



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

**BOUHENNI Rania Chahinez**

**BENSLIMANE Chaimaa**

Thème

**Evaluation d'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles et d'hydrolat de la Sauge « *Salvia officinalis* L. »**

Soutenu publiquement le 23-09-2021

**Jury:**

**Président: Dr. YEZLI Wassim**

**Encadrant: Dr. DOUKANI Koula**

**Co-encadrant: M<sup>elle</sup>. BOUHENNI Hasna**

**Examineur : Dr. BOUMEZRAG Assia**

**Grade**

**MCA**

**Pr**

**Doctorante**

**MCA**

**Année universitaire 2020-2021**

## ***Remerciements***

Premièrement, nous remercions (*ALLAH*) d'avoir facilité toutes les tâches avant d'arriver au terme de ce travail.

"يا ربي لك الحمد حتى ترضى، ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا"

Nous voudrions à remercier vivement notre encadrante **Pr. DOUKANI Koula**, qui a orienté cette recherche jusqu'au bout. Nous la remercions pour son aide, sa confiance, sa gentillesse, sa disponibilité, ses qualités humaines et ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments. Merci de nous avoir guidées avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce mémoire, on exprime notre respect et notre gratitude.

Nous remercions aussi notre Co-encadrante **M<sup>elle</sup> BOUHENNI Hasna** pour ses conseils, ses orientations, sa bienveillance, sa confiance, son encadrement scientifique et humain et sa disponibilité qui nous a permis de mener à bien cette passionnante étude.

Nous exprimons notre gratitude, notre reconnaissance et notre remerciement à **Dr. YEZLI Wassim** qui a accepté de présider ce jury et à **Dr. BOUMEZRAG Assia** qui nous a fait l'honneur d'être l'examinatrice de ce travail. Leurs remarques et leurs suggestions seront sans aucun doute très utiles pour ce travail. C'est un honneur et un immense plaisir de présenter ce travail devant vous.

Nous remercions **Dr. AIT HAMMOU Mohamed**, botaniste à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret qui a accepté de nous diriger et orienter surtout dans l'identification de la plante étudiée.

Nous présentons un spécial remerciement à notre enseignant **Dr. HOCINE Laredj**, chef de la spécialité Microbiologie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Nous désirons aussi remercier les professeurs de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, en particulier ceux de la spécialité Microbiologie Appliquée qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires.

Nous n'aurons terminé cette série de remerciements sans penser à tous ceux qui de près ou de loin nous ont aidé et soutenu au cours de la réalisation de ce travail, recevez nos remerciements sincères.

## *Dédicaces*

### *Je dédie ce modeste travail*

A mes chers *Parents* qui m'ont doté d'une éducation digne qui m'ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. A ma très chère *Maman* qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance. A mon très cher *Père*, qui est toujours à mes côtés, merci pour votre soutien et surtout pour l'amour pur, sincère et inconditionnel que seul tu bien m'apporté. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection. Mes chers parents, j'espère de tout cœur vous rendre fière de moi qu'*ALLAH* vous garde pour moi.

A mon cher frère « *Iyes* », mes chères sœurs jumelles « *Nedjda et Abir* », ma chère *Tante* et mon ami *Dr. Bouzid* qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A Ma chère sœur *M<sup>lle</sup> Touahria Zineb*, pour son aide précieux.  
A mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.  
A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.  
A tous ceux que j'aime.

*Rania Chahinez*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers PARENTS,*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime,  
ma  
reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier  
pour  
tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à  
présents.

Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie.

*A mes chers frères et mes adorables sœurs*

qu'aucun mot ne pourra décrire leur dévouement et leur  
soutien pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.  
À travers ce travail je vous témoigne mon amour et ma gratitude.

*Mes profonds remerciements sont adressés à mes très  
chères amies, que l'amitié sincère nous a liées, en témoignant  
les bons moments passés ensemble.*

*A Toutes les personnes qui ont cru en moi, qui m'encouragent, qui  
m'aiment et qui me donnent toujours l'envie d'aller en avant.*

*Merci à vous*

*Phaimaa*

## Table des Matières

Liste des abréviations .....	i
Liste des figures .....	iii
Liste des tableaux .....	iv
Liste des annexes .....	v

Introduction

### Première partie : Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : Huiles essentielles

I.1. Définition .....	3
I.2. Composition chimique .....	3
I.3. Activités biologiques .....	3
I.3.1. Activité antibactérienne .....	4
I.3.2. Activité antifongique .....	5
I.3.3. Activité antioxydante .....	5
I.4. Extraction des huiles essentielles .....	6
I.4.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	6
I.4.2. Extraction par Hydrodiffusion .....	6
I.4.3. Extraction par expression à froid .....	7
I.4.4. Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	7
I.4.5. Extraction aux solvants organiques .....	7
I.4.6. Hydrodistillation par micro-ondes .....	8
I.4.7. Extraction par enfleurage .....	8
I.4.8. Extraction par Hydrodistillation .....	8

#### Chapitre II : Hydrolats

II.1. Définition .....	9
II.2. Composition chimique .....	9
II.3. Utilisations .....	9
II.3.1. En cosmétologie .....	9
II.3.2. En médecine .....	10
II.3.3. En cuisine .....	10
II.4. Activités biologiques .....	10

II.4.1.	Activité antibactérienne .....	10
II.4.2.	Activité antioxydante .....	11
II.4.3.	Activité antifongique .....	11

## Deuxième partie : Partie expérimentale

### Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1.	Objectifs .....	13
I.2.	Lieu et période de travail .....	13
I.3.	Matériel .....	13
I.3.1.	Matériel végétal .....	13
I.3.1.1.	Généralités .....	13
I.3.1.2.	Description botanique .....	14
I.3.1.3.	Systematique .....	15
I.3.1.4.	Répartition géographique .....	15
I.3.1.5.	Propriétés .....	15
I.3.1.6.	Préparation de l'échantillon .....	16
I.3.2.	Matériel biologique.....	17
I.3.2.1.	<i>Escherichia coli</i> .....	18
I.3.2.2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	19
I.3.2.3.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
I.3.2.4.	<i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	22
I.3.3.	Matériels du laboratoire .....	24
I.4.	Méthodes .....	25
I.4.1.	Méthode d'extraction .....	25
I.4.2.	Analyses phytochimiques .....	26
I.4.2.1.	Dosage des polyphénols totaux .....	30
I.4.2.2.	Dosage des flavonoïdes .....	32
I.4.2.3.	Dosage des tanins condensés .....	33
I.4.2.4.	Dosage des tanins hydrolysables .....	33
I.4.3.	Evaluation du pouvoir antioxydant .....	34
I.4.4.	Activité antibactérienne .....	36
I.4.4.1.	Choix des souches bactériennes .....	36

I.4.4.2.	Choix des milieux de culture .....	36
I.4.4.3.	Mode opératoire .....	36
I.4.4.4.	Antibiogramme .....	37
I.4.4.5.	Aromatogramme « Diffusion en milieu gélosé (disques) » .....	39
I.4.4.6.	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice « CMI » .....	40
I.4.4.7.	Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide « CMB » .....	40
I.5.	Traitement statistique .....	41

## **Chapitre II : Résultats et Discussion**

II.1.	Caractères organoleptiques de l'huile essentielles et hydrolat extraits .....	42
II.2.	Taux d'humidité .....	42
II.3.	Rendement .....	43
II.4.	Analyse phytochimique .....	45
II.4.1.	Polyphénols totaux .....	45
II.4.2.	Flavonoïdes .....	46
II.4.3.	Tanins .....	47
II.5.	Activité antioxydante .....	49
II.6.	Activité antibactérienne .....	53
II.6.1.	Test d'antibiogramme .....	53
II.6.2.	Test d'aromatogramme .....	54
II.6.2.1.	Huile essentielle .....	54
II.6.2.2.	Hydrolat .....	56
II.6.3.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	57
II.6.3.1.	Huile essentielle .....	57
II.6.3.2.	Hydrolat .....	60
Conclusion	.....	63
Références bibliographiques	.....	65
Annexes	.....	86

## Liste des abréviations

<b>AFC</b>	: Phénolcarboxyliques
<b>AMPc</b>	: Adénosine monophosphate cyclique (AMP cyclique)
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Collection
<b>BHA</b>	: Butylhydroxyanisole
<b>BHT</b>	: Butylhydroxytolène
<b>CA</b>	: Comité de l'Antibiogramme
<b>CGMS</b>	: Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectroscopie de Masse
<b>CMB</b>	: Concentration minimale bactéricide
<b>CMI</b>	: Concentration minimale inhibitrice
<b>CS</b>	: Colistine
<b>Da</b>	: Daltons
<b>DMSO</b>	: Diméthylsulfoxyde
<b>DPPH</b>	: 1,1- Diphényl-2-picryl-hydrazyle
<b>DZI</b>	: Diamètre de zone d'inhibition
<b><i>E. coli</i></b>	: <i>Esherichia coli</i>
<b>EAG</b>	: Equivalent Acide Gallique
<b>EAT</b>	: Equivalent Acide Tannique
<b>EC</b>	: Equivalent Catéchol
<b>EQ</b>	: Equivalent Quercétine
<b>G-</b>	: Gram négatif
<b>G+</b>	: Gram positif
<b>HA</b>	: Hydrolat aromatique
<b>HD</b>	: Hydrolat
<b>HE</b>	: Huile essentielle
<b>I %</b>	: Pourcentage d'inhibition
<b>IC<sub>50</sub></b>	: Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
<b>LPS</b>	: Lipo-Poly-Saccharide
<b>MH</b>	: Mueller-Hinton
<b>MS</b>	: Matière sèche

<b>MT</b>	: Métronidazole
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>PA</b>	: Principes actifs
<b>Rdt</b>	: Rendement
<b><i>S. aureus</i></b>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<b><i>S. epidermidis</i></b>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<b><i>S. officinalis</i></b>	: <i>Salvia officinalis</i>
<b>SFM</b>	: Société Française de la Microbiologie
<b>SM</b>	: Solution mère
<b>STR</b>	: Streptomycine
<b>TE</b>	: Tétracycline
<b>TF</b>	: Taux des flavonoïdes
<b>TP</b>	: Taux des polyphénols
<b>UI</b>	: Unité Internationale
<b>Z</b>	: Zone

## Liste des figures

<b>Figure n°01 :</b>	Préparation de la matière végétale .....	17
<b>Figure n°02 :</b>	Organigramme général du plan de travail .....	25
<b>Figure n°03 :</b>	Hydrodistillateur de type Clevenger .....	26
<b>Figure n°04 :</b>	Structure de quelques composés phénoliques .....	27
<b>Figure n°05 :</b>	Structure chimique des flavonoïdes .....	28
<b>Figure n°06 :</b>	Structure de l'acide gallique .....	30
<b>Figure n°07 :</b>	Structure des tanins condensés .....	30
<b>Figure n°08 :</b>	Préparation des différentes dilutions .....	31
<b>Figure n°09 :</b>	DPPH* (radical libre) et hydrazine (non radical) .....	35
<b>Figure n°10 :</b>	Huile essentielle et hydrolat obtenus .....	42
<b>Figure n°11 :</b>	Teneur en humidité des feuilles de <i>S. officinalis</i> .....	43
<b>Figure n°12 :</b>	Rendement d'extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat des feuilles de <i>S. officinalis</i> .....	44
<b>Figure n°13 :</b>	Teneur en polyphénols totaux de l'HE et l'HD des feuilles de <i>S.</i> <i>officinalis</i> .....	46
<b>Figure n°14 :</b>	Teneur en flavonoïdes totaux de l'HE et l'HD des feuilles de <i>S.</i> <i>officinalis</i> .....	47
<b>Figure n°15 :</b>	Teneur en tanins condensés et hydrolysable de l'HE et l'HD des feuilles de <i>S. officinalis</i> .....	48
<b>Figure n°16 :</b>	Réduction du radical DPPH par un antioxydant .....	49
<b>Figure n°17 :</b>	Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE et l'HD .....	50
<b>Figure n°18 :</b>	Détermination d'IC <sub>50</sub> de l'HE et l'HD .....	52

## Liste des tableaux

<b>Tableau n°01 :</b>	Matériel et produits de laboratoire .....	24
<b>Tableau n°02 :</b>	Milieux utilisés pour le repiquage des souches testées .....	36
<b>Tableau n°03 :</b>	Milieux utilisés pour la détermination de l'activité antibactérienne des échantillons .....	36
<b>Tableau n°04 :</b>	Critères de catégorisation selon les valeurs critiques .....	38
<b>Tableau n°05 :</b>	Diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour les souches testées .....	38
<b>Tableau n°06 :</b>	Lecture interprétative des résultats d'aromatogramme .....	40
<b>Tableau n°07 :</b>	Caractères organoleptiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat obtenus .....	42
<b>Tableau n°08 :</b>	Rendement de l'HE selon différentes régions Algériennes .....	44
<b>Tableau n°09 :</b>	Concentration inhibitrice d'acide ascorbique, HE et HD .....	52
<b>Tableau n°10 :</b>	Diamètre (mm) des zones d'inhibition des antibiotiques sur les souches bactériennes testées .....	53
<b>Tableau n°11 :</b>	Diamètre (mm) d'inhibition d'huile essentielle brute de <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes .....	55
<b>Tableau n°12 :</b>	Diamètre (mm) d'inhibition d'hydrolat brut de <i>Salvia officinalis</i> sur les souches bactériennes .....	57
<b>Tableau n°13 :</b>	Effet antibactérien de l'incorporation de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> dans un milieu solide .....	58
<b>Tableau n°14 :</b>	Activité antibactérienne d'huile essentielle contre les souches testées (incorporation dans un milieu liquide) .....	58
<b>Tableau n°15 :</b>	Effet antibactérien de l'incorporation de l'hydrolat de <i>Salvia officinalis</i> dans un milieu solide .....	60
<b>Tableau n°16 :</b>	Activité antibactérienne d'hydrolat contre les souches testées (incorporation dans un milieu liquide) .....	60

## Liste des annexes

<b>Annexe n°01 :</b>	Plante <i>Salvia officinalis</i> (La sauge officinale) (Février 2020, faculté des Sciences et Technologie, Tiaret) .....	86
<b>Annexe n°02 :</b>	Différentes parties de <i>Salvia officinalis</i> .....	87
<b>Annexe n°03 :</b>	Résultats d'examen macroscopique, microscopique et identification biochimique des souches bactériennes testées .....	88
<b>Annexe n°04 :</b>	Résultats d'antibiogramme et d'aromatogramme .....	90
<b>Annexe n°05 :</b>	Détermination de la CMI dans le milieu solide pour l'huile essentielle et l'hydrolat extraits à partir des feuilles de <i>S. officinalis</i> .	92
<b>Annexe n°06 :</b>	Détermination de la CMI dans le milieu liquide pour l'huile essentielle et l'hydrolat extraits des feuilles de <i>S. officinalis</i> .....	94
<b>Annexe n°07 :</b>	Composition des milieux de culture .....	97

# **Introduction**

### Introduction

La richesse de la flore Algérienne revient à sa situation géographique et sa diversité climatique. Les conditions favorables à la croissance des plantes aromatiques et médicinales dans ce pays permettent l'apparition d'un grand nombre d'espèces appartenant aux différentes familles botaniques. Cette énorme végétation reste très peu étudiée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (**Merzoug, 2009**).

L'antibiorésistance s'est progressivement développée et concerne aujourd'hui l'ensemble des bactéries pathogènes à cause de l'administration répétée d'antibiotiques, c'est pourquoi, l'exploitation des principes actifs des plantes aromatiques et médicinales contenant dans les huiles essentielles et les hydrolats a actuellement attiré l'attention des chercheurs (**Essawi et Srour, 2000**).

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié (électrons célibataires). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique. Ces radicaux libres constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie (**Dahmani et Dahmani, 2018**).

Dans ce domaine, les huiles essentielles (HE) sont largement étudiées en raison de leurs multiples et diverses applications. D'autre part, malgré que les hydrolats (HD) des plantes possèdent des propriétés thérapeutiques intéressantes, ils sont peu étudiés et ne se considèrent que comme des déchets de l'hydrodistillation (**Ovidi et al., 2021**).

En Algérie, *Salvia officinalis* « la sauge » est l'un des espèces les plus répondues. C'est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des Lamiacées (**Djerroumi et Nacef, 2012**), les espèces qui ont été identifiées sont environ d'une trentaine (**Maksimovic et al., 2007**). Cette espèce est reconnue par ses multiples vertus dans la médecine traditionnelle grâce à sa richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Kelen et Tepe, 2008**).

Parmi les huiles essentielles les plus étudiées est celle de la sauge grâce à leurs différentes propriétés connues en différents domaines. Par contre, peu d'études ont été effectuées sur les hydrolats de cette plante à cause de l'inconscience de leurs importances. A

cet effet et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, particulièrement la région de Tiaret, cette plante est choisie dans la présente étude par le fait qu'elle est parmi les plantes aromatiques les plus populaires utilisées, disponible, très peu étudiée malgré qu'elle soit connue par ses vertus thérapeutiques.

Dans ce cadre, cette recherche est axée vers l'extraction de l'HE et de l'HD de la plante étudiée par hydrodistillation et l'évaluation *in vitro* des activités antibactérienne et antioxydante afin de déterminer les composés responsables de l'activité globale de l'HE et de l'HD. A l'opportunité, une étude comparative est menée.

**Première partie**  
**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Huiles essentielles**

### I.1. Définition

Une huile essentielle (HE) est définie comme le produit obtenu d'une plante ou certaines parties de celle-ci par hydrodistillation, distillation à la vapeur, distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (e.g. pour les agrumes) (**Rubiolo et al., 2010**). Selon la Pharmacopée Européenne (**2020**) une HE est un produit de composition complexe renfermant des principes volatiles contenus dans les végétaux.

Selon **AFNOR (2000)** et **ISO (1997)**, l'HE est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe frais de certains agrumes ou soit par distillation. Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

### I.2. Composition chimique

Sur le plan chimique, les HE sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents (**Hallel, 2011**). La plupart du temps, elles comportent un ou deux composants majoritaires qui vont jouer un rôle central dans leurs propriétés thérapeutiques, ces composants appartiennent principalement à deux types chimiques. Les plus rencontrés sont les composés terpéniques (hydrocarbures) : monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ), triterpènes ( $C_{30}$ ) qui peuvent être des alcools, des esters, des aldéhydes, des cétones, des éthers oxydes mono et des sesquiterpéniques. L'autre groupe correspond aux composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Acide, aldéhyde cinnamiques, eugénol et anéthole...) (**Laurent, 2017**).

La sauge (*salvia officinalis*) contient essentiellement de nombreux polyphénols : flavonoïdes et acides-phénols (acide caféique, acide chlorogénique, acide rosmarinique etc.). Elle contient également un acide diterpénique (la salvine) qui lui donne ses vertus bactéricides, un principe amer (la picrosalvine) et une cétone terpénique (la thuyone) (**Gilly, 2005**). La sauge s'est révélée très riche en substances volatiles avec un rendement de l'ordre de 1.52% et un chémotype formé de dix-neuf composés terpéniques dont le plus abondant est la thujone (mélange  $\alpha$ - et  $\beta$ - thujone) (**Benkherara et al., 2011**).

### I.3. Activités biologiques

Les HE sont connus par diverses activités antimicrobiennes et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (**Gachkar et al., 2007 ; Rasooli et al.,**

2008). L'HE de sauge est appliquée dans le traitement de certaines maladies grâce à son activité antibactérienne (Bouaziz et al., 2009), antifongique (Lina et al., 2005) et antioxydante (Grzegorzcyk et al., 2007).

### I.3.1. Activité antibactérienne

Selon l'OMS, vers la fin des années 1970, plus de 22000 espèces végétales ont été inventoriées comme plantes médicinales. L'activité antibactérienne des principes actifs entre autres celle des HE est liée à leur chémotype c'est-à-dire la ou les molécules biologiquement actives et majoritairement présentes, à leurs compositions ou les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcool, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques car une HE contient souvent 50 à 100 molécules biochimiques différentes. Le plus souvent, l'action des HE est assimilée à un effet bactériostatique cependant certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides (Benkherara et al., 2011).

Les HE les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartenant aux *Lamiaceae* : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à HE riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne contre un large spectre de bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp* et *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001).

L'étude de Annane et Boualili (2014) a montré que l'HE de la sauge inhibe l'activité des bactéries Gram<sup>+</sup> (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*) à une concentration de 0.25%, et des bactéries à Gram<sup>-</sup> (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*) à une concentration qui varie entre 0.125 et 0.25%

Selon Ait Gueni Said et Elharani (2008), *Staphylococcus aureus* s'est avéré la plus sensible à l'action des HE de cette plante parmi les bactéries Gram<sup>+</sup> et *Klebsiella pneumoniae* est la plus sensible parmi les bactéries Gram<sup>-</sup>. Une autre étude a montré que ces HE possèdent une forte efficacité antimicrobienne vis-à-vis des différentes souches bactériennes testées et qui ont même dépassé l'efficacité de la pénicilline (Bozin et al., 2007).

### I.3.2. Activité antifongique

Les HE les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des lamiacées comme l'HE de *Thymus vulgaris* testée contre *Candida albicans* (Giordani et al., 2008), *Lavandula stoechas* contre *Rhizopus stolonifer* et *Mucor spp.* (Mohammedi et Atik, 2011) et *Thymus schimperi* contre *Rhizopus officinalis* (Mekonnen et al., 2016).

Selon Drider et Kada (2019), l'HE de *Salvia officinalis* a donné des taux d'inhibition de 82.6% pour *Aspergillus fumigatus*. Une autre étude sur la même espèce a montré une forte activité antifongique contre deux champignons phytopathogènes (*Botrytis cinerea* et *Fusarium sambucinum*) (Rguez et al., 2013).

Il a été démontré que l'activité antifongique de l'HE de la sauge augmente selon le type de fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif (Yen et Chang, 2008).

### I.3.3. Activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme une substance qui, à de faibles concentrations comparées à celles des substrats oxydables, prévient significativement ou retarde l'initiation du processus d'oxydation (Beirão et Bernardo-Gil, 2006).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques (les coumarines, les flavonoïdes, les tanins). Ces composés, notamment les flavonoïdes et les acides phénoliques interviennent comme agents préventifs contre de nombreuses maladies grâce à leur capacité antioxydante (Idouchen, 2014).

Hussain et al. (2010) ont rapporté que certaines HE sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques. L'étude menée par Campanellal et al. (2003) a montré que la capacité antioxydante de l'HE la sauge a été estimée comme étant la plus élevée parmi six fines herbes (Baume de champ, Marjolaine, Persil, Romarin, Sauge, Basilic doux), l'acide carnosique et l'acide rosmarinique seraient les composés antioxydants retrouvés dans la sauge.

Une autre étude effectuée chez des rongeurs a démontré que la consommation d'infusions de sauge séchée pendant deux semaines par ces animaux augmentait de façon significative l'activité de l'enzyme glutathion S-transférase (**GST**) produite par le foie (**Lina et al., 2005**).

Les méthodes les plus utilisées pour l'évaluation de cette activité sont celles de la réduction du 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH<sup>\*</sup>) (**Džamić et al., 2010**), de blanchiment du  $\beta$ -carotène dans l'acide linoléique (**Hussain, 2009**), de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique (**Dongmo et al., 2010**), et de la chélation des métaux (**Wang et al., 2010**).

#### **I.4. Extraction des huiles essentielles**

Il existe plusieurs techniques d'extraction des HE qui se diffèrent selon la partie traitée de la plante et selon ces caractéristiques botaniques. Le choix de la méthode se fait en fonction du rendement, de la qualité de HE et du coût de la méthode.

##### **I.4.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

Le principe de cette méthode est de faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel et sous l'action de l'humidité et de la chaleur, les cellules éclatent et libèrent l'HE. Ensuite, cette vapeur d'eau et d'HE passe dans un serpentin refroidi par l'eau, où elle se condense, et se retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'HE est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments par différence de densité. En effet, l'HE est non miscible à l'eau et plus légère, donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'HE (**Neffati, 2010**).

##### **I.4.2. Extraction par hydrodiffusion**

C'est le passage de la vapeur d'eau à travers la matrice végétale du haut vers le bas (perdescendum) et à pression réduite. L'HE obtenue avec ce procédé contient des composés non volatiles ce qui lui vaut une appellation spéciale « essence de percolation » (**Piochon, 2008**).

### I.4.3. Extraction par expression à froid

Elle est utilisée le plus souvent pour extraire les HE des agrumes (citron, mandarine, orange, pamplemousse). Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices (**Basil et al., 1998**). Le principe de ce procédé mécanique consiste à éclater les poches oléifères localisées au niveau de l'écorce ou du péricarpe du fruit pour en recueillir le contenu (**Elhaib, 2011**).

L'HE recueillie porte le nom d'essence. En effet, contrairement aux HE uniquement constituées de molécules volatiles, les essences, quant à elles, renferment des composés non volatiles comme des flavonoïdes ou encore des stéroïdes (**Lacoste, 2014**). L'intérêt de cette technique réside dans l'obtention d'essence n'ayant pas subi de modification chimique liée à la chaleur. De même, elle est couplée avec la production du jus de fruit (**Baser et Buchbauer, 2010 ; Wilson, 2010**).

### I.4.4. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatiles de très haute qualité et qui respecterait intégralement l'essence originelle de la plante (**Wenqtang et al., 2007**). Son principe c'est l'utilisation d'un gaz liquéfié ou un fluide à l'état supercritique qui est généralement le dioxyde de carbone (**Aghel et al., 2004**), car il présente différents avantages tels que la disponibilité, la sélectivité, l'innocuité, l'inertie, et l'inflammabilité (**Lagunez, 2006**) et aussi un bon pouvoir d'extraction car il possède les propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz au-delà du point critique (P= 73.8 bars, T°= 31.1°C) (**Piochon, 2008**).

### I.4.5. Extraction aux solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatile reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (**Kim et Lee, 2002**).

Le matériel est chargé dans un extracteur spécialement construit contenant un solvant hautement purifié. Le solvant peut circuler à travers le matériel végétal pour extraire les constituants d'arôme ainsi que d'autres substances liposolubles. Le solvant est éliminé par évaporation et une HE concrète est obtenue (**Belaiche, 1979 ; Bruneton, 1999**).

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de

faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait (**Wan et al., 1995**).

#### **I.4.6. Hydrodistillation par micro-ondes**

Le procédé de cette technique est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal et qui sont mesurées par une constante diélectrique. Cette absorption dépend aussi de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal (**Benayad, 2008**).

Le matériel végétal est placé dans un réacteur micro-ondes sans aucune addition d'eau ou d'un solvant. Une augmentation rapide et soudaine de la température est due à la conversion des ondes absorbées par les parties végétales les plus riches en eau qui provoque leurs éclatements sous la pression régnant dans l'extracteur, libérant ainsi les molécules olfactives. Puis les vapeurs d'eau entraînent l'HE. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation de façon continue du distillat, composé d'eau et d'HE, et le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon permet de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal (**Hessas et Simoud, 2018**). Pour les plantes aromatiques, après seulement 30 min d'extraction, les rendements en HE obtenus sont identiques à ceux obtenus après 6 h d'hydrodistillation (**Grunwald, 2006**).

#### **I.4.7. Extraction par enfleurage**

C'est une technique ancienne qui consiste à mettre les fleurs en contact avec un corps gras inodore. Le mélange est ensuite épuisé par un solvant organique, puis ce dernier est évaporé (**Iserin, 2001**). Elle peut être employée soit à froid pour traiter des fleurs fragiles qui ne supportent pas la chaleur ou encore à chaud qui consiste à faire infuser les fleurs dans des graisses pures à une température de 60°C environ (**Benkherara, 2011**).

#### **I.4.8. Extraction par hydrodistillation**

Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (**Bruneton, 1993**). La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HE se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des HE est le Clevenger (**Lucchesi, 2005**).

