

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة محمد بوضياف/المسيلة

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA



FACULTEDES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE

MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE

FILIERE: BIOLOGIE

OPTION: MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Présenté par

MERAH Safia

Thème

**Activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile
essentielle et des extraits méthanolique et aqueux de
Satureja montana L.**

DEVANT LE JURY

SELLOUM Mounir

MAA

Président

HENDEL Noui

MCA

Encadreur

BENSEMANE Latifa

MCB

Examinatrice

Soutenu le : 03 / 09 /2020 à 14 h00

Promotion : 2019-2020

Dédicace

Aucune **dédicace** ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma
considération

pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.
Vous

êtes le plus haut exemple pour moi . Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour
que

vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne
toujours.

A mes chers parents

Vous m'avez tout donné sans rien en retour

vous avez toujours cru en moi

je vous aime énormément

A mon mari

Nabil, tu es la lumière de ma vie.

A mes chers frères Yaacoub & Ishak et beau Frère Ali.

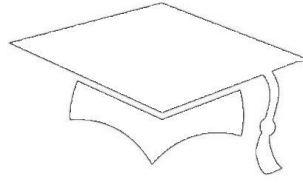
A mes chères sœurs, Samira, Fatima Z, Cheyma et ma nièce Malek

Mes princesses Lina, Alae et Abrrar

Mon prince Nibras

A toute ma famille, proche ou éloignée et à mes amies.

Safia



Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à **Dieu** le tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné la force et le courage de mener ce travail.

Je tiens tout d'abord, à exprimer mes vifs remerciements à mon encadreur, **Mr. HENDEL N.** Docteur à l'université de M'sila, d'avoir accepté de diriger avec beaucoup d'attention ce travail. Je lui suis très reconnaissante pour la bienveillance, l'aide et les précieux conseils. J'ai beaucoup appris à ses côtés et je lui adresse ma plus profonde gratitude.

A **Mm BENSEMANE L.**, et **Mr SELLOUM M.** je vous suis reconnaissante d'avoir accepté de présider le jury de ce modeste travail.

Je profite de l'occasion qui m'est ainsi donnée pour exprimer mes sincères remerciements et toute ma gratitude à **Mr SEGHIRI K.**, le chef de service des laboratoires de biologie pour son aide et son soutien à tous les moments.

A notre futur docteur **Mr SASSOUI A.** pour sa gentillesse et son aide, Je voudrai également remercier mes collègues du laboratoire de Microbiologie et de Biochimie.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail qui compte tant pour moi.

Sommaire

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Métabolites secondaires.....	02
1.1. Les polyphénols	02
1.2. Les flavonoïdes.....	02
1.3. Méthodes d'extraction des polyphénols.....	02
1.3.1. Extraction méthanolique par macération.....	02
1.3.2. Extraction aqueuse par décoction	03
1.3.3. Extraction par soxhlet.....	03
1.4. Les huiles essentielles	03
1.4.1 Définition.....	03
1.4.2 Composition et classification	03
1.4.3 Activités biologiques des HEs.....	04
1.4.4. Méthodes d'extraction des HEs.....	04
1.4.4.1 Hydrodistillation.....	04
1.4.4.2. Distillation et entraînement à la vapeur	04
1.4.5 Conservation des huiles essentielles.....	05
2. Activités biologiques des plantes	05
2.1. Activité antioxydante.....	05
2.1.1. Radicaux libres.....	05
2.1.2. Stress oxydatif	05
2.1.3. Les antioxydants	06
2.1.3.1 Les antioxydants endogènes(enzymatiques).....	06
2.1.3.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques).....	06
2.1.4. Mécanisme d'action des antioxydants	06
3. Activité antimicrobienne	07
3.1. Résistance bactérienne aux antibiotiques.....	07
3.2. Mode d'action des agents antimicrobiens	08
4. Caractéristiques botaniques de la plante étudiée.....	08
4.1. Le genre <i>Satureja</i>	09
4.2. Description botanique	09
4.3. Situation botanique de l'espèce <i>Satureja montana L.</i>	09
4.4. Utilisation et propriétés médicinales.....	09

