	-
Terpénoïdes		+	+
Alcaloïde	Wagner	-	-
	Mayer	-	-
Sucre réducteur		+	+

Les résultats expérimentaux des tests phytochimique (tableau 04)montrent la présence des flavonoïdes , des tanins , des terpénoïdes , des saponosides et des sucres réducteur à la partie aérienne de deux plantes testé . Ainsi que la absence des quinone libre, anthraquinones et alcaloïdes .

I.2) Extraction des huiles essentielles

I.2.1. Caractéristiques des huiles essentielles

I.2.1.1.Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Tableau 05 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Caractéristiques organoleptiques	<i>O .majorana</i>	<i>O. vulgare</i>
Aspect	liquide mobile	liquide mobile
Couleur	Blanchâtre	Jaunâtre
Odeur	Caractéristique	Herbacée

Les résultats de (tableau 05) montre que les huiles essentielles d'*O. majorana* et *O. vulgare* ont un aspect liquide mobile , et de couleur Blanchâtre et Jaunâtre respectivement , et d'un odeur caractéristique pour l'*O. majorana* et herbacée pour l' *O. vulgare* .

I.2.1.2. Analyses physico-chimiques

I.2.1.2.1) Indices physiques

❖ Rendement des huiles essentielles

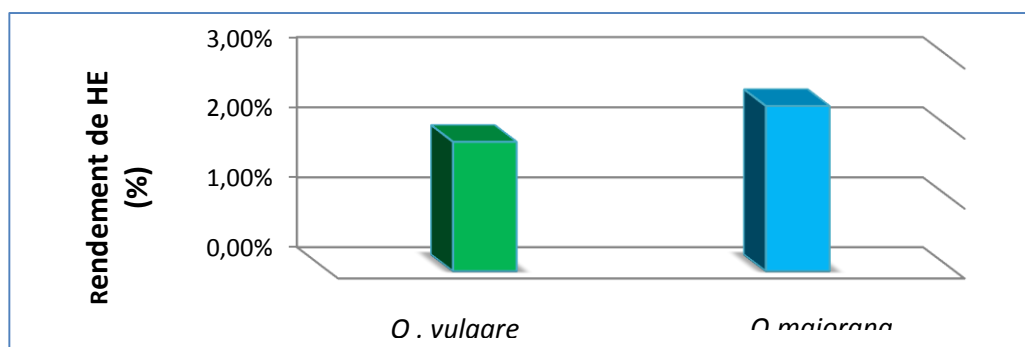


Figure 15: Histogramme du rendement des huiles essentielles d'*O. majorana* et *O. vulgare*

Selon les résultats obtenus (figure 15) les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante . Les échantillons de *O. majorana* ont fourni un taux d'environ $2.36 \pm 0.46\%$ plus élevé que celui obtenu à partir d'*O.vulgare* qui est $1.85 \pm 0.16\%$.

❖ Densité et le PH

Tableau 06 : Les caractéristiques physiques des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* et de l' *Origanum majorana*

Huiles essentielles	Densité	PH
<i>Origanum majorana</i>	0.95 ± 0.107	5.75
<i>Origanum vulgare</i>	0.97 ± 0.145	5.10

Les résultats du (tableau 06) montrent la densité des HEs d'*Origanum vulgare* extraite par hydrodistillation est 0.97 , elle est supérieure à celle obtenue à l' *Origanum majorana* (0.95). Mais PH d'*Origanum vulgare* est inférieure à celle obtenue à l' *Origanum majorana* , et on remarque que PH des HEs de deux plantes étudiée a l'intervalle des acides .

I.3. Identification des composées par GC/MS

I.3.1. Identification des composées majeurs des huiles d'*Origanum majorana*

L'analyse du spectre par (GC/SM) de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* nous a permis d'identifier 69 composés représentant 99.56% de la composition globale de l'huile étudiée . Le chromatogramme de cette analyse est présenté dans la figure 20 L'ensemble des produits identifiés , temps de rétention , pourcentage de chaque composés , sont composés listées par ordre d'élution tableau 01 (annexes) .

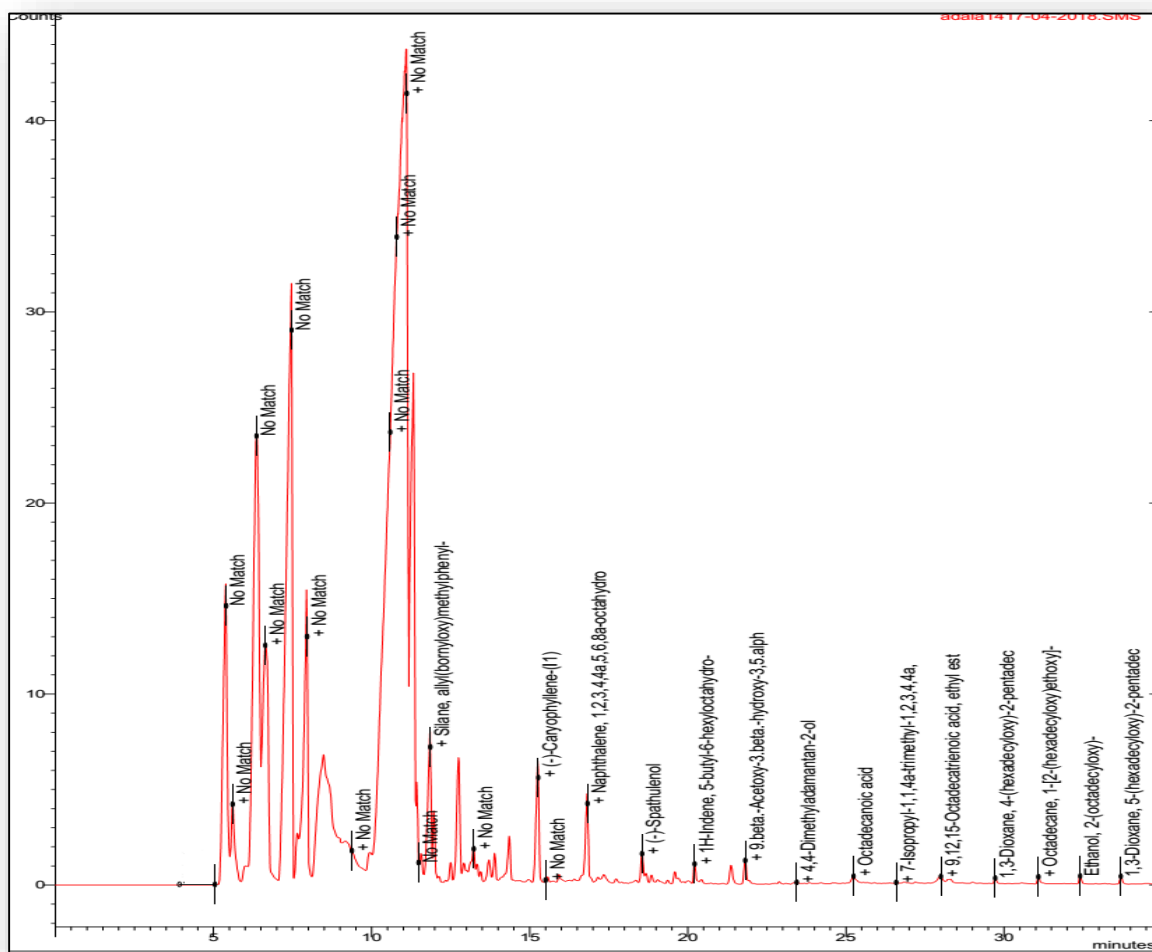


Figure 16 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'*Origanum majorana*

Les principaux composants des huiles essentielles d'*O. majorana* sont : Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis (22,22%) , Cyclopentanecarboxylic acid , 3-methylene (10.74%), Silane,allyl(bornyloxy)methylphenyl(10,00%),(-)-Caryophyllene-(I1)(7,27%) ,

Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro(5,34%) ,Naphthalene,1,1'-(1,10-decanediyl)bis[d(3,43%) , et Naphthalene, 1,1'-(1,2-ethanediyl)bis[de (3,02%) . L'analyse GC a également révélé que certains composés sont présentés dans l'huile essentielle avec des quantités appréciables telles que alpha.-phellandrene (1.80%) , 2,6,10,15-tetramethyl-17-(1,4,4-trimethy (1.57%) ,naphthalene , 1,1'-(1,10-decanediyl)bis(1,42%) , et le plus constituants abondants (<1%) comme gamma.-elemene (0,88%) , bornyl acetate (0,8%) et 1H-cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1(0,63%) .

I.3.2. Identification des composées majeurs des huiles essentielles d'*Origanum vulgare*

La GC/SM a permis de recenser 41 composés à partir de l'huile essentielle de *Origanum vulgare* représentant 99.78% de la composition de l'huile tableau 02 (annexes) .