# **Chapitre II**

## **Hydrolat**

## II.1. Définition

Hydrolat (HD), eau florale, eau de plante, ou en anglais hydrosol sont toutes des termes utilisés dans le domaine de l'aromathérapie pour nommer le distillant aqueux qui subsiste après l'entraînement à la vapeur d'eau, une fois séparé de l'HE (**Adelon, 1835**). HD est l'eau chargée de principes volatiles hydrophiles, incolore d'une odeur puissante, aromatique, herbacée et d'une saveur rafraichissante (**Bouissy, 2004**), les chercheurs ne s'y intéressent que très peu d'HD. Il existe donc un réel manque de données scientifiques dans ce domaine. Pourtant la faible toxicité et la nature chimique en font un produit original, intéressant à étudier comme en témoignent les rares publications parues à leur sujet (**Jeannot et al., 2003**).

## II.2. Composition chimique

Les HD contiennent en petite quantité des composés volatiles semblables à ceux présentes dans l'HE, ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile. Les molécules d'oxygène hydrophiles s'y trouvent en grandes quantités (géraniol, oxyde de linalool), alors que les composés lipophiles tels que les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps quasi absents (**Price et al., 2005**).

Les résultats de la composition chimique de l'eau aromatique du *Pelargonium graveolens* par CG-SM montrent que la majorité des composés de cette eau appartiennent à la famille des alcools et aucun mono ou sesquiterpène n'a été détecté (**Boukhatem et al., 2012**).

Une autre étude réalisée sur 44 HD et leurs HE, montre que le composé majoritaire dans l'HE n'est pas systématiquement celui qui est présent dans l'HD. C'est le cas par exemple d'*Eucalyptus citriodora* dont le composé majoritaire dans l'HE est le citronellal alors que dans l'HD c'est le cis-p-menthane-3,8-diol. La même observation est réalisée pour *Chamaecyparis obtusa* (**Inouye et al., 2008**).

## II.3. Utilisations

Certains HD sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires, par exemple : les HD de rose, de fleurs d'orange, de lavande, de fleurs de bleuets sauvages, et également de *Salvia officinalis* (**Bremness, 1996**).

### II.3.1 En cosmétologie

L'HD est utilisé comme base des cosmétiques naturels. Il est très doux pour la peau et discrètement parfumé et convient aux peaux sensibles. En usage externe, il est appliqué

directement par vaporisation, ou sous forme de compresse pour le visage et le corps. En usage interne, il est très utile dans la simulation de système immunitaire. Il n'y a pas une précaution d'emploi particulière, ces eaux peuvent être utilisées sous forme diluée ou pure (**Watt, 1999**).

### II.3.2 En médecine

Malgré sa faible concentration en principes actifs, l'HD présente certaines activités pharmacologiques intéressantes (**Bosson et al., 2005**). Il existe plusieurs cas d'utilisation de l'HD de *Salvia officinalis* dans ce domaine surtout dans les cas des insuffisances biliaires et hépatiques, les bouffées de chaleur, les troubles circulatoires liés au système hormonal, asthme, bronchite, toux, cholestérol, et infections buccales. Il joue aussi un rôle très important dans la régulation de la flore intestinale et dans le soulagement des maux de la bouche (**Baudoux, 2000**).

### II.3.3 En cuisine

Les HD sont réputés pour leurs vertus culinaires (**Cupillard, 2006**). Ils peuvent apporter une touche de fraîcheur d'originalité aux plats. Ainsi l'addition de quelques gouttes de l'HD de *Salvia officinalis* à la soupe permet de lui donner un goût plus raffiné (**Bouissy, 2004**).

## II.4 Activités biologiques

Les études concernant la bio-activité des HD sont peu nombreuses en comparaison de celles réalisées sur les HE, malgré la ressemblance directe entre les HD et les HE correspondantes d'un point de vue chimique (**Carlini et al., 1983**).

Les quelques rares publications recensées dans la littérature, montrent un intérêt récent pour les HD. Par exemple HD d'*Aniba duckei* a 25%, inhibe la croissance des larves de *Artemia franciscana* à 100% (**Souza et al., 2007**). L'HD de *Thymus vulgaris* a présenté une activité microbicide avec des CMB et CMF de 250 µL/m contre tous les espèces microbiennes (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) (**Yann-Olivier, 2015**).

### II.4.1. Activité antibactérienne

Les HD représentent une activité antibactérienne grâce à la présence de certaines molécules (géraniol, linalool, alcool un décyclique) (**Boukhatem et al., 2010**). L'activité antibactérienne *in vitro* d'HD de *Thymbra capitata* contre des souches à Gram (-) et à Gram

(+), montre des valeurs de CMI dans la gamme de 0.031 v/v et 0.015 v/v respectivement (**Moukhles et al., 2020**).

L'étude réalisée sur d'HD de *Salvia officinalis* contre 13 souches bactériennes pathogènes dont 07 bactéries à Gram (+) (*Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Bacillus subtilis* ATCC 663313, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et *Enterococcus faecali* spp. 962), et 07 bactéries à Gram (-) (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* spp L+ 966, *Escherichia coli* sp.L-966, *Pseudomonas* spp. 989 et *Klebsiella* sp. 970) testées, montre que HD possède une moindre efficacité sur les bactéries à Gram (-) (DZI = 17.9 mm) alors que sur les bactéries à Gram + il ne représente aucune réaction (DZI = 6 mm). Contrairement aux HE, ayant une grande sensibilité sur les bactéries quel que soit positif ou négatif (**Chrigni et al., 2014**).

#### II.4.2. Activité antioxydante

Les HD de graines de noix de muscade (*Myristica fragrans*) a une concentration de 0.1g/ml et 0.5g/ml avaient une activité antioxydante de 31.43 % et 56.42% respectivement (**Inga et al., 2020**). Les HD préparés à partir d'autres sources végétales ont des propriétés antioxydantes différentes, alors que la *Salvia officinalis* (0.1g/ml) avait une activité de piégeage des radicaux d'environ 30%. La même concentration de l'HD de *Rosmarinus officinalis* avait une activité d'environ 50% (**Aazza et al., 2011**).

La sauge possède un fort pouvoir antioxydant à efficacité comparable à celle du romarin lorsqu'il est testé contre l'oxydation du linoléate de méthyle en milieu apolaire (**Cuvelier et al., 1991**).

La teneur la plus élevée en polyphénols totaux, les flavonoïdes et les acides phénolcarboxyliques (AFC) étant observés pour HD des feuilles de la sauge collectées en juillet, qui sont considérées donc comme une source de composés phénoliques (**Cerasela et al., 2014**). La teneur en polyphénols est de 0.595-1.36 mg EAG /ml (**Roby et al., 2013**).

#### II.4.3. Activité antifongique

Certains HD peuvent inhiber la prolifération des champignons, cela montre bien que ces eaux pourraient être exploitées dans certains secteurs comme l'agro-alimentaire ou la cosmétique comme agents antifongiques naturels (**Piochon, 2008**).

L'HD de *Satureja hortensis* a montré une activité antifongique plus intéressante sur l'ensemble des champignons testés ; *Rhizoctonia solani* (96.5%), *Fusarium oxysporum* f.sp *tulipae* (38.58%), *Botrytis cinerea* (100%) et *Alternaria citri* (82.2%) testés suivi de l'HD d'*Echinophora tenuifolia* (87.07%, 55.52%, 49%, 48.26% respectivement), puis de *Cuminum cyminum* (36.11%, 37.34%, 15.38%, 0% respectivement). Alors que l'HD de *Satureja hortensis*, exerce un effet inhibiteur uniquement sur *Alternaria mali* (10%) et *Botrytis cinerea* (15%) (**Boyras et al., 2006**).

# **Deuxième partie**

## **Partie expérimentale**

# **Chapitre I**

## **Matériel et Méthodes**

## I.1. Objectifs

L'intérêt de ce travail consiste à l'extraction des HE et HD des feuilles de la sauge (*Salvia officinalis* L.) dont le but est la valorisation et l'évaluation de quelques activités biologiques.

Dans ce contexte, notre présente étude s'est axée autour des objectifs suivants :

- Valorisation de la flore de la région de Tiaret ;
- Extraction des HE et HD par hydrodistillation ;
- Détermination des composés phénoliques, flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables ;
- Evaluation de l'activité antioxydante des HE et HD extraits par la méthode de DPPH ;
- Détermination du pouvoir antibactérien des HE et HD contre certaines souches pathogènes à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

## I.2. Lieu et période de travail

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de Biochimie et de Microbiologie, de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Tiaret, durant la période allant du 11 avril jusqu'à 26 mai 2021.

## I.3. Matériel

### I.3.1. Matériel végétal

#### I.3.1.1. Généralités

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est les feuilles de la sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) qui est une plante connue sous le nom de Thé d'Europe, de Grande sauge ou encore Herbe sacrée (**Debuigne, 2013**). La sauge tire son nom du latin « salvare » (guérir) qui traduit son rôle ancestral en phytothérapie (**Hippolyte et al., 1904**). Elle était une des plantes salvatrices du moyen âge reconnue par les Chinois. Ces derniers n'hésitaient pas à échanger leurs feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de sauge. D'après l'histoire, une variété de sauge appelait « Chia » était cultivée par les mexicains (**Madi, 2010**).

Les Grecs, les Romains et les Arabes l'employaient communément comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpents. En Egypte, les femmes en buvaient pour être fertiles (**Charles, 1809**). Au 18<sup>ème</sup> siècle, les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme et surtout au printemps (**Bouachria, 2018**).

*Salvia officinalis* est une plante annuelle et biannuelle d'origine méditerranéenne de la famille des labiées (**Khirdine, 2013**). Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde (**Maksimovic et al., 2007**).

En Algérie, les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn Al Baytar, les andalous la nomment « essalma » qui ajoute qu'elle est appelée « salbia » par les botanistes en Espagne. El Djazaïri indique l'expression « souek ennebi » comme synonyme de Saleme (**Kharchouche et al., 2019**).

### I.3.1.2. Description botanique

La sauge est un sous-arbrisseau buissonnant et persistant, formant une touffe ligneuse pouvant atteindre jusqu'à 80 cm de haut et dont les tiges émettent de nombreux rameaux dressés, quadrangulaires et laineux, présentant des nœuds saillants sur lesquels sont insérées les feuilles (**Teuscher et al., 2005**). La tige est ligneuse à la base, formant un buisson dépassant parfois 60 cm, vert blanchâtre quadrangulaire et velue (**Verbois, 2003**).

Les feuilles sont opposées, elliptiques, inférieures pétiolées, ovales, rugueuses, épaisses, à bord dentelées, réticulées, pubescentes-grisâtres ou vertes, à dessus blanchâtre, et finement crénelées. Elles persistent en l'hiver grâce au revêtement de poils laineux qui les protège (**Hans et al., 2007**).

Les fleurs de la sauge officinale sont bleu-violacées en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 6 en verticilles espacés et visibles de mai à août. Elles sont grandes, groupées à la base des feuilles supérieures (**Busser, 1997**).

Le fruit est en forme de tétrakène brunâtre, c'est-à-dire qu'il se compose de quatre petites coques indéhiscentes, renferment chacune une graine, et environnées par le calice persistant (**Cuvier et al., 1835**). Les graines sont presque sphériques, d'un brun noir, avec une durée de germination de trois ans (**Abedini, 2014**).

### I.3.1.3. Systématique

Selon **Quzel et al. (1963)**, la sauge appartient au :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermaphyte
- Sous-Embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédone
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Lamiales
- Famille : *Lamiaceae*
- Genre : *Salvia*
- Espèce : *Salvia officinalis* L.

### I.3.1.4. Répartition géographique

Cette plante vivace est originaire des régions méditerranéennes orientales. Elle préfère les terrains chauds et calcaires. Elle croit de manière spontanée sur tout le bassin méditerranéen, depuis l'Espagne jusqu'à la Turquie, et dans le nord de l'Afrique. C'est une espèce euro-méditerranéenne, assez commune en Algérie (cultivée) (**Baba, 2000**). La récolte de la plante est faite habituellement de Mai à Juillet pendant la floraison (**Hoefler, 1994**).

### I.3.1.5. Propriétés

La plante de *Salvia officinalis* est une panacée toujours très appréciée, elle reste utilisée dans la pharmacopée moderne non seulement en médecine, en cuisine mais aussi en cosmétologie (**Annane et Boualili, 2014**).

#### ➤ Propriétés thérapeutiques

La sauge est considérée comme une plante presque magique, capable de guérir tous les maux (**Debuigne, 2013**). Elle a des propriétés antioxydantes et un pouvoir antiseptique d'où son efficacité dans le développement des agents infectieux, cette admirable plante est utilisée en gargarisme comme un remède contre les maux de gorge (**Iserin, 2001**). Elle a une activité antispasmodique qui joue un rôle important dans le cas de troubles digestifs : digestion difficile, renvois d'air et ballonnements (gaz intestinaux). Elle a une action relaxante sur les muscles de l'estomac et des intestins, cholérétique, en agissant sur la sécrétion de la bile, elle facilite la digestion des aliments

gras (**Bogrow, 2009**). Elle a une activité tranquillisante qui peut calmer les crises de la maladie d'Alzheimer en luttant contre la baisse de taux d'acétylcholine. Elle est utilisée dans la fatigue nerveuse, l'anxiété accompagnée de la perte de mémoire, dans les états dépressifs, et soulage des sueurs nerveuses, lorsqu'il y a transpiration excessive. Elle favorise la longévité (**Funiel, 2002**).

La sauge était traditionnellement utilisée pour soigner l'asthme sous forme de préparation de feuilles séchées à fumer (**Boulard, 2001**). *Salvia officinalis* L. a une action antimicrobienne, soigne les lésions bénignes de la peau (coupures, acné) et favorise aussi l'hygiène buccale en limitant le développement des bactéries responsables de la formation de la plaque dentaire (**Verbois, 2003**).

#### ➤ Propriétés culinaires

Seules les feuilles sont utilisées en aromate, leur goût légèrement amers, puissants et camphrés, accommodent parfaitement les viandes blanches, les plats lourds et gras (**Goutier, 2009**), alors que les fleurs sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la confection de confitures, en vinaigre comme odorants, et dans la fabrication de la bière aromatisée (**Bhar et al., 2011**).

#### ➤ Propriétés en cosmétologie

L'extrait de *Salvia officinalis* L. est largement introduit dans les produits de beauté et les parfums (**Radulescu et al., 2004**). Il est également utilisé pour la fabrication des savons, des dentifrices, et d'autres produits cosmétiques tels que les soins pour le visage, shampoing et bain de pieds (**Gotz et al., 2007**).

### I.3.1.6. Préparation de l'échantillon

L'étude est menée sur les feuilles séchées et broyées d'une plante de la famille des *Lamiaceae* « *Salvia officinalis* L. ». Ces feuilles sont récoltées dans la région de Tiaret en Mars 2021, à partir de la Faculté des Sciences Appliquées, Université de Tiaret ». L'identification est effectuée par Dr. Ait Hammou botaniste au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Tiaret.

La préparation de notre échantillon est passée par les étapes suivantes (**Fig. n °01**) :

1. Récolte ;
2. Triage ;
3. Lavage ;

4. Séparation des feuilles ;
5. Séchage : séchées à l'aire libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité ;
6. Broyage des feuilles séchées par un broyeur domestique ;
7. Tamisage de la matière broyée (tamis 250  $\mu\text{m}$  de diamètre) ;
8. Stockage de la poudre tamisée dans des bocaux secs en verre hermétiquement fermés, couverts en aluminium.



Figure n°01 : Préparation de la matière végétale

### I.3.2. Matériel biologique

L'activité antibactérienne d'HE et d'HD des feuilles de *Salvia officinalis* L. a été évaluée sur quatre souches bactériennes opportunistes pathogènes. Il s'agit de deux bactéries à Gram- ; *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et deux bactéries à Gram+ ; *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Ces souches sont des

isolats cliniques fournis gracieusement par le laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires-Tiaret.

- A- Tout d'abord, les souches bactériennes choisies ont été revivifiées ; à partir de chaque bactérie conservée, une culture a été prélevée et déposée dans un tube contenant le bouillon MH pour redémarrer leur croissance et leur capacité métabolique. Les tubes ont été par la suite incubés à 37°C / 24-48 h.
- B- Puis, les bactéries ont subi des séries de purification (isolement et repiquage sur milieu sélectif ; *E. coli* sur milieu Mac Conkey, *S. aureus* et *S. epidermidis* sur milieu Chapman et *P. aeruginosa* sur gélose nutritive), suivi par des observations de l'aspect macroscopique, microscopique (la coloration de Gram), plus la réalisation des tests biochimiques clés (catalase et oxydase) afin de les confirmer.
- C- Ensuite, les souches ont été identifiées biochimiquement par galerie Api 20 E et Api staph.
- D- Les bactéries ont été repiquées et incubées à 37°C pendant 18h afin de les utiliser (**Annexe n°03**).

### I.3.2.1. *Escherichia coli*

#### ➤ Description

*Escherichia coli* est sans doute l'organisme vivant le plus étudié à ce jour. En effet, l'ancienneté de sa découverte et sa culture facile (division toutes les 20 minutes) en font un outil d'étude de choix (**Laukiadis, 2007**).

*E.coli* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Les souches bactérienne constituant cette famille sont des bacilles à Gram-, aéro-anaérobies facultatifs, mesurant 0.3 à 1µm de diamètre sur 1 à 6 µm de long. Ils sont non sporulés, parfois capsulés et possèdent une ciliature péritriche pour les espèces mobiles (**Vimont, 2007**).

#### ➤ Classification

Selon **Prescott et al. (2003)**, la taxonomie d'*E.coli* est représentée comme suit :

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacterales
- Famille : *Enterobacteriaceae*

- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli*

➤ **Habitat**

*E. coli* a été décrite pour la première fois en 1885 dans des selles des nourrissons par l'Allemand Theodor Escherich. Elle colonise de façon asymptomatique le tractus gastro-intestinal de l'Homme, dès les premières heures de la naissance et persiste dans le côlon pratiquement toute la vie (Montel, 2009). C'est un microorganisme qui représente près de 80% de la microflore commensale intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux) (Laukiadis, 2007).

➤ **Pouvoir pathogène**

Certaines souches d'*E.coli* appartiennent à la flore commensale, et peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (Dahmani et al., 2018).

*E.coli*, et plus largement les coliformes thermotolérants, sont recherchés dans les aliments et dans l'eau comme indicateurs de contamination fécale ; leur présence fournit ainsi une indication sur une éventuelle contamination de l'aliment et de l'eau par des bactéries opportunistes pathogènes d'origine digestive par exemple : *E.coli* O157:H7 (Montel, 2009). Cette bactérie peut causer une infection gastro-intestinale ainsi que d'autres maladies chez les humains ; elle est donc dite « pathogène ». Elle provoque principalement des infections du tractus digestif, elle est aussi à l'origine d'infection pulmonaire chez les personnes gravement malades. *E. coli* est également le genre préférentiel des infections urinaires (Kechkar, 2008).

➤ **Résistance aux antibiotiques**

Les *E.coli* sont généralement sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les Gram (-), ceci dit, ces bactéries développent des résistances engendrées par les antibiothérapies, 40% des souches sont résistantes aux amino et aux carboxy-pénicillines, mais aussi à l'association amoxicilline-acide clavulanique par production de pénicillinases (Kouche, 2009).

### I.3.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

➤ **Description**

Le genre *Pseudomonas* est un aérobie de type Gram (-) appartenant à la famille des *Pseudomonaceae*. Il s'agit de bacilles droits ou incurvés. Ces bactéries sont

mobiles par flagellation polaires, ou immobiles. Leur croissance est possible dans une large gamme de températures de 4°C à 43°C, avec de nombreuses souches psychrophiles (**Berche et al., 1989**).

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) est un mésophile (30 à 37°C) oxydatif, mais capable à croître en milieu anaérobie, mesure de 1 à 5µm de long et de 0.5 à 1µm de large, mobile par un flagelle monotriche polaire. Cette bactérie est catalase et oxydase positive, pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone. Les colonies de *P. aeruginosa* sont pigmentées en bleu-vert du fait de la production de deux pigments : la pyocyanine et pyoverdine (**Benabid , 2009**).

#### ➤ Classification

La taxonomie de *P. aeruginosa* selon **Pillet et al. (1986)**, est présentée comme suit :

- Règne : Bacteria
- Division : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonadales
- Famille : *Pseudomonadaceae*
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*

#### ➤ Habitat

*P. aeruginosa* est une bactérie saprophyte de l'air, de l'eau, et du sol commensales des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux. Elle se trouve aussi dans le tube digestif de l'homme et rarement dans la salive (**Fauchère et al., 2002**). Sa capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique sa présence en milieu hospitalier (**Hallel, 2011**).

#### ➤ Pouvoir pathogène

Le bacille pyocyanique est essentiellement une bactérie pyogène qui provoque chez l'homme et chez l'animal des suppurations (**Pillet et al., 1986**). D'une façon générale, cette bactérie n'est pas pathogène pour le sujet normal, mais elle peut provoquer des infections parfois sévères chez les sujets sensibles. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, pulmonaires, oculaires, et ostéo – articulaires.

Elle peut aussi infecter des lésions cutanées (brûlures), des plaies traumatiques ou postopératoires, et provoquer des otites externes (pouvant évoluer d'une manière invasive chez les sujet âgés et les diabétiques), des septicémies, et des endocardites (Nauciel et al., 2005).

### I.3.2.3. Staphylococcus aureus

Les staphylocoques sont des bactéries Gram (+) aérobies ou anaérobies facultatifs, ubiquistes sphériques, regroupées sous forme des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylins). Ils sont immobiles et se cultivent sur des milieux contenant 5 à 15% de NaCl (Benzeggouta et al., 2005). Le genre *Staphylococcus* regroupe 36 espèces, dont 18 espèces ont été retrouvées chez l'Homme (Gras, 2006).

#### ➤ Description

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) fait partie de la famille des *Micrococcaceae*, de 0.5 à 1 µm de diamètre, non sporulé, et catalase positive. Son optimum de croissance est atteint à 37°C (Hallel, 2011). *S. aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères dont la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle (Benzeggouta et al., 2005).

#### ➤ Classification

*S. aureus* peut être classée selon Baudry et al. (2006), comme suit :

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Procaryotae
- Division : Proteobacteria
- Classe : Schizomycetes
- Ordre : Micrococcales
- Famille : *Micococcaceae*
- Genre : *Staphylococcus*
- Espèce : *Staphylococcus aureus*

#### ➤ Habitat

*S. aureus* est une bactérie ubiquiste largement distribué dans l'environnement naturel de l'homme. Le principal réservoir et habitat est constitué par un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin) (Hallel, 2011).

➤ **Pouvoir pathogène**

*S. aureus* est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, impliqué dans les infections respiratoires communautaires et nosocomiales. Il est la principale cause d'ostéomyélites, de méningites, d'endocardites infectieuses et d'arthrites septiques. Il est également responsable d'infections superficielles cutanées, sous-cutanées et muqueuses telles que les furoncles, panaris impétigo, abcès, cellulites ou lymphangites (**Baudry et al., 2006**).

*S. aureus* provoque deux types de syndromes :

1. Les toxémies staphylococciques : Les toxémies sont dues à des toxines produites par la souche *in vivo* une fois installée chez l'hôte TSST1 (toxine du choc staphylococcique) et exfoliatines ou des toxines produites par la souche dans un environnement autre que l'hôte puis ingérées par l'organisme (entérotoxines dans les aliments) (**Hennekinne, 2009**) ;
2. Les infections suppuratives : impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion, la destruction des tissus de l'hôte et la réponse inflammatoire locale et systémique (**Baudry et al., 2006**).

#### **I.3.2.4. Staphylococcus epidermidis (S. blanc)**

➤ **Description**

*Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), est un Cocci à Gram (+) non mobile, non sporulé, anaérobie facultatif, et à coagulase négative. Elle est caractérisée par un pourcentage de virulence élevé, capable de former des biofilms et à coloniser différentes surfaces. Au cours des dernières années, l'importance clinique et l'émergence de souches de *S. epidermidis* résistantes à la méticilline ont créé de nombreux défis dans le processus de traitement (**Bastarahang et al., 2014**).

➤ **Classification**

L'étude de **Baudry et al. (2006)**, a permis de classer *S. epidermidis* comme suit :

- Règne : Bacteria
- Embranchement : Procaryotae
- Division : Proteobacteria

- Classe : Schizomyctes
- Ordre : Micrococcales
- Famille : *Micrococcaceae*
- Genre : *Staphylococcus*
- Espèce : *Staphylococcus epidermidis*

➤ **Habitat**

*S. epidermidis*, ou le staphylocoque à coagulase négative, est l'un des cinq principaux micro-organismes qui se trouvent sur la peau humaine et les surfaces muqueuses (**Von Eiff et al., 2002**).

➤ **Pouvoir pathogène**

Jusqu'en 1980, *S. epidermidis* était considérée comme un micro-organisme opportuniste, mais à cause de l'augmentation de diverses infections telles que les infections cardiovasculaires, les shunts du SNC (Système Nerveux Central), les articulations, et les infections de la circulation sanguine. Cette bactérie est considérée donc comme l'une des principales causes d'infections nosocomiales en raison de l'utilisation répandue d'implants et de dispositifs médicaux (**Von Eiff et al., 2002**).

Des recherches ultérieures ont montré que l'activité de l'enzyme lipase de *S. epidermidis* peut produire différents types d'esters tels que des esters de géranyle, insaturés et à chaîne moyenne sans solvants organiques ; cette capacité peut donc être considérée comme un avantage dans le domaine des études biotechnologiques (**Chang et al., 2001**).

Il a été prouvé que lorsque *S. epidermidis* a été traitée avec du n-propanol, éthanol, chlorhexidine et des alcools, cette bactérie n'est plus vivante dans les biofilms. Ainsi une incubation de 5 min dans une solution de peroxyde d'hydrogène (3% ou 5%) est l'une des méthodes les plus efficaces pour éliminer l'accumulation de *S. epidermidis* des surfaces en réduisant la quantité de biofilms (**Presterl et al., 2007**).

## I.3.3. Matériel du laboratoire

Le matériel et les produits de laboratoire utilisés dans cette étude sont présentés dans le tableau n°01.

**Tableau n°01 : Matériels et produits de laboratoire**

Verreries et appareillages	Milieux de culture	Produits et autres
Balance de précision (KERN)		
Broyeur domestique Autoclave		
Bain Marie		
Etuve (Memmert)		
Hydrodistillateur		Chlorure d'aluminium
Agitateur (Janke & KunKel)		Vanilline
Bec bunsen		Acide sulfurique
Spectrophotomètre (Jenway)		Chlorure ferrique
Entonnoir		Acide chlorhydrique
Réfrigérateur		Folin Ciocalteu
Tubes à essai	Gélose Mueller Hinton	DPPH
Pipettes Pasteur	Bouillon Muller Hinton	NaNO <sub>2</sub>
Micropipette	Bouillon nutritif	NaOH
Tamis 250µm	Mac Conkey	Papier Whatman n°1 (Φ
Anse à platine	Chapman	=6mm)
Boîtes de Pétri		Eau distillée
Bécher		Ethanol
Erlenmeyer		Méthanol
Verre de montre		DMSO
Pince métallique		

## I.4. Méthodes

Le protocole expérimental suivi dans cette étude est présenté dans la figure n°02.