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Matériel végétal.....	10
2. Procédés d'extraction.....	10
2.1. Extraction méthanolique par macération	10
2.2. Extraction de l'HE.....	10
2.3. Extraction aqueuse par décoction	11
3. Dosage des composés phénoliques.....	11
3.1. Dosage des polyphénols.....	11
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	12
4.1. Test de DPPH.....	12
5. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	12
5.1. Microorganismes testés.....	12

5.2.	Tests de confirmation e la pureté des souches bactériennes.....	13
5.3.	Préparation de l'inoculum.....	13
5.4.	Activité antibactérienne.....	13
5.4.1.	Méthode des puits et de diffusion	13
5.4.2.	Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)	14
5.5.	Activité antifongique.....	14
5.5.1.	Méthode de microatmosphère (fumugation)	14
5.5.2.	Méthode d'aliment empoisonné (poisoned food).....	15
5.5.3.	Méthode de disques de diffusion	15
5.6.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	15
5.7.	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB).....	16
6.	Analyse statistique.....	16

Chapitre III : Résultats et discussion

1.	Rendement de la plante.....	17
2.	Dosage des composés phénoliques de la plante.....	18
3.	Activité antioxydante.....	19
3.1.	Test de DPPH.....	19
4.	Activité antimicrobienne.....	20
4.1.	Activité antibactérienne et anticandida.....	20
4.2.	Activité antifongique.....	23
	Conclusion	25
	Références bibliographiques	26
	Annexes.....	30

Résumé

Satureja montana L. est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Elle est largement utilisée en domaine culinaire, médecine traditionnelle, et préservation des aliments. Le but de ce travail est de déterminer la teneur des extraits méthanolique (EM), aqueux (EA) et huile essentielle (HE) en composés phénoliques de cette plante, ainsi que d'évaluer leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique. Deux échantillons, BI et Mj, collectés de deux régions différentes de la wilaya ont fait l'objet de cette étude. Les rendements de l'extraction méthanolique par macération, étaient de 12.5 et 8.08 % (m/m) respectivement ; ceux de l'extraction aqueuse par décoction étaient de 2.7 et 2.04% ; alors que l'extraction des HE par hydrodistillation a donné des rendements de 5.16 et 6.37% respectivement. La teneur en Polyphénols totaux (PPT) a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'activité antioxydante a été réalisée par le test de DPPH et les IC_{50} des extraits ont été déterminées. L'activité antimicrobienne a été évaluée, pour 08 souches bactériennes (G^+ et G^-) et 05 champignons, par différentes méthodes (fumigation, disques de diffusion, puits de diffusion et aliment empoisonné 'poisoned food'), et les CMI ont été déterminées par la méthode des microdilutions. L'HE Mj a présenté une activité antimicrobienne plus importante que celle de BI avec des CMI allant de 0.62 à 1.25 μ l/ml et de 0.62 à 10 μ l/ml respectivement. Les EA des deux écotypes ont été moins puissants voir inefficaces avec des CMI de 37.5 à >300 mg/ml et des CMB de 37.5 à >300 mg/ml. L'HE a totalement inhibé les moisissures par fumigation, et les a inhibé considérablement (de 36 à >92%) par les autres méthodes. Ces résultats montrent que l'HE de *Satureja montana* possède des propriétés antimicrobiennes alors que les extraits EM et EA ont une activité antioxydante plus importante, et que l'écotype Mj est plus puissant que BI.