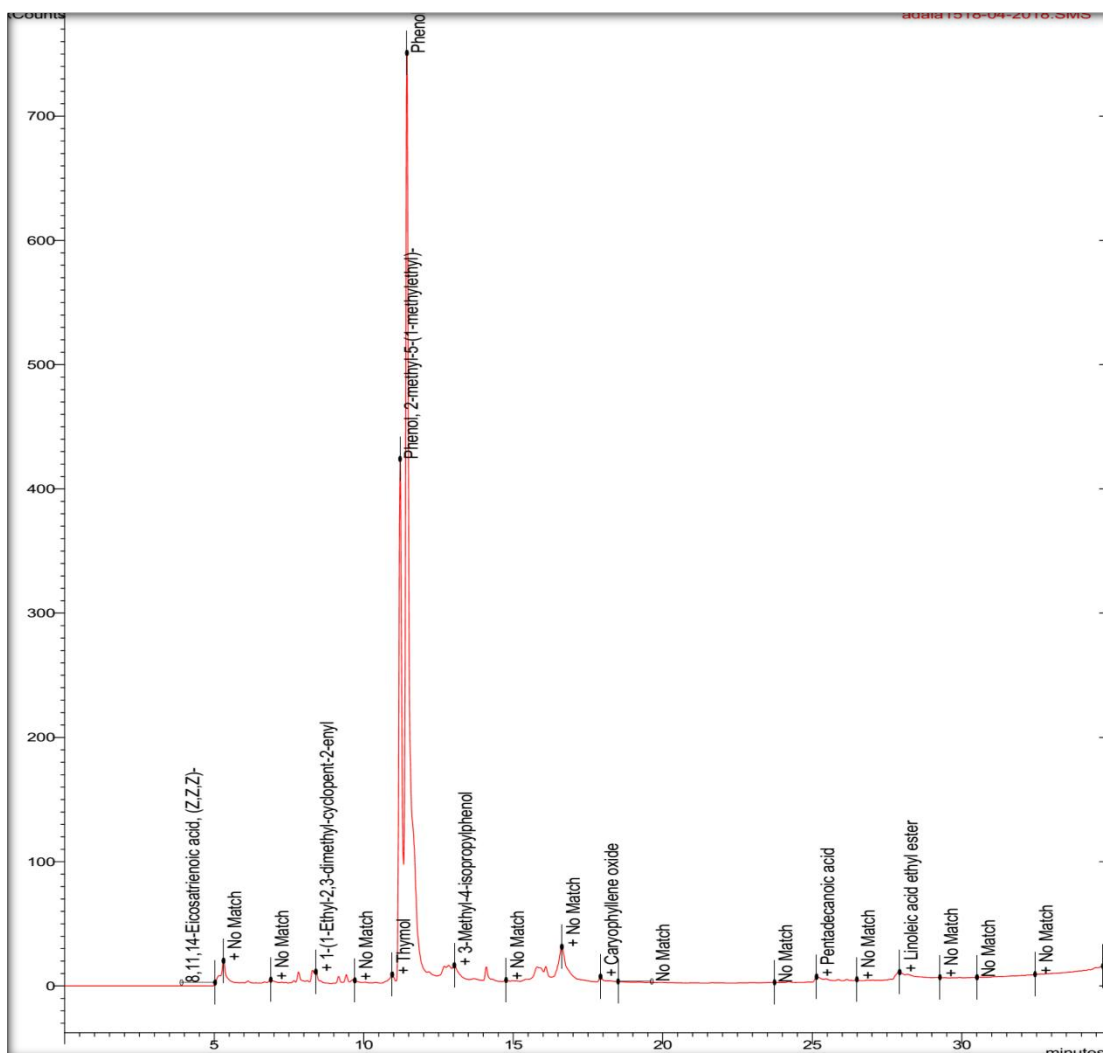


Figure 17 : Chromatogramme de l'huile essentielle d' *O. vulgare*

L'analyse quantitative et qualitative de l'HE d' *O. vulgare* nous a permis de déterminer les teneurs des composants chimiques et leur identité . Notre huile est très riche de Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-(65.17%) Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)(21,71%) ce qui signifie qu'il s'agit du composé majoritaire . L'analyse GC a également révélé que certains composés sont présentés dans l'huile essentielle avec des quantités appréciables telles que 3-Methyl-4-isopropylphenol(1.04%), Cyclohexanone, 2,3-dimethyl-2-(3-oxobuty(1.03%) . D'autres constituants étaient moins moins de 1% comme Thymol(0.95%) , Linoleic acid ethyl ester (0.85%),Phenol, 2-ethyl-4,5-dimethyl(0.66%) .

III. Bioactivités de genre *Origanum*

III.1. Activité antioxydante des huiles essentielles

Les résultats de mesure des pourcentages d'inhibition (IC_{50}) des huiles essentielles d'*Origanum majorana* , *Origanum vulgare* et l'acide ascorbique sont illustrés dans le tableau 07 et figure (2 , 3, 4) (annexes) .

Tableau 07 : Activité antioxydant des huiles essentielles d'*Origanum majorana* et *Origanum vulgare*

Les échantillons	$IC_{50}(ug/ml)$	AAI
<i>Origanum majorana</i>	6800	0.005
<i>Origanum vulgare</i>	1300	0.3
Acide ascorbique	30	2.66

Selon les résultats obtenus au (tableau 07) l'huile essentielle d'*Origanum majorana* et *Origanum vulgare* exercent une activité antioxydante faible avec $IC_{50} = 6800 \mu g/ml$ et un AAI de 0.005 et pour HEs *Origanum vulgare* $IC_{50}=1300 \mu g/ml$ et un AAI de 0.03 . Cependant , la capacité antioxydant de l'huiles essentielles des deux plantes restent moindre par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, la vitamine C ($IC_{50} = 30 \mu g/ml$).

III.2. Effet des huiles essentielles d'*Origanum majorana* et d'*O.vulgare* sur la stabilisation de la membrane des érythrocytes

L'activité anti-hémolytique des huile essentielle d'*Origanum majorana* et d'*Origanum vulgare* est évaluée en provoquant l'hémolyse par une solution hyposaline qui induit la désorganisation de la membrane et la libération de l'hémoglobine donnant au surnageant une légère coloration rouge en fonction de la proportion d'hémolyse .Les résultats sont représentés dans les figure (18 , 19) et le tableau (08) .

Tableau 08 : L'Effet des HEs *O.majorana* sur la stabilisation des globules rouges induit par solution hypotonique et chaleur

Huiles essentielles	Concentration (mg/ml)	Pourcentage de protection (%)
<i>O.majorana</i>	18	35.60±21.9%***
	47	39.34±6.69%***
	74	40.56±7.27 %***
<i>O.vulgare</i>	41	2.63±2.40%*
	55	5.34±1.32%*
	138	6.02±0.52%*
Diclofénac	50	33.8±0.01%

Comparaison avec le témoin : ***p<0.001 , *p<0.05

Les résultats de la (figure 18, 19) révèlent que l'huile teste possède une activité anti-inflammatoire très hautement significative (p<0.001) par rapport l'activité anti-inflammatoire de témoin (tous les concentration des HEs ont été comparés à 50 mg/ml de diclofénac), à la concentration 18 ,47 et 74 mg/ml des HEs ont montré les pourcentages de stabilisation de la membrane des globules rouges sont 35.60%±21.9 , 39.34%±6.69 et 40.56%±7.27 respectivement . Cette stabilité ont été augmentés avec les concentrations croissantes et de manière dépendante de celles-ci .

Nos résultats montre que l'huiles essentielles d'*Origanum vulgare* possède une activité anti-inflammatoire par apport l'activité de témoin (33.8±0.01%) , dans concentration 41 ,55 ,138 mg/ml avec pourcentages de stabilisation HRBC sont 2.63±2.40% , 5.34±1.32% et 6.02±0.52% respectivement .

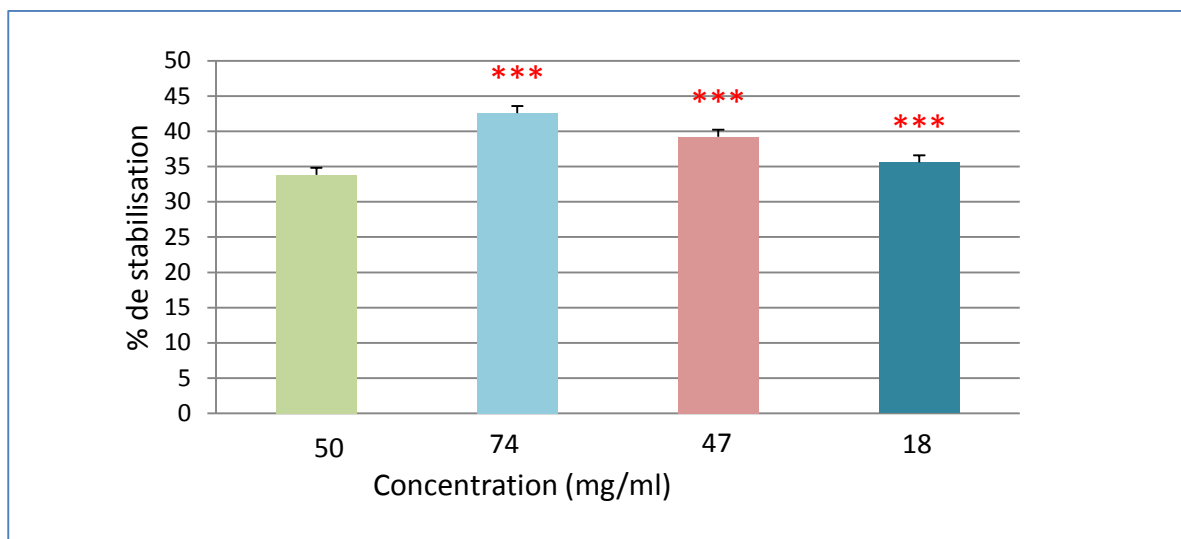


Figure 18 : Histogramme de l' Effet des HE *O.majorana* sur la stabilisation des globules rouges induit par solution hypotonique et chaleur (n=3; p<0.001).

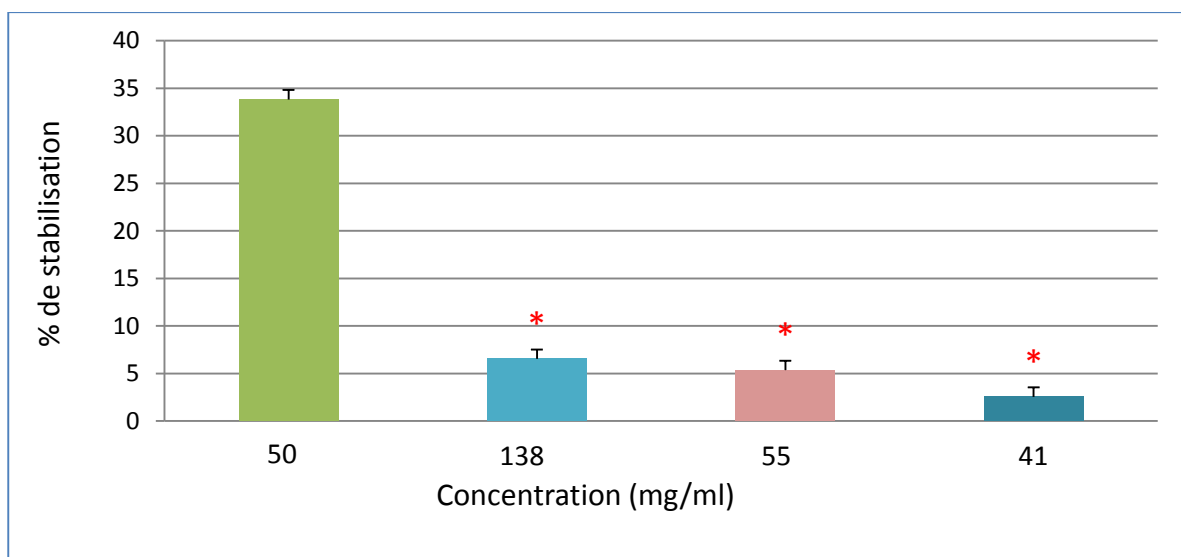


Figure 19 : Histogramme de l'effet HE *O.vulgare* sur la stabilisation des globules rouges induit par solution hypotonique et chaleur (n=2; p<0.05) .

III.3. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactériens a été insérées dans les tableau (9,10,11) et les figure (21, 22 , 23).