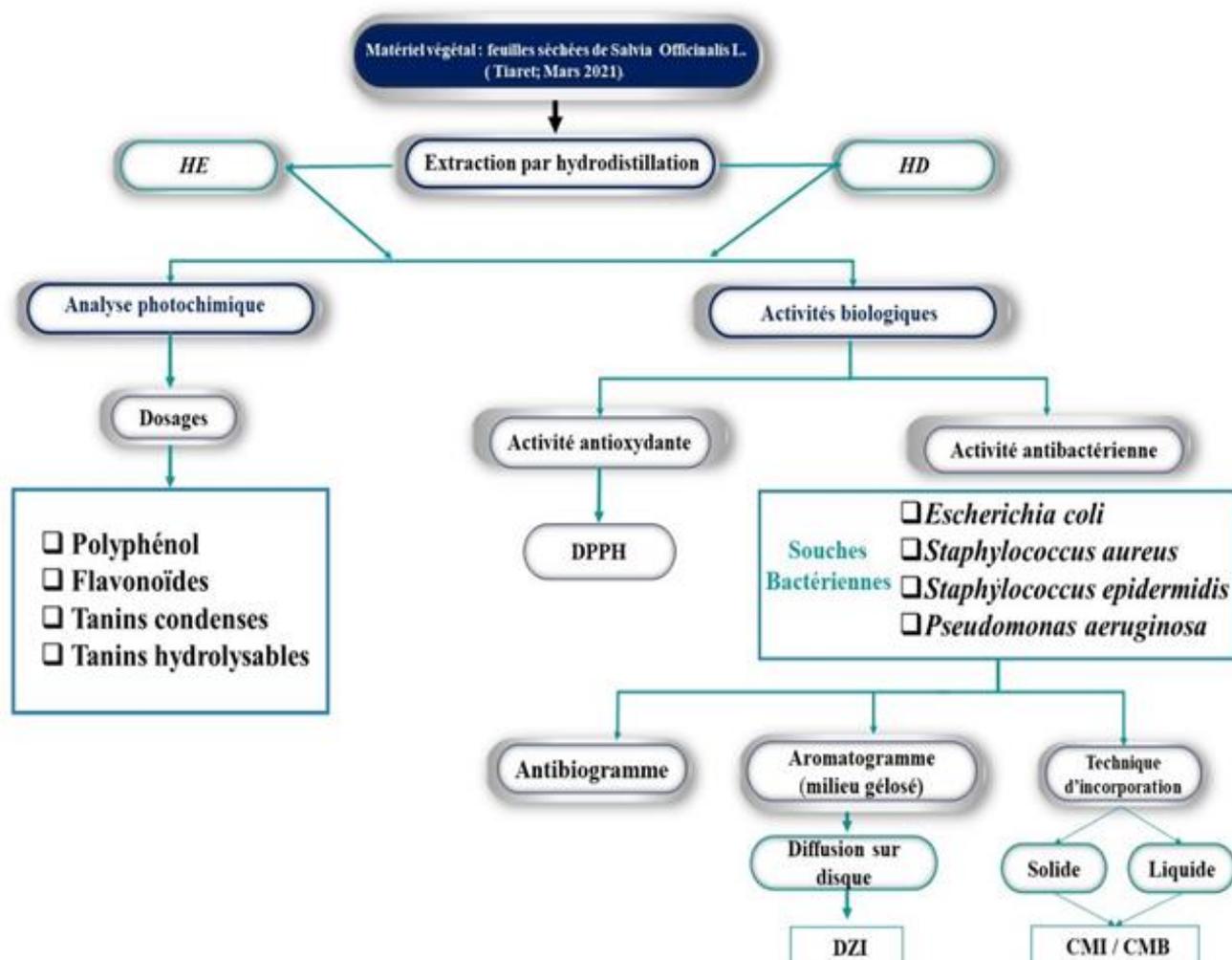


Figure n°02 : Organigramme général du plan de travail

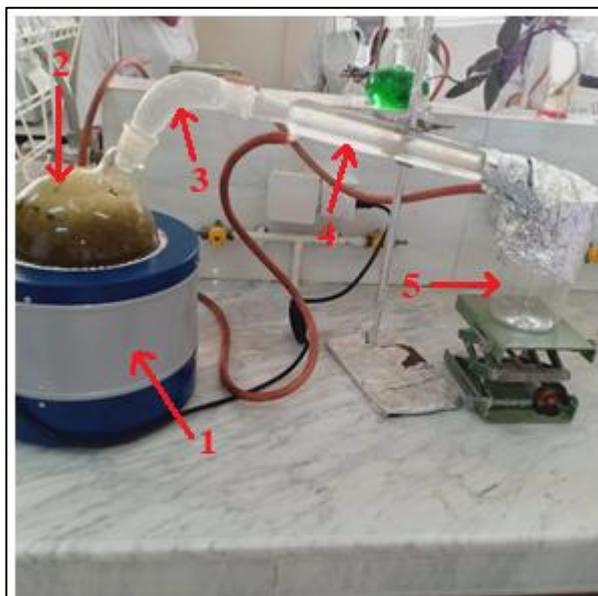
## I.4.1. Méthode d'extraction

Les HE et les HD des feuilles séchées broyées de la sauge officinale ont été extraits par un hydrodistillateur de type Clevenger (Fig. n°03).

L'opération consiste à introduire une masse végétale de 150 g dans un ballon en verre en ajoutant 1500 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à l'ébullition pendant 3h (Ciulei, 1983).

L'HE est alors entraînée par la vapeur d'eau dans la colonne de refroidissement, où il y aura lieu la condensation. Le distillat (HE et HD) est récupéré dans l'ampoule à décanter, où elle se fait la séparation par différence de densité. Après le repos du

liquide (décantation), l'HE est récupérée, puis conservée dans des flacons en verre opaques et hermétiquement fermés à une température de 4°C au réfrigérateur (Lucchesi, 2005).



- (1) Chauff ballon
- (2) Ballon
- (3) Coude
- (4) Réfrigérant
- (5) Bécher

**Figure n°03 : Hydrodistillateur de type Clevenger**

➤ **Rendement en huile essentielle**

Le rendement en HE exprimé en (%) est le rapport entre la masse de l'HE après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Ce rapport est donné par la formule suivante (Mehalaine, 2018) :

$$R_{dt} = 100 \times \frac{m}{m_0}$$

**R<sub>dt</sub>** : Rendement en HE (%) ;

**m** : Masse d'HE récupérée (g) ;

**m<sub>0</sub>** : Masse de la matière végétale utilisée (g).

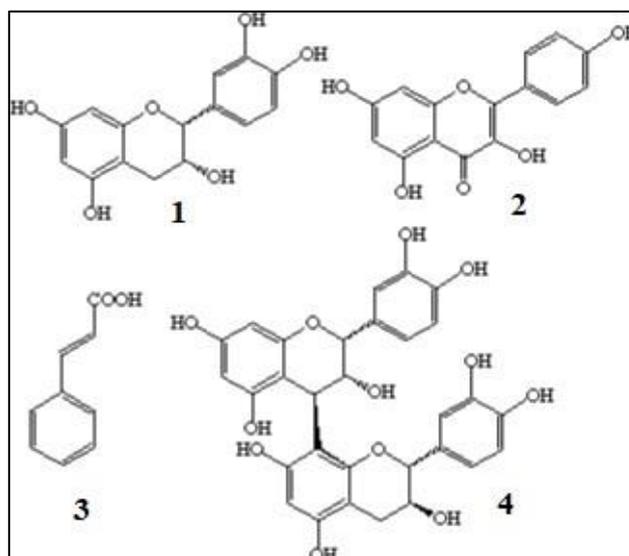
#### 1.4.2. Analyses phytochimiques

✓ **Polyphénols totaux**

Les polyphénols sont des alcools aromatiques et proviennent des végétaux. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, et les feuilles de tous les

végétaux. Les phénols simples, déchets du métabolisme végétal, sont assemblés en polyphénols comme la lignine. Les composés phénoliques définissent un ensemble de substances que l'on a appelées pendant longtemps les matières tanniques, d'une façon générale et imprécise parce qu'on ne connaissait pas, avec suffisamment de précision, la nature de ces substances. Il y a quatre principales familles de composés phénoliques : les acides phénols, les flavones, les anthocyanes et les tanins (**Bruneton et al., 1987**).

Les composés phénoliques sont constitués des acides phénoliques. Cette vaste famille regroupe des composés présentant des cycles aromatiques le plus souvent solubles dans l'eau et présents sous forme de glycoconjugués (**Gavot, 2009**). Ils sont contenus dans de nombreuses plantes médicinales. Parmi les acides phénoliques on cite : (1) acide chlorogénique, (2) acide caféique, (3) acide protocatéchique, (4) acide vanillique et (5) acide gallique (**Fig. n°04**) (**Hale, 2003**).



- (1) Acide chlorogénique
- (2) Acide caféique
- (3) Acide protocatéchique
- (4) Acide vanillique
- (5) Acide gallique

**Figure n°04** : Structure de quelques composés phénoliques

#### ➤ Propriétés

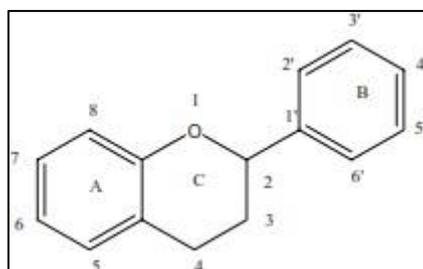
Leurs nombreuses propriétés pharmacologiques *in vitro* sont généralement liées à leur affinité pour les protéines et à leurs propriétés antioxydantes (**CIRAD, 2005 ; Suja et al., 2005 ; Lucrecia et Nazareno, 2006 ; Pereira et al., 2006**). De plus, même complexés avec les protéines ou les carbohydrates, ces composés phénoliques conservent leurs propriétés antioxydantes (**Riedl et Hagerman, 2001**). En outre, des

études épidémiologiques montrent qu'une alimentation riche en polyphénols est corrélée à un faible risque de développer des maladies cardio-vasculaires et des cancers, ce qui suggère une activité antioxydante *in vivo* pour les polyphénols. Lors de leur action antioxydante, les polyphénols sont simultanément convertis en des dérivés stables (**Krisa et al., 1999**).

Les composés phénoliques sont également des molécules susceptibles de complexer certains ions, en particulier le fer et le cuivre, qui induisent des oxydations d'acides gras. Des polyphénols auraient un effet important sur des pathologies comme le cancer ou les maladies cardio-vasculaires. D'après certaines études, ils réduisent les phénomènes d'oxydation des tissus, et bloquent également l'action d'une protéine qui protège les parties cancéreuses ou malignes lors des traitements de chimiothérapie (**Krisa et al., 1999**). Ils ont également un effet anti-âge et sont utilisés à ce titre dans des crèmes de soin pour la peau. Les acides phénols et polyphénols ont une action vasoprotectrice et antifongique ; en présence du cuivre, ils sont très actifs contre les *Candida* et les autres microbes (propriétés antiseptique et bactéricide) (**Idouchen, 2014**).

#### ✓ Flavonoïdes

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone, fait de deux cycles en C<sub>6</sub> reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (**Fig. n°05**). Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone. Tous les flavonoïdes environ 300 ont une origine biosynthétique commune, à savoir les flavones, les flavonols et les flavanones. Ils peuvent être regroupés en une dizaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (**Bruneton, 1987**).



**Figure n°05** : Structure chimique des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**)

Les flavonoïdes constituent en eux même une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants (**Gavot, 2009**). La

principale activité attribuée aux flavonoïdes est une propriété vitaminique P ; Potentiellement veinoactifs, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, les flavonoïdes peuvent être antiallergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques (**Chen et al., 1992 ; Karou et al., 2006**). Hypcholestérolémiant, diurétiques, antibactériens, antiviraux et pour un petit nombre d'entre eux cytostatiques *in vitro*. Ce sont aussi des piègeurs de radicaux libres (**Bruneton, 1987**). En règle générale, les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques de l'histidine décarboxylase, de l'élastase, de la hyaluronidase et de la phosphodiesterase de l'AMPc (**Bruneton, 1987**).

#### ✓ Tanins

Les tanins sont des substances d'origine végétale non azotées, de structure polyphénolique, solubles dans l'eau, l'alcool et l'acétone et peu soluble dans l'éther, de saveur astringente et ayant la propriété commune de tanner la peau en la rendant imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000 kDa. Dans les plantes, les tanins existent à l'état de complexe, les tannoïdes ; certains combinés à des sucres dénommés tannosides. Les tanins sont répandus dans le règne végétal, où ils sont répartis dans tous les organes à savoir racine, rhizome, écorce, feuille, fleur, fruits, cynorrhodons, graines et bois (**Bruneton, 1999**).

Il y a deux types de tanins ; les tanins hydrolysables sont les tanins galliques (acide gallique (**Fig. n°06**) et les tanins ellagiques (acide ellagique). Les tanins condensés (**Fig. n°07**) ou proanthocyanidols sont non hydrolysables ou tanins catéchiques résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols. Ils forment dans les vacuoles des solutions pseudocolloïdales et peuvent aussi se fixer au niveau des lignines, renforçant encore l'imputrescibilité du bois de cœur. La disparition des tanins, lorsque les fruits ont atteint leur maturation, montre que comme d'autres composés phénoliques, ils peuvent être réutilisés par la plante (**Gavot, 2009**).

Les tannins jouent un rôle très important dans le tannage des cuirs. Le tanin gallique raffine et tonifie la peau, il possède des activités bactéricides et virucides. Le tanin catéchique est bactéricide et tonique veineux, sert contre les hémorroïdes, les varices, et le trouble circulatoire en général (**Bruneton, 1999 ; Paris, 1976**).

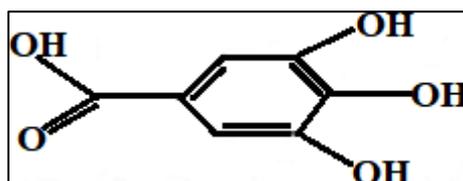


Figure n°06 : Structure de l'acide gallique

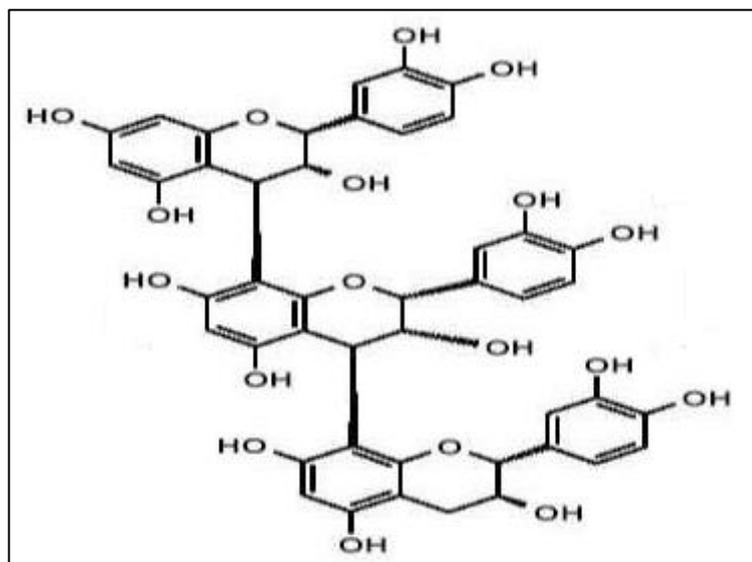


Figure n°07 : Structure des tanins condensés

#### 1.4.2.1. Dosage des polyphénol totaux

##### ➤ Principe

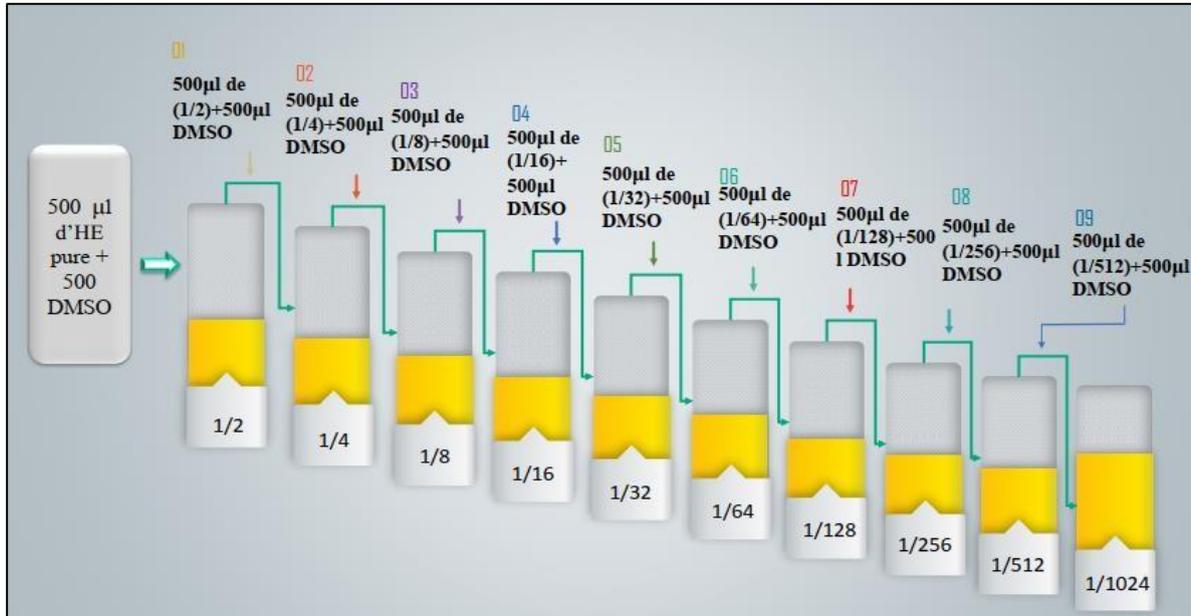
Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin- Ciocalteu (**Singleton *et al.*, 1999**). Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

##### ➤ Préparation des dilutions de l'HE et l'HD

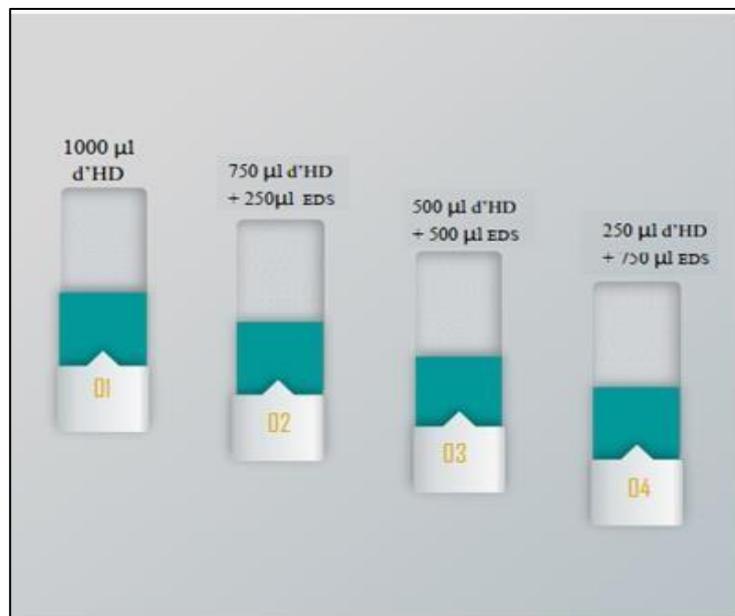
Deux séries de dilutions de l'HE et de l'HD de la sauge dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde) et dans l'eau distillée stérile respectivement ont été réalisées, en débutant par une dilution de 1/2 jusqu'à 1/1024 pour l'HE dans des Eppendorfs. Pour l'HD, SM (1/1), 3/4, 1/2 et 1/4 sont les dilutions réalisées dans des tubes à essai.

D'après **Hessass et Simoud (2018)**, dans la première série, le premier

Eppendorf contient 500µl d'HE et 500µl de DMSO. Après agitation à l'aide d'un vortex 500µl de la dilution 1/2 est transférée vers le deuxième Eppendorf qui contient 500µl, on obtient une dilution de 1/4. Cette opération est répétée jusqu'à l'obtention de la dilution 1/1024. La figure n°08 présente un schéma récapitulatif des dilutions réalisées pour l'HE et l'HD.



-a-



-b-

(a) : Huile essentielle ; (b) : Hydrolat

**Figure n°08** : Préparation des différentes dilutions

➤ **Mode opératoire**

Pour l'HE, 200µl de chaque dilution ont été ajoutés à 1000µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois (5 ml de Folin-Ciocalteu + 50 ml d'eau distillée), puis ils ont été agités et incubés pendant 3 min à l'obscurité et à température ambiante. Après l'incubation, 800µl de carbonate de sodium (7.5%) a été ajouté, agité puis incubé pendant 15 min à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance des essais a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm. Pour l'HD, 1 ml de chaque dilution a été ajouté à 2.5 ml de Folin-Ciocalteu et à 1 ml de carbonate de sodium (**Dahmani et Dahmani, 2018**).

➤ **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage préparée avec de l'acide gallique comme standard et exprimée en mg EAG/g.

#### I.4.2.2. Dosage des flavonoïdes

➤ **Principe**

Les groupements hydroxydes OH des phénols forment un complexe avec le tri chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Le complexe est stable avec une couleur jaune peut absorber la lumière visible à une longueur d'onde de 430nm (**Humadi et Istudor, 2009**).

➤ **Mode opératoire**

Le dosage a été réalisé selon **Zhishen et al. (1999)** pour l'HE et selon **Djeridane et al. (2006)** pour l'HD. Pour l'HE, 500µl de chaque dilution est ajoutée à 1500µl d'eau distillée qui est mélangé avec 300µl de  $NaNO_2$  à 5% plus agitation. Après 5min, 3000µl de  $AlCl_3$  à 10% sont ajoutés plus agitation. Six min plus tard, 1000µl de NaOH à 4% est additionné. La solution est bien mélangée, l'absorbance est mesurée à 510nm. D'autre part, pour l'HD, 2 ml de chaque dilution est mélangé avec 2 ml de  $AlCl_3$  à 2%. Après incubation de 10 min à une température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm.

➤ **Expression des résultats**

La concentration des flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec le standard étalon Quercétine. Le taux des flavonoïdes (TF) est calculé de la même façon que les polyphénols.

### I.4.2.3. Dosage des tanins condensés

#### ➤ Principe

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide, il est spécifique des flavones3-ols (**Price et al., 1978**).

#### ➤ Mode opératoire

Pour l'HE, nous avons adopté la méthode que **Fahima et al. (2018)**. Un volume de 100µl de chaque dilution a été ajouté à 3000µl de la solution vanilline/méthanol à 4%, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 1500µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à une température ambiante pendant 20min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc.

Pour l'HD, prendre 1 ml de chaque dilution de l'HD et 2 ml de la solution vanilline à 1% avec acide sulfurique à 70%. Après incubation de 20 min, lire l'absorbance à 500 nm contre un blanc (1 ml d'eau distillée + 2 ml de solution vanilline) (**Swain et Hillis, 1959**).

#### ➤ Expression des résultats

La concentration des tanins condensés est exprimée en équivalent de la Catéchine. Le taux des tanins condensés est calculé de la même façon que les dosages précédents.

### I.4.2.4. Dosage des tanins hydrolysables

#### ➤ Principe

La méthode de **Mole et Waterman (1987)** dépend de la réaction de chlorure ferrique avec le mélange de l'acide tannique, d'où la formation des ions provoquant ainsi une coloration rouge violet des complexes.

#### ➤ Mode opératoire

Pour l'HE, un volume de 500µl de chaque dilution est ajouté à 1750µl de la solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub> à 0.01 M dans HCl à 0.001 M). Le mélange obtenu est laissé réagir à une température ambiante pendant 15 sec. L'absorbance est mesurée 670 nm contre un blanc (500µl d'eau distillée + 1750µl de la solution de chlorure Ferrique) (**Mole et Waterman, 1987**).

Pour l'HD, 1 ml de l'HD est utilisée dans 3.5 ml de la solution de chlorure ferrique au lieu de 500µl et 1750µl.

### ➤ Expression des résultats

La concentration des tanins hydrolysables est exprimée en équivalent de l'acide tannique. Le taux des tanins hydrolysables est calculé de la même façon que les dosages précédents.

#### 1.4.3. Évaluation du pouvoir antioxydant

Les antioxydants sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, et de retarder la peroxydation lipidique, sans aucun effet sur les propriétés sensorielles et nutritionnelles du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit (**Miguel, 2010**), ils peuvent être synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG) ou naturel tels que le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E (**Svoboda et Ampson, 1999 ; Lisu et al., 2003 ; Mohammedi, 2006 ; Hadjila, 2016**).

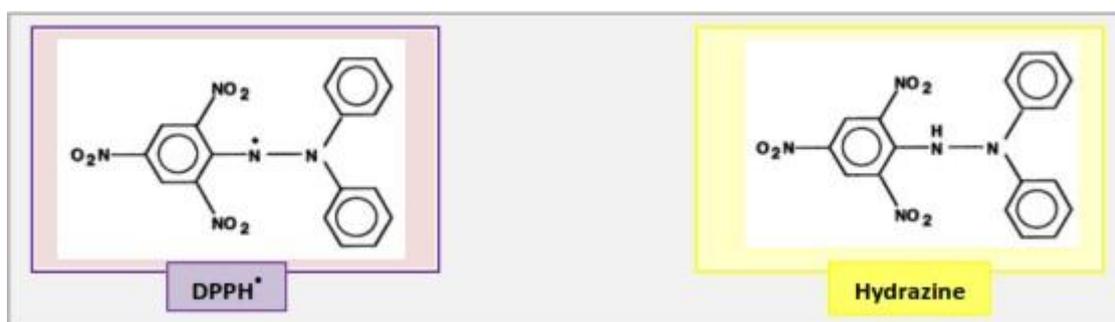
L'organisme génère en permanence des radicaux libres, qui sont des dérivés du fonctionnement normal du corps mais qui sont aussi produits en plus grand nombre lorsque le corps est agressé (cigarette, pollution, infections...). A cause de leur réactivité (ils possèdent un ou plusieurs électrons libres), les radicaux libres endommagent les cellules en les oxydant (stress oxydatif). Les antioxydants sont des composés réducteurs capables de piéger ces radicaux libres et ainsi d'aider le corps à prévenir l'oxydation (**Idouchen, 2014**).

Bien que le corps soit capable de produire ses propres antioxydants, ils ne suffisent souvent pas à neutraliser toute la quantité de radicaux libres. Il faut donc que les antioxydants proviennent de l'alimentation. De nombreux aliments comme les fruits et les légumes comportent de grandes quantités d'antioxydants. L'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et stable dans le produit fini (**Poknory et al., 2001**).

L'activité antioxydante est souvent évaluée soit par les tests d'inhibition de la peroxydation des lipides *in vitro*, soit par le piégeage des radicaux libres d'ABTS ou de DPPH (**Re et al., 1999**), soit par la réduction des phosphomolybdates par les oxydants (**Prieto et al., 1999**).

### ➤ Principe

L'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons a été réalisée en utilisant la méthode du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), le radical DPPH\* présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (**Fig. n°09**). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Moon et Shibamoto, 2009**).



**Figure n°09 : DPPH\* (radical libre) et hydrazine (non radical) (Molyneux, 2004)**

### ➤ Mode opératoire

Pour l'HE, l'activité du radical DPPH est mesurée selon le protocole de **Archana et al. (2005)** et **Dong et al. (2008)**, où 100 µl de différentes dilutions sont mélangées avec 2.9 ml de la solution DPPH préparée à 0.04% d'éthanol. L'absorbance est mesurée à 517 nm, après 30 min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité contre un blanc (100 µl d'eau distillée + 2.9 ml de la solution DPPH).

Pour l'HD, 1 ml de l'HD est utilisé dans 2 ml de la solution DPPH contre un blanc (1 ml d'eau distillée + 2 ml de la solution DPPH).

### ➤ Détermination du pourcentage d'inhibition

L'inhibition des radicaux libres en pourcentage I(%) est calculée en utilisant la formule suivante (**Khoudali et al., 2014**) :

$$I (\%) = \frac{Abs_{contrôle} - Abs_{test}}{Abs_{contrôle}} \times 100$$

Abstest : Absorbance de l'échantillon

Abscontrôle : Absorbance du contrôle négatif

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des HE et HD permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC<sub>50</sub>). Une faible valeur d'IC<sub>50</sub> correspondant à une grande efficacité de l'HE et l'HD (Grzegorzczuk *et al.*, 2007).