Mots clés - *Satureja montana*, Lamiaceae, huile essentielle, extrait méthanolique, extrait aqueux, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Liste des abréviations

ATB	Antibiotique ;
ATCC	American Type Culture Collection ;
BHT	Butylhydroxytoluene ;
BI	Beni Ilmen ;
CMB	Concentration minimale bactéricide ;
CMC	Concentration minimale candidacide ;
CMF	Concentration minimale fongicide ;
CMi	Concentration minimale inhibitrice ;
DMO	Dimethylsulfoxyde ;
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazole ;
EA	Extrait aqueux ;
EAG	Equivalent en acide gallique ;
EM	Extrait méthanolique ;
ERO	Espèces réactives de l'oxygène ;
HE	Huile essentielle ;
I%	Pourcentage d'inhibition ;
IC₅₀	Concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition ;
MHA	Mueller-Hinton Agar ;
Mj	Mjedel ;
PDA	Potato Dextrose Agar ;
PPT	Polyphénols totaux ;

Liste des figures

Figure 01	Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques	08
Figure 02	<i>Satureja montana</i> de la région MJ: plante entière (a) ; sommité fleurie (b)	10
Figure 03	Dispositifs d'extraction : a) Macération ou décoction, b) Evaporation sous vide, c) Hydrodistillation.....	11
Figure 04	Rendement (%) des échantillons BI et Mj de <i>S. montana</i> en HE, EM et EA	18
Figure 05	Teneurs en PPT (μg EAG /mg) de l'EM et de l'EA des échantillons BI et Dj de <i>S. montana</i>	19
Figure 06	Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne provoqué par l'HE _{BI} de <i>S. montana</i> au 7 ^{ème} jour d'incubation.	25



Liste des tableaux

Tableau 1	Les valeurs IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) de l'EM, de l'EA et de l'HE de <i>S. montana</i> et du standard BHT dans le test de DPPH	20
Tableau 2	Diamètres des zones d'inhibition (mm) résultant de l'effet antibactérien et anticandida de l'HE (5 μl /disque), de l'EM et de l'EA (chacun 300mg/ml) de <i>S. montana</i> L. des zones BI et Mj, et la GM (10 μg /disque)	21
Tableau 3	Les CMI et CMBs ou condidacide (CMC) des EAs et des HEs de <i>S. montana</i>	23

INTRODUCTION

Introduction

L'ethnobotanique des plantes médicinales et de leurs dérivés (huiles essentielles (HE), résines et extraits solubles) remonte aux débuts de la civilisation. La phytothérapie et la pratique traditionnelle des soins de santé sont globalement perçues relativement moins chères, plus largement accessibles et moins privilégiées dans le monde que les drogues de synthèse. (Nwonuma *et al.*, 2020).

Le stress oxydatif, est un problème majeur de santé publique, suscite énormément d'attention. Se définissant comme un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants dans l'organisme, provoqué par une surproduction de radicaux libres, le stress oxydatif est impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines telles que le cancer, le diabète, les rhumatismes et autres maladies (Roberts and Sindhu, 2009).

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques s'est avérée un problème mondial sérieux. En outre les fongicides synthétiques sont considérés comme des composés cancérigènes, tératogènes hautement toxiques. Par conséquent, il y a eu un intérêt croissant pour la recherche de pesticides alternatifs et d'antimicrobiens actifs et à large spectre d'activité antibactérienne et antifongique. Les extraits de plantes et les huiles essentielles des plantes aromatiques en fait une source importante (Labioud, 2016).

L'objectif de ce travail est d'estimer la teneur des extraits méthanolique et aqueux, et de l'huile essentielle en polyphénols dans les parties aériennes de la plante médicinale *Satureja montana* L. et d'en évaluer leur pouvoirs antioxydant et antimicrobien. Cette plante pousse à l'état spontané au niveau de la région de M'sila et utilisée par la population locale.

Ce travail est constitué d'une partie théorique présentant en bref les activités biologiques et une description de la plante étudiée, une partie expérimentale relative aux différentes méthodes et techniques utilisées pour évaluer les activités précédemment citées. Dans une dernière partie nous avons discuté les résultats obtenus au cours de cette étude, sachant que certains tests n'ont pas été menés en raison de la pandémie du Covid-19. Enfin une conclusion générale dans laquelle nous avons rappelé les principaux résultats obtenus, puis nous avons proposé quelques perspectives pour notre étude.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Métabolites secondaires

1.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement ([Harrar, 2012](#)).