III.3.1. L'effets antibactériens des huiles essentielles d'*O.majorana*

Tableau 9 : Effets antibactériens des HE d'*O.majorana* vis-à-vis les souches bactériennes

	HE pure	HE½	HE¼	HE 1/8	Tween80	Gentamicine
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13.66±1.525 (+)	6.66± 1.15 (-)	4.33±0.577 (-)	0.66±0.57 (-)	00±00	8.33±0.57 (+)
<i>Pse.aeugi</i> ATCC 27853	15±4.36 (++)	7.66±1.15 (-)	3± 1.73 (-)	1.66±1.15 (-)	00±00	15.33±0.57 (++)
<i>K.pneumona</i> 700603ATCC	10±1 (+)	7.33±4.04 ((-)	2.33±1.15 (-)	00±00 (-)	00±00	8.33±0.57 (+)
<i>Enterococcus faecalis</i>	15±5.57 (++)	7±1 (-)	4.33±1.15 (-)	05±01 (-)	00±00	15.33±1.52 (++)
<i>Salmonella enteric</i>	11.67±4.73 (+)	11.33±1.15 (+)	06±01 (-)	03±1.73 ((-)	00±00	5,66±0,57 (-)

(-) non sensible , (+) sensible , (++) très sensible , (+++) Extrêmement sensible

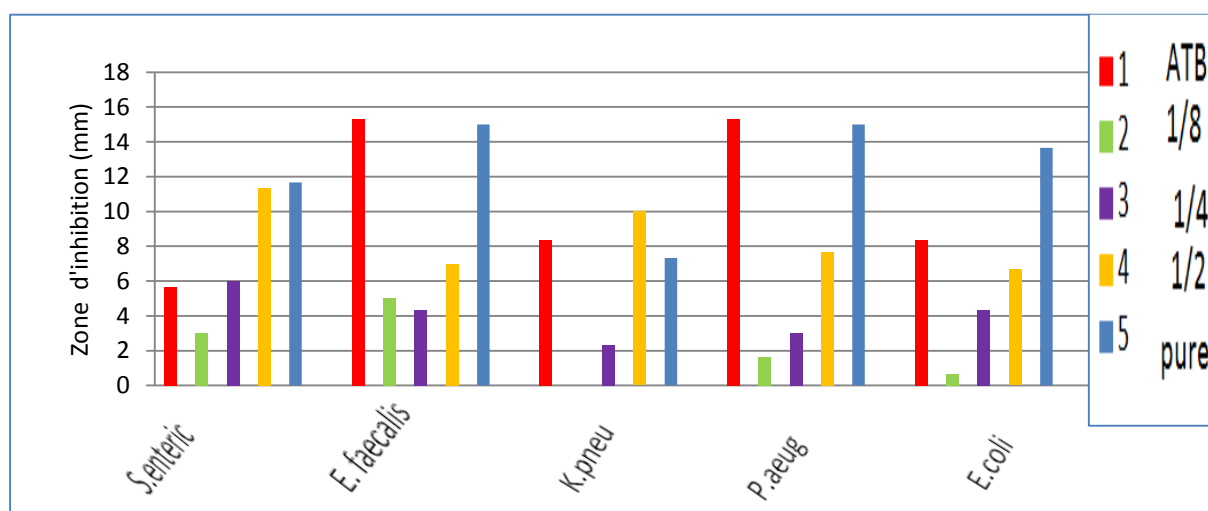


Figure 20 : Histogramme des l'effets antibactériens des HE d'*O.majorana* vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes .

Selon nos résultats (figure 20) on note que , les souches bactériennes testées sont très sensibles aux HE pure de *O.majorana* , notamment vis-à-vis de *pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Enterococcus faecalis* , les diamètres des zones d'inhibition sont presque semblables à ceux de la gentamicine 15 mm pour chacune . Les germes *E. coli* et *salmonella enteritidis* sont sensibles aux HE pure avec une zone d'inhibition 13mm , 11 mm respectivement et *E.coli*

sensible au gentamycine ; tandis que *Salmonella enteritidis* non sensible à l'ATB . Par contre les souches *Klebsiella pneumonia 700603ATCC* sont sensible aux HEs pure et gentamycine avec diamètre d'inhibition 10 mm et 8 mm respectivement , mais ces souche sont non sensible aux dilution ($1/2$, $1/4$, $1/8$) .

III.3.2. Effets antibactériens des huiles essentielles *O.vulgare*

Tableau 10 : Effets antibactériens des HE d'*O.vulgare* vis-à-vis les souches bactériennes

	HE pure	HE $1/2$	HE $1/4$	HE $1/8$	Tween80	Gentamicine
<i>E. coli ATCC 25922</i>	13.33±2.31 (+)	5.33±0.57 (-)	3.66±0.57	3±1 (-)	00±00	7.66±0.57 (-)
<i>Pse.aeugi ATCC 27853</i>	11.33±4.04 (+)	2.66±0.57 (-)	2.33±0.57	3.33±1.15 (-)	00±00	12.66±0.57 (+)
<i>K.pneumonia 700603ATCC</i>	9.33±4.73 (+)	2.33±0.57 (-)	3.33±0.57	3±01 (-)	00±00	12.66±0.57 (+)
<i>Enterococcus faecalis</i>	24.33±7.37 (+++)	5.66±0.57 (-)	3.33±0.57	1.33±0.57 (-)	00±00	12 ±0.57 (+)
<i>Salmonella enteric</i>	12±4.36 (+)	4.33±1.52 (-)	3.33±0.57	4.33±0.57 (-)	00±00	5.33±0.57 (-)
<i>Bacillus cereus</i>	8.66±0.57 (+)	5.33±1.52 (-)	4.66±1.15	4.33±0.57 (-)	00±00	11.33±4.04 (+)

Non sensible , (+) sensible , (++) très sensible , (+++) Extrêmement sensible

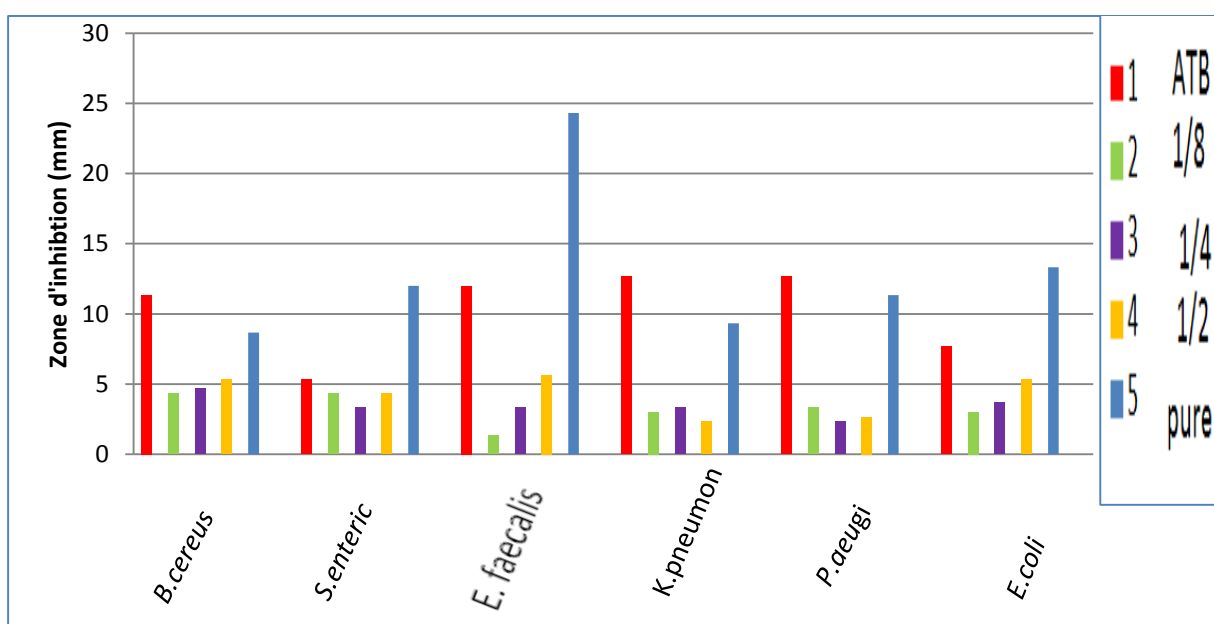


Figure 21: Histogramme de l'effets antibactériens des HE de *Origanum vulgare* vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes .

Les résultats des tests antibactériens (figure 21) révèlent que les cinq souches *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella enteritidis* et *Bacillus cereus* sont sensible à HE pure de *O.vulgare* avec zones des inhibition (13, 11, 9, 12, 8 mm) respectivement et non sensible aux dilutions ($1/2$, $1/4$, $1/8$), ces souches bactériennes sont sensible aux gentamicines sauf *Salmonella enteritidis* sont non sensible aux gentamycine. Par contre pour *Enterococcus faecalis* sont la seule souche bactérienne extrêmement sensible au HE pure de cette plante aromatique avec zones des inhibition remarquable 24 mm, ces germes sont sensible au gentamicine et non sensible aux autres dilutions.

III.3.3. Effets antibactériens de synergie entre HEs d'*O.majorana* et *O.vulgare*

Tableau 11 : Effets de synergie entre HEs d'*O.majorana* et *O.vulgare*

	HE pure	HE $1/2$	HE $1/4$	HE $1/8$	Tween80	Gentamicine
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14.33±2.89 (+)	7 ± 1.73 (-)	4.66±0.57 (-)	2.33±0.57 (-)	00±00	9.66±0.57 (+)
<i>Pse.aeugi</i> ATCC 27853	6.33±0.57 (-)	4±0.57 (-)	2± 0.57 (-)	1.33±0.57 (-)	00±00	11.66±0.57 (+)
<i>K.pneumonia</i> 700603ATCC	7.33±0.57 (-)	6±0.57 (-)	3.66±0.57 (-)	1.33±0.57 (-)	00±00	5.33±0.57 (-)
<i>Enterococcus faecalis</i>	14.33±5.13 (+)	5.33±0.57 (-)	4.33±0.57 (-)	2.33±0.57 (-)	00±00	13±0.57 (+)
<i>Salmonella enteric</i>	9.67±1.58 (+)	06±01 (-)	4.33±0.57 (-)	1.33±0.57 (-)	00±00	6.33±1.52 (-)
<i>Bacillus cereus</i>	9.67±1.58 (+)	10.33±3.06 (+)	09±02 (+)	4.67±2.89 (-)	00±00	12.33±0.57 (+)

Non sensible, (+) sensible, (++) très sensible, (+++) Extrêmement sensible

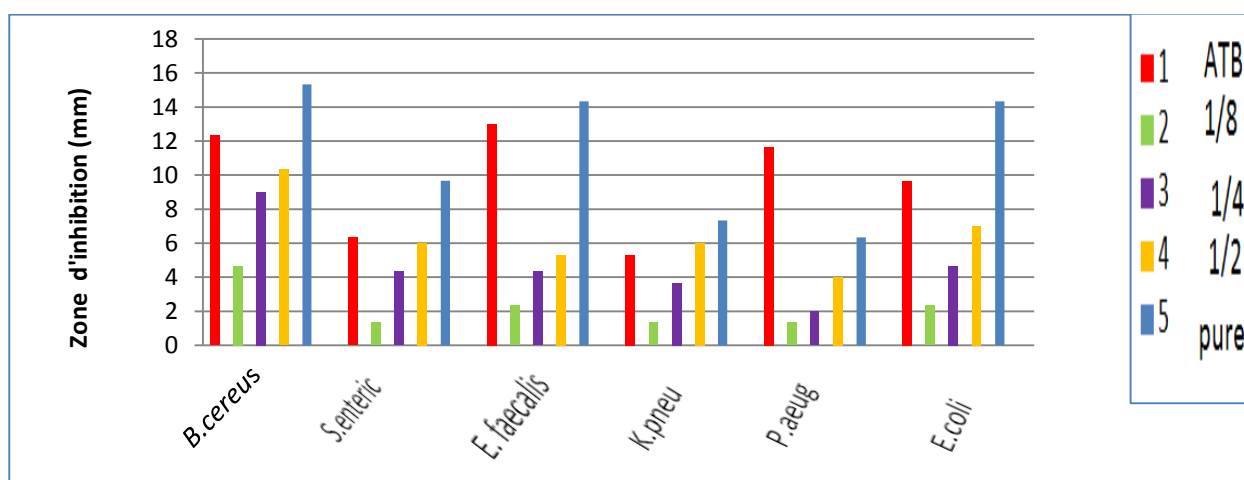


Figure 22 : Histogramme de l'effets antibactériennes de synergie entre les deux espèces du genre *Origanum* vis-à-vis les souches bactériennes pathogènes.