#### I.4.4. Activité antibactérienne

Les tests réalisés permettent de mettre en évidence l'activité antibactérienne d'HE et d'HD de la sauge officinale et de tester la sensibilité des souches bactériennes utilisées.

##### I.4.4.1. Choix des souches bactériennes

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries potentiellement pathogènes à savoir : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Ces souches ont été conservées au froid à une température de 4°C.

##### I.4.4.2. Choix des milieux de culture

Afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'HD et de l'HE de la sauge officinale, plusieurs milieux de culture ont été utilisés (**Tableaux n°02 et 03**).

**Tableau n°02 :** Milieux utilisés pour le repiquage des souches testées

Espèce bactérienne	Type de Gram	Milieu de culture
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	Mac conkey
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	Gélose nutritive
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	Chapman
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		

**Tableau n°03 :** Milieux utilisés pour la détermination de l'activité antibactérienne des échantillons

Espèce bactérienne	Milieu de culture
Toutes les espèces utilisées	Muller Hinton gélosé
	Muller Hinton bouillon

##### I.4.4.3. Mode opératoire

###### ➤ Préparation de repiquage

Selon Cherigui *et al.* (2013), le repiquage des souches testées est réalisé comme suit :

- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, prélever une ou deux colonies de chaque espèce bactérienne ;

- Ensemencer chaque bactérie dans son milieu sélectif ;
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 18h afin d'obtenir une culture jeune.

➤ **Préparation de l'inoculum**

La préparation de la suspension bactérienne est réalisée en introduisant deux colonies pures bien isolées de chaque espèce étudiée, dans 9 ml de bouillon de Muller Hinton. L'inoculum doit être utilisé dans les 15 min suivant sa préparation (**Bouachria et al., 2018**).

➤ **Standardisation de l'inoculum**

Pour l'ensemencement ultérieur, une homogénéisation de la suspension bactérienne par vortex est effectuée, dont l'opacité doit être équivalente à une densité optique (DO) égale à 0.08 à 0.10 MC Farland à 625 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La concentration finale obtenue soit entre  $10^7$  à  $10^8$  UFC/ml de suspension bactérienne (**Bekhechi et al., 2008**).

#### I.4.4.4. Antibiogramme

➤ **Principe**

L'antibiogramme est un test qui permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*. Il renseigne, par conséquent, sur la sensibilité des souches vis-à-vis des agents anti-infectieux (**Hallel, 2011**).

L'antibiogramme a été évalué à l'aide de la méthode de diffusion par disque. Les bactéries ont été ensemencées en surface sur gélose Mueller Hinton en utilisant un écouvillon. Les disques d'antibiotiques ont été ensuite déposés en surface du milieu ensemencé et incubé à 37 °C pendant 18 h (**Courvallin et al., 1985**).

➤ **Choix de l'antibiotique**

La Société Française de la Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA- SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Le tableau n°04 résume les critères de catégorisation selon les valeurs critiques.

**Tableau n°04** : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques (Madec et al., 2018)

Catégorie	Diamètre (Ø) (mm)
Sensible (S)	$\text{Ø} \geq D$
Résistante (R)	$\text{Ø} < d$
Intermédiaire (I)	$d \leq \text{Ø} < D$

Dont :

- ❖ Ø : Diamètre de la zone produite
- ❖ d : Borne inférieure de la zone d'inhibition
- ❖ D : Borne supérieure de la zone d'inhibition

On a utilisé dans l'antibiogramme quatre types d'antibiotiques ; la Tétracycline, la Colistine, le Métronidazole et la Streptomycine (**Tableau n°05**).

**Tableau n°05** : Diamètres critiques et règles de lecture interprétative pour les souches testées (Madec et al., 2018)

Souche testée	Antibiotique (Nom)	Classe	Charge	Diamètre	
				d	D
<i>Escherichia coli</i>	Tétracycline	Tétracycline	(30 UI)	$\geq 19$	$< 17$
	Colistine	Polypeptides	(5µg)	$\geq 18$	$< 15$
	Métronidazole	Imidazolés (Nitro-5-imidazolés)	(5mcg)	/	
	Streptomycine	Aminoside	(10UI)	$\geq 15$	$< 13$
<i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Tétracycline	Tétracycline	(30 UI)	$\geq 19$	$< 17$
	Colistine	Polypeptides	(5µg)	$\geq 15$	$< 15$
	Métronidazole	Imidazolés (Nitro-5-imidazolés)	(5mcg)	/	
	Streptomycine	Aminoside	(10UI)	$\geq 15$	$< 13$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tétracycline	Tétracycline	(30 UI)	$\geq 19$	$< 17$
	Colistine	Polypeptides	(5µg)	/	
	Métronidazole	Imidazolés (Nitro-5-imidazolés)	(5mcg)	/	
	Streptomycine	Aminoside	(10UI)	$\geq 15$	$< 13$

### ➤ Procédure

La gélose de Mueller Hinton (MH) a été coulée dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm puis laissée solidifiée. Ensuite, un volume de 100 µl à partir de chaque suspension bactérienne a été ensemencé en surface à l'aide d'un râteau. Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de 6 mm de chaque antibiotique sont déposés dans des boîtes de Pétri. Les boîtes sont incubées dans une température de 37°C pendant 24 h pour que chaque antibiotique puisse se diffuser sur la gélose (Bouachria et al., 2018).

➤ **Lecture**

Pour chaque souche, et pour chaque antibiotique, il faut mesurer avec précision en millimètre le diamètre de la zone d'inhibition, puis reporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante. Les résultats de l'antibiogramme indiquent alors si la bactérie est sensible, Intermédiaire ou résistante à l'antibiotique selon le tableau des recommandations 2010 (**Bouzaoui et al., 2013**).

#### **I.4.4.5. Aromatogramme « Diffusion en milieu gélosé (disques) »**

➤ **Principe**

C'est une technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'HE et de l'HD (**Fridolia, 2012**). Cette méthode a le même principe que l'antibiogramme (permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'HE et l'HD sur la souche étudiée), sauf que les disques des antibiotiques sont remplacés par papier Whatman n°1, imprégnés d'HE et d'HD d'une concentration donnée, et l'activité de notre HE et HD sera évaluée par la mesure du diamètre d'inhibition autour des disques.

➤ **Préparation des disques**

Les disques ont été préparés à partir du papier Whatman, à un diamètre de 6 mm. Puis, ils ont été stérilisés dans une étuve à 180°C pendant 15 min. A l'aide des verres de montres stériles, les disques stériles ont été ensuite imprégnés dans un volume de 20 µl d'HE et d'HD brutes et filtrés. Celles-ci vont absorber progressivement le contenu des verres de montres jusqu'à l'imprégnation totale.

➤ **Ensemencement**

Tous d'abord, Le milieu Mueller-Hinton a été fondu puis refroidi jusqu'à ce qu'il atteigne une température de 45°C. Ensuite, Il a été coulé en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, à une épaisseur de 4 mm. Après solidification, la surface de la gélose a étéensemencée avec 100 µl à partir de chaque suspension bactérienne préalablement standardisée et diluée. Des disques imprégnés de DMSO sont utilisés comme témoin négatif, ainsi que des disques d'antibiotiques sont utilisés comme témoins positifs.

Après 5 min, verser l'excès de la suspension bactérienne. Les disques préalablement imprégnés d'HE et d'HD ont été placées à la surface des boîtes de Pétriensemencées. Enfin, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 h.

➤ **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du DZI autour de chaque disque en millimètre (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent

être symbolisés par des signes d'après la sensibilité ou la résistance des souches vis-à-vis les HE et les HD testés comme l'indique le tableau suivant.

**Tableau n°06** : Lecture interprétative des résultats d'aromatogramme (**Bouzaoui et al., 2013**)

Résultat	Signe	Diamètre (mm)
Résistante	-	≤ 8 mm
Sensible	+	Entre 9 et 14 mm
Très sensible	++	Entre 15 et 19 mm
Extrêmement sensible	+++	≥ 20 mm

#### II.4.4.6. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice « CMI »

La CMI est considérée comme étant la plus faible concentration des solutions testées capable d'inhiber la croissance des bactéries après 24h d'incubation à une température de 37°C (**Ziani, 2017**). Son but est d'établir le niveau de sensibilité des souches pathogènes envers les agents antimicrobiens en l'occurrence les HE et les HD étudiés (**Alloun, 2013**). La détermination de la CMI peut être effectuée par un essai colorimétrique rapide de chlorure de p-iodonitrotétrazolium ou par la méthode de micro-dilution (**Kuete et al., 2011**). Dans notre cas, la CMI a été déterminée selon la méthode de l'incorporation dans un milieu gélosé (MH gélosé) et dans un milieu liquide (MH bouillon).

#### I.4.4.7. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide « CMB »

La concentration minimale bactéricide « CMB », est le paramètre le plus utilisé pour caractériser l'effet bactéricide de la substance testée. Elle correspond à la plus faible concentration qui détruit 99.99 % des bactéries. La détermination de la CMB s'effectue par la méthode de dilution (essentiellement en milieu liquide) (**Berche et al., 1988**).

- ✓ Si la CMB du produit testé est assez éloignée de la CMI (rapport de 4 à 6), le produit est dit : bactériostatique.
- ✓ Si la CMB du produit testé et la CMI sont très éloignées (rapport supérieur à 32), cela signifie que l'effet bactéricide n'est obtenu qu'à de très forte concentration ou n'est même pas obtenu du tout : il y a tolérance (**Dorly, 1994**).

Des repiquages sur boîtes de Petri sont effectués dans le milieu sélectif de chaque bactérie à partir des tubes qui n'ont présenté aucune croissance bactérienne visible de chaque fraction testée. Les boîtes sont portées à l'incubation à 37°C pendant 24h. L'absence de croissance après incubation, indique un effet bactéricide (**Basli et al., 2012**).

➤ **Préparation des dilutions**

**1. Huiles essentielles**

Du fait de la non miscibilité des HE avec l'eau et donc au milieu de culture, la mise en émulsion a été réalisée grâce à une solution DMSO afin de favoriser le contact souche/composé. Selon **Hessass et Simoud (2018)**, les dilutions sont préparées alors dans des tubes à essai contenant chacun 500µl de DMSO et on ajoute 500µl de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations décroissantes (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 g/ml), Puis on agite convenablement les tubes.

**2. Hydrolat**

L'HD est dilué dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée, de façon à obtenir un volume total de 1ml (1000µl) dans chaque tube. Les volumes ajoutés d'HD respectivement sont : 1000µl, 750µl, 500µl, 250µl. Comme une démarche de sécurité, un volume de 2000µl a été utilisé pour garantir qu'il y'a un effet observable.

➤ **Ensemencement**

L'incorporation dans un milieu gélosé a été réalisée par l'ajout d'un volume de 100µl de chaque dilution d'HE et d'HD dans 9 ml de milieu MH fondu. Puis, le mélange a été versé dans des boîtes de Pétri de 60 mm de diamètre. Après solidification du milieu, un volume de 100µl de chaque suspension bactérienne (dilution 1/1000) est ensemencé en surface à l'aide d'un râteau stérile.

L'ensemencement dans un milieu liquide a été appliquée par l'incorporation de 100µl de chaque dilution dans 9ml de MH bouillon ensuite le mélange a été ensemencé avec 100µl de chaque suspension bactérienne. En plus, des témoins, contenant les suspensions bactériennes seules avec le milieu ont été également préparées pour comparer les résultats. Enfin, les boîtes et les tubes ont été incubés dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

### **I.5. Traitement statistique**

L'analyse statistique des résultats est effectuée avec le logiciel Excel 2020 pour la détermination du taux d'humidité, rendement, différentes concentrations des composants chimiques, I (%), IC<sub>50</sub>, et CMI. Chaque test a été réalisé trois fois et les résultats sont exprimés en tant que la moyenne de chacun des trois tests plus ou moins l'écart type.

# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussion**

### II.1. Caractères organoleptiques de l'huile essentielles et hydrolat extraits

L'HE et l'HD présentent des propriétés organoleptiques différentes à savoir l'aspect, la couleur et l'odeur comme montre le tableau suivant :

**Tableau n°07** : Caractères organoleptiques de l'huile essentielle et de l'hydrolat obtenus

	<b>HE</b>	<b>HD</b>
Aspect	Solution huileuse Liquide, limpide	Liquide limpide
Couleur	Jaune clair	Incolore
Odeur	Très forte, aromatique et semblable à celle de la plante	Forte et fraîche

La figure n°10 montre l'HE (**Fig. n°07-a**) et l'HD (**Fig. n°07-b**) obtenus après l'hydrodistillation. D'après le tableau n°07 et la figure n°10, les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes **AFNOR (2000)**. D'autres part, l'HD est une solution incolore avec une odeur forte et fraîche.



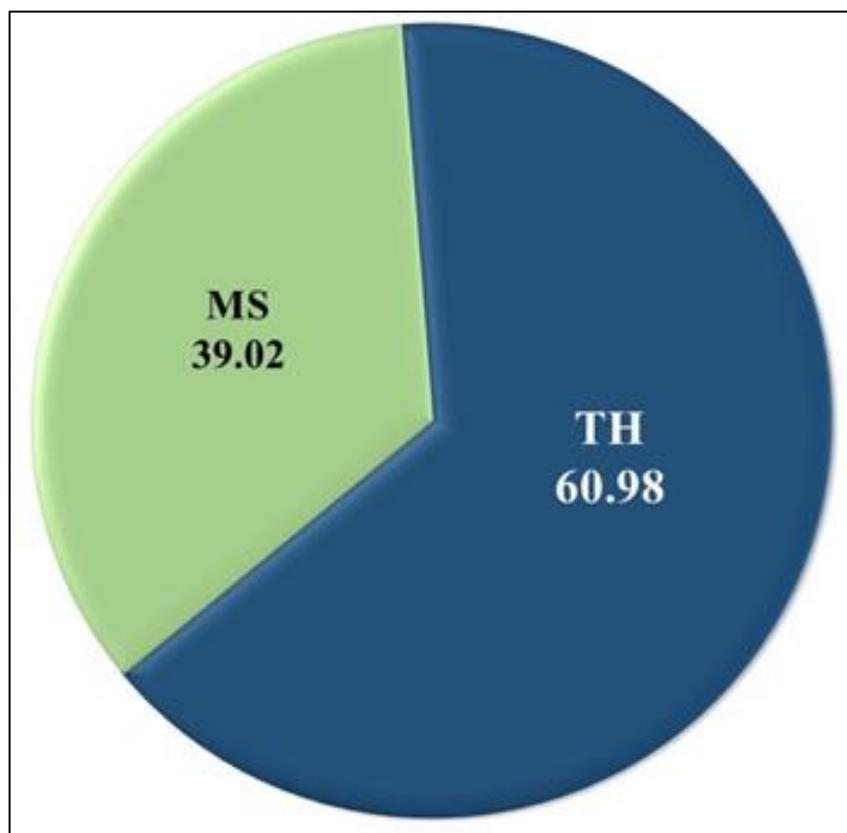
**Figure n°10** : Huile essentielle et hydrolat obtenus

### II.2. Taux d'humidité

Les végétaux sont généralement connus par leur richesse en eau, de ce fait on confirme cette hypothèse par la détermination de la teneur en eau contenue dans notre plante.

Les feuilles collectées sont pesées à l'état frais. Après une période de séchage à l'abri de la lumière dans un endroit sec, les feuilles sèches sont pesées de nouveau afin de déterminer la teneur en eau. Le taux d'humidité calculé égale à 60.98% comme le montre la figure n°11.

Les résultats obtenus sont conformes avec ceux de **Munné-Bosch et Alegre (2003)** et **Kheyar (2009)** avec un taux d'humidité de 58.9% et 64.49% respectivement, ce qui montre la richesse des feuilles de *S. officinalis* en eau. Les facteurs climatiques comme l'environnement et la qualité du sol jouent un grand rôle sur la teneur en eau (**Rodolfo et al., 2006**).



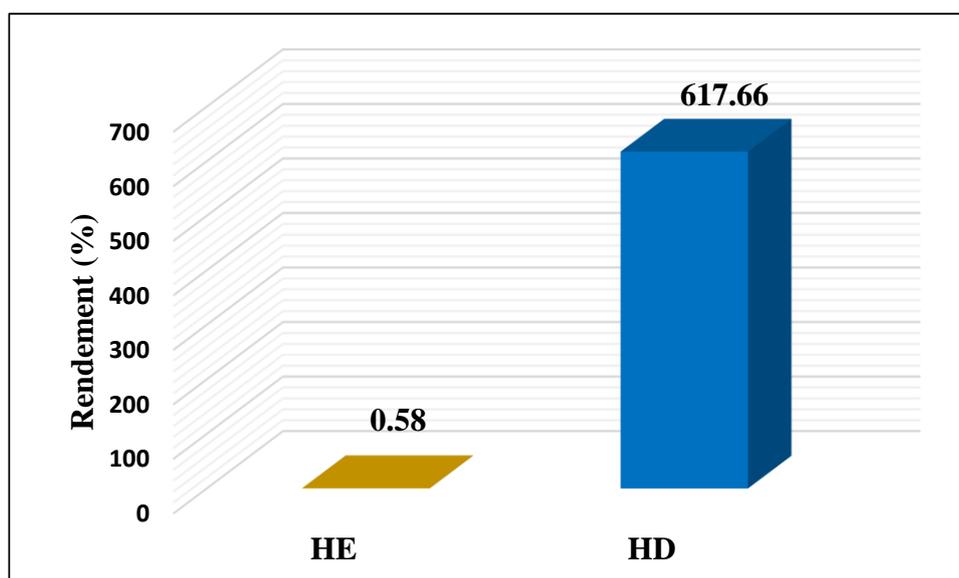
**Figure n°11** : Teneur en humidité des feuilles de *S. officinalis*

(TH) : Taux d'humidité

(MS) : Matière sèche

### II.3. Rendement

L'HE et l'HD ont été extraits à partir des feuilles de la sauge par hydrodistillation. Le rendement moyen de l'HE et HD calculé en fonction de la masse végétale sèche est de l'ordre 0.58% et 617.66 % respectivement (**Fig. n°12**).



**Figure n°12 :** Rendement d'extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat des feuilles de *S. officinalis*

Concernant l'HE, notre résultat trouvé concorde avec celui donné par **Cherigui et Zaibet (2014)**, **Bazizi (2017)** (0.41-0.9%) et **Nabil et al. (2015)** (0.97%). D'autre part, il est supérieur à celui obtenu par **Dahmani et Dahmani (2018)** (0.30%), **Taleb (2015)** (0.20%) et **Djeddi et al. (2012)** (0.08%) (**Tableau n°08**).

**Tableau n°08 :** Rendement en HE selon différentes régions Algériennes

Rdt (%)	Région (Algérie)	Recherche
0.58	Tiaret	Présente étude
0.62	Bordj Bou Arreridj	Cherigui et Zaibet (2014)
0.41-0.90	Sétif	Bazizi (2017)
0.97	Bejaia	Nabil et al. (2015)
0.30	Batna	Dahmani et Dahmani (2018)
0.20	Tizi-Ouzou	Taleb (2015)
0.08	Alger	Djeddi et al. (2012)

Dans d'autres pays, les rendements en HE obtenus sont de l'ordre de 2.05% (France), 2.30% (Roumanie), 2.50% (Hongrie) et 2.90% (Portugal) (**Chalchat et Michet, 1998**), comparativement avec ces résultats, le rendement calculé dans cette étude est plus faible.

Cette différence des résultats explique le rôle joué par les facteurs environnementaux et climatiques sur la composition chimique et sur la qualité d'huile de l'espèce végétale (**Benkherara, 2011**).

La variation en rendement peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la technique d'extraction mais également à la période de la récolte de la matière végétale (**Rguez et al., 2018**). Il est connu également que la quantité de l'HE est influencée par le cycle végétal de la plante (**Fellah et al., 2006**), elle peut être attribuée aussi à la diversité interspécifique ; la nature des organes sur lesquelles les huiles ont été extraites, la localité où les échantillons sont récoltés (**Rodolfo et al., 2006**).

Concernant l'HD, le rendement obtenu est de 617.66% (Fig.12) qui est plus élevé par rapport à celui obtenu pour l'HE de la même espèce étudiée. Par manque de recherches relatives à notre plante étudiée, on n'a pas pu discuter ce facteur.

Il faut signaler que ce rendement est non négligeable et doit être pris en considération dans les futures études.

#### II.4. Analyse phytochimique

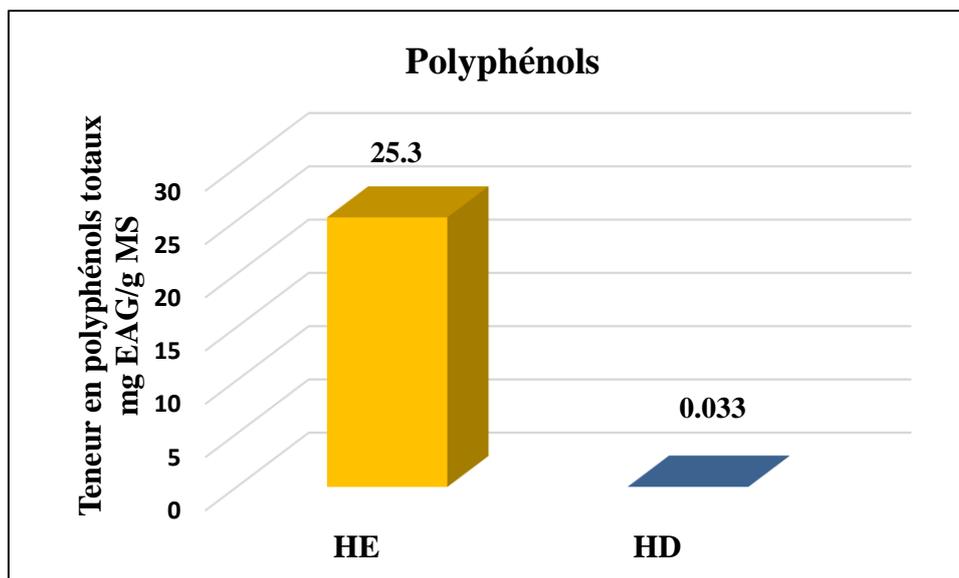
Malgré que *S. officinalis* présente des propriétés antibactériennes et antioxydantes importantes mais peu d'études sont menées sur les HE. En revanche, pas de recherches effectuées sur les HD de cette plante précisément le profil phytochimique.

Les analyses phytochimiques réalisées sur les feuilles de cette plante ont permis de déterminer les différents composés chimiques.

Les résultats des analyses phytochimiques obtenus pour les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tanins sont présentés dans les figures n°13, n°14 et n°15 respectivement.

##### II.4.1. Polyphénols totaux

Les résultats obtenus pour l'HE et l'HD montrent des teneurs variables en polyphénols totaux, l'HE présente un rendement de  $25.30 \pm 2.06$  mg EAG/g contre  $0.033 \pm 0.0$ mg EAG/g pour l'HD (**Fig. n°13**). La teneur des polyphénols dans l'HE est similaire à celle de **Alizadeh et Shaabani (2012)** avec une teneur de 25.13mg EAG/g. L'étude réalisée par **Al-Tawaha et al. (2013)** a montré une valeur plus élevée en polyphénols avec 120mg EAG/g pour les plantes non cultivées et 58mg EAG/g pour les plantes cultivées.



**Figure n°13 :** Teneur en polyphénols totaux de l'HE et l'HD des feuilles de *S. officinalis*

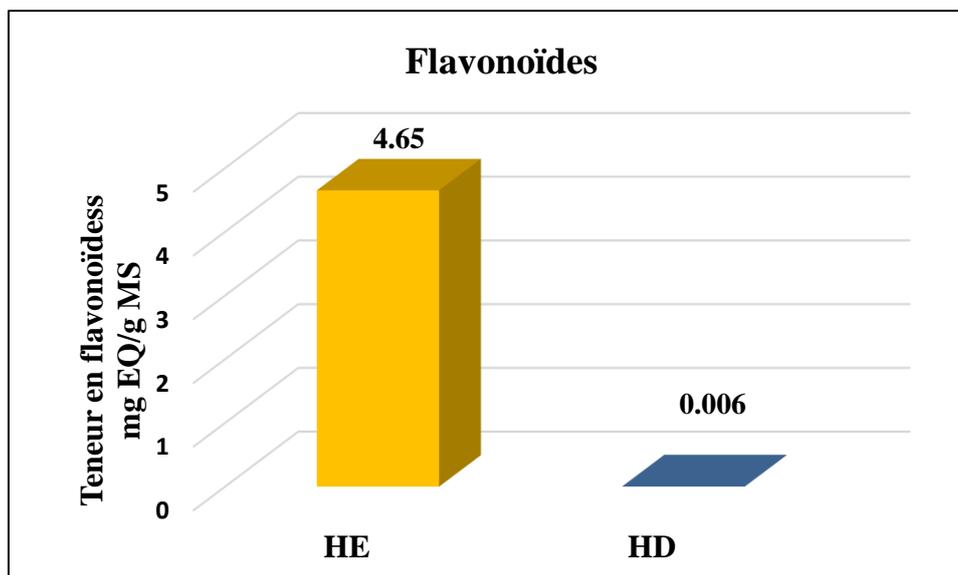
Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques. Des études récentes ont montré que les facteurs géographiques et climatiques, les facteurs génétiques, mais également le degré de maturation de la plante et la durée de stockage ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Aganga et Mosase, 2001).

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs dont nous citons les facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies... ; le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante (Rguez et al., 2018). La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (Apak et al., 2007).

Les phénols sont de puissants anti-infectieux (virucides, fongicides et parasitocides) et plus de 92% des bactéries pathogènes y sont sensibles. Ils tuent directement les souches par destruction de leurs membranes cellulaires (bactéricides les plus efficaces) et agissent aussi sur le terrain en stimulant le système immunitaire. Ce sont également des anti-inflammatoires, des antalgiques et des toniques généraux (Laurent, 2017).

#### II.4.2. Flavonoïdes

La teneur de notre HE et HD en flavonoïdes est de l'ordre de  $4.65 \pm 1.40$  mg EQ/g et  $0.006 \pm 0.0$  mg EQ/g respectivement (Fig. n°14). La teneur des flavonoïdes pour l'HE est inférieure à celle de Al-Tawaha et al. (2013) qui est 92 mg EQ/g et 52 mg EQ/g pour les plantes non cultivées et cultivées respectivement.