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées tels les tanins condensés ([Urquiaga and Leighton, 2000](#)).

- Les phénols simples (C6): un seul noyau phénol comme pour les acides phénolique (C6-C1).
- Les flavonoïdes (C6-C3-C6): deux noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné.
- Les tannins hydrolysables et non hydrolysables.
- Les stilbènes (C6-C2-C6) .

1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe des polyphénols, Avec plus de 5000 composés flavonoïdes largement distribués dans les plantes. Leur structure de base consiste en deux cycles aromatiques liés par un cycle pyrane ([Ross, 2002](#) ; [Harnly, 2006](#)).

Les flavonoïdes peuvent être classés en flavones, flavonols, flavanols, isoflavonoïdes, flavanones et anthocyanes ([Wolfeand Liu, 2008](#) ; [Vauzour, 2012](#)). L'hydroxylation d'un flavonoïde se produit principalement en C₅, C₇ et C₄ : Les **flavones** sont caractérisées par la présence de groupe acéto-pyrène. L'hydroxylation est commune en C₅. Les **flavonols** possèdent un groupe céto-hydroxypyrene, qui est principalement hydroxyle en C₃. Les **proanthocyanidines** ou tanins condensés sont des oligomères de flavanols. Les **flavanones** ont aussi généralement un groupe céto-pyrane habituellement substitué par des groupes hydroxyles ([Lakey et al., 2015](#)).

1.3. Méthodes d'extraction des polyphénols

1.3.1. Extraction méthanolique par macération

Cette technique consiste à une extraction méthanolique par macération et l'ajout d'un volume de méthanol avec un dixième de quantité du matériel végétal broyé. Le mélange doit être maintenu sous agitation pendant 24h à température ambiante. Le mélange doit être filtré et le

filtrat est ensuite concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif à 60 °C. L'extrait sec est récupéré, pesé et conservé à 4°C (Atere *et al.*, 2018).

1.3.2. Extraction aqueuse par décoction

L'extraction par décoction comprend un dispositif contenant une plaque chauffante et un bécher, (le volume de l'eau distillée est égal à dix fois la masse de la plante broyée), le mélange doit être porté à l'ébullition pendant 20-30 min, filtré puis séché dans une étuve à 40 C° (Ben Othman *et al.*, 2017).

1.3.3. Extraction par Soxhlet

Les inconvénients les plus graves de cette technique par rapport à d'autres techniques ; La préparation d'échantillons solides nécessite un temps long pour l'extraction, ainsi le point d'ébullition du solvant sur une longue période peut entraîner une décomposition thermique des espèces thermolabiles cibles (De Castro and Priego-Capote, 2010). Le rendement d'extraction des polyphénols totaux dans les extraits augmente en augmentant la température et en prolongeant la durée du processus d'extraction (Jokić *et al.*, 2010).

1.4. Les huiles essentielles (HEs)

1.4.1. Définition

Une huile essentielle (HE) appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes. De point de vue biologique, les HEs sont des substances obtenues à partir d'une matière végétale par des procédures d'extraction telles que l'entraînement à la vapeur, hydristillation, la distillation sèche et par l'extraction mécanique à partir de l'épicarpe de certaines plantes. Le mot huile est attribué à son caractère hydrophobe et à ses propriétés de solubilisation dans les graisses, alors que le mot essentiel reflète l'odeur distinctive dégagée par la plante productrice (Lahlou, 2004).