Dans notre étude a évalué les effets antibactériens du combinaison entre HE d' *O.majorana* et HE d'*O.vulgare* . D'après les résultats obtenus , *E. coli* ATCC 25922 , *Enterococcus faecalis* et *B.cereus* sont très sensible aux combinaison des HEs pure avec diamètres des inhibition entre 14-15 mm , ces trois souches sont sensible aux gentamicine . En revanche , *P. aeruginasa* ATCC27853 et *K.pneumonia* ATCC 700603 sont les seuls souches non sensible aux combinaison des HEs pure avec zones des inhibition inférieur 8 mm , *P. aeruginasa* ATCC27853 est sensible à l'antibiotique , mais *K.pneumonia* ATCC 700603 non sensible à ce ATB . Par ailleurs , *S. enteritidis* sont sensible aux combinaison des HEs pure . Permis toutes les dilution , les zones des inhibition sont inférieur 8mm sauf que *B.cereus* sont sensible aux dilution ($1/2$, $1/4$) .

Discussion

Les tests phytochimiques d'*O. vulgare* montrent qu'il n'y a pas de différences dans les groupes chimiques existants dans la plante traitée par comparaison avec l'étude réalisée par BENDIFALLAH et al (2015) . De même , les tests phytochimiques réalisés par VASUDEVA (2015) sur d'*O. majorana* sont en accord avec nos résultats sauf en ce qui concerne des sucres réducteurs qui sont révélées dans nos extraits . La présence de ces métabolites secondaires au niveau des deux plantes étudiées explique leur fort pouvoir thérapeutique . Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de ces deux plantes dans la médecine traditionnelle par la population locale . Effectivement , les tanins , les flavonoïdes , les saponosides et les terpènes possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes , antioxydante , anti-inflammatoires , vasculo-protectrices , antiulcéreuses et bien d'autres (BOUHADDOUDA ., 2016 ; LABIOD., 2016) .

Les huiles essentielles d'*O.majorana* et *O. vulgare* ont un aspect liquide mobile, et de couleur blanchâtre et jaunâtre respectivement , et d'une odeur caractéristique pour l'*O. majorana* et herbacée pour l' *O. vulgare* .

Notre résultat comparés avec autre travaux précédents , LAKHRISSI et al (2016) a rapporté que l'huile essentielle d'*O.majorana* a un aspect liquide mobile et de couleur jaune pâle à foncée et d'odeur douce , tandis que l'étude de AIBOUD (2012) a été réalisé sur l'huile essentielle d'*O. vulgare* montrent un aspect liquide mobile limpide et de couleur Jaunâtre à brun foncé et d'odeur herbacée , cela confirme notre résultats .

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle d'*O. majorana* est estimé à 2.36% , ce résultat est nettement supérieur à celui reporté par KAHOU LI (2010) . LAKHRISSI et al (2016) révèlent que le rendement (2.5%) des HEs , cette huile possède un rendement supérieur à ce qu'on a obtenu à nos résultats . Cependant l'étude de DIPALI et al. (2016) présenté des rendements allant de 0.7% à 3.5% , SOLIMAN et al (2009) ont déterminé les rendement de cette espèce , collectés aux quatre saisons (hiver , printemps , été et automne) a donné 2.8% , 3% , 2.5% , 2.5% respectivement .

L'extraction de l'huile essentielle de *O. vulgare* a donné un rendement de 1.853%. Ce résultat est nettement supérieur à celui reporté par GONG et al (2014) et BEJAOU I et al (2013) ,l'étude de SILVA et al (2012) . Cependant quelques études montre un rendement plus important que notre résultats LAKHRISSI et al (2016) ont déterminé un rendement de 2.34% et pour MECHERGUI et al (2015) ont déterminé les rendements en huile essentielle de la *O. vulgare glandulosum* entre 2.5% et 4.6% .

Ces variations des teneurs des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* et de l'*Origanum majorana* peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux prenant en compte que l'huile essentielle et sa composition quantitative et qualitative peut être influencée par les conditions climatiques (notamment le type de climat , l'altitude , le taux d'exposition au soleil) le type de sol , le stade de croissance de la plante en question , le moment de la récolte et la méthode d'extraction (BOUHADDOUDA ., 2016 ; HENI., 2016) .

La densité de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* est 0.97 elle est supérieure à celle obtenue pour *Origanum majorana* 0.95 . En comparé notre résultat avec LANSEUR (2017) qui révélé que la densité d'*Origanum glandulosum* est 0.9 . Ce résultat pourrait être expliqué par la variabilité des composants chimiques des deux espèces .

L'*Origanum majorana* a fait l'objet de quelques études scientifiques portant principalement sur la détermination de composés chimique des huiles essentielles dans différentes régions . Au Brésil , DANTA et al (2016) montré que ρ -terpinene (25.73%)- α -terpinene (17.35%) , terpinen-4-ol ,(17.24%) , et sabinène (w10.8%) sont les principaux composants de l' huile essentielle de l'*O. majorana* . HUSSAIN et al (2010) ont été signalés le terpinene-4-ol (20.9%) , linalool (15.7%) , linalyl-acetate (13.9%) , limonene (13.4%) et α -terpineol (8.57%) sont les composants majoritaires des huiles essentielles d'*O. majorana* Pakistanais .

Plusieurs études ont été réalisées sur la composition chimique des huiles essentielles d'*O. vulgare*, ces études ont enregistré que la composition chimique de cette huile est variée d'une région à l'autre. En Syrie, une étude a déterminé les principales composantes chimiques de l'huile essentielle *O. vulgare*: Terpinen-4-ol (24.90%), gamma-terpinène (10.57%), o-cymène (8.90%), cis-beta-terpinéol (8.73%), alpha-terpinène (6.67%) (JNAID et al., 2016). GONG et al (2014) ont étudié l'huile essentielle de la *O. vulgare* de la région de Chine et du Pakistan dont les principales composantes étaient β -citronellol (72.7% à 85.3%), l'acétate de citronellol (8,8% à 12.2%), le thymol (1.5% à 42.9%), caryophyllène (0.4% à 17.7%).

Les variations des compositions chimiques de deux huiles essentielles étudiées peuvent être dues à la zone géographique, l'emplacement ou l'environnement dans lequel poussent les plantes testées (GUERRA-BOONE et al., 2015). Ainsi, les différences entre les compositions chimiques des HEs peuvent être dues à des variations des conditions de culture, ou à des modifications structurales ou physiologiques de la plante causées par des facteurs environnementaux spécifiques (GONG et al., 2014).

Nos résultats révèlent que l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*O. vulgare* est plus grande que l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*O. majorana*. Des études précédentes ont rapporté une grande variation dans l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Origanum majorana*, les résultats de HUSSAIN et al (2011) ont démontré le fort pouvoir antioxydant de l'huile essentielle avec $IC_{50}=89.2 \mu\text{g/ml}$. Cependant AHMED ABD EL MALEK, YAGOUBI (2017) ont rapporté une faible activité antioxydante de l'HE de l'*Origanum majorana* ($IC_{50} = 30\text{mg/ml}$), aussi l'étude de GUERRA-BOONE et al (2015) a démontré qu'il n'existe pas d'activité antioxydante de l'HE de l'*Origanum majorana* du Mexique.

En comparant notre résultat aux précédents rapports, l'huile essentielle de l'espèce étudiée, *O. vulgare*, développe une activité antioxydante basse. Une étude menée par HUSSAIN et al (2011) a rapporté une haute activité antioxydante avec une valeur (IC_{50} : $65.5 \mu\text{g/ml}$). Ainsi, MECHERGUI et al (2015) ont réalisé une étude sur les différentes populations d'*O. glandulosum* présentant une activité antioxydante plus élevée. Cependant, une autre étude sur l'huile essentielle a montré une activité antioxydante faible puisque l' IC_{50} rapportée s'élève à $1000 \mu\text{g/ml}$ (JNAID et al., 2016). Le même constat pour l'huile essentielle d'*O. vulgare* d'El-Oued qui s'est avéré posséder une faible capacité antioxydante ($IC_{50} = 15.360 \text{ mg/ml}$) (BENCHIKHA, MENACEUR., 2013).

Également, des pouvoirs antioxydants modérés de HE ont été rapportés dans les travaux de BOUHADDOUDA (2016) et LANSEUR (2017) ont noté des valeurs d' IC_{50} de $461.62 \mu\text{g/ml}$ et $306.09 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Les études des propriétés antioxydantes des composants chimiques des huiles essentielles réalisées par plusieurs travaux (SCHAAL., 2010 ; BOUHADDODA., 2016 ; ALLARD., 2015; GUERRA-BOONE et al., 2015), ont montré que le carvacrol et le thymol, sont les deux principaux monoterpènes phénoliques de l'huile essentielle d'*Origan* responsables de l'activité antioxydante, ce qui possède des effets antioxydants importants. L'absence de ces composés expliquée la faible activité antioxydante des huiles essentielles *O.majorana* et *O.vulgare* dont ne comporte pas le carvacrol et ont faible quantité de thymol pour l'huile essentielle d'*O.vulgare*.

Le pouvoir réducteur peut être en relation dépendante avec la variabilité des compositions chimiques des huiles essentielles; est due aux impacts des facteurs environnementaux, peut être influencé, par les températures utilisées durant l'extraction. En effet, ont rapporté que l'utilisation des hautes températures au cours de l'extraction augmentent la libération des antioxydants. Le pouvoir antioxydant des plantes varie également selon la saison de récolte (LAUSEUR., 2017).

L'huile essentielle d'*Origanum majorana* possède une activité anti-inflammatoire très importante par rapport l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et un anti-inflammatoire non stéroïdien (diclofénac). On comparé notre résultats avec autres travaux précédents, une étude rapporté par (AROUI., HALLIL., 2017) montrent un effet anti-inflammatoire très significatif de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* de la région de Tichy avec valeur d'inhibition de la dénaturation BSA (88.66% d'inhibition à 50 µg/ml) et celle de la région d'Akbou (87.33% d'inhibition à 31.25 µg/ml). Aussi, SHAROPOV et al (2015) révélée que les huiles essentielles d'*Origanum tyttanthum* de Tadjikistan présente une importante activité anti-inflammatoire. LANSEUR (2017), a rapporté que l'huile essentielle de l'*Origanum glandulosum* possède un pouvoir de réduction d'hémolyse moyenne.