**Figure n°14 :** Teneur en flavonoïdes totaux de l'HE et l'HD des feuilles de *S. officinalis*

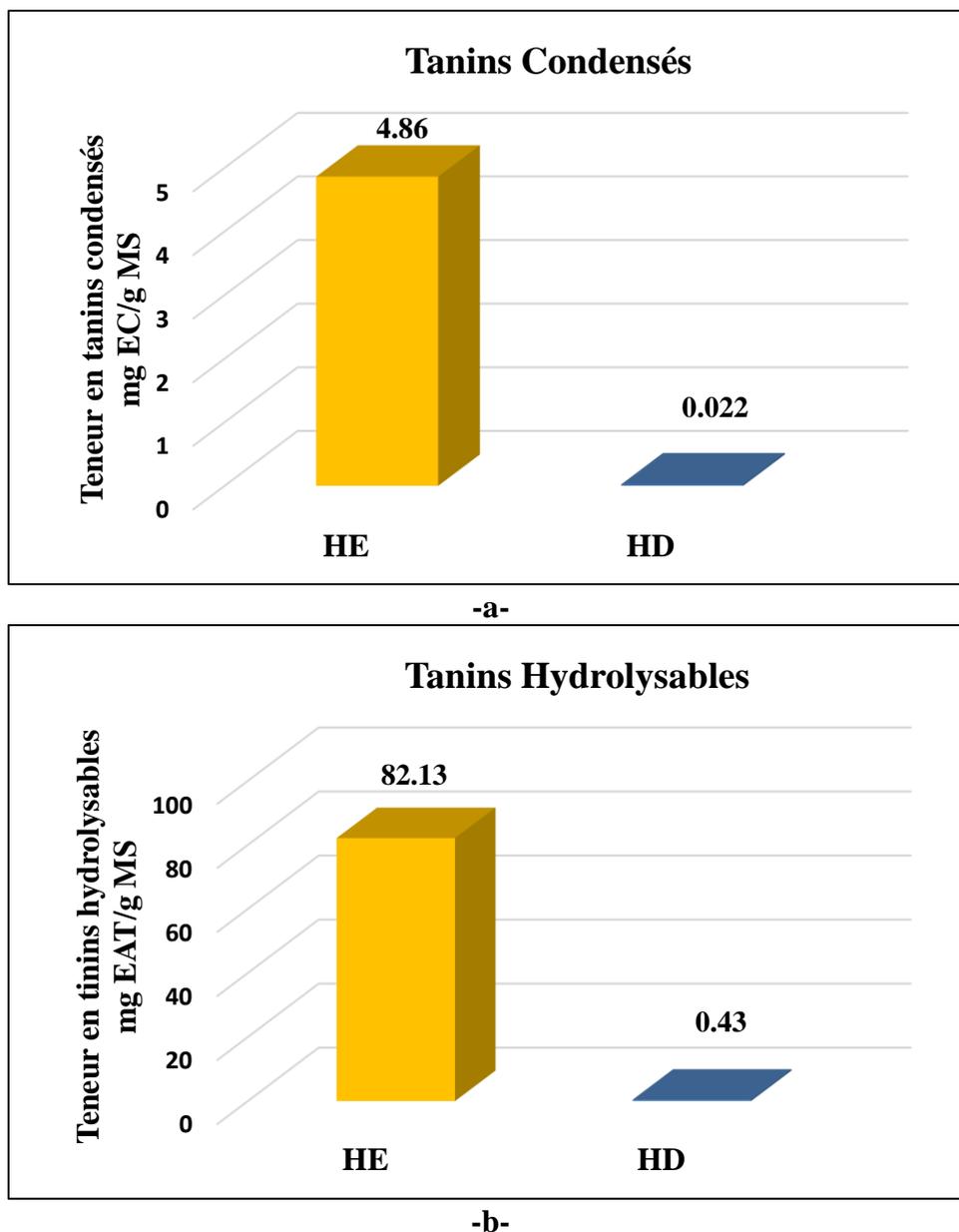
La teneur des flavonoïdes et polyphénols est élevée lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et de survivre (Apak *et al.*, 2007). La faible teneur des flavonoïdes revient aux bonnes conditions de vie de la plante étudiée dont l'absence de la synthèse de ces métabolites (Al-Tawaha *et al.*, 2013).

Les flavonoïdes ont une activité antioxydante et une capacité de piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) et radicaux peroxylipidiques. Ils sont aussi connus par leurs propriétés antiallergique, anti-inflammatoire, anti-ulcérogène, antihépatotoxiques, inhibitrices d'enzymes (ex : Enzymes de l'inflammation : la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase) et un effets protecteurs vasculaires pour le maintien d'une perméabilité vasculaire normale (Ghedira, 2005).

#### II.4.3. Tanins

La teneur en tanins condensés est égale à  $4.86 \pm 0.32$  mg EC/g pour l'HE et  $0.022 \pm 0.0022$  mg EC/g pour l'HD (Fig. n°15-a). La teneur en tanins hydrolysables est de  $82.13 \pm 15.94$  mg EAT/g pour l'HE et de  $0.43 \pm 0.14$  mg EAT/g pour l'HD (Fig. n°15-b).

La teneur des tanins hydrolysables obtenue dans notre HE est supérieure à celle trouvée par Jedidi *et al.* (2019) qui est de l'ordre de  $67.22 \pm 2.05$  mg EAT/g. Cette variation de la teneur en tanins peut être liée d'une part au degré de maturité de la plante et d'autre part au site de récolte ainsi qu'avec l'espèce végétale (Bornner et Prausnitz, 1974).



**Figure n°15 :** Teneur en tanins condensés et hydrolysable de l'HE et l'HD des feuilles de *S. officinalis*

Les résultats obtenus indiquent que l'HE et l'HD extraits à partir des feuilles de *S. officinalis* contiennent des composés chimiques en différentes concentrations. L'HD présente des faibles teneurs en ces composés, à savoir tanins hydrolysables ( $0.43 \pm 0.14$  mg EAT/g), polyphénols totaux ( $0.033 \pm 0.0$  mg EAG/g), tanins condensés ( $0.022 \pm 0.0022$  mg EC/g) et flavonoïdes ( $0.006 \pm 0.0$  mg EQ/g).

Les tanins peuvent former des complexes avec les macromolécules, en particulier les protéines. Ils exercent un effet antidiarrhéique et imperméabilisent les couches les plus externes de la peau (brulures, exéma). Ils ont des grandes capacités antioxydantes dues à leurs

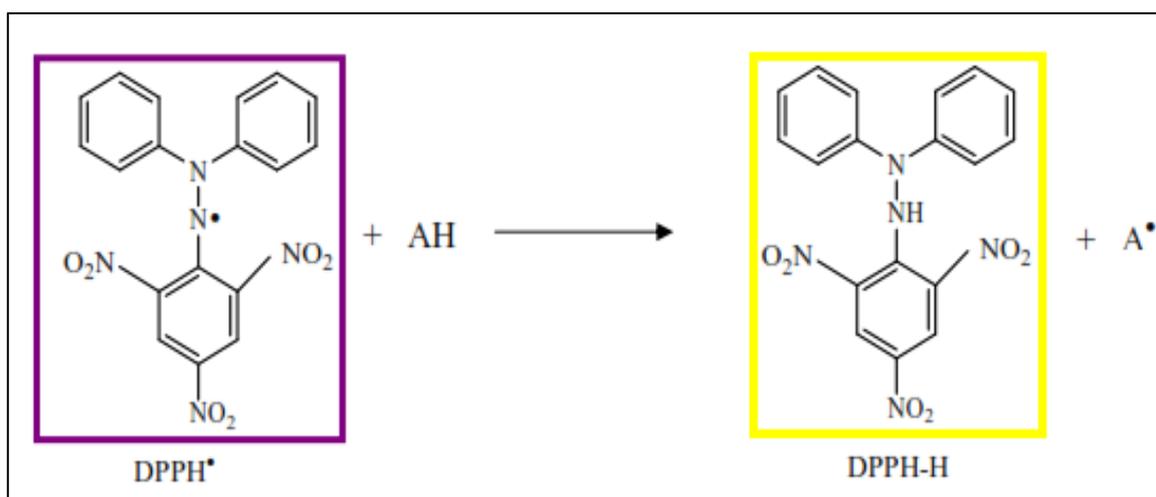
noyaux phénol, une action vasoconstrictrice sur les petits vaisseaux et un effet antimicrobien (Talbi, 2015).

La composition de l'HD est différente de celle de l'HE, ceci revient aux composés hydrophiles qui se trouvent en grandes quantités alors que les composés lipophiles dans la plupart des temps sont quasi-absents. L'HD peut être plus au moins saturé en constituants polaires qui reviennent à une partie de l'HE dissoute dans l'eau (1-5% de la fraction décantée) (Boukhatem et al., 2010).

## II.5. Activité antioxydante

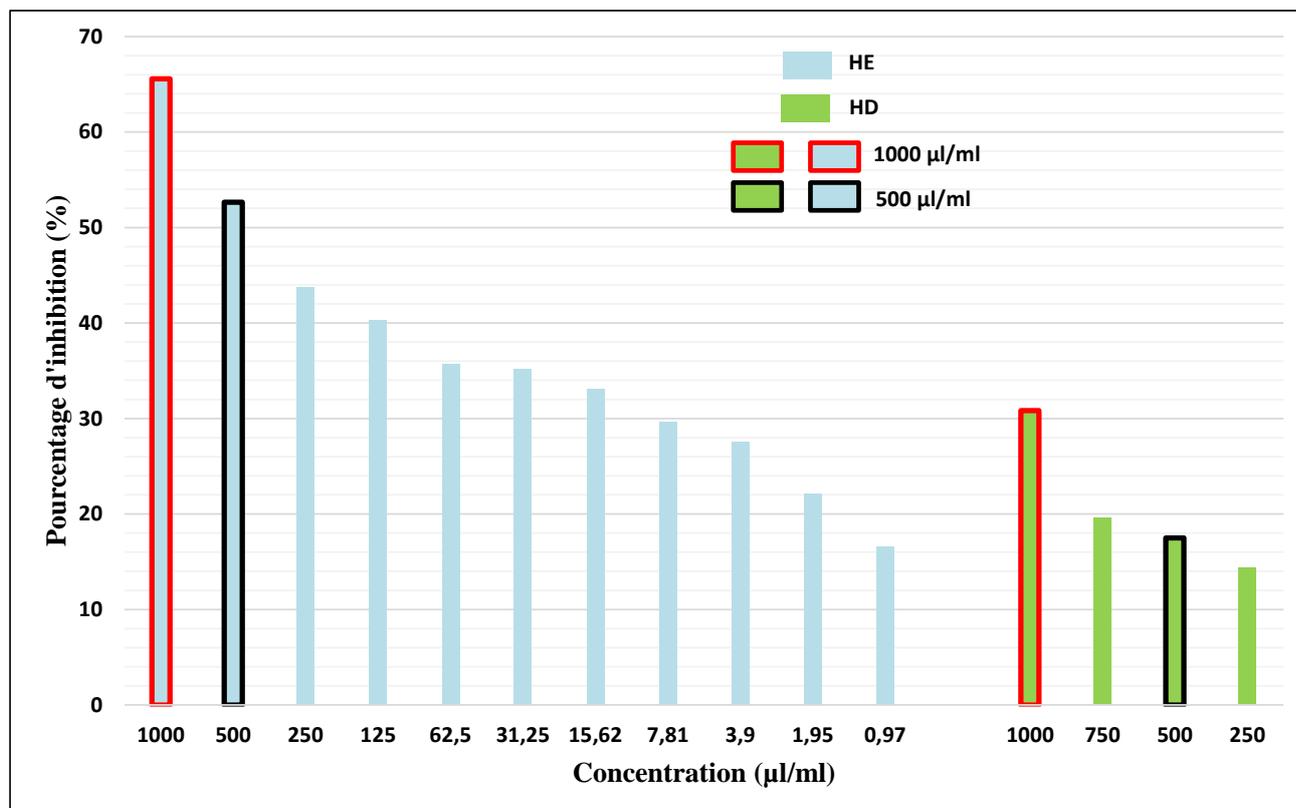
Le radical libre DPPH\* permet d'estimer l'activité antioxydante. Ce radical se réduit en présence d'antioxydant qui entraîne sa décoloration par transfert de protons (Fig. n°16) (Erkan et al., 2008). L'intensité de la couleur jaune reflète la capacité antiradicalaire de la molécule testée, et dépend de la nature, la concentration et la puissance de cette molécule (Babovic et al., 2010).

Pour avoir des résultats fiables, l'utilisation d'une seule méthode pour le test d'activité antioxydante des extraits de plantes n'est pas recommandée vue leurs composition complexe, ce qui nécessite l'utilisation de plusieurs protocoles pour évaluer l'efficacité antioxydante de l'HE et l'HD de la plante (Nuutila et al., 2003).



**Figure n°16 :** Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Amić et al., 2003)

La figure n°17 illustre l'efficacité de l'HE et l'HD extraits à partir des feuilles de *S. officinalis* à piéger le radical DPPH, traduite par le pourcentage d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations.



**Figure n°17 :** Pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE et l'HD

Selon la figure n°17, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH diminue avec la diminution de la concentration de l'HE ou de l'HD.

L'HE a exercé une bonne activité antiradicalaire, en dépassant les 65% d'inhibition à la concentration 1000 µl/ml. Par contre, l'HD a exercé une activité vis-à-vis du radical DPPH qui dépasse légèrement les 30% d'inhibition à la même concentration, mais elle reste toujours faible par rapport à celle de l'HE.

À la concentration 500 µl/ml, l'HD a marqué une diminution considérable du pourcentage d'inhibition de 30.82% à 14.33% avec une réduction de 53.50%, tandis que l'HE a marqué une légère diminution de 65.58% à 52.64% avec une réduction de 19.73%.

L'HD a marqué un pourcentage d'inhibition maximal de 30% dans la solution mère (1000 µl/ml), par contre l'HE a marqué ce pourcentage de 30% dans la dilution 1/128, ce qui signifie que l'HD est équivalent à une huile essentielle diluée 128 fois.

Il existe une corrélation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques qui sont des constituants très importants en raison de leur capacité Scavenger due à leurs groupements hydroxyles (**Elmastas et al., 2006**). L'une des propriétés chimiques des composés phénoliques est leur propriété réductrice en agissant comme donneur d'hydrogène ou d'électron ce qui leur confère leur capacité à piéger les radicaux libres (**Rice-Evans et al., 1997**). D'autre part, **Amić et al. (2003)** ont trouvé que l'activité antioxydante est strictement liée à la richesse de l'HE ou l'HD en composés *flavonoïques et leurs structures qui sont douées* d'une activité de piégeage des radicaux libres. **Ghasemi Pirbalouti et al. (2014)** et **Vosoughi et al. (2018)** ont confirmé l'efficacité des composés phénolique dans les plantes médicinales et aromatiques entre autres *S. officinalis*.

Dans cette étude, l'HE et l'HD extraits à partir des feuilles de *S. officinalis* ont montré une activité antioxydante avec différentes efficacités, dont l'HE a prouvé une activité plus importante que l'HD à cause de sa richesse en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables). *Le Carvacrol est le composé responsable de cette activité* (**Al-Tawaha et al., 2013**).

#### ➤ Détermination de l'IC<sub>50</sub> de l'huile essentielle et de l'hydrolat

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'HE et l'HD permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC<sub>50</sub>), sachant que l'IC<sub>50</sub> est la concentration nécessaire pour éliminer 50% des radicaux libres. L'IC<sub>50</sub> est un paramètre utilisé pour évaluer l'activité antioxydante (**Cuvelier et al., 1992**). Une faible valeur d'IC<sub>50</sub> correspond à une grande efficacité antioxydante (**Babovic et al., 2010**).

Les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction de différentes concentrations sont présentés dans la figure n°18 qui illustre l'efficacité de l'HE et l'HD de *S. officinalis* à piéger le radical DPPH. Selon cette figure, l'activité antiradicalaire augmente avec l'augmentation de la concentration de l'HE ou de l'HD.

Les courbes illustrées dans la figure permettent la détermination des valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'HE et l'HD qui sont présentées dans le tableau n°09. L'HE a enregistré une bonne efficacité antioxydante avec une concentration de **2.61 mg/g MS** tandis que l'HD n'a pas pu atteindre un pourcentage de 50%.

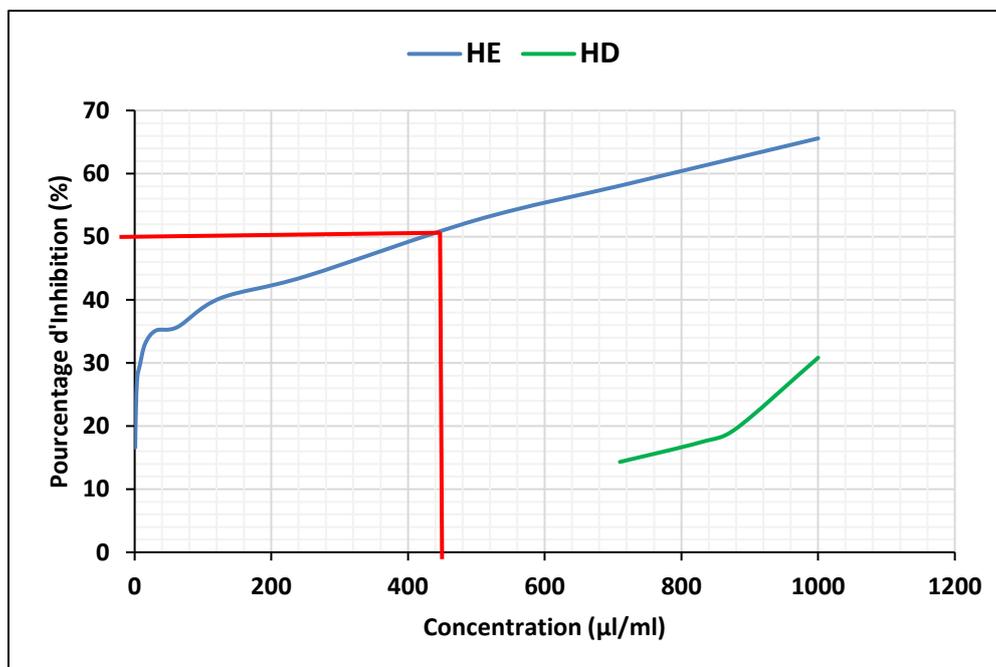


Figure n°18 : Détermination d'IC<sub>50</sub> de l'HE et l'HD

Tableau n°09 : Concentration inhibitrice d'acide ascorbique, HE et HD

	HE	HD	Vit C (Standard)
IC <sub>50</sub> (mg/g)	2.61	-	0.409

La valeur d'IC<sub>50</sub> du standard est inférieure de celle de l'HE de notre plante ce qui signifie que la Vitamine C a une forte activité antioxydante comparativement à l'HE. L'étude réalisée par **Rguez et al. (2018)** sur l'HE de *S. officinalis* a montré que la bonne activité antiradicalaire a été enregistrée quand la récolte est effectuée à 7:00 du matin. Avec un IC<sub>50</sub> égal à 3.81mg/g tandis que les HE des plantes récoltées à midi et 17:00 étaient caractérisées par une faible activité antiradicalaire avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 8.72mg/g et 8.82mg/g respectivement. Dans le même contexte, **Khedher et al. (2017)** ont étudié l'HE de *S. officinalis*, l'IC<sub>50</sub> trouvé est égal à 6.7 ± 0.2mg/g. Dans la même étude, une IC<sub>50</sub> de 3.2 ± 0.2µg/g est trouvée pour l'antioxydant synthétique (BHT). L'étude menée par **Al-Tawaha et al. (2013)** qui concerne l'influence des différentes méthodes de culture de la plante *S. officinalis* sur la composition et l'activité antioxydante de l'HE a révélé que les plantes cultivées ont enregistré une IC<sub>50</sub> égale à 3.5mg/g, par contre les plantes non cultivées ont enregistré une IC<sub>50</sub> égale à 5.23mg/g. Par déduction, les plantes cultivées exhibent une activité antioxydante importante par rapport aux plantes non-cultivées, malgré que cette dernière soit riche en polyphénols et flavonoïdes ce qui signifie l'existence d'un ou d'autres composés chimiques responsables de cette activité. La valeur d'IC<sub>50</sub> de la présente étude est inférieure

aux résultats obtenus par **Rguez et al. (2018)**, **Khedher et al. (2017)** et **Al-Tawaha et al. (2013)**. D'autres études menées sur l'HE de *S. officinalis* ont prouvé que cette espèce peut donner une meilleure activité antioxydante, ceci se manifeste par des faibles valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'ordre 1.78µg/ml, 17µg/ml et 14.10 ± 0.17µg/ml pour **Bozin et al. (2007)**, **Alizadeh et Shaabani (2012)** et **Ovidi et al. (2021)** respectivement.

Une étude comparative récente menée par **Ovidi et al. (2021)** entre l'HE et l'HD de *S. officinalis* extraits par la méthode d'entraînement à la vapeur a prouvé une forte activité de l'HD avec un IC<sub>50</sub> de 135.58 ± 33.32µg/ml. Cette forte activité est liée à celle de l'HE avec un IC<sub>50</sub> de 14.10 ± 0.17µg/ml. Contrairement à notre étude, où l'HE a marqué une IC<sub>50</sub> élevée, ceci influence négativement l'activité antioxydante de l'HD. Dans ce cadre, la méthode d'extraction peut être un paramètre responsable sur le pouvoir antioxydant.

D'après les résultats de l'analyse phytochimique et ceux de l'évaluation du pouvoir antioxydant, l'HE est riche en composés phénoliques et exerce une forte activité antioxydante comparativement à l'HD.

## II.6. Activité antimicrobienne

### II.6.1. Test d'antibiogramme

D'après les résultats de l'antibiogramme présentés dans le tableau n°10. On remarque que :

**Tableau n°10 :** Diamètre (mm) des zones d'inhibition des antibiotiques sur les souches bactériennes testées

Antibiotique	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Tétracycline	11mm (R)	08mm (R)	11mm (R)	10mm (R)
Colistine	15mm (R)	14mm (S)	12mm (S)	17mm (S)
Métronidazole	06mm (R)	06mm (R)	06mm (R)	06mm (R)
Streptomycine	23mm (S)	28mm (S)	26mm (S)	22mm (S)

- ✓ *Escherichia coli* est la souche la plus résistante aux antibiotiques testés. On note que pour quatre antibiotiques utilisés, trois ont été inefficaces (tétracycline (11 mm), colistine (15mm), et métronidazole (6 mm)), alors que seulement le Streptomycine, qui a été présenté un effet antibactérien avec un diamètre d'inhibition de 23 mm.
- ✓ *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* sont sensibles à deux antibiotiques (colistine (14 mm) et streptomycine (28 mm)), et résistants aux restes des antibiotiques (tétracycline (11 mm) et métronidazole (6 mm)).

- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à la colistine (17 mm), et à la streptomycine (22 mm). Alors qu'elle est résistante à la tétracycline (10 mm) et à la métronidazole (6 mm).

De ces trois résultats, on remarque que *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* sont les plus sensibles aux antibiotiques suivis par *Pseudomonas aeruginosa*. Tandis que *Escherichia coli* est la souche la plus résistante.

Le guide utilisé pour déterminer la sensibilité ou la résistance des bactéries aux antibiotiques, est celui de la Société Française de la Microbiologie qui a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA-SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques en 2018.

Ces résultats sont en accord avec la littérature selon laquelle les bactéries Gram positif montrent la plus grande sensibilité par rapport aux bactéries à Gram négatif. Chez ces dernières, la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace ; le lipopolysaccharide (LPS), grâce à ses charges négatives de surface empêche la diffusion des molécules hydrophobes alors que les bactéries à Gram + sont moins protégées car la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane seulement qui n'entrave que la diffusion des poids moléculaire à 50 KD (Bouzaoui et al., 2013).

## II.6.2. Test d'aromatogramme

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Salvia officinalis* par la méthode de diffusion sur disques sur milieu solide (Muller Hutton) a été estimé en termes de diamètres des zones d'inhibition autour des disques contenant les substances à tester vis-à-vis de 04 souches bactériennes opportunistes pathogènes, dont 02 bactéries à Gram négatif et 02 bactéries à Gram positif.

### II.6.2.1. Huile essentielle

L'évaluation du test de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle brute de *Salvia officinalis* a montré que *Staphylococcus aureus* a été la souche la plus sensible à cette huile avec un DZI égale à 25.5 mm suivi par *Escherichia coli*, puis *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis* avec un DZI égale à 19 mm, 17 mm et 16.5 mm respectivement (Tableau n°11).

**Tableau n°11** : Diamètre (mm) d'inhibition d'huile essentielle brute de *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes

Souche testée	DZI (mm)	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	19	Très sensible (++)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16.5	Très sensible (++)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25.5	Extrêmement sensible (+++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	Très sensible (++)

Cette sensibilité plus marquée sur les bactéries Gram(+) par rapport aux Gram(-) vis à vis des huiles essentielles concorde avec plusieurs études :

- ✓ D'après **Kharchouche et al. (2019)**, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la sauge, varie d'une souche à une autre. Ils ont remarqué qu'*Escherichia coli* est la souche la plus sensible à cette huile par rapport aux *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* avec un DZI de 15 mm, 12 mm et 12 mm respectivement.
- ✓ Les travaux de **Bouachria et al. (2018)**, et Cox et al., (2001), ont montré que *Staphylococcus aureus* était plus sensible à l'huile essentielle de *Salvia officinalis* avec un DZI de 9 mm par rapport à *Pseudomonas aeruginosa* (6 mm).
- ✓ **Benkhrara et al. (2011)** ont étudié l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* sur des entérobactéries pathogènes en utilisant la méthode de diffusion sur gélose en puits. Leurs résultats ont montré que cette huile est très efficace contre les souches d'*Escherichia coli* avec un DZI de 29.96 mm.

Des études antécédentes ont démontré que la majorité des huiles essentielles testées pour leurs propriétés antibactériennes ont un effet plus prononcé contre les bactéries à G(+) que sur les G(-). La résistance des souches à G(-) est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (**Wan et al., 1998**).

Chez les bactéries G(+), le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polyosidiques (acides lipoteichoïques, acides teichoïques...) Par contre chez les G(-), le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique (**Wan et al., 2000**).

Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines...) et lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'ils puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques, métaux lourds...) (Wan *et al.*, 2000).

La forte activité antimicrobienne des huiles essentielles contre presque tous les micro-organismes sensibles peut être attribuée aussi à la présence d'une forte concentration de mono terpènes ayant un potentiel antibactérien et antifongique (Yanguiet *al.*, 2009). La majeure partie de cette activité a été expliquée par Korocho *et al.* (2007), par la présence des terpénoïdes oxygénés (alcools et terpènes phénoliques), avec certains hydrocarbures.

Outre les composés majeurs surtout celle à structure phénolique, tels que le carvacrol, l'eugénol et le thymol, qui sont révélés très actifs contre les microorganismes sensibles (Pelczar *et al.*, 1988), d'autres constituants mineurs ( $\alpha$ -Guaiène,  $\beta$ -Selinène, trans-Salvène, O-Cymène...) des huiles essentielles ont une activité antimicrobienne (Dorman *et al.*, 2000). En fait, les effets synergiques de la diversité des constituants majeurs et mineurs présents dans les huiles essentielles doivent être pris en considération pour rendre compte de leur activité biologique (Delamare *et al.*, 2007).

Les huiles essentielles pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane bactérienne et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de différentes plantes aromatiques s'explique donc par la lyse des membranes bactériennes (Benkherara, 2011).

#### II.6.2.2. Hydrolat

Pour l'hydrolat, les résultats ont montré qu'il existe un effet inhibiteur d'hydrolat pure contre les souches testées, qui se traduit par des DZI allant jusqu'au 16 mm pour *Staphylococcus epidermidis*, suivi par *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec un DZI de 12 mm et 11.5 mm respectivement, alors que *Pseudomonas aeruginosa* a montré une résistance remarquable (08 mm) (Tableau n°12).

**Tableau n°12 :** Diamètre (mm) d'inhibition d'hydrolat brut de *Salvia officinalis* sur les souches bactériennes

Souches testées	DZI (mm)	Sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	12	Sensible (+)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16	Très sensible (++)
<i>Staphylococcus aureus</i>	11.5	Sensible (+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.5	Résistante (-)

Les résultats de l'activité antibactérienne réalisée par **Cherigui et al. (2014)** sur l'hydrolat de la sauge contre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* montrent que *Escherichia coli* est la souche la plus sensible avec un DZI de 15 mm.

L'étude réalisée sur d'autres types d'hydrolat extraits à partir de *Rosmarinus officinalis* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L., *Pimpinella anisum* L. a montré une activité antimicrobienne très intéressante contre plusieurs bactéries pathogènes allant jusqu'au 30 mm pour *Staphylococcus aureus* ATCC 2392, 19 mm pour *Escherichia coli* ATCC 25922, et 18 mm pour *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501 (**Sagdiç et al., 2003**).

La forte activité bactériostatique des hydrolats de sarriette et d'origan est due à la présence de carvacrol et de thymol connus pour leur activité antibactérienne (**Deans et al., 1990**).