1.4.2. Composition et classification

Les HE sont des produits naturels concentrés avec des odeurs fortes produites par les plantes aromatiques comme des métabolites secondaires. Ces huiles sont présentes sous forme de mélanges variables constitués principalement par des terpénoïdes, en particulier les monoterpènes (C10) et sesquiterpènes (C15), et également les diterpènes (C20). D'autres variétés de molécules peuvent aussi être rencontrées, tels que les acides, les alcools, les aldéhydes, les esters, les hydrocarbures aliphatiques acycliques ou les lactones; rarement de

l'azote et des composés contenant du soufre, des coumarines, et des homologues de phénylpropanoïdes (Bouyahya *et al.*, 2017b).

1.4.3. Activité biologique des HEs

Les HEs les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux lamiées (*Lamiaceae*). L'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. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E.scherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001).

Les HEs pourraient également être employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissants les denrées alimentaires (Boughendjioua, 2015). De même leurs composés actifs diminuent la réaction inflammatoire et font aussi l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (Mohammedi, 2013).

1.4.4. Méthodes d'extraction des HEs

Il existe plusieurs techniques d'extraction des HEs dont le choix de la technique dépend de teneur en huile et sa nature physicochimique. Deux méthodes sont très communes : hydrodistillation et distillation par entraînement à la vapeur.

1.4.4.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition ; les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforment à l'état liquide. Le mélange huile-eau se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement utilisée en cas d'huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants (Bruneton, 199).

1.4.4.2. Distillation et entraînement à la vapeur

C'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences. Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, son principe réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange «vapeur d'eau-huile essentielle» dispersé dans la matière végétale. Sous

l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation, le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (Benjlali, 2004).

1.4.5. Conservation des huiles essentielles

Les HEs sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation qui peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière (Valnet, 2000).

2. Activités biologiques des plantes

2.1. Activité antioxydante

L'oxygène moléculaire est un élément crucial pour la vie des organismes, toute fois il peut former des espèces partiellement réduites et fortement toxiques appelées les radicaux libres ou encore les espèces réactives d'oxygènes (ERO ou ROS, pour réactive oxygen species) et les espèces réactives de l'azote (ERN). Aux dose faibles, les ERO sont très utiles pour l'organisme et jouent des rôles importants dans la production de médiateurs cellulaires, l'élimination des produits toxiques et la défense contre l'invasion des microbes, des virus et même contre les cellules tumorales.

Dans certains cas les ERO deviennent néfastes et toxiques pour l'organisme à des doses excessives. Cette superproduction des ERO au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant qui est impliqué dans l'apparition des tumeurs (Diallo, 2005).

2.1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des entités chimiques (espèces, atomes, molécules ou fragments moléculaires) possédant un électron ou plus non apparié 'célibataire' capable d'exister sous forme indépendante, ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon le phénomène d'oxydation (Kholkhal, 2014).

2.1.2. Stress oxydatif

Le stress oxydant est une circonstance anormale qui traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres

oxygénés qui outrepassent leurs capacités antioxydantes. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense est très dommageable pour les macromolécules essentielles, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus (Favier, 2006)

Comme les ERO et ERN sont connues par un double rôle, elles peuvent être à la fois nocives mais aussi bénéfiques, voir indispensables pour les organismes vivants. Bénéfiques, lorsqu'elles sont impliquées dans des rôles physiologiques au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire (Bouchouka, 2016).

2.1.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres. Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant, selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit (Assmann *et al.*, 2019).

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers ; incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux libres par réaction d'addition covalente, inhibition de la peroxydation lipidique et la chélation des métaux de transition (Diallo, 2005 ; Favier, 2006).

2.1.3.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004).

2.1.3.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Wang *et al.*, 2003).

2.1.4. Mécanismes d'action des antioxydants

Les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent la phase d'initiation du processus d'oxydation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des

agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. Ils peuvent également chélater des traces métalliques responsables de la production des espèces réactives oxygénées ou encore interrompre la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres, absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur (Favier, 2006).