La richesse des plantes étudiées en HEs peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres, en piégeant, inactivant et stabilisant les radicaux libres (radicaux hydroxyles (OH·), anions superoxydes (O·). Ces antioxydants naturels possèdent un effet anti-hémolytique, en stabilisant la membrane des globules rouges contre la lyse hyposaline, ainsi leur intégrité membranaire (La distribution asymétrique des phospholipides) (AIT-IDIR., BOUYOUCF., 2017).

Les résultats antibactériens des HEs d'*O.majorana* a été comparés aux précédents rapports sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle *O.majorana*, RAMOS et al (2011)

signalent que HEs d'*O.majorana* exerce une activité antibactériennes contre *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 , *E.coli* ATCC 25992 , *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 avec zones d'inhibition 12 , 15 et 13 mm respectivement , ces résultats similaire avec notre études pour *E.coli* et différente pour *Klebsiella pneumoniae* , *Enterococcus faecalis* . BEN HAMIDA-BEN EZZEDDIN et al (2012) ont également décrit des activités antibactériens HEs *O.majorana* Tunisien par deux méthodes , la premier c'est la diffusion sur gélose et la deuxième microdilution en bouillon , mais les résultats de ces méthodes pas parallèles , les résultats ont montré que cette huile était active contre tous les souches testées , les plus sensibles étaient *E.coli*, *Streptococcus A* , *Shigella dysenteria* et *Salmonella enteritidis* , le moins susceptible était *Pseudomonas aeruginosa* , et dans certains dilution ne produisent aucune zone d'inhibition . Nos résultats révélant que *Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les deux souches très sensible au HEs d'*O.majorana* . Pour les dilution ont enregistré toutes les souches non sensible sauf *Salmonella enteric* était sensible au dilution¹/₂ . Aussi les travaux IBRAHMI et al (2017) indiquent que l'huile d'OM possède des activités contre toue les souches microbiennes , mais à des différents degrés .

DOUHADDOUDA (2016) prouvent que , les bactéries Grams négatif telles que *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC700603 et *Salmonella thyphimurium* sont les souches extrêmement sensible , et *P. aeruginosa* ATCC 27853 moins sensible aux huiles essentielles d'*O.glandulosum* . Les bactéries Grams positive *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sont les souches extrêmement sensibles . Cette étude présentant des diamètres d'inhibition entre 15-59 mm sur l'ensemble des souches testées . D'autre part , BEJAOUI et al (2013) ont montré que les HEs d'*O.vulgare subsp. glandulosum* Dsef de Tunisien ont une grande activité antibactérienne contre *Escherichia coli* ATCC 8739 , *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 , *Staphylococcus aureus* ATCC6538 et *Bacillus subtilis*. Également , l'étude de ÖZKALP et al (2010) déterminer l'activité antibactériens des huile essentielle d'origan contre la croissance d' *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Candida albicans*, *Salmonella enteritidis* , *Streptococcus pneumoniae* et *Klebsiella pneumoniae* . *Micrococcus luteus* et *Bacillus cereus* , ces résultats montrent que l'huile d'origan possède une forte activité antimicrobienne par rapport à l'antibiotique . En revanche nos résultats montrent que *E.coli* , *Pseudomonas aeruginasa* , *Klebcilla pneumonia* , *Salmonella e enteritidis* et *Bacillus cereus* étaient sensible à HEs d'*O.vulgare* et *Enterococcus faecalis* c'est la seule souche bactérienne extrêmement sensible au HE d'*O.vulgare* .

L'étude de LAKHRISSI et al (2015) ont enregistré , la synergie de deux HEs (la marjolaine dans la région de Salé et l'origan dans la région d'Ouazzane possède une très bonne activité contre toutes les bactéries sauf *Pseudomonas aeruginosae* . L'inhibition maximale du mélange de l'huile essentielle était contre *Acinetobacter* (25 mm) , *Staphylococcus aureus* (22 mm) , suivi par les trois autres souches l'*Escherichia coli* ATCC 25921 , *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* . Ces espèces sont très sensibles à la mélange des deux huiles, tandis que *Pseudomonas aeruginosae* présente une résistance à la synergie de deux huiles . Cette étude est en accord avec notre étude pour *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* . D'une part OUEDRHIRI et al (2017) , montre l'effet de combiné binaire entre HEs d'*O.majorana* et *dentata L* , cette combinaison présente une faible activité contre *S. aureus* et la deuxième combinaison est effectué entre HEs *O. marjoram* et *lavender* cette synergie donner un effet additif . Concernant l'effet contre *E. coli*, la combinaison des HEs d'*O.marjoram* et HEs de *lavender* présente un effet antibactérien faible . Les résultats expérimentaux de LAKHRISSI et al (2016) montrent que , la combinaison entre HEs d'*O.majorana* et *O.vulgare* ont une bonne activité contre *Candida albicans* avec un diamètre d'inhibition égale 28mm . Par ailleurs , nos étude montre que *E.coli* ATCC 25922 , *E. faecalis* et *B.cereus* sont très sensible aux combinaison des HEs Origanum et *P. aeruginosa* ATCC27853 et *K.pneumonia* ATCC 700603 sont les seuls souches résistance aux combinaison des HEs .

On pense que l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*O.majorana* et d'*O.vulgare* et la synergie entre les deux huiles probablement due aux compositions chimiques majeures . Ces composés peuvent provoquer l'altération de la paroi cellulaire et des protéines membranaire ou provoquent la dégradation de la membrane plasmique bactérienne . Ainsi, en perturbant le métabolisme cellulaire elles vont affecter les fonctions vitales de la bactérie telles que la respiration ou encore l'équilibre ionique de la cellule bactérienne .

EL-AMRI et al (2014) révèlent que la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, probablement influencée sur l'activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique , mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire ,le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique d'ions (K^+) .et des cations comme H^+ . ou dissipent le gradient

du potassium des cellules bactérienne .Certains composés des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP.

Cela dirigé à réfléchir que les molécules minoritaires sont en conséquence impliquées dans ce processus biologique et qu'un effet synergique ou additif peut avoir leur activité entre les différents composants d'une huile. Des études ont démontré qu'il existe un effet synergétique entre le carvacrol et son précurseur, le p-cymène , contre le *B. cereus* (BOUHDID et al .,2012) .

Conclusion et perspective

Les plantes médicinales et aromatiques sont plus utilisées depuis longtemps puisqu'elles contiennent des composants chimiques possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture.

Notre travail dirigé sur la mise en évidence des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes de deux plantes aromatique contiennent des huiles essentielles comme composé majeurs ou dominant. Ainsi des études préliminaires phytochimiques des extraits aqueuse d'*O.majorana* et d' *O.vulgare* , montrent la présence d'un certain nombre de groupes chimiques tels que les terpènes , les polyphénols , les flavonoïdes et les saponosides et des analyses physicochimique des huiles essentielles ont été effectuées.

L'analyse en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles a montré qu'elles renferment a des composés majeurs .concernant les huiles essentielles d'*O.majorana* sont le Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis (22,22%), Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene (10.74%), Silane, allyl(bornyloxy)methylphenyl (10,00%),(-)-Caryophyllene-(I1) (7,27%) , Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro (5,34%) ,Naphthalene, 1,1'-(1,10 decanediyl)bis[d(3,43%), et Naphthalene, 1,1'-(1,2-ethanediyl)bis[de (3,02%) , et les composees majeur des huiles essentielles *O.vulgare* sont Phénol, 2-méthyl-5-(1- méthylethyl)(65.17%) .

L'étude des effets antioxydante révèle que l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*O.vulgare* est plus grande que l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*O.majorana* . En effet, elles peuvent réagir avec ces radicaux libres , en piégeant , inactivant et stabilisant ces radicaux libres (radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) , anions superoxydes ($\text{O}\cdot$) .

L'ensemble des résultats montrent que les huiles essentielles de l'*O. majorana* et *O. vulgare* sont doués d'activités remarquables . En effet, la stabilisation de la membrane des globules rouges suggère leur possible utilisation comme protecteur non stéroïdienne contre l'inflammation .

L'activité antimicrobienne a été exprimée par diamètre d'inhibition, les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles d'*O.majorana* et *O.vulgare* et la synergie entre eux , possèdent des activités antibactériennes contre la plupart des souches testés avec des zones d'inhibition intéressantes . Les souches très sensibles aux huiles essentielles

d'*O.majorana* sont : *Enterococcus faecalis* , *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 particulièrement . Mais pour l'huile essentielle d'*O.vulgare* tous les souches testées ont été sensibles et pour *Enterococcus faecalis* est extrêmement sensibles . Dans le cas de mélange entre les deux huiles ,les souches très sensibles sont : *E.coli* ATCC 25922 , *Enterococcus faecalis* , *Bacillus cereus* et les souches ont été résistance *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Klebsiella pneumoniae* .

Les résultats obtenus des études *in vitro* : des activités anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles montrent que :

- 🌿 L'étude *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles révèle que les HEs des plantes étudiées représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires (antiseptique) par effet inhibiteur puissant des deux huiles essentielles sur la majorité des souches testées .
- 🌿 Les huiles essentielles étudiée peuvent être utilisés potentiellement comme des agents naturels anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydants contre des maladies humains . Ces agents naturels aideront à résoudre des problèmes de certains microorganismes résistante et limitera les polluants d'environnement issus des industries des médicaments synthétiques.
- 🌿 Cet importante bioactivités des huiles essentielles d'*O.majorana* et *O.vulgare* sont en relation avec leurs compositions chimiques.

La conclusion de cet étude nous a permis de dégager un certains nombres de perspectives faisant suite à ce travail :

- 🌿 Il serait également important de suivre cette étude par des applications *in-vivo* en étudiant la toxicité de ces substances (DL50) , pour guider vers élaboration de certains forme galéniques selon le cas.
- 🌿 Compléter cette étude par d'autres tests afin d'envisager d'autres activités biologiques telles que les activités antimutagène, anticancéreuse et anti-leishmaniose.
- 🌿 De tester d'autre méthodes d'extraction et leur influence sur la composition chimique et leur capacité biologique .

Références bibliographies

AHMED ABD EL MALEK N.,YAGOUBI F Z .(2017)-Etude de l'Activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *l'Origanum majorana* l de la région d'Ain Defla.,mémoire de master., Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.

AIBOUD K ,(2012)-Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *callosbrchus maclatu*(coléoptère :Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des grains de *vigna unguiculata* (L)walp., mémoire de magister .,Université Moulod Mammeri Tizi Ouzou.

AISSANI F.(2015) - Analyse sensorielle de la viande bovine additionnée aux huiles essentielles *Thymus ciliatus* (Zaitra) et *Ammoïdes verticillata* (Nunkha) ., mémoire de magister ., Université Aboubaker Belkaid-Tlemcen.

ALLANE T.(2009)- Etude de pouvoir antioxydant et antibactérien de quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires ., mémoire de magister .Université Badji Mokhtar - Annaba.

AROUI H.,HALLIL T.(2017)-Inhibition de la dénaturation de la sérum albumine bovine essentielles d'Inule visqueuse d'origan et de verveine ., mémoire de master . Université A.MIRA de Bejaia.

ATTOU A. ,(2011)-Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent ., mémoire de magister ., Université Aboubaker Belkaid-Tlemcen.