**Boukhatem et al. (2010)** ont trouvé que l'activité antimicrobienne d'hydrolat de géranium représente est due à la présence de géraniol, linalool et l'alcool un décylque.

Les hydrolats donc ont les mêmes propriétés pharmacologiques que les huiles essentielles mais plus atténuées à cause des concentrations plus faibles en composés terpéniques (**Kaloustian et al., 2007**).

### II.6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

#### II.6.3.1. Huile essentielle

D'après les résultats obtenus à partir de test d'incorporation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* dans un milieu solide et milieu liquide, il ressort que cette huile est très efficace contre toutes les bactéries testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* (**Tableau n°13**).

**Tableau n°13** : Effet antibactérien de l'incorporation de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* dans un milieu solide

Souches testées concentration	1000 µl/ml (SM =1/1)	500 µl/ml (1/2)	250 µl/ml (1/4)	125 µl/ml (1/8)	62.5 µl/ml (1/16)	31.25 µl/ml (1/32)	0 µl/ml (Témoin)
<i>Escherichia coli</i>	-	-	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+

(-) : Absence totale des colonies

(+) : Présence d'au moins une colonie

○ : CMI

**Tableau n°14** : Activité antibactérienne de l'huile essentielle contre les souches testées (incorporation dans un milieu liquide)

Souches testées	1000 µl/ml (SM =1/1)	500 µl/ml (1/2)	250 µl/ml (1/4)	125 µl/ml (1/8)	62.5 µl/ml (1/16)	31.25 µl/ml (1/32)	0 µl/ml (Témoin)
<i>Escherichia coli</i>	-	-	0.047	0.066	0.137	0.268	0.745
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	0.137	0.328	0.390	0.480	0.589	1.023
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	0.025	0.103	0.165	0.210	0.464	1.347
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.225	0.420	0.497	0.548	0.643	1.004	1.130

○ : CMI

De façon générale, l'effet inhibiteur d'huile essentielle de la sauge a diminué lorsque sa concentration diminue. Ces résultats sont clairement démontrés des différents degrés d'inhibition de la croissance bactérienne. Il s'est avéré que les bactéries G + étaient plus sensibles, que les G- (**Tableau n°13**). Donc, ces résultats concordent avec ceux obtenus dans le milieu liquide (**Tableau n°14**).

L'HE de la sauge a présenté une bonne activité antibactérienne à travers des CMI plus tôt faibles variant de 500 à 1000 µl/ml, sauf dans le cas de *pseudomonas aeruginosa* qui a montré une forte résistance dans les concentrations étudiées. Cette constatation confirme le résultat obtenu par l'aromatogramme.

- ✓ La CMI dans le cas d'*Escherichia coli* est 500 µl/ml (dilution 1 = 1/2), et la CMB égale à 125µl/ml. Donc c'est la souche la plus sensible.
- ✓ *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* se sont avérées d'être des souches sensibles qui suivent *Escherichia coli*, sous l'action de la même huile avec une CMI commune (la solution mère = 1000 µl/ml), et une CMB de 250µl/ml pour *S. aureus*.
- ✓ Absence de CMI et CMB dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa*. Cela est en accord avec les résultats observés dans l'analyse qualitative (aromatogramme).
- ✓ Le rapport CMB/CMI égale 0.25 dans le cas d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* est due à la capacité de celle-ci à former un biofilm. Ce dernier est une organisation complexe, composée de différentes strates dans lesquelles, les bactéries se trouvent dans des états physiologiques spécifiques à leur situation. Ainsi, toute la population bactérienne n'est pas exposée simultanément et identiquement au produit (Pibiri, 2005).

Bouachria et al. (2018) et Cox et al. (2001) ont trouvé que *Staphylococcus aureus* était plus sensible à l'huile essentielle de *Salvia officinalis* avec une CMI de 0.039 mg/ml, que *Pseudomonas aeruginosa* avec une CMI de 0.078 mg/ml.

L'huile essentielle de la sauge officinale, utilisé dans l'étude de Mohamed et al. (2009), possède un effet antimicrobien sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 remarquable à travers les faibles CMI variant de 0.031 à 0.250µl/ml. Alors que la recherche de Marino et al. (2001) a révélé que la même huile possède une capacité bactériostatique mais aucun effet bactéricide.

Delamare et al. (2007) ont montré de cette huile inhibe la croissance de certaines souches à G(+) ; *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis*, et des souches à G(-) ; *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, et *Klebsiella oxytoca*, avec des valeurs des CMI qui varient de 0.1 à 0.5 mg/ml.

Pibiri (2005) a étudié l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la sauge officinale sur quelques souches bactériennes pathogènes. Les résultats ont montré que *Staphylococcus aureus* est sensible à cette huile avec une CMI de 7.497 mg/ml.

Cette activité antibactérienne est généralement liée à la composition chimique de cette huile. Ainsi, elle pourrait être attribuée à une forte quantité de composants majeurs comme α-

thuyone, 1,8- cinéole,  $\beta$ -caryophyllène, et d'autres composants. Ainsi, la synergie ou l'effet antagoniste d'un composé mineur ou les composés qui se trouve sous forme des traces, doit être pris en considération (Burt, 2004).

Des études menées sur des huiles essentielles de plusieurs *Lamiacées* montrent que ces plantes ont un large spectre d'activités biologiques, notamment leurs activités antibactériennes (Baratta et al., 1998).

### II.6.3.2. Hydrolat

Les résultats de l'incorporation d'hydrolat de la *sauge officinalis* dans un milieu solide et liquide ont montré que l'HD possède une activité bactériostatique et non pas bactéricide vis-à-vis les souches testées (Tableau n°15 et n°16).

**Tableau n°15 :** Effet antibactérien de l'incorporation de l'hydrolat de *Salvia officinalis* dans un milieu solide

	1000 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (SM =1/1)	750 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (3/4)	500 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (1/2)	250 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (1/4)	0 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (Témoin)
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+

+ : présence d'au moins une seule colonie

Les résultats obtenus pour l'incorporation de même hydrolat dans un milieu solide, sont en accord avec celle obtenus dans un milieu liquide (Tableau n°16).

**Tableau n°16 :** Activité antibactérienne d'hydrolat contre les souches testées (incorporation dans un milieu liquide)

	1000 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (SM =1/1)	750 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (3/4)	500 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (1/2)	250 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (1/4)	0 $\mu\text{l}/1\text{ml}$ (Témoin)
<i>Escherichia coli</i>	0.629	0.684	0.694	0.763	0.762
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.729	0.766	0.792	1.132	1.232
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.867	0.928	0.995	1.132	1.325
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.939	0.948	0.985	0.988	0.999

La diminution des concentrations d'hydrolat, a montré une augmentation de la croissance de différentes bactéries testées. Les différentes concentrations d'hydrolat étudiées, ont eu donc des effets bactériostatiques sur les bactéries testées pendant les 24h dont aucune CMI et CMB n'ont été enregistré.

Cependant, **Sagdic (2003)** a enregistré que les hydrolats de *Rosmarinus officinalis L.*, *Ocimum basilicum L.*, *Origanum vulgare L.*, *Pimpinella anisum L.* à des concentrations de 50 et 75 ml/100 ml avaient un effet bactéricide et inhibaient complètement la croissance de *Staphylococcus aureus ATCC 2392* et *Escherichia coli ATCC 25922*.

Les bactéries testées (*Escherichia coli ATCC25922*, *Escherichia coli O157:H7ATCC33150*, et *Staphylococcus aureus ATCC2392*) par **Xiaojun et al. (2017)**, ont été inhibées par tous les hydrolats d'*Areca catechu L.* et *Coco snucifera L.* avec une CMI de 75 ml/100ml.

Les hydrolats de thym, d'origan, de sarriette, de nigelle, de sauge, de romarin, de laurier, d'anis, de cumin et de *Satureja thymbra* ont été signalés comme ayant une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (**Tornuket al., 2013**). Tandis que les hydrolats de rose et lavande ont pas d'activité antibactérienne sur les même souches bactériennes (**Ulusoyetal, 2009**).

D'autres types d'HD, ont montré une activité antimicrobienne considérable tels que l'HD de *Thymbra capitata L.* qui a inhibé la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* avec une CMI similaire égale à 0.031µl/ml (**Abderrahmane et al., 2020**).

Les propriétés antibactériennes des hydrolats (bactéricide ou bactériostatique), sont expliquées par la forte teneur en alcool, ainsi que certains constituants mineurs et phénoliques. Donc cette activité a été expliquée par la composition chimique des HD (**Xiaojun et al., 2017**).

La majorité des hydrolats sont constituées de :

- ❖ Alcools ; parmi les principaux on trouve ; l'alcool benzylique et le 3,7-diméthyl-1,6-octadiène-3-ol, qui sont des agents antimicrobiens naturels (**Sagdic et al., 2013**).
- ❖ L-α-Terpinéol présent en petites quantités (d'ordre de 0,87 %) dans l'HCF et a été signalé comme étant antiasthmatique (**Duke, 1992**).

- ❖ Citronellol présent uniquement dans l'hydrolat des racines, et a été signalé comme étant un puissant inhibiteur de la tyrosinase (**Lante et al., 2015**).
- ❖ Une quantité infime de cedrol (d'ordre de 0,23%), qui pourrait être utilisée comme pesticide et antiparasitaire (**Duke, 1992**).
- ❖ Un constituant mineur, le mycène (d'ordre 0,18 %), détecté dans l'hydrolat des racines d'arec, aurait une activité préventive contre le cancer (**Duke, 1992**).
- ❖ Parmi les esters, le 1,1'-oxybis-octane est présent dans une proportion relativement élevée (d'ordre de 17.10%). Des esters tels que l'ester méthylsalicylique sont antitoxiques et antiseptiques (**Ulusoy et al., 2009**).

Les hydrolats sont donc des agents antimicrobiens et antioxydants naturels prometteurs, avec des applications potentielles dans les agro-industries (**Xiaojun et al., 2017**).

# **Conclusion**

### **Conclusion**

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiés de métabolites secondaires. *S. officinalis* reste parmi les plantes médicinales les moins utilisées dans la médecine alternative en Algérie.

La présente recherche a mis en évidence l'huile essentielles et l'hydrolat des feuilles de *S. officinalis* récoltées à partir de la région de Tiaret dans le but de la valorisation de la flore Algérienne. Ce travail permet d'effectuer une analyse phytochimique, d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles et des hydrolats extraits à partir des feuilles de *S. officinalis*.

Cette plante a présenté un taux d'humidité élevé de 60.98%, ce qui signifie sa richesse en eau. L'HE et l'HD des feuilles séchées et broyées de *S. officinalis* ont été obtenus par hydrodistillation avec un rendement de 0.58% et 617.66% respectivement. Une étude comparative est menée de l'activité antioxydante et antimicrobienne entre l'HE et l'HD des feuilles de la plante étudiée afin d'évaluer leur efficacité. revivication

Les résultats obtenus ont montré la richesse de l'HE des feuilles de *S. officinalis* en métabolites secondaires par rapport à son HD :

- Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a révélé que la teneur de l'HE en polyphénols est de  $25.30 \pm 2.06$  mg EAG/g contre  $0.033 \pm 0.0$  mg EAG/g pour l'HD ;
- Le dosage des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$  a montré une teneur de  $4.65 \pm 1.40$  mg EQ/g pour l'HE, alors que l'HD a donné une valeur de  $0.006 \pm 0.0$  mg EQ/g ;
- Le dosage en tanins condensés par la méthode de la vanilline en milieu acide a montré une teneur de  $4.86 \pm 0.32$  mg EC/g pour l'HE et une teneur de  $0.022 \pm 0.0022$  mg EC/g pour l'HD ;
- Le dosage des tanins hydrolysables par la méthode d' $FeCl_3$  (Chlorure ferrique) a donné une teneur de  $82.13 \pm 15.94$  mg EAT/g et de  $0.43 \pm 0.14$  mg EAT/g pour l'HE et l'HD respectivement.

Les résultats du pouvoir antioxydant des feuilles de *S. officinalis* a révélé que l'HE a présenté l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition (I%) de 65.58% avec une  $IC_{50}$  de 2.61 mg/g par rapport à l'HD qui a donné un (I%) de 30.82% qui ne le permet pas

d'avoir une  $IC_{50}$ . Dans ce contexte, le taux d'inhibition marqué par l'HD est équivalent à l'HE diluée 128 fois. L'activité antioxydante de l'HE est toujours supérieure à celle de l'HD en raison de la richesse en composés phénoliques.

L'évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro* de l'HE par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé a montré que *S. aureus* a été la souche la plus sensible à cette huile avec un DZI de 25.5 mm suivi par *E. coli*, puis *P. aeruginosa* et *S. epidermidis* avec un DZI égale à 19 mm, 17 mm et 16.5 mm respectivement. Pour l'HD, les résultats ont montré qu'il existe un effet inhibiteur contre les souches testées, qui se traduit par un DZI de 16 mm pour *S. epidermidis*, de 12 mm pour *E. coli*, de 11.5 mm pour *S. aureus* et de 08 mm pour *P. aeruginosa*, où cette dernière a montré une résistance remarquable.

Les résultats obtenus à partir de l'incorporation de l'HE dans les milieux solide et liquide ont montré que cette huile a enregistré une CMI de 500  $\mu\text{l/ml}$  et une CMB de 125  $\mu\text{l/ml}$  pour *E. coli*. D'autres part, *S. aureus* et *S. epidermidis* ont enregistré une CMI commune égale à 1000  $\mu\text{l/ml}$  et une CMB de 250  $\mu\text{l/ml}$  pour *S. aureus*. Par ailleurs, l'HD a eu un effet bactériostatique sur les bactéries testées dont aucune CMI n'a été enregistrée.

Cette étude a vérifié l'efficacité de l'HE des feuilles de *S. officinalis*. En effet, le but principal de cette étude est la valorisation de l'HD des feuilles de cette plante qui est traité auparavant comme sous-produit de l'hydrodistillation. La composition chimique de l'HD de cette plante lui confère des activités antimicrobienne et antioxydante satisfaisantes. Enfin, cette étude suggère l'utilisation de cet hydrolat dans le domaine thérapeutique et cosmétologique, ouvert la voie à d'autres recherches qui consistent à tester son efficacité sur d'autres souches microbiennes (bactéries, moisissures, levures ...), faire une identification des différents composés actifs par l'utilisation de la CPG couplée à la spectrométrie et d'évaluer d'autres activités biologiques des plantes de différentes régions.

## **Références bibliographiques**

**Aazza, S., Lyoussi, B., Miguel, M. (2011).** Antioxidant activity of some Moroccan hydrosols. *J. Med. Plants Res.* 5 : 6688–6696.

**Abderrahman, M., Belcadi, H., Raissouni, I., Bendriss, A., Ibn Mansour, A. (2020).** Chemical composition, *in vitro* antibacterial activity and corrosion inhibition of essential oil and hydrolat extract from aerial parts of *Thymbra capitata L.* Cav harvested at northern Morocco. *Bearing Plants.* 23 (2) : 375-389.

**Adelon, N. (1835).** Dictionnaire de Médecine. Tome XI. Éd. Bibliographie nationale de la France, Paris, 519pp.

**Adrar, N., Oukil, N., Bedjou, F. (2016).** Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial corps and products.* 88 : 112-119.

**AFNOR (2000).** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6<sup>ème</sup> Ed. AFNOR, Paris (France).

**Aganga, A. A., Mosase, K.W. (2011).** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa*, *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea seeds*. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 107-113.

**Aghel, N., Yamini, Y., Hadjiakhoondi, A., Mahdi, P.S. (2004).** Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium L.* essential oil. *Talanta*, 62(2): 407-411.

**Ait Guenissaid, O., Elharani, S. (2008).** Extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* et de *Salvia officinalis* et évaluation de leur activité antimicrobienne. Mémoire de études supérieures. Université de Tizi-Ouzou, Algérie. 77 p.

**Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., Mesbah, S. (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique Algérienne *scabiosa atropurpurea sub. Maritima*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 87 : 13-21.

**Alizadeh, A., Majid S. (2012).** Essential oil composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity in *Salvia officinalis L.* cultivated in Iran. *Advances in Environmental Biology*, 6(1): 221-226.

**Alloun, K. (2013).** Composition chimique et l'activité antioxydant et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens L.*), de la sauge (*Salvia officinalis L.*) et de

la rue des montagne ( *Ruta montana L.*). Mémoire de Magister en agronomie, spécialité d'alimentation et nutrition. Université d'El Harrache- Alger. 119 p.

**Al-Tawaha, A., Ghazi A., Adnan M. (2013).** Antioxidant activity, total phenols and variation of chemical composition from essential oil in sage (*Salvia officinalis L.*) grown under protected soilless condition and open field conditions. *Advances in Environmental Biology*, 7(5): 894-901.

**Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., Trinajstić, N. (2003).** Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica ACTA CCACAA*, 76 (1) : 55-61.

**Amirmorteza, E., Bastarahang, S., Abbasi, N., Sheikhi, G., Farhadbakhtiarian, S., Arezi, P., Hosseini, M., Baravati, S., Jokar, Z., Ganji Chermahin, S. (2014).** Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. *Hygiene and infection control*. 9(3): 23-29.

**Annane, A., Boualili, M. (2014).** Evaluation *in vitro* de l'action antibactérienne d'huile essentielle de sauge officinale. *L. (Salvia officinalis)* de la région Nord-ouest de Tizi-Ouzou. Mémoire de Master en Biologie végétale, Université de Tizi-Ouzou, Algérie. 61 p.

**Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K.I., Özyurt, D. (2007).** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12: 1496-1547.

**Archana, P., Tandan, S. K., Chandra, S. J. (2005).** Antipyretic and analgesic activities of *Caesalpinia bonducella* seed kernel extract. *Phytotherapy Research*, 19(5): 376-381.

**Awol, M., Berhanu, Y., Alemnesh, T., Solomon, T. (2016).** *In vitro* antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Microbiology*, 2016: 1-8.

**Baba Aissa, F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne. Rouiba, Algérie. 45 p.

**Babovic, N., Djilas, S., Jadranin, M., Vajs, V., Ivanovic, J., Petrovic, S., Zizovic, I. (2010).** Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected *Lamiaceae* herbs

and their antioxidant capacity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 98-107.

**Banias, C., Oreopoulou, V., Thomopoulos, C. D. (1992).** The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69:520–524.

**Baratta, M., Dorman, H., Deans, S., Figueiredo, A., Barroso, J., Ruberto, G. (1998).** Antibacterial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and fragrance*. 13 : 235-244.

**Basli, A., Chibane, M., Madani, K., Oukil, N. (2012).** Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. 10:2-9.

**Baser, K. H. C., Buchbauer, G. (2010).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. 1<sup>ère</sup> Ed. CRC Press/Taylor & Francis, USA, 991 p.

**Basil, A., Jimenez-Carmonna, M. M., Clifford, A. A. (1998).** Extraction of rosemary by super-heated water. *Journal of Food Chemistry*, 46: 5205-5209.

**Baudoux, D. (2000).** L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles Douce Alternative. Ed. French. France. 6-29 pp.

**Bazizi, M. (2017).** Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L. par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique, Mémoire de Master en Génie Chimie, Université d'Annaba, 76 p.

**Beirão, A. R. B., Bernardo-Gil, M.G. (2006).** Antioxidants from *Lavandula luisieri*. 2<sup>nd</sup> Mercosur Congress on Chemical Engineering. Portugal, 31 mai 2006, 8p.

**Belaiche, P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : Tome 1 L'aromatogramme. Ed. Maloine Sa Editeur, Paris, France, 200 p.

**Benabid, R. (2009).** Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*, Thèse de Doctorat en médecine. Université de Reims Champagne-Ardenne, (France). 161 p.

**Benayad, N. (2008).** Les huiles essentielles des plantes médicinales du Maroc : Moyens efficaces de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Rapport d'étude en chimie, Université Mohammed V – Agdal, Maroc, 63 p.

- Benkherara, S., Bordjiba, O., Boutelis, A. (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la sauge officinale : *Salvia officinalis L.* sur quelques entérobactéries pathogènes. *Science et technologie*. 23 : 72-80.
- Benzeggouta, N. (2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de Magistère en chimie, spécialité de pharmacochimie. Université de Constantine. 135 p.
- Berche, P., Gaillard, H., Louis, J., Simmonet, M. (1988).** Bactériologie : bactérie des infections humains. Ed. Lavoisier. France. 268-270pp.
- Berche, P., Gaillard, J., Simonet, M. (1989).** Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Ed ; Paris Flammarion – médecine-science. 236-274pp.
- Bhar, H., Balouk, A. (2011).** Les plantes aromatiques et médicinales. Maroc. 27p.
- Boizot, N., Charpentier, J-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.
- Bonner, D. C., Prausnitz, J. M. (1974).** Thermodynamic properties of some concentrated polymer solutions. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 12(1): 51-73.
- Bosson, L., Dietz, G. (2005).** L'hydrolathérapie. Ed. Amyris. Bruxelles (Belgique). 192 p.
- Bouachria, K., Ait Hamouda, F. (2018).** Effet antibactérien des huiles Essentielles de la Saugue (*Salvia officinalis L.*) sur deux souches bactériennes. Mémoire de Master en biotechnologie, spécialité de valorisation des plantes. Université de Mostaganem. 67 p.
- Bouaziz, M., Thabèt Yangui, T., Sayadi, S., Dhouib, A., (2009).** Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis L.* cultivated in Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*. 47 : 2755-2760.
- Boudry, C., Brezellec, H. (2006).** Microbiologie et immunologie, 2<sup>ème</sup> Ed, Wolters Kluwer, France. 126 p.
- Bougrow, S. (2009).** Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages. Ed. Chene. France. 410 p.
- Bougrow, S. (2009).** Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, Ed. Chene E/P/A, 410 p.

- Bouissy, M. (2004).** Les eaux distillées et les huiles essentielles : Hydrolathérapie et aromathérapie. Ed. Le Grand Chalon, 95pp.
- Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., Hakim, Y., Benomier, K. (2010).** Extraction, composition et valorisation de l'eau aromatique de *Géranium rosat (Pelargonium graveolens)* dans la dermopharmacie. *Nature et Technologie*, 02: 59-64.
- Boullard, B. (2001).** Plantes médicinales du monde-Croyances et Réalités. Ed ESTEM, Paris, (France). 645p.
- Bouzaoui, N., Haridi, Z. (2013).** Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. Mémoire de Master en Biologie Moléculaire et Cellulaire, spécialité de Biologie Moléculaire des Procaryotes. Université de Guelma. 71 p.
- Boyras, N., Özcan, M. (2006).** Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. *Food Microbiol.* 107: 238-242.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. (2007).** Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 7879–7885.
- Bremness, L. (1996).** L'œil nature: Les plantes aromatiques et médicinales. Ed., Bordas Nature Paris, (France). 303 p.
- Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, Technique et Documentation, Paris, France, 1120 p.
- Bruneton, J. (1987).** Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. 1<sup>ère</sup> Ed. Lavoisier, Technique et Documentation, Paris, France, 585 p.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, Technique et Documentation, Paris, France, 915 p
- Burt, A. (2003).** Antibacterial activity of select plant essential oils against *Escherichia coli* O 157: H7. *Applied Microbiology*. 36 :162-167.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Food Microbiology*. 94 : 223–253.
- Busser, C. (1997).** Se soigner par les plantes du XIV<sup>ème</sup> au XX<sup>ème</sup> siècle. Ed. Paris, 210 p.

- Campanella, I., Bonanni, A., Favero G. A., Tomassetti, M. (2003).** Determination of antioxidant properties of aromatic herbe, olives and fresh fruit using an enzymatic sensor. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 375(8): 1011-1016.
- Carlini, E. (1983).** Psychopharmacological effects of the essential oil fraction and of the hydrolate obtained from the Seeds of *Licaria Puchury-Major*. *thnopharmacology* 8(2):225–236.
- Chalchat, J. C., Michet, A., Pasquier, B. (1998).** Study of clones of *Salvia officinalis* L. contents and chemical composition of essential oil. *Flavour Fragrance Journal*, 13: 68-70.
- Chang, R., Chou, S., Shaw, J. (2001).** Synthesis of fatty acid esters by recombinant *Staphylococcus epidermidis* lipases in aqueous environment. *Agricultural food and chemistry*. 49(5): 2619–2622.
- Charles, J., Schwilgne, A. (1809).** Traité de matière médicale, 2<sup>ème</sup> Ed, J.A. Brosson, France. 347 p.
- Chen, H., Jia, Z., Yang, L. (1992).** Sesquiterpenes and a diterpene lactone with an unusual carbon skeleton from *Ligularia sagitta*. *Phytochemistry*, 31(6): 2146-2147.
- Cherigui, M., Zaibet, H. (2014).** Pouvoir antibactérien et antioxydant des extraits (Huile essentielle et hydrolat) de *Salvia officinalis* de la région de Bordj Bou Arreridj. Mémoire de Master en Analyse et Contrôle des Denrées Alimentaires, Université de Bordj Bou Arreridj, Algérie, 66 p.
- Ciulei, I. (1983).** Practical manuals on the industrial utilization of medicinal and aromatic plants: Volume 1 Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Bucarest, Faculty of Pharmacy, Romania, 67 p.
- Courvallin, P., Goldstein, F., Philippon, A. (1985).** L'antibiogramme. Association reconnue d'utilité publique. Paris. 48p.
- Cox, D., Mann, M., Markham, L. (2001).** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Applied Microbiology*. 91 : 494-497.
- Cupillard, V., Cupillard, E. (2006).** Cuisiner avec les huiles essentielles et les eaux florales. Ed., La Plage, Sète. France. 192 p.

- Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1992).** Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: Structure–activity relationship. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 56: 324–327.
- Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C., Pellerin, P. (1991).** Antioxidative activity of natural extracts: Efficacy-Comparison-Application to rosemary. *Agricultural food chemistry*. 42 : 374-386.
- Cuvier, G., Richard, A., Auguste, P., Drapiez, J. (1853).** Histoire naturelle médicale et pharmaceutique. Ed., H. Dumont. Bruxelles (Belgique). 501p.
- Dahmani, S., Dahmani, F. (2018).** Evaluation de l'activité biologique des différents extraits, et des huiles essentielles de la plante : *Salvia officinalis* L. Mémoire de Master en biodiversité et physiologie végétale, Université de M'sila, Algérie, 67 p.
- Deans, S., voboda, K. (1990).** The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L), volatile oil. Flavour and fragrance. 5 : 187-190.
- Debuigne, D., Couplan, F. (2013).** Le petit Larousse des plantes qui guérissent. Éd., Larousse. France. 1029pp.
- Delamare, L., Moschen-Pistorello, T., Artico, L., Atti-Serafini, L., Echeverrigaray, S. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*. 100 : 603–608.
- Djeddi, S., Bouchenak, N. S., Settar, I., Halli, L. (2012).** Screening of chemical composition and antimicrobial potential of Algerian sage essential oil. *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(1): 46-49.
- Djeridan, A., Yousfi, M., Nedjmi, D., Boutassouna, D., Stoker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 654-660.
- Djerroumi, A., Nacef, M. (2012).** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed. Houma, Alger, Algérie, 159 p.
- Dongmo, P. M. J., Tchoumboungang, F., Ndongson, B., Agwanande, W., Sandjon, B., Zollo, P. H. A., Menut, C. (2010).** Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea*

klaineana (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(4): 606-611.

**Dorly, J. (1994).** Les antibiotiques. Ed. Mattam, Paris (France). 09-17pp.

**Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatils oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308 -316.

**Drider, N. H., Kada, F. (2019).** Etude des activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Juniperus phoenicea* et *Mentha puleguim*, Mémoire de Master en microbiologie appliquée, Université de Bouira, Algérie, 55 p.

**Duke, J. (1992).** Phytochemical constituents of gras herbs and other economic plants. Ed., CRC Press, Boca Raton, Florida (États-Unis). 652 p.