3. Activité antimicrobienne

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques, ainsi que l'évolution de nouvelles souches d'agents pathogènes, préoccupent grandement la communauté sanitaire mondiale. Le traitement efficace d'une maladie implique le développement de nouveaux produits pharmaceutiques ou d'une source potentielle de nouveaux médicaments. Les plantes médicinales couramment utilisées pourraient être une excellente source de médicaments pour lutter contre ce problème (Manadhar *et al.*, 2019).

L'activité antimicrobienne peut être attribuable à l'action directe contre les bactéries, les virus et les champignons, ainsi que pour la suppression des facteurs de virulence de microbes. De plus en plus des preuves démontrent que les flavonoïdes agissent en synergie avec divers antibiotiques contre les microorganismes multi-résistants (Daglia, 2012).

3.1. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Les antibiotiques sont une découverte thérapeutique importante en pratique médicale. Ils ont joué un rôle important dans le traitement des infections microbiennes. Ces molécules ont également permis de surmonter les complications dans certaines situations, notamment la transplantation d'organes (Bouyahia *et al.*, 2017b).

Chez les bactéries, résister aux antibiotiques est un enjeu majeur pour leur survie (Duval and Cossart, 2019). La multi résistance est décrite comme la résistance ou la diminution de la sensibilité à au moins trois classes d'antibiotiques actifs sur les souches sauvages: (1) B-lactamines, pénicillines, céphalosporines et monobactames; (2) carbapénèmes; (3) fluoroquinolones et (4) aminosides (Shorr, 2009).

Avec le temps, les microbes ont développé certaines formes de résistances vis-à-vis de ces antibiotiques. Cette résistance aurait deux origines essentielles ; naturelle et acquise. La première est programmée au niveau du pool génomique alors que la seconde est développée en fonction des conditions métaboliques, qui peut être récapitulée en plusieurs modes de résistance comme suit (figure1) (Bouyahia *et al.*, 2017b).

- Diminution de l'adsorption des aminoglycosides;

- Modification de l'interaction des lipopeptides avec la membrane cellulaire;
- Modification de l'activité enzymatique des aminoglycosides;
- Modification de liaisons des β -lactamines à des cibles intracellulaires;
- Modification de liaisons à des cibles membranaires;
- Réduction de l'affinité des glycopeptides à des cibles membranaires;

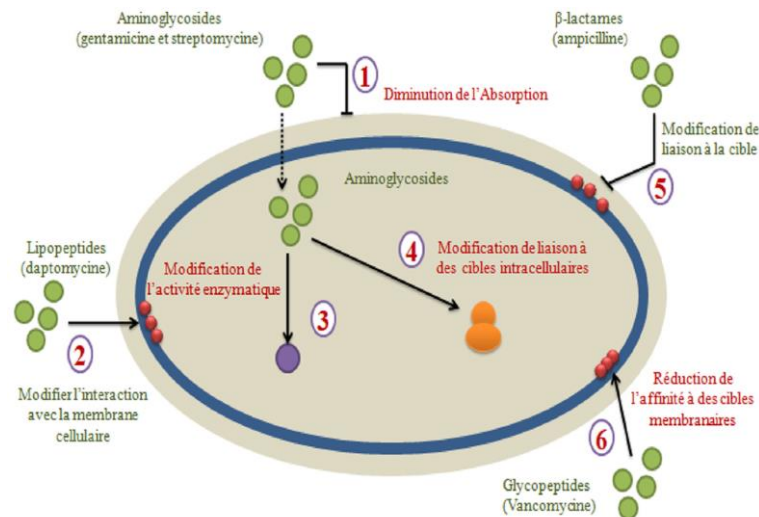


Figure 1. Schéma général des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Bouyahia *et al.*, 2017b).

3.2. Mode d'action des agents antimicrobiens

L'activité antimicrobienne peut être utilisée par l'organisme producteur de peptide lui-même, comme stratégie immunitaire innée, ou dans l'industrie, en tant que conservateur de source naturelle. Les principaux mécanismes des peptides sont liés à des changements dans la fonction physiologique des membranes, mais il existe également des altérations des composants cytoplasmiques (Audrey *et al.*, 2019).