AYAIDIA B .(2011)- étude comparative de trois variétés d'huiles essentielles de menthe dans la région de Ouargla ., mémoire de magister., Université kasdi marbah ouargla.

BAYALA B.(2014)-Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate .,thèse doctorat ., Université Blaise Pascal .

BEJAOUI A.,CHAABANE H., JEMLI M., BOULILA AN., BOUSSAID M.(2013)-essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* desf. at different phenological stages .,journal of medicinal food.,16 (12) .,1115–1120p.

BEKHECHI C, ATIK-BEKKARA F, ABDELOUAHID D. (2008)-composition et activitéantibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie ., Springer. , N°6 ., 153–159p .

BEKHECHI C.(2008)-Analyses les huiles essentielles de quelque espèces aromatiques de la région de Tlemcen par GC-RI, CC, GC-MS ,RMN et étude leur pouvoir antibactérienne ., thèse doctorat ., Université Abou bakr Belkaïd - Tlemcen.

BENCHIKHA N .,MENACEUR Z B.(2013)- Extraction and antioxydante activité of two species *origanum* plant containing phenolic and flavonoid compounds., journal of fundamental and applied sciences.,5(1) .,120-128p .

BENDIFALLAH L., TCHOULAK Y., DJOUABI M., OUKILI M., GHEZRAOUI R.(2015)- Phytochemical Study and Antimicrobial Activity of *Origanum Vulgare* L. (Lamiaceae) in Boumerdes Mountainous Region (Algeria) .,Journal of Medical and Bioengineering.,. 4(6)., 471-474p.

BEN DOYEM S .2005- Contribution à l'étude de l'hyperfluoruration des eaux souterraines de région d'EL –Oued (souf) et ses conséquences sur la santé humaine., mémoire de magister . Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued .

BOUCHIKHI TZ.(2011)-Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles., thèse doctorat .,Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen.

BOUDJOUREF M. (2011)-Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L., mémoire de magister .,Université Ferhat Abbes, Sétif .

BOUHADDOUDA N. (2016)- Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* .,thèse doctorat ., Université Badji Mokhtar -Annaba.

BOUHADDOUDA N.AOUADI S., LABIOD R.,(2016)-evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of *origanum vulgare* l. ssp. *glandulosum* (desf.) from Algeria ., international journal of pharmacognosy and phytochemical research., 8(1).,104-112p.

BOULANGER T .2017-pharmacologie: anti-inflammatoires.,IFSI .

BOULIFA K.2015-Synthèse hydrogéologique sur la region d'El-Oued Sahara nord oriental – Est Algérien., mémoire de master . Université Constantine 1.

BOUKEZATA A.(2014)-La Composition chimique et l'activité antibactérienne d'une plante Algérienne (*Bunium Incrassatum*)., mémoire de magister ., Université Ferhat Abbas, Sétif 1 .

- BOUKHATEM M N, HAMAIDI M S, SAIDI F, HAKIM Y. (2010)- Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie), *Nature & Technologie*, 3, 37-45p.
- BOUYAHYA A., ABRINI J., BAKRI Y., DAKKA N. (2016)-Les huiles essentielles comme agents anticancéreux : actualité sur le mode d'action. , *Phytothérapie*. DOI 10.1007/s10298-016-1058.
- BOUZAID M., CHATOUI R., LATRACHE H., HASIB A. (2016)-Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (MAROC) *Rev Microbiol Ind San et Environn*., 10(1) ., 1-12p .
- BOUZIANE M. (2015)-Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicinal. , thèse doctorant ., Université Kasdi Merbah - Ouargla.
- BRESSAN WALLER S., MARTINS MADRID I., FERRAZ V., PICOLI T. (2016)- Cytotoxicity and anti-Sporothrix brasiliensis activity of the *Origanum majorana* Linn. Oil., *brazilian journal of microbiology*, (47), 896–901p.
- BURCELIN R., LAURENCE Z., GUILLAUME F. (2016)- microbiote intestinal (flore intestinale) ., *inserm* .
- CAILLAUD M A. (2013)-étude de l'espèce *Origanum vulgare* L , thèse doctorant ., . Université Nantes.
- CHACHA H., MAYOU H. (2015)- étude des risques liés à la phytothérapie traditionnelle dans la région de Ouargla ., mémoire de magister ., Université kasdi marbah Ouargla.
- CHICKOUNE A. (2007)-Huiles essentielles de thym et d'Origan étude de composition , de l'activité antioxydant antimicrobienne ., mémoire de magister. Institut nationale agronomique El Harrach- Alger .
- CHIKHI I. (2014)-composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie. , thèse doctorat ., Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen.
- CHOUITAH O. (2012)-Composition chimique et activité anti bactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* . thèse doctorat ., Université- Oran .
- COCCIMIGLIO J., ALIPOUR M., JIANG Z., GOTTARDO C., SUNTRES Z. (2016)- Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of the ethanolic *origanum vulgare* extract and its major constituents ., *oxidative medicine and cellular longevity*, 1-8p.

- DAHMANE T.(2011)-Contribution à l'étude de l'activité Nématocide de quelques extraits de plantes contre *Meloidogyne incognita* (white et kofoid,1919)chitwood 1949(Nematoda :Meloidogynidae) ., mémoire de magister .Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach- Alger .
- DANTA S., KLEIN-JÚNIOR L., MACHADOM., GUECHEVA T, DOS SANTOS L.(2016)-*origanum majorana* essential oil lacks mutagenic activity in the salmonella/microsome and micronucleus assays .,the scientific world journal.,1-8p.
- DELERME C., DESMARES C .,LAURENTA .(2008)-Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles .,afssps.,France .
- DIPALI S., SHIV KUMAR J, KAMAKSHI S., KRATIKA N.(2016)-*origanum majorana*: a potential herb for functional food european journal of pharmaceutical and medical research .,(3)2., 321-325p.
- DJAHRA A B .(2014)-Etude phytochimique et activitéantimicrobienne ,antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L.,thèse doctorat ., Université Badji Mokhtar - Annaba.
- DJAHRA A .(2010)-Activité bactéricide des flavonoides et des tanins extraits d'une plante médicinale spontanée le Marrube blanc : *Marrubium vulgare* L. de la région de Chefia Wilaya d'EL Taref (Nord-Est algérien)., mémoire de magister .,Université Badji Mokhtar - Annaba.
- EL BRAHIMI R.(2014)- Caractérisation morphologique et phénologique de quelques accessions d'*Origanum compactum* ., mémoire de magister .,Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.
- FATHY M., SOLIMAN., MIRIAM F., YOUSIF., SOUMAYA S. ZAGHLOUL. (2009)-seasonal variation in the essential oil composition of *origanum majorana* l. cultivated in Egypt ., naturforsch. ,(64)., 611 – 614p.
- FIGUEREDO G.(2007)- Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne., thèse doctorat ., Université Blaise Pascal.
- GADAMSETTY G., MARU S., TYAGI A., CHAKRAVARTHULA S N.(2013)- anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant effects of methanolic extracts of *drypetes sepiaria* (euphorbiaceae)., afr j tradit complement altern med., 10(5).,274-282p.
- GARAIT B.(2006)- Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® .,thèse doctorat ., Université Joseph Fourier.

- GHARBI S., ZEGHIB K. (2016)- L'effet de l'*Aquilaria malaccensis* et l'*Aristolochia longa* sur la toxicité de plomb chez les rattes Wistar., mémoire de master., Université Echahid Hamma Lakhdar -El Oued .
- GOETZ P.(2012)- *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) :*Origan commun*.,Phytothérapie anti-infectieuse.,Springer-Verlag France, Paris.,327-328p.,
- GONG HY., LIUD WH., LV GY., ZHOUE X.(2014)-Analysis of essential oils of *origanum vulgare* from six production areas of china and pakistan sociedade brasileira de Farmacognosia (24)., 25-32p.
- GOUDJIL M B. (2016)-Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques., thèse doctorat., Université kasdi marbah Ouargla.
- GUERRA-BOONE L., ALVAREZ-ROMÁN R., SALAZAR-ARANDA R.(2015)-antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of thymus vulgaris, and *origanum majorana* from northeastern méxico.,pak. j. pharm. sci., 28(1), 363-369 p.
- GRONEMEYER H, GUSTAFSSON JA, LAUDET V. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. Nat Rev Drug Discov 2004, 3 : 950-964
- HADJ MOUSSA A.(2012)-Contribution à l'étude in vitro de l'effet des extraits de feuilles de Retama raetam sur l'activité de l' α -amylase., mémoire de magister., Université Abou Beker Belkaid-Tlemcen .
- HAZZIT M., BENCHABANE A., BAALIOUAMER A., ALLOUN K., KACI M.2015-Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles de la rue des montagnes (*ruta montana* l.) recherche agronomique (27),118-129p.
- HENI S.(2016)-Sélection d'extraits bio-actifs des espèces du genre *Thymus* comme conservateurs antibactériens naturels.,thèse doctorat., Université Badji Mokhtar -Annaba..
- HILAN C., SFEIR R., AITOUR S.(2011)-chimiotypes de plantes communes au liban du genre *origanum* et du genre *micromeria* (lamiaceae) .,lebanese science journal, (12)1., 79-91p .
- HUSSAIN I., ANWAR F.,RASHEED S., NIGAM P., JANNEH O., SARKER S.(2011)-composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in pakistan., brazilian journal of pharmacognosy.,1-11p.
- JNAID Y., YACOUB R.,AL-BISKI F.(2016)-Antioxidant and antimicrobial activities of *Origanum vulgare* essential oil.,International Food Research Journal 23(4).,1706-1710p.

JOUAULT S.(2012)-la qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité ,thèse doctorat ., Université de Lorraine .

KACANIOVA M., TERENTJEVA M., VUKOVIC N., PUCHALSKI C.,ROYCHOUDHURY S., KUNOVA S ., KLUGA A ., TOKAR M .(2017)-the antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against pseudomonas spp. isolated from fish. saudi pharmaceutical journal ., (25) ., 1108–1116p.

KAHOULI I.(2010)-effet antioxydant d'extraits de plantes (*Laurus nobilis L.*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea L.*) dans l'huile de canola chauffée., mémoire de magister . Université Laval.

KANOUN K .(2010)-Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de tlemcen (honaine),, mémoire de magister .,Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

KACI M.(2015)- composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles de la rue des montagnes (*ruta montana l.*) recherche agronomique (27) ,118-129p .

KESBI A. (2011)-étude des propriétés physicochimique et évaluation l'activite biologique des huiles éssentielles d'*eucalyptus globulus* dans la région de ouargla ., mémoire de magister . , Université kasdi marbah Ouargla.

KHEBICHAT A .(2013)-evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des cendres de bois du chêne vert «kourriche ou ballout »(*quercus ilex*) ., mémoire de magister ., Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

KHOLKHAL F.(2014)- Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ,ssp *coloratus* et ssp *euciliatus* .,thèse doctorat ., Université Aboubekr Belkaid Tlemcen .

KUETE V., PENLAP BENG V ., ETOA F X ., MODJO S L ., BOGNE P.(2004)- Activités antimicrobiennes de l'extrait total et des fractions de jus de fruit de *citrus medicalin* (rutaceae) .,Pharm Méd Trad Afr ., (13) .,91-101p .