**Duraffourd, C., Lapraz, J. C., Chemli, R. (1997).** La plante médicinale de la tradition à la Science. Ed. Grancher. Paris, France, 538-539 pp.

**Džamić, A. M., Soković, M. D, Ristić, M. S., Novaković, M., Grujić-Jovanović, S., Tešević, V., Marin, P. D. (2010).** Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* (L.) Hudson (*Lamiaceae*) essential oil. *Botanica Serbica*, 34(1): 57-61.

**El Akrem, H., Imed, C., Manaf, A., Marielle, B., Jean, Y., Hammami, M., Moktar, H. (2008).** Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *Food microbiology*. 125 (3) : 242-251.

**Elhaib, A. (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique. Thèse de Doctorat en Chimie organique et catalyse, Université de Toulouse, France, 158 p.

**Elmastaş, M., Gülçin, İ., Işildak, Ö., Küfrevioğlub, Ö. İ., İbaoğlua, K., Aboul-Eneinc, H. Y. (2006).** Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 3(3): 258-266.

**Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. (2008).** Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*. 110(1): 76-82.

**Essawi, T., Srour, M. (2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3): 343-349.

- Farag, R., Daw, Z., Hewedi, F. (1989).** Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Food Protect.* 52: 665-667.
- Fauchere, J., Avrili, L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ed., ellepses, France. 368 p.
- Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M. (2006).** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2): 193-202.
- Fridolia, A. (2012).** Phytochimie et évaluation de l'activité anti radicalaire des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire de Master en biologie, spécialité de biochimie moléculaire. Université de Tlemcen, 77 p.
- Gabriel, I., Alleman, F., Dufourcq, V., Perrin, F., Gabarrou, J-F. (2013).** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. 1. Performances de croissance et réglementation. *INRA Productions Animales*, 26 (1) : 3-12.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I. (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102 (3): 898-904.
- Ghasemi-Pirbalouti, A., Siahpoosh, A., Setayesh, M., Craker, L. (2014).** Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of some medicinal and aromatic plants used as herbal teas and condiments in Iran. *Journal of Medicinal Food*, 17: 1151–1157.
- Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005(4): 162-169.
- Giordani, R., Hadeif, Y., Kaloustian, J. (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79 (3):199–203.
- Goetz, P. (2007).** Aromathérapie en pathologie digestive. *Phytothérapie*. 5 (1) : 21-24.
- Goutier, J. (2009).** L'herbier des jardins collection de plantes vivrières aromatiques médicinales et ornementales. Ed., la maison rustique flammarion.200pp.
- Gras, D. (2006).** Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidosiques et *staphylococcus aureus*, Thèse de Doctorat en biologie, spécialité de biologie cellulaire. Université de Reims Champagne-Ardenne, 185 p.

- Grunwald, J., Janicke, C. (2006).** Guide de la phytothérapie. 2<sup>ème</sup> Ed. Marabout, Italie, 416 p.
- Grzegorzczak, I., Matkowski, A., Wysokinsska, H. (2007).** Antioxidant activity of extracts from *in vitro* cultures of *Salvia officinalis*. *Food Chemistry*, 104: 536-541.
- Hadjila, A. (2016).** Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait de *Salvia officinalis* (Sauge). Mémoire de Master en Agronomie, Université de Tlemcen, Algérie, 72 p.
- Hale, A. L. (2003).** Screening potato genotype for antioxidant activity, identification of the responsible compounds and differentiating russet norkotah strains using AFLP and microsatellite marker analysis. Thèse de Doctorat en génétique, Université de Texas, 260 p.
- Hallel, Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydants des citrus application sur la sardine (*sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie, spécialité de biochimie appliquée et biotechnologie. Université de Tizi-ouzou. 120 p.
- Hans, W.K. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed.,Terre, 322pp.
- Hennekinne, A. (2009).** Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires de Staphylocoques à coagulase positive. Thèse de Doctorat en Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Université de Paris (France). 183 p.
- Hessas, T., Simoud, S. (2018).** Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp. Mémoire de Docteur en Pharmacie, Université de Tizi-Ouzou, 106 p.
- Hippolyte, I., Allain, P., Pellecier, J. (1993).** Variation de la teneur de certains composés de l'huile essentielle de la sauge (*salvia officinalis* L.) en fonction de divers états physiologiques. *Acta botanica gallica*. 2: 225-225.
- Hoefler, C. (1994).** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques anti hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de Doctorat en sciences des vivants, spécialité de Médecine humaine et de pathologie. Université de metz. 170 p.
- Humadi, S. S., Istudor, V. (2009).** Quantitative analysis of bio-active compound in *Hibiscus sabdariffa* L. extracts. Note I quantitative analysis of flavonoids. *Farmacologia*, L.VI(6): 699-707.
- Hussain, A. I. (2009).** Characterization and biological activities of essential oils of some species of *lamiaceae*. Thèse de Doctorat en chimie, Pakistan, 257 p.

- Hussain, A. I., Anwar, F., Chatha, S. A. S., Jabbar, A., Mahboob, S., Nigam, P. S. (2010).** *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41: 1070-1078.
- Idouchen, A. (2014).** Validation d'une méthode d'analyse (Dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu). Rapport de stage en chimie, Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah, Maroc, 26 p.
- Inouye, S., Takahashi, M., Abe, S. (2008).** A Comparative Study on the Composition of Forty-Four Hydrosols and Their Essential Oils. *Essential Oil*. 89-105.
- Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> Ed. Larousse, Paris, France, 335 p.
- ISO 9235 (1997).** Matières premières d'origine naturelle – Vocabulaire. 1<sup>ère</sup> Ed. ISO/TC 54 Huiles essentielles, 8 p, 1997.
- Jalsenjak, V., Peljnajak, S., Kustrak, D. (1987).** Microcapsules of sage oil, essential oils content and antimicrobial activity. *Pharmazie*. 42 : 419-420.
- Jeannot, V., Chahboun, J., Russel, D., Casablanca, H. (2003).** Origanum compactum Bentbam: Composition of the hydrolat aromatic fraction, comparison with the essential oil and its interest in aromatherapy. *Aromather*. 13 : 90-94.
- Jedidi, S., Kais, R., Slimen, S., Foued, A., Houcine, S., Dalanda, W., Houcem, S., Nourhène, D., Abbes, C., Hichem, S. (2019).** Phytochemical/antioxidant properties and individual/synergistic actions of *Salvia officinalis* L. aqueous extract and loperamide on gastrointestinal altering motor function. *Journal of Medicinal Food*, 22(12): 1235-1245.
- Kadi, N. (2018).** Analyses Biomorphométriques et Phytochimiques de *Lobularia maritima* L. (Desv.) dans la Région de Mostaganem. Mémoire de Master en Biotechnologie et Valorisation des Plantes, Université de Mostaganem, Algérie, 60 p.
- Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L., Marie-France, V., Nicolay, A., Portugal, H. (2008).** Nouvelles perspectives industrielles pour les hydrolats. *Acta botanica gallica*. 155 : 3-15.
- Karou, D. (2006).** Evaluation des activités antibactériennes, antioxydantes et antiplasmodiales d'extraits de quatre plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Thèse de Doctorat en Biochimie-Microbiologie, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 83 p.

**Kechkar, M. (2008).** Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire de Magister en sciences biologique, spécialité de biochimie appliquée. Université de Constantine. 99 p.

**Kelen, M., Tepe, B. (2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99(10): 4096–4104.

**Kharchouche, G., Bouzeffour, D. (2019).** Contribution à l'étude physico-chimique et l'évaluation de l'activité microbiologique et antioxydante de *Salvia officinalis* de la région de Ain Defla. Mémoire de Master en Chimie, Spécialité de Chimie Pharmaceutique. Université de Khemis Miliana. 86 p.

**Khedher, M. R. B., Mohamed, H., Saoussen, B. K., Ikbal, C., Slim, T. (2017).** Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. *EXCLI Journal*, 16: 160-173.

**Kheyar, N. (2009).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa* L., *Salvia officinalis* L. et *Laurus nobilis* L., Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives, Université de Bejaia, Algérie, 75 p.

**Khoudali, S., Benmessaoud, D., Essaqui, A., Zertoubi, M., Azzi, M. (2014).** Etude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(3): 887-898.

**Kim, N. S., Lee, D. S. (2002).** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 98 : 31-47.

**Koroch, A., Juliani, H.R., Zygadlo, J.A. (2007).** Bioactivity of essential oils and their components. *Flavors and Fragrances*. 87–115.

**Kouche, M. (2009).** Détermination de l'effet antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Mémoire de Magister en biologie cellulaire. Université de Annaba.

- Krisa, S., Téguo, P. W., Decendit, A., Deffieux, G., Vercauteren, J., Mérillon, J. M. (1999).** Production of <sup>13</sup>C-labelled anthocyanins by *Vitis vinifera* cell suspension cultures. *Phytochemistry*, 51(5): 651-656.
- Kuete, V., Ango, P., Fotso, G., Kapche, G., Dzoyem, J., Wouking, A., Ngadjui, B., Abegaz, B. (2011).** Antimicrobial activities of the methanol extract and compounds from *Artocarpus communis* (Moraceae). *BMC complement and alternative medicine*. 25: 11-42.
- Lacoste, S. (2014).** Ma bible de la phytothérapie. Ed. LEDUC.S, France, 647 p.
- Lagunez-Rivera, L. (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat en Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 335 p.
- Lahlou, M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6): 435-448.
- Laurent, J. (2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine, Thèse de Doctorat en pharmacie, Université Paul Sabatier de Toulouse III, France, 225 p.
- Laurent, J. (2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Paul Sabatier Toulouse III, France.
- Lina, C. F., Andrada, P. B., Seabra, R. M. (2005).** The dinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2): 383-389.
- Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., Ming-Juan, W. (2003).** Antioxydant effect of methanol extracts from *Lotus Plumule* and *Blossom (Nelumbo nucifeca Gertn)*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(1): 60-66.
- Loukiadis, E. (2007).** Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC). Thèse de Doctorat en microbiologie. Université de Toulouse-France. 225 p.
- Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en chimie. Université de la Réunion, France, 146 p.

- Lucrecia, L., Chaillou, L., Nazareno, M. A. (2006).** New method to determine antioxidant activity of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8397–8402.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K. V., Biro, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4): 119-125.
- Madec, j., Decousser, J., Fortine, N., Haenni, M., Jouy, E., Kempf, I., Laurentie, M., Lupo, A., Morvan, H., Pinsard, J., Sanders, P., Woronoff-Rehn, N. (2018).** Comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie. Recommandation vétérinaire. 16 p.
- Madi, A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister en biologie, spécialité de microbiologie. Université de Constantine. 116 p.
- Maksimovic, M., Danijela, V., Mladen, M., Marija, E.S., Sabaheta, A., Sonja, S.Y. (2007).** Effect of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric *Salvia species*, *Salvia brachyd on vandas* and *Salvia officinalis L.* *Biochemical Systematics and Ecology*. 35 : 473-478.
- Marino, M., Bersani, C. Comi, G. (2001).** Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. *Food Microbiology*. 67 : 187-195.
- Martini, M. (2006).** Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. 3<sup>ème</sup> Ed., Tec and Doc. Paris (France). 30 p.
- Mehalaine, S. (2018).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques plantes médicinales et amélioration de leur production en culture *in vitro*. Thèse de Doctorat en Amélioration de Production Végétale, Université d'Oum El Bouaghi, Algérie, 106 p.
- Merzoug., B. (2009).** Contribution à l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des *Apiaceae* : *Carum montanum Coss. & Dur. et Bupleurum montanum Coss.* Thèse de Doctorat en Phytochimie. Université de Constantine, 194 p.
- Miguel, M. G. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15: 9252-9287.

- Mohamed, B., Thabèt, Y., Sami, S, Abdelhafidh, D. (2009).** Disinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. *Food chemical and toxicology*. 47 (11) : 2755-2760.
- Mohammedi, Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère, Université de Tlemcen, 155 p.
- Mohammedi, Z., Atik, F. (2011).** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature et Technologie*. 6: 34-39.
- Mole S., Waterman P.G. (1987).** Tannic acid proteolic enzymes: enzyme inhibition substrat derivation. *Phytochemistry*, 26: 99-102.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219.
- Montet, M. (2009).** Contamination des aliments par les *Escherichia coli* producteurs de Sigh toxine acido-résistance, Shiga-toxines (STEC) en France, et importance de l'acido-résistance des souches. Thèse de Doctorat en sciences agricole. École Pratique des Hautes Études. Lyon (France). 72p.
- Moon, J. K., Shibamoto, T. (2009).** Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 57:1655–1666.
- Nabil. A., Naima, O., Fatiha, B., (2016).** Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial Crops and Products*, 88: 112-119.
- Nauciel, C., Vilde, J. (2005).** Bactériologie médicale. Ed. Masson. New York. 77-80pp.
- Neffati, A. (2010).** Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une *Apiaceae* de Tunisie : *Pituranthos chloranthus*. Thèse de Doctorat en Biotechnologie agroalimentaire, Université de Caen, France.
- Nuutila, A. M., Puupponen-Pimia, R., Aarni, M., Oksman-Caldentey, K. M. (2003).** Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 81: 485–493.

- Ovidi, E., Laghezza, M. V., Zambelli, M., Tiezzi, A., Vitalini, S., Garzoli, S., (2021).** *Laurus nobilis, Salvia sclarea* and *Salvia officinalis* essential oils and hydrolates: evaluation of liquid and vapor phase chemical composition and biological activities. *Plants*, 10(4): 1-17.
- Palese, R. Aexhmann, D. (1990).** Labiées : Rosmarinus, Salvia. In « la grande flore en couleur de Gaston Gounier », de **Gaston, B., Robert., D.** Ed : BELIN. France, Suisse, Belgique. 376 p.
- Pauli, A. (2001).** Antimicrobial properties of essential oil constituents, *International Journal of Aromatherapy*, 11(3) : 126-133.
- Pelczar, M.J., Chan, E.C.S., Krieg, N.R. (1988).** The control of microorganisms by physical agents. Ed McGraw-Hill International. New York. 469–509pp.
- Pelikan, W. (1986).** L’homme et les plantes médicinal. Ed : Centre Triade. Paris (France). 143pp.
- Pescott, L., Harley, J., Klein, D. (2003).** Microbiologie, 2<sup>ème</sup> Ed. Boeck Université. Bruxelles. 1137 p.
- Pibiri, M. C. (2006).** Assainissement de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huiles essentielles, Thèse de Doctorat en Ressources et Environnement, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, 159 p.
- Pillet, C., Bourdon, B., Toma, N., Marghal, C. Balbaste, N. (1986).** Bactériologie médicinale et vétérinaire, systématique bactérienne, 2<sup>ème</sup> Ed. Masson. France. 58pp.
- Piochon, M. (2008).** Étude des huiles essentielles des espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Thèse de Doctorat en ressources renouvelables, Université de Québec, Canada, 213 p.
- Piochon, M., Legault, J., Pichette, A. (2008).** Chemical composition of the essential oil from *Solidago puberula* Nutt. growing wild in the north of Quebec. *Essential oil research*. 1041-2905.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, H. (2001).** Antioxidants in food: practical applications. Ed. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Angleterre, 1-84 pp.

- Presterl, E., Suchomel, M., Eder, M., Reichmann, S., Lassnigg, A., Graninger, W., Rotter, M. (2007).** Effects of alcohols, povidone-iodine and hydrogen peroxide on biofilms of *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Chemother.* 60(2): 417–420.
- Price, L. C., Price, S. C. (2004).** Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy a guide for health professionals. 1<sup>ère</sup> Ed. Churchill Livingstone, Londres, Angleterre, 312 p.
- Price, M., Van-Scoyoc, S., Butter, L. (1978).** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 1214-1218.
- Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999).** Spectrophotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application of vitamin E analytical. *Biochemistry*, 269: 337-341.
- Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, France. Ed. CNRS. 603 p.
- Radulescu, V., Chiliment, S., Oprea, E. (2004).** Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi-volatile compound of *Salvia officinalis* L. *Chromatography*. 1027: 121-126.
- Rasooli, I., Fakoor, M. H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M. B. (2008).** Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1–2): 135-139.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231–1237.
- Rguez, S., Daami-Remadi, M., Cheib, I., Laarif, A, Hamrouni, I. (2013).** Composition chimique, activité antifongique et activité insecticide de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Product*, 9(2): 65-76.
- Rguez, S., Kamel, M., Mejda, D-R., Ikbel, C., Ines, B. R., Majdi, H., Asma, L., Ibtissem, H-S. (2018).** Chemical composition and biological activities of essential oils of *Salvia officinalis* aerial parts as affected by diurnal variations. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153: 264-272.

- Ribéreau-Gayon, P., Roger-Jean, G. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris France, 254 p.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. (1997).** Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2(4): 152-158.
- Riedl, K. M., Hagerman, A. E. (2001).** Tannin–protein complexes as radical scavengers and radical sinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10):4917-4923.
- Roby, M., Sarhan, M., Selim, K., Khael, K. (2013).** Evaluation of antioxidant activity, total polyphenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris L.*), sauge (*Salvia officinalis L.*) and marjoram (*Origanum majorana L.*) extracts. *Industrial Crops and Products*. 43: 827-831.
- Rodolfo, J., Koroch, A., Simon, J., Hitimana, N. (2006).** Quality of geranium oils: case studies in southern and eastern Africa. *Journal of Essential Oil Research*, 18(sup-1): 116-121.
- Rubiolo, P., Sgorbini, B., Liberto, E., Cordero, C., Bicchi, C. (2010).** Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. *Flavour Fragrance Journal*, 25: 282-290.
- Sagdic, O. (2003).** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Food Science and technology*. 36(5) : 467–473.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Tornuk, F. (2013).** Inactivation of non-toxigenic and toxigenic *Escherichia coli* O157:H7 inoculate donminimally processed tomatoes and cucumbers: utilization of hydrosols of Lamiaceae spices as natural food sanitizers. *Food Control*. 30 : 7–14.
- Schnitzler, P., Schon, K., Reichling, J. (2000).** Antiviral activity of Australian tea tree oil and *Eucalyptus* oil against Herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*, 56(4): 343–347.
- Sergi, M-B., Leonor, A. (2003).** Drought-induced changes in the redox state of  $\alpha$ -tocopherol, ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of *Labiatae* species differing in carnosic acid contents, *Plant Physiology*, 131(4): 1816–1825.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299:152-178.
- Souza, K., Chaar, J., Oliveira, K., Gomes, O., Portela, N. (2007).** Atividade biológica de extratos, hidrolatos E Óleos voláteis de Pau-Rosa (*Aniba Duckei Kostermans*) E

Quantificação Do Linalol No Hidrolato de Folhas. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 9 : 1-7.

**Suja, K. P., Jayalekshmy, A., Arumughan, C. (2005).** Antioxidant activity of sesame cake extract. *Food Chemistry*, 91: 213-219.

**Svoboda, K. P., Hampson, J. B. (1999).** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities, Plant Biology Departement, Riverside Campus Ayr-SAC (Scottish Agricultural College), Auchincruive Ayr, Scotland, UK,

**Swain, T., Hillis, W. E. (1959).** The phenolics constituents of *Prunus domestica*. I. the quantitative analysis of phenolics constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10:63-68.

**Talbi, M. (2015).** Dosage des polyphénols de la plante d'*Artemisia Compestris*. L par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de Magistère en Chimie Moléculaire et Biomoléculaire, Université d'Oran 1, Algérie.

**Taleb, T. K. (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien) : évaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, Université de Tizi-Ouzou, Algérie, 160 p.

**Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A. (2005).** Plante aromatiques, épices, aromates, condiment et huiles essentielles. Ed. TED and DOC, Lavoisier. France. 444 p.

**Tornuk, F., Cankurt, H., OzturkI, K., Sagdic, O., Bayram, O., Bayram O., Yetim, H. (2011).** Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on fresh cut carrots and apples. *Food Microbiology*. 148: 30–35.

**Ulusoy, S., Bosgelmez-Tinaz, G., Secilmis-Canbay, H. (2009).** Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties of rose essential oil, hydrosol and absolute. *Curr Microbiology*. 59 (5) : 554–558.

**Verbois, S. (2003).** Plantes et herbes aromatique saveurs et vertus. Fernande Lanore, 234 p.

**Vilmorin A., Cie. (1883).** Les plantes potagères description et culture des principaux légumes des climats tempérés. 2<sup>ème</sup> Ed. Paris, France, 546 p.

- Vimont, A. (2007).** Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga-toxines (STEC). Thèse de Doctorat en microbiologie alimentaire et prévisionnel. Université de Lyon, France, 318 p.
- Von Eiff, C., Peters, G., Heilmann, C. (2002).** Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet infection diseases*. 2(11):677–685.
- Vosoughi, N., Masoud, G., Abdollah, G. P., Shahab, K., Fatemeh, M. (2018).** Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis L.*) extract under chitosan application and irrigation frequencies. *Industrial Crops and Products*, 117: 366-374.
- Wan, J., Wilcock, J., Coventry, M. (1998).** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Applied Microbiology*. 84: 152–158.
- Wan, P. J., Pakarinen, D. R., Hron, R. J. (1995).** Alternative hydrocarbon solvent for cottonseed extraction. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 72: 653–659.
- Wan, Y. (2000).** Inhibitory effects of Curcuma aromatica oil on proliferation of hepatoma in mice. *Gastroenterol*. 6(2):216-219.
- Wang, H. F., Yih, K. H., Huang, K. F. (2010).** Comparative study of the antioxidant activity of forty-five commonly used essential oils and their potential active components. *Journal of Food and Drug Analysis*, 18(1): 24-33.
- Watt, M. (1999).** Quality control of aromatherapy education, Conférence IATA (International Aromatherapists and Tutors Association). *Food microbiology*. 5 : 14-20.
- Wenqtang, G., Shufen, L., Ruixiang, Y., Shaokun, T., Can, Q. (2007).** Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101(4) : 1558-1564.
- Wilson, M. (2010).** Huiles essentielles pour la cuisine et le bien-être. Ed. Fides, Canada, 191 p.
- Xiaojun, S., Weibo, C., Yajun, Z., Xintao, L., Minmin, T., Hui, W., Fei, S. (2017).** Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrosols from different parts of *Areca catechu L.* and *Cocos nucifera L.* *Industrial Crops and Products*. 96 : 110–119.

**Yann-Olivier, M.** (2015). La complexité des simples caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques. Thèse de Doctorat en sciences des Agroressources. Université de Toulouse (France). 196p.

**Yen, T. B., Chang, S. T.** (2008). Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresource Technology*, 99: 232–236.

**Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W.** (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.

**Ziani, B.** (2017), Extraits de douze plantes médicinales poussant en Algérie : Etude phytochimique, activité biologique et essai d'incorporation des extraits de deux plantes dans une huile d'olive. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Ecole National supérieure Agronomie d'El Harrache, Algérie, 142p.

# **Annexes**

**Annexe n°01 :** Plante *Salvia officinalis* (La sauge officinale) (Février 2021, Faculté des Sciences et Technologie, Tiaret)



Annexe n°02 : Différentes parties de *Salvia officinalis*



**a- Feuilles**

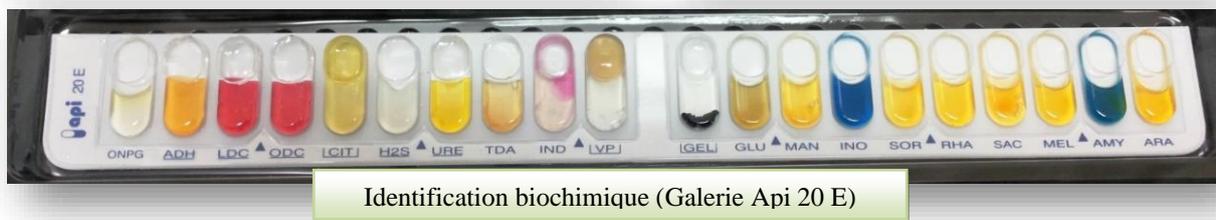
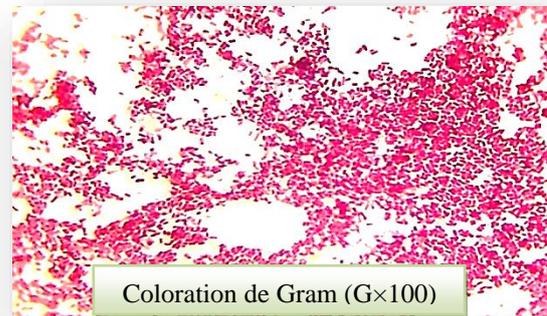


**b- Fleurs**

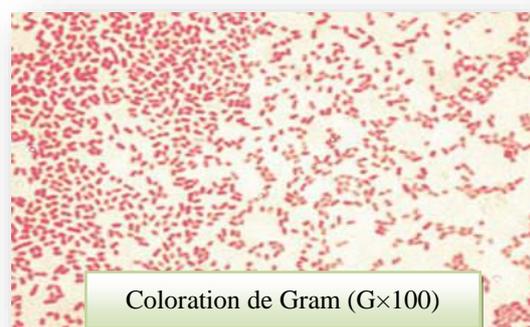


**c- Rameaux**

**Annexe n°03 : Résultats d'examen macroscopique, microscopique et identification biochimique des souches bactériennes testées**



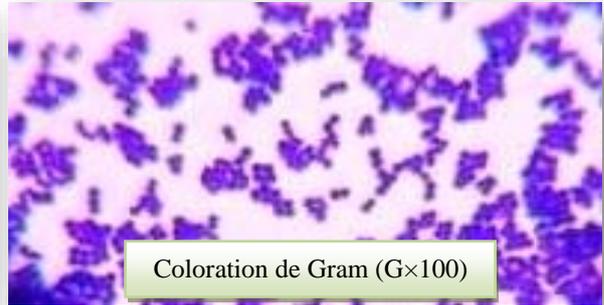
***a- Escherichia coli***



***b- Pseudomonas aeruginosa***



Examen macroscopique

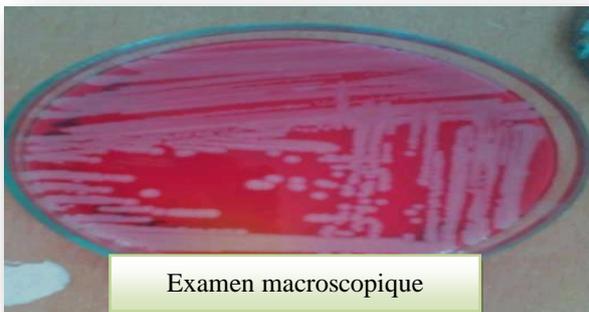


Coloration de Gram (G×100)

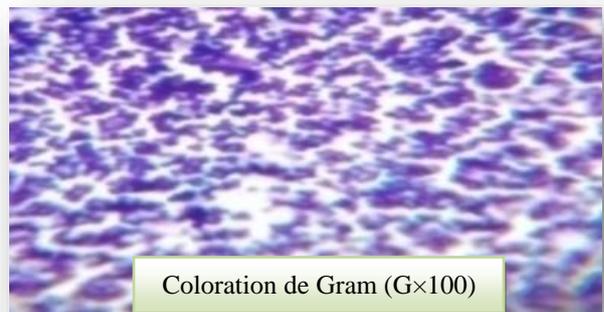


Identification biochimique (Galerie Api staph)

*c- Staphylococcus aureus*



Examen macroscopique



Coloration de Gram (G×100)