4. Caractéristiques botaniques de la plante étudiée

La région de M'Sila présente une végétation naturelle très intéressante: des formations d'altitude à *Cedrus atlantica* et d'autres à *Pinus halepensis*, à *Juniperus phoenicea* et des formations à basse altitude à *Artemisea herba-alba*. Ces formations renferment une flore riche et diversifiée et d'intérêt économique et écologique. L'inventaire floristique de cette région comprend 77 espèces médicinales, répertoriées en 60 genres et 31 familles botaniques. Des espèces endémiques et rares sont établies à partir des inventaires floristiques effectués entre

2005–2012 dans plusieurs stations ; Ouanougha, El Haourane, Dréat, Chott El Hodna (Rebbas and Bounar, 2014).

4.1. Le genre *Satureja*

Le genre *Satureja* constitue environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes, souvent aromatiques. Il est largement distribué dans la région de la Méditerranée, l'Asie et l'Amérique boréale (Skocibusic *et al.*, 2006).

4.2. Description botanique

Satureja montana L. est un sous – arbrisseau à tiges dressées, grêles, ramifiées; feuilles petites, coriacées, lancéolées ou ovales, étroites, très aiguës, ciliées sur les marges; fleurs blanchâtres ou roses, en épis feuilles terminaux; périanthe à calice tubuleux, à 5 dents et à corolle à 2 lèvres: la supérieure entière, dressée et l'inférieure trilobées, à médian plus grand; 4 étamines apparentes; tétrakènes noirs; odeur aromatiques rappelant le thym (Baba Aissa, 1999).

Cette herbacée est annuelle sous des climats tempérés mais vivace dans les régions arides, ensoleillées, pierreuses et rocheuses. Beaucoup de ce genre sont bien connus pour leur caractère aromatique et médicinal (Gulluce *et al.*, 2003).

4.3. Situation botanique de l'espèce *Satureja montana* L.

Selon Ghedira and Goetz (2019) la classification de la plante est:

Règne	<i>Plantae</i>
Superdivision	<i>Embryophyta</i>
Division	<i>Tracheophyta</i>
Subdivision	<i>Spermatophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Superordre	<i>Asteranae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genus	<i>Satureja</i> L.
Espèce	<i>Satureja montana</i> L.

4.4. Utilisation et propriétés médicinales

Satureja montana L. est présente depuis longtemps en médecine traditionnelle. Son utilisation courante comme remède traditionnel dans la thérapie de différentes affections digestives, respiratoires et urinaires représentait la base et la raison derrière la réalisation de nombreuses études scientifiques sur cette plante. Ces études ont confirmé de nombreuses activités biologiques de *S. montana*, telles que cardioprotectrice, diurétique, antimicrobienne, antidiarrhéique, hépatoprotectrice, cytotoxique et antioxydante (Jakovljevic *et al.*, 2020)

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Deux échantillons des parties aériennes de *Satureja montana* ont fait l'objet de notre étude. Le premier échantillon (BI) de la plante a été récolté en fin-Avril 2019 des monts de la région de Beni Ilmème (Nord de la wilaya de M'sila), tandis que le deuxième échantillon (Mj) a été récolté en fin-Mai 2019 des monts de la région de Medjedel (Sud-Ouest de M'sila) (figure 02). La plante a été identifiée par docteur SARRI Djamel (enseignant au département des sciences de la nature et de la vie de l'université de M'sila). Le matériel végétal a été séché à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 20 jours puis socké dans des sacs en papier et placé à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

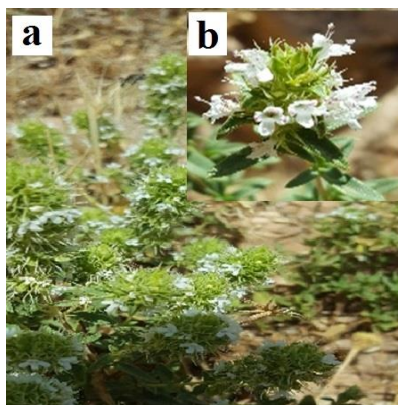


Figure 2. *Satureja montana* de la région Mj: plante entière (a) ; sommité fleurie (b).