LABIOD R.(2016)-Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide .,thèse doctorat ., Université Badji Mokhtar -Annaba .

LAIB I.(2011)-Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs ., mémoire de magister . Université Mentouri Constantine.

LAIB I .,BARKAT M .(2011) -composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. Agriculture,(2).89-101p .

LAKHDAR L .(2015)-Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* :Etude in vitro .,thèse doctorat ., Université Mohammed V Rabat.

LAKHRISSI B., BOUKHRAZ A., BARRAHI M., EL HARTITI H., OUHSSINE M.(2016)-antifungal activity of essential oil of oregano (*origanum vulgare*), *marjoram* (*origanum majorana*) and synergy of two essential oils against *candida albicans* ., international journal of research studies in science, engineering and technology ., 3(12)., 14-17p.

LANSEUR R .(2017)- Evaluation in-vitro des activités anti-oxydante et antiinflammatoire des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* et *Rosmarinus officinalis* seules et en combinaison .,mémoire de master., Université Abderrahmane Mira de Bejaia.

LARABA M , SERRAT A, OUASSAA G. (2016)-Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinales., Université des Frères Mentouri Constantine.

LARDRY J .,H ABERKORN V.(2007)-L'aromathérapie et les huiles essentielles. kinesither .,(61),14-7p.

LEMAOUI A .(2011)- Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa*.L Algérienne., mémoire de magister., Université Ferhat Abbas-Setif.

LEVERVS X., COSNES J., EMY P., HASSELMANN.(2011)-Traité de nutrition artificielle de l'adulte (2^e éd) .,France Springer-Verlag .

LINGAPPAN K .(2018)-NF-k B in oxidative stress. Current Opinion in Toxicology (7), 81–86p. doi. org/10. 1016/j.cotox.2017.1 1.002.

LOGRADA T. (2010) -etude caryologique et phytochimique de six espèces endémiques du genre *Genista* L en Algérie ., thèse doctorat .,Université Ferhat Abbas -Setif .

MECHERGUI K ., JAOUADI W., COELHO J., SERRA M.C ., KHOUJA M.L .(2015)-biological activities and oil properties of *origanum glandulosum* desf ., lavoisier.,2-8p.

MOHAMMEDI Z.(2006)-étude de pouvoir antimicrobiens et antioxydants des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen., thèse doctorat ., Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

NIETO G.(2017)- Biological activities of three essential oils of the lamiaceae family., medicines ., (4) 63.,2-10p.

NOUIOUA W .(2012)-Biodiversite et ressources phytogenetiques d'un ecosysteme forestier « *paeonia mascula (l.) mill.* » ., Université Ferhat Abbas -Setif.

NURZYŃSKA-WIERDAK N.(2012)- Lebiodka pospolita (*Origanum vulgare*L.) – dziko rosnąca uprawiana roślina zielarska., Annales.,22(4),1-11p.

OBAME ENGONGA L.(2009)-Etude Phytochimique, Activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines .thèse doctorat en biochimie microbiologie. mémoire de magister. Université Ouagadougou .

OUELHADJ A., AIT SALEM L ., DJENANE D.(2017)-Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *pelargonium x asperum* et son potentiel synergique avec la nisine . phytothérapie. doi 10.1007/s10298-017-1164-6.

OUIS N.(2015)-Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre ,de fenouil ,et de persil .,thèse doctorat ., Université Oran1.

PADULOSI S. (1997)-Oregano. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops .,Institute of Plant Genetics and Crop Plant research, International Plant Genetic Resources Institute IPGRI Rome, Italy.

PAUL I .(2001)- Dorling Kindersley Limited, Londres ., 2^{eme} Ed .,la rousse encyclopédie des plantes médicinales., Londres.

PELISSIER E.(2012).Brioche tue plus que le cholestérol (La): Combattre l'inflammation. Paris . Odile ,Septembre .soufflot .

PHARMACOPEE FRANÇAISE .(2016)- *origanum majorana* pour préparations homéopathiques .1-4p .

PHARMACOPEE FRANÇAISE.(1989)- *origanum majorana* pour préparations homéopathiques .1-2p

POIROT T .(2016)-Bon usage des huiles essentielles ,effets indésirables et toxicologie .,thèse doctorat .,Université de Lorraine.

RHOURLI-FRIH B .(2009)-Analyse, classification et caractérisation de résines d'Origine végétale par chromatographie et spectrométrie de masse ., mémoire de magister . Université d'Orléans.

SAID HASSANE S O.,SATRANI B .,GHANMI M ., MANSOURI N., MOHAMED H., CHAOUCH A. (2011)-Activités antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de *Plectranthus aromaticus* Roxb de l'Ile de la Grande comore.,biotechnol ,Agro,Soc,Environ .,15(2) .,251-258 p.

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

SAIMI A . (2014)-contribution à l'évaluation de la sensibilité d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires aux quinolones et au extrait d'*Origanum glandulosum* et *cynoglossum cheirifolium* ., mémoire de magister.,Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.

SAKKAS H ., PAPADOPOULOU C.(2017)-Antimicrobial Activity of Basil, oregano, and Thyme Essential Oils., J. Microbiol. Biotechnol., 27(3), 429–438p

SAMATE AD .(2002)-Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du burkina faso: valorisation .,thèse doctorat ., Université de Ouagadougou.

SANJU B., SANJU D .,PINDER P.,(2016)-Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts., 2(4).,168-174p.

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

SCHAAL S .(2010)-Les plantes médicinales des pelouses calcaires de la réserve naturelle de Montenach (57) .,thèse doctorat ., Université Henri Poincare – Nancy 1.

SHAROPOV F., SANTHOSH BRAUN M., GULMURODOV I., KHALIFAEV D.(2015)-antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of essential oils of selected aromatic plants from tajikistan .,foods .,(4);., 645-653p.

- SIBOUKEUR H W.(2013)-Valorisation des huiles essentielles : Cas de l'utilisation de l'huile de cade dans les eaux ., mémoire de magister., Université kasdi marbah Ouargla.
- SILVA L, SILVA M, OLIVEIRA D, GONC M, CAVALEIRO C, SALGUEIRO L .,PINTO E .(2012)-correlation of the chemical composition of essential oils from *origanum vulgare* subsp. *virens* with their in vitro activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi., *journal of medical microbiology* .,(61)., 252–260p.
- SIMONNET X., QUENNOZ M., BELLENOT D., PASQUIER B .(2011)-évaluation agronomique et chimique de différentes espèces d'origan. suisse viticulture, Arboriculture, Horticulture .,(43)6. ,344–349p.
- SOLIMAN MF., YOUSIF M.,ZAGHLOUL S, OKBA M.(2009)- Seasonal variation in the essential oil composition of *Origanum majorana* L cultivated in egypt., *naturforsch.*,(64)., 611- 614p.
- SUTOUR S .(2010)-Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats., mémoire de magister . ,Université de Corse Pascal Paoli.
- TAHRAOUI F .(2014)-Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante d'extraits de *Pituranthos scoparius* (*Guezzah*) par la méthode de réduction du fer : FRAP., mémoire de magister . , Université Aboubekr Belkaid Tlemcen.
- TOTY A.,GUESSENND N., BAHY C., KRA A M., OTOKORE D A., DOSSO M.(2013)-Évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana Madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes ., *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*,(82)., 12 -21p .
- TOURE D .(2015)-Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'ivoire .,thèse doctorat ., Université Felix Houphouët-Boigny.
- VASUDEVA P ., VASUDEVA N.(2015)-*Origanum majorana* L. phyto-pharmacological., *Indian journal of Natural Products and Resources*,6(4).,261-267p.
- YAHY N., VELA E., BENHOUHOU S., DE BELAIR G. , GHARZOULI R.(2012)-Identifying Important Plants Areas (Key Biodiversity Areas for Plants) in northern Algeria., *Jott communication* .,4(8).,2753–2765p.

ZENSANI L.(2014)- Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne .,thèse doctorat .,Université Mohammed V – Agdal .

Annexes 01: Les compositions chimiques des huiles essentielles d'*Origanum majorana* et d'*Origanum vulgare* identifiées par GC/MS

Tableau 01: Composition chimique de l'huile essentielle d'*Origanum majorana*

N° de composant	Nom de composant	Tr(min)	Area (%)
2	.alpha.-Phellandrene	6.013	1.80
3	Phosphoric acid, tribornyl e	7.6404	0.77
4	Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis	8.489	22.22
6	Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene	8.608	10.74
7	Phosphoric acid, tribornyl ester	8.903	10.84
11	Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis[d	9.669	1.42
12	2,6,10,15-Tetramethyl-17-(1,4,4-trimethy	11.567	1.57
13	Silane, allyl(bornyloxy)methylphenyl	11.857	10.00
14	Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis[d	11.973	3.43
15	2,2-Dimethyl-3-[3-methyl-5-(phenylthio)p	12.128	0.31
16	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)	12.343	0.18
17	Bicyclo[2.2.2]octane, 1-bromo-4-methyl	12.436	0.13
18	Bornyl acetate	12.501	0.88
20	gamma.-Elemene	13.335	0.88
21	Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene	13.897	1.49
22	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-, aceta	14.097	0.37
23	Naphthalene, 1,1'-(1,2-ethanediyl)bis[de	14.367	3.02
24	7,9-Dimethyl-8-nitrobicyclo[4.3.1]decan	14.943	0.23
25	1H-Benzocycloheptene, 2,4a,5,6,7,8,9,9a	14.994	0.11
26	(-)-Caryophyllene-(I1)	15.270	7.27
27	1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-	15.565	0.38
28	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-d	15.691	0.03
29	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetram	15.923	0.40
31	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-me	16.411	0.24
32	1-Cyclohexanone,3,3-dimethyl-2-[5-methox	16.509	0.12
33	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,	16.637	0.40
34	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro	16.826	5.34
35	7-Tetracyclo[6.2.1.0(3.8)0(3.9)]undecano	16.934	0.04
36	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro	17.079	0.02
37	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-	17.150	0.14
38	1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,6,7,8,8a-hex	18.178	0.03
39	(-)-Spathulenol	18.363	1.81