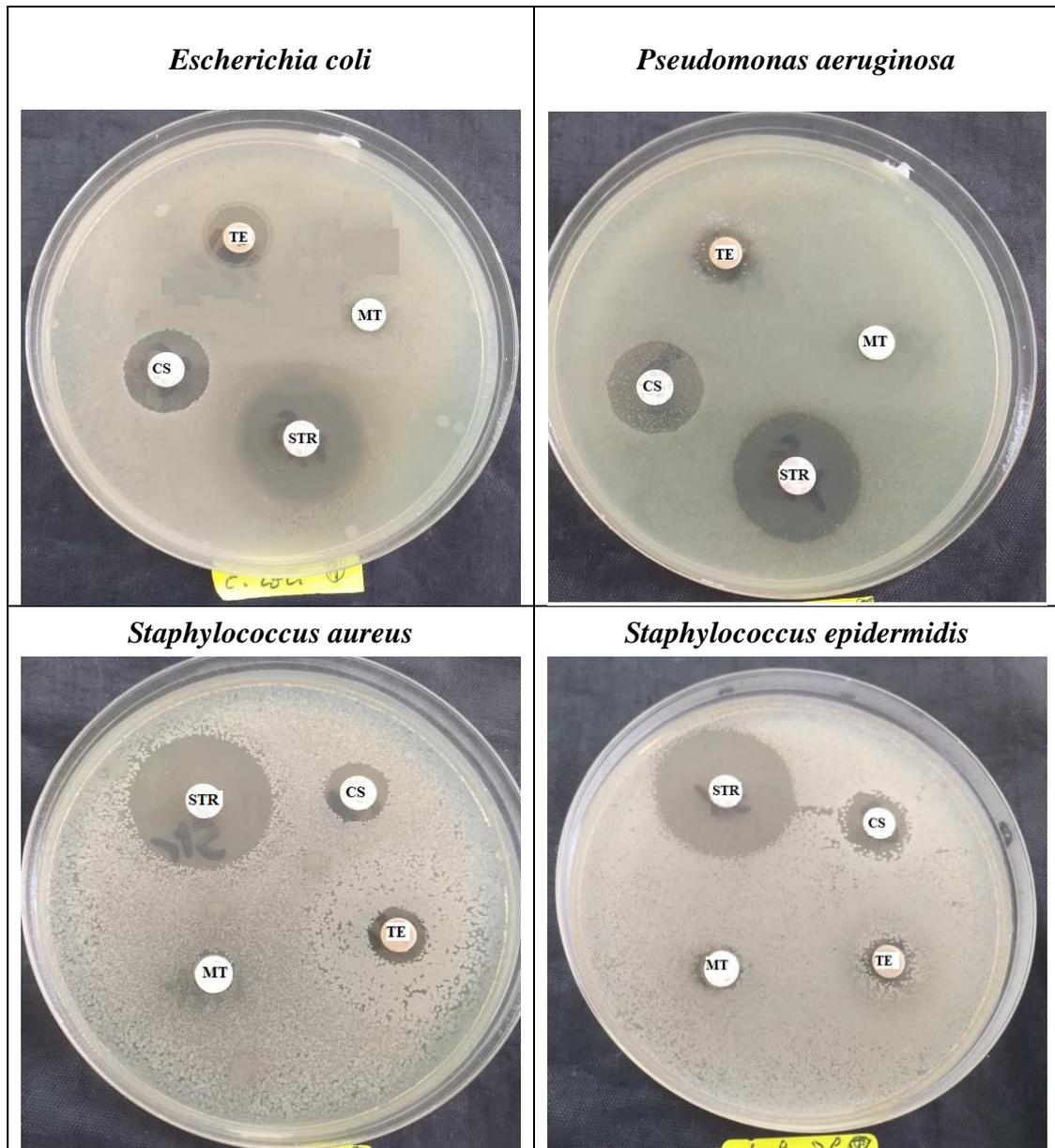


Identification biochimique (Galerie Api staph)

*d- Staphylococcus epidermidis*

## Annexe n°04 : Résultats d'antibiogramme et d'aromatogramme

## a- Antibiogramme

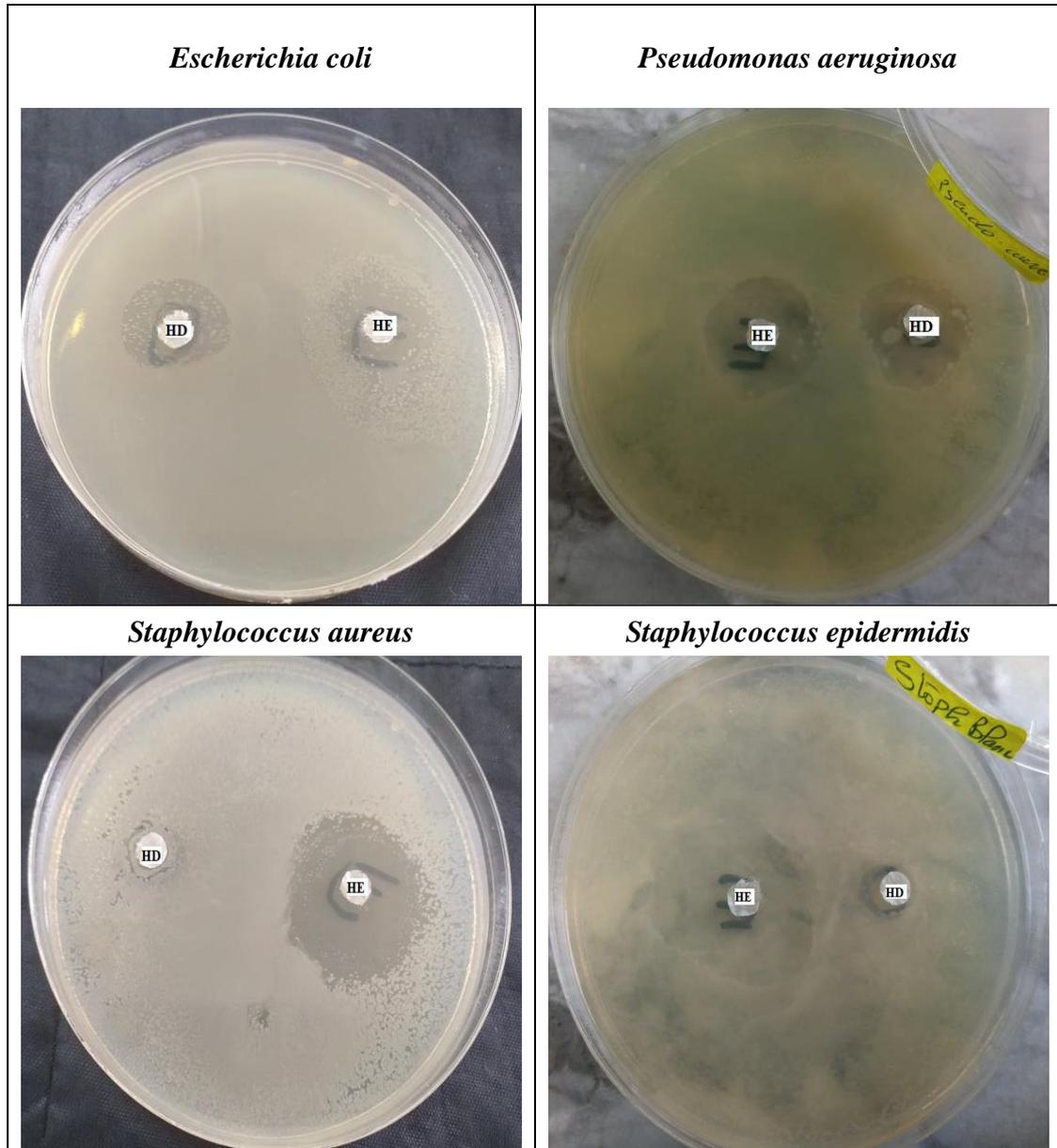


CS : Colistine

STR : Streptomycine

MT : Métronidazole

TE : Tétracycline

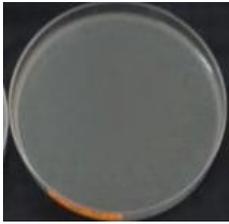
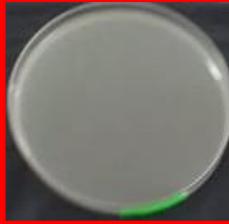
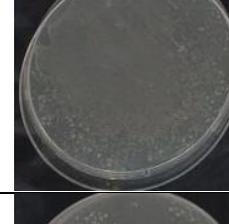
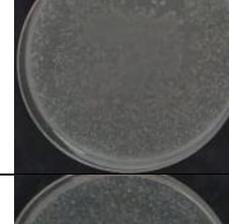
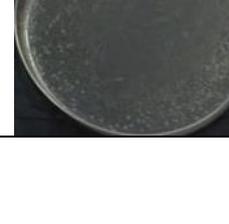
**b- Aromatogramme**

HS : Huile essentielle

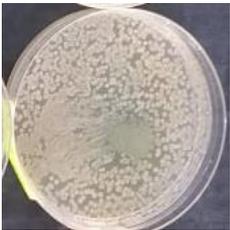
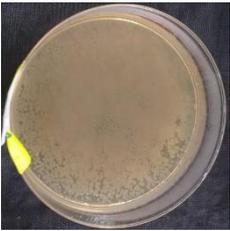
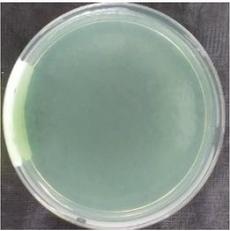
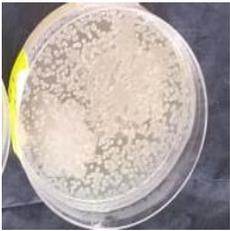
HD : Hydrolat

**Annexe n°05 : Détermination de la CMI dans le milieu solide pour l'huile essentielle et l'hydrolat extraits à partir des feuilles de *S. officinalis***

**a- Huile essentielle**

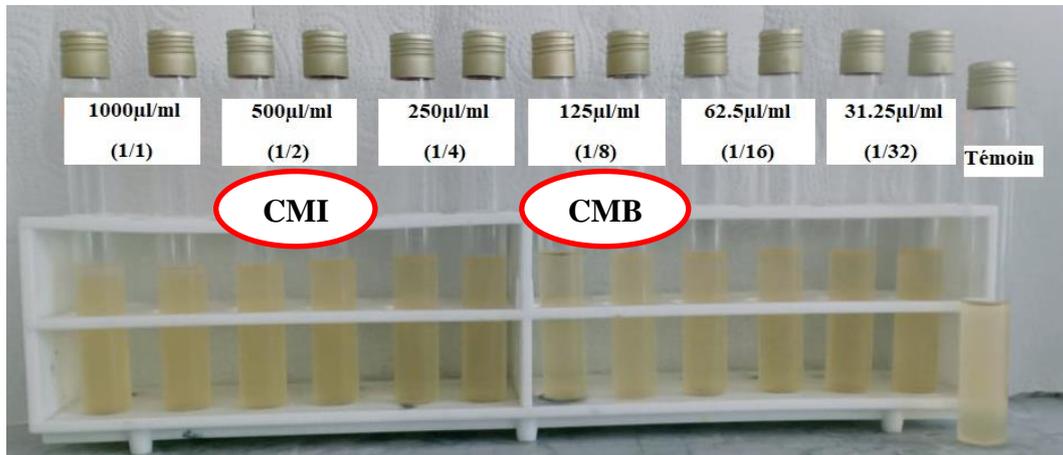
Concentration	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1000µl/ml Solution mère				
500µl/ml (1/2)				
250µl/ml (1/4)				
125µl/ml (1/8)				
62.5µl/ml (1/16)				
31.25µl/ml (1/32)				
Témoin				

## b- Hydrolat

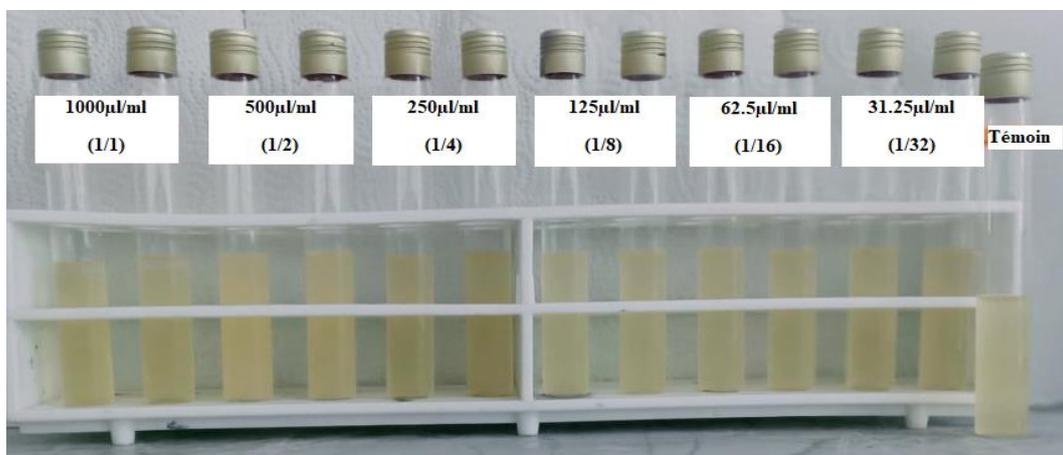
Concentration	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1000µl/ml Solution mère				
750µl/ml (3/4)				
500µl/ml (1/2)				
250µl/ml (1/4)				
Témoin				

**Annexe n°06 : Détermination de la CMI dans le milieu liquide pour l'huile essentielle et l'hydrolat extraits des feuilles de *S. officinalis***

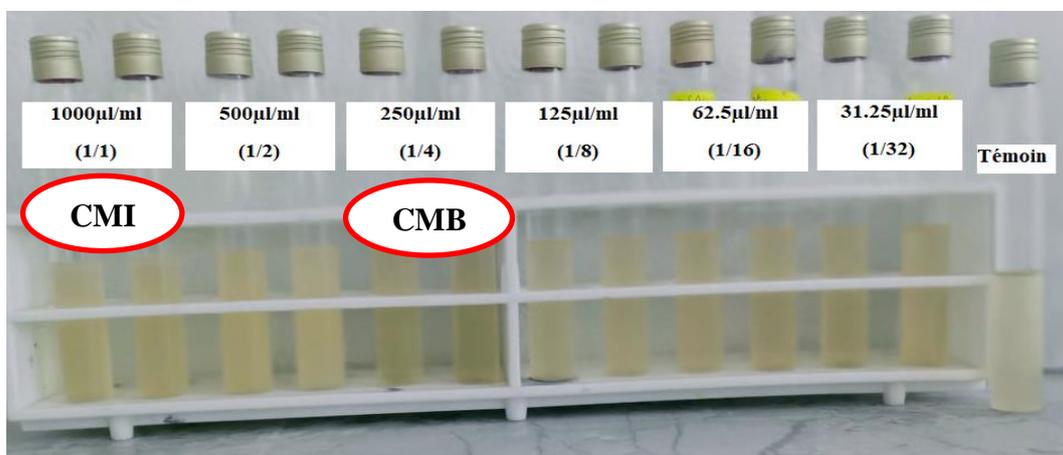
**a- Huile essentielle**



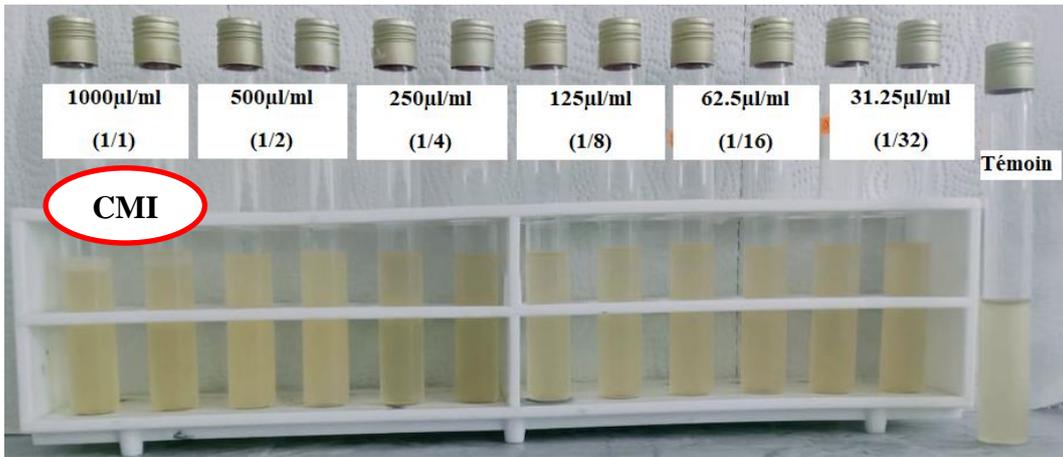
**1- *Escherichia coli***



**2- *Pseudomonas aeruginosa***

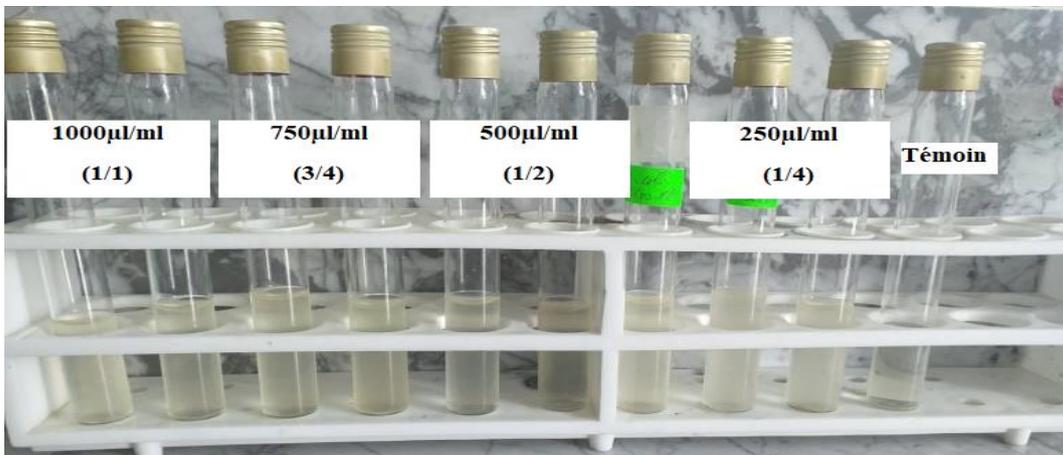


**3- *Staphylococcus aureus***

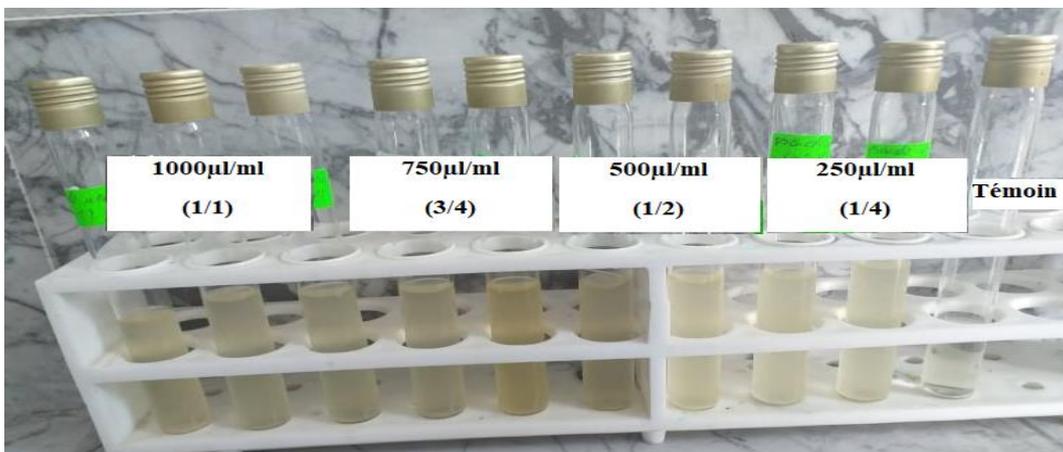


4- *Staphylococcus epidermidis*

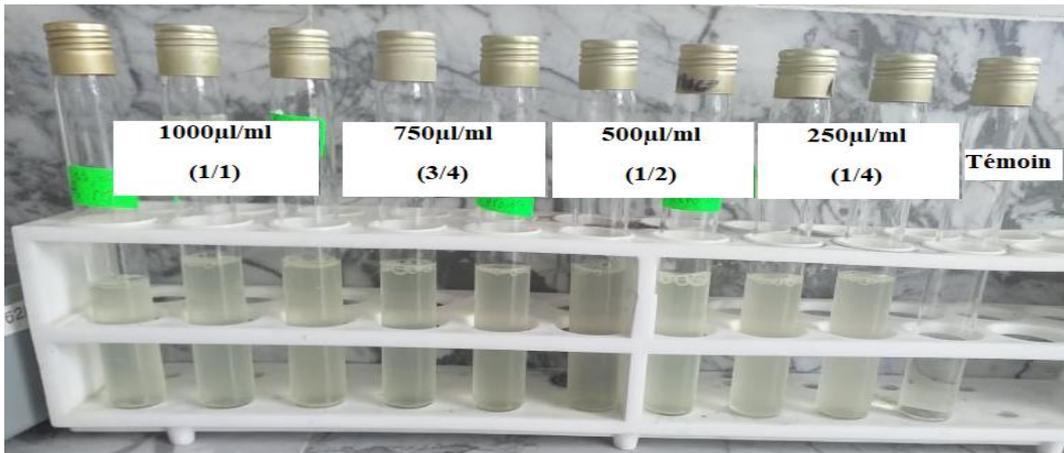
b- Hydrolat



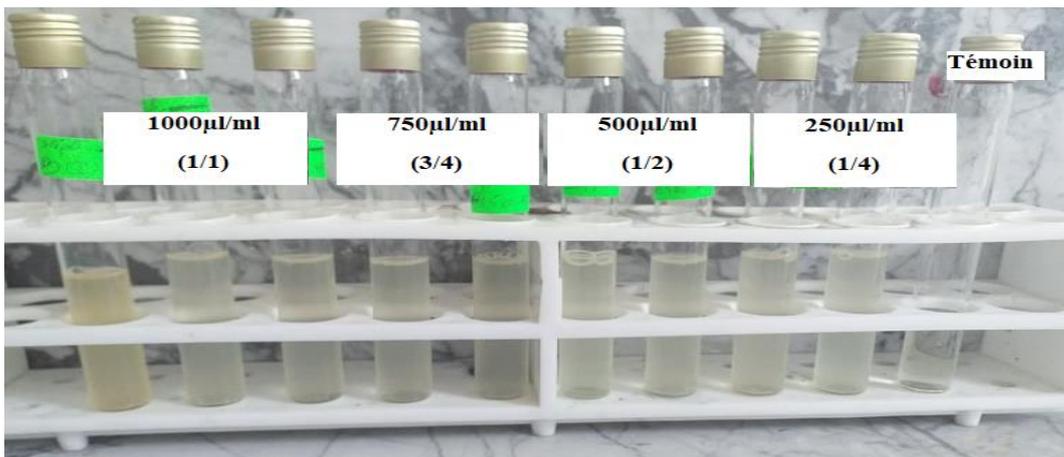
1- *Escherichia coli*



2- *Pseudomonas aeruginosa*



3- *Staphylococcus aureus*



4- *Staphylococcus epidermidis*

## Annexe n°07 : Composition des milieux de culture

➤ **Milieu Chapman (Senouci et Abdelouahid, 2010)**

Peptone	.....	11 g
Extrait de viande	.....	1 g
Chlorure de sodium	.....	75 g
Mannitol	.....	10 g
Agar	.....	15 g
Rouge de phénol	.....	0.025 g

➤ **Gélose Nutritive (GN) (Saidi, 2019)**

Extrait de viande	.....	1 g
Extrait de levure	.....	2 g
Peptone Trypsique	.....	5 g
Chlorure de sodium	.....	5 g
Agar-agar	.....	5 g

➤ **Milieu Muller Hinton (Senouci et Abdelouahid, 2010)**

Infusion de viande de bœuf	.....	300 g
Hydrolysate de caséine	.....	17.5 g
Amidon	.....	1.5 g
Gélose	.....	17 g

➤ **Milieu Mac Conkey (Senouci et Abdelouahid, 2010)**

Peptone de caséine	.....	17 g
Peptone de viande	.....	3 g
Lactose	.....	10 g
Mélange de sels biliaires	.....	1.5 g
Chlorure de sodium	.....	5 g
Rouge neutre	.....	0.03 g
Cristal violet	.....	0.001 g
Agar-agar	.....	13.5 g

## Résumé

La sauge (*Salvia officinalis* L.) est une plante aromatique et médicinale d'origine méditerranéenne de la famille des *Lamiaceae*. Elle présente une activité thérapeutique très réponde. De nombreuses recherches ont été portées sur les huiles essentielles (HE) extraites de cette plante, parallèlement, les études menées sur ses hydrolats (HD) sont très rares. Notre travail expérimental a mis en œuvre l'hydrodistillation comme méthode d'extraction de l'HE et l'HD à partir des feuilles séchées de la sauge qui sont collectées de la région de Tيارت, Algérie. Les résultats de l'analyse phytochimique ont montré que l'HE est riche en métabolites secondaires à savoir polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables, par contre, l'HD a montré des faibles teneurs. D'autre part, le pourcentage d'inhibition de l'HE a dépassé les 65% avec un  $IC_{50}$  de 2.61mg/g contre 30% pour l'HD qui ne permet pas d'avoir un  $IC_{50}$ . L'activité antibactérienne est évaluée par Aromatogramme (Méthode de diffusion des disques en milieu gélosé) contre quatre souches bactériennes opportunistes pathogènes. L'HE a exercé une forte activité antibactérienne par rapport à l'HD dont la souche la plus sensible pour l'HE est *Staphylococcus aureus* avec un DZI de 25.5 mm et pour l'hydrolat est *Staphylococcus epidermidis* avec un DZI de 16 mm. D'autre part, le test d'incorporation d'HE a enregistré une CMI de 1000µl/ml pour *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* et 500µl/ml pour *Escherichia coli*.

Les mots clés : Hydrolat, huiles essentielle, activité antibactérienne, activité anti-oxydante, *Salvia officinalis* L., sauge.

## ملخص

المرمية (*Salvia officinalis* L.) هو نبات عطري وطبي من أصل متوسطي حيث ينتمي إلى عائلة لامياسيا وله فعالية علاجية جد مهمة. تم إجراء العديد من الأبحاث العلمية حول الزيوت العطرية المستخرجة من هذا النبات، وبالموازاة، تعد الدراسات التي أجريت على المحلول المائي جد نادرة. تم استخدام التقطير المائي في عملنا التجريبي كطريقة لاستخراج الزيوت العطرية والمحلل المائي من الأوراق المجففة لنبات المرمية والتي تم جمعها من منطقة تيارت - الجزائر. أظهرت نتائج التحليل الكيميوالنباتي أن الزيت العطري غني بالمنتجات الأيضية الثانوية وهي متعدد الفينول الكلي، الفلافونويدات، العفص المكثف والعفص القابل للتحلل المائي، على عكس المحلول المائي الذي أظهر مستويات منخفضة من هذه المنتجات. من ناحية أخرى، تجاوزت النسبة المئوية لتثبيت الزيت العطري 65 % مع قيمة تركيز مثبطة بنسبة 50% ( $IC_{50}$ ) مساوية ل 2.61 ملغرام / غرام مقابل 30 % للمحلل المائي والذي لم يسمح بالحصول على قيمة تركيز مثبطة بنسبة 50%. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة الأروماتوغرام (طريقة انتشار الأقراص في وسط أجار) ضد أربع سلالات بكتيرية ممرضة. أظهر الزيت العطري فعالية بكتيرية عالية مقارنةً بالمحلل المائي. إذ كانت المكورات العنقودية الذهبية من أكثر السلالات حساسية للزيت العطري مع قطر منطقة تثبيط مقدرة ب 25.5 ملم أما بالنسبة للمحلل المائي فكانت المكورات العنقودية البيضاء مع قطر منطقة تثبيط مساويا 16 ملم. من ناحية أخرى، أعطى إختبار دمج الزيت العطري الحد الأدنى للتركيز قدره 1000 ميكرو لتر / مل بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية والمكورات العنقودية البيضاء و500 ميكرو لتر / مل بالنسبة إلى بكتيريا القولون.

**الكلمات المفتاحية:** محلول مائي، زيت عطري، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة، مرمية.