41	1R,4S,7S,11R-2,2,4,8-Tetramethyltricyclo	18.680	0.47
42	1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1	18.847	0.46
43	2-Naphthalenemethanol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-	19.045	0.21
44	(-)-Spathulenol	19.143	0.13
45	2-Naphthalenemethanol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-	19.358	0.17
46	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1	19.587	0.58
47	.gamma.-Gurjunenepoxide-(2)	19.695	0.33
48	7R,8R-8-Hydroxy-4-isopropylidene-7-methy	19.860	0.09
49	tau.-Muulolol	19.973	0.11
50	7R,8R-8-Hydroxy-4-isopropylidene-7-methy	20.046	0.12
51	1H-Indene, 5-butyl-6-hexyloctahydro	20.215	0.92
52	alpha.-Bisabolol	20.428	0.25
53	Carotol	20.728	0.02
54	6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,	21.128	0.03
55	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,	21.372	1.16
56	9.beta.-Acetoxy-3.beta.-hydroxy-3,5.alph	21.817	1.18
57	1-(Prop-2-enyloxy)-2-(prop-2-enyl)-4,5-m	21.947	0.19
58	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	22.887	0.09
59	Spirostan, 23,24-epoxy-, (5.alpha.,25S)-	23.094	0.01
60	Aromadendrene oxide-(2)	23.339	0.05
61	4,4-Dimethyladamantan-2-ol	23.443	0.11
63	4,8,13-Cyclotetradecatriene-1,3-diol, 1,	24.215	0.05
64	2,2-Dimethyl-3-(3,7,16,20-tetramethyl-he	24.580	0.02
65	Hexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol, 3,7,11,	24.905	0.01
66	Octadecanoic acid	25.242	0.43
68	Benzene, 1,4-bis(1-methoxycarbonylethyl)	25.558	0.07
69	1H-Indene, 5-butyl-6-hexyloctahydro	25.665	0.04
70	Naphthalene, decahydro-1,1,4a-trimethyl	25.896	0.03
71	7-Isopropyl-1,1,4a-trimethyl-1,2,3,4,4a,	26.592	0.04
72	1,3,5-Cycloheptatriene, 2,4-di-t-butyl-7	26.843	0.04
73	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	27.191	0.07
74	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl est	28.006	0.70
75	Hexadecanoic acid, 1a,2,5,5a,6,9,10,10a	28.222	0.17
76	9-Octadecenoic acid (Z)-, 3-[(1-oxohexad	28.311	0.19

77	5.alpha.-Pregn-16-en-20-one, 3.beta.,12.	29.005	0.07
78	1,3-Dioxane, 4-(hexadecyloxy)-2-pentadec	29.722	0.27
79	Octadecane, 1-[2-(hexadecyloxy)ethoxy]-	31.086	0.36
80	Ethanol, 2-(octadecyloxy)-	32.407	0.37
81	1,3-Dioxane, 5-(hexadecyloxy)-2-pentadec	33.694	0.38
TOTAL/15.647			99.56%

Tableau 02 : Composition chimique des huiles essentielles d'Origanum vulgare

N°de composant	Nom de composant	Tr(min)	Continent(%)
1	8,11,14-Eicosatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	5.030	0.04
2	9,10-Secocholesta-5,7,10(19)-triene-1,3-	5.161	0.59
3	11-Hexadecyn-1-ol	6.128	0.37
4	3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 1,3,4-tr	7.271	0.20
5	Isoborneol	7.665	0.20
6	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methyle	7.817	0.62
7	Methane, [(1-ethynylcyclohexyl)oxy]metho	7.960	0.15
8	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha	8.284	0.59
9	1-(1-Ethyl-2,3-dimethyl-cyclopent-2-enyl	8.398	0.67
10	Isobornyl thiocynoacetate	8.560	0.25
11	Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methyle	9.161	0.41
12	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methyle	9.416	0.51
13	Thymol	10.952	0.95
14	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	11.217	21.71
15	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	11.446	65.17
16	Phenol, 2,3,5,6-tetramethyl	12.173	0.01
17	Phenol, 2,3,5,6-tetramethyl	12.190	0.03
18	Cyclohexanone, 2-(2-butynyl)-	12.759	0.05
19	Phenol, 2-ethyl-4,5-dimethyl	12.835	0.66
20	3-Methyl-4-isopropylphenol	13.029	1.04
21	Phenol, 2-(2-methyl-2-propenyl)	13.686	0.08
22	Caryophyllene	14.092	0.55
23	Caryophyllene	14.320	0.05
24	alpha.-Caryophyllene	14.965	0.03
25	Cyclohexanone, 2,3-dimethyl-2-(3-oxobuty	15.796	1.03
26	3-Cyclopentylpropionic acid, 3-pentadecy	15.900	0.19
27	8-Oxabicyclo[5.1.0]oct-5-en-2-ol, 1,4,4-	15.917	0.51
28	1H-Benzocycloheptene, 2,4a,5,6,7,8,9,9a	16.089	0.75
29	Caryophyllene oxide	17.917	0.23
30	1H-Benzocyclohepten-7-ol, 2,3,4,4a,5,6,7	18.070	0.02
31	5-Hepten-3-yn-2-ol, 6-methyl-5-(1-methyl	18.160	0.01
32	1,2-Benzenediol, 4-(1,1-dimethylethyl)-	18.239	0.03
33	5-Hepten-3-yn-2-ol, 6-methyl-5-(1-methyl	18.314	0.01
34	Pentadecanoic acid	25.144	0.47

35	Linoleic acid ethyl ester	27.923	0.85
36	Linoleic acid ethyl ester	28.165	0.15
37	Linoleic acid ethyl ester	28.186	0.25
38	Linoleic acid ethyl ester	28.337	0.12
39	Linoleic acid ethyl ester	28.440	0.09
40	7-Methyl-Z-tetradecen-1-ol acetate	28.535	0.04
41	Linoleic acid ethyl ester	28.621	0.1
TOTAL/89. 4			99.78%

Annexes 02 : Photos représentant les résultats de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Origanum majorana* et *Origanum vulgare*

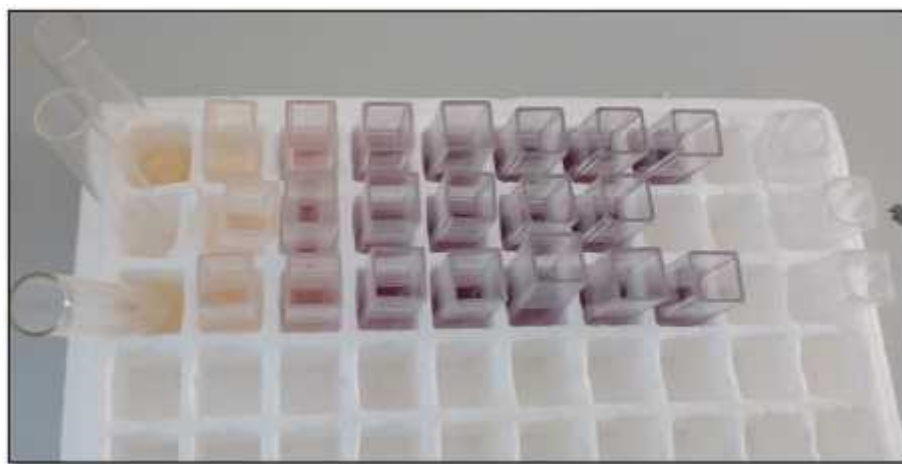


Figure 01: Réduction de radical libre DPPH·

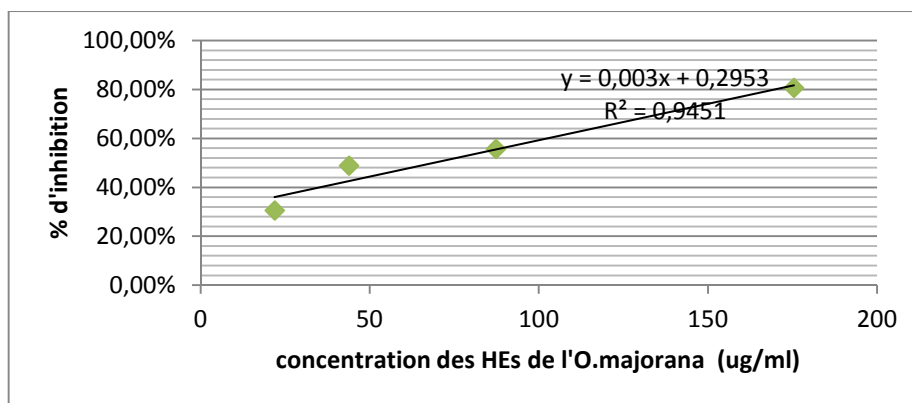


Figure 02 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'huiles essentielles d'*O .majorana*

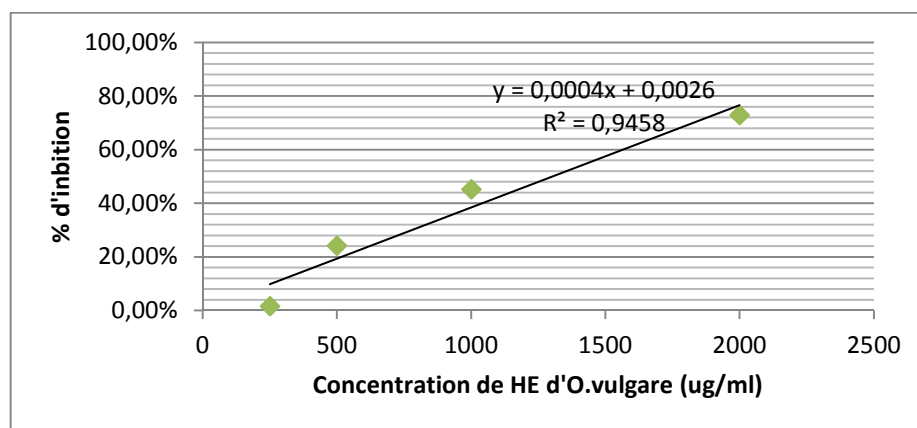


Figure 02 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations d'huile essentielle d'*O.vulgare*

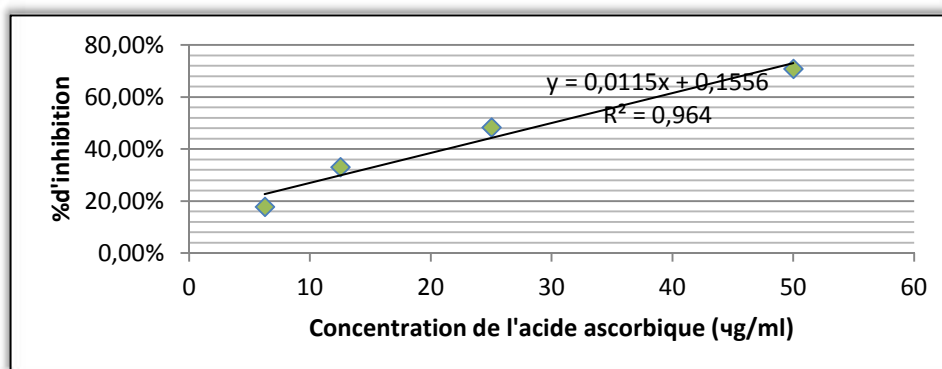


Figure 03 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de Vitamine C

ANNEXE 03 : Photos représentant les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum majorana* et d'*Origanum vulgare*



Figure 01 :Photo représentant la sensibilité *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70060 à l'huile essentielle d'*Origanum majorana*



Figure 02 :Photo représentant la sensibilité *Pseudomonas aeruginosa* à l'huile essentielle d'*Origanum majorana*



Figure 03: Photo représentant la sensibilité *salmonella enteritidis* à l'huile essentielle d'*Origanum majorana*



Figure 04 : Photo représentant la sensibilité *salmonella enteritidis* à l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*



Figure 04 : Photo représentant la sensibilité *salmonella enteritidis* à l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*



Figure 05 : Photo représentant la sensibilité *Enterococcus faecalis* à l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*