2. Procédés d'extraction

2.1. Extraction méthanolique par macération

Cinq cent ml de méthanol ont été ajoutés à 50g des parties aériennes broyées et le mélange a été maintenu sous agitation pendant 24h à température ambiante (figure 3a). Après filtration à travers du papier Whatman, l'extrait a été concentré sous vide à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (figure 3b), puis séché à 40°C dans une étuve. Enfin l'extrait sec a été récupéré, pesé et conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (Atere *et al.*, 2018). Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule (01) (Muniyandi *et al.*, 2019):

$$\text{Rendement}_{\text{Ext}}\% = \frac{M_{\text{Ext}}}{M_{\text{Ech}}} \times 100 \dots \dots \dots (01)$$

Où

M_{Ext} : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M_{Ech} : Masse de l'échantillon végétal en g.

2.2. Extraction de l'huile essentielle (HE)

L'huile essentielle (HE) a été extraite par hydrodistillation au moyen d'un appareil de type Clevenger (figure 3c). Brièvement, 100g de la plante broyée (parties aériennes) ont été

immergées directement dans 1l d'eau distillée, puis l'ensemble a été porté à ébullition pendant 3h. L'HE a été récupérée et stockée à 4°C à l'obscurité jusqu'à son utilisation (Zuzarte *et al.*, 2011). Le rendement en HE est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule (02) (Himed *et al.*, 2020):

$$\text{Rendement}_{\text{HE}}\% = M'/M \times 100 \dots\dots\dots(02)$$

Où

M': Masse de l'HE obtenue en g.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en g.

2.3. Extraction aqueuse par décoction

L'extraction aqueuse a été effectuée par décoction (figure 3a) ; 50g de la plante en poudre sont ajoutés à 500ml d'eau distillée puis agitée. Le mélange est ensuite porté à ébullition pendant 30 minutes avec agitation continue. Le macéré obtenu a été filtré à l'aide d'un papier filtre (papier Whatman) et du coton hydrophile (Akassa *et al.*, 2019). Le filtrat obtenu a été concentré et séché à 40°C dans une étuve. L'extrait sec a été récupéré et stocké à 4°C à l'obscurité jusqu'à son utilisation (Benothman *et al.*, 2017).

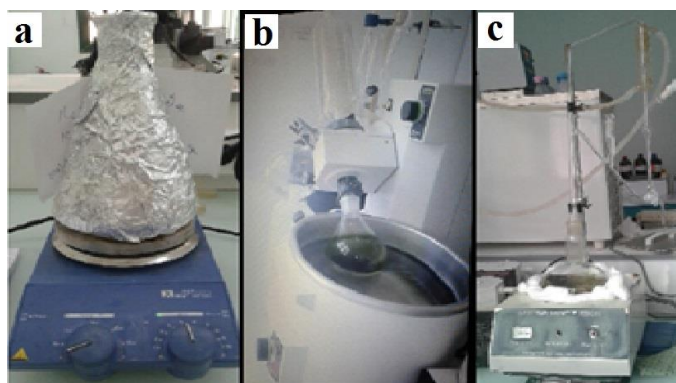


Figure 3. Dispositifs d'extraction : a) Macération ou décoction, b) Evaporation sous vide, c) Hydrodistillation.

3. Dosage des composés phénoliques

3.1. Dosage des polyphénols

Le Folin-Ciocalteu est généralement utilisé pour le dosage des polyphénols. C'est une solution d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) de couleur jaune dont la réduction par l'action des polyphénols donne un mélange aux complexes de sels de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleue. Cette

solution absorbe à une longueur d'onde de 760nm (Kharchouf *et al.*, 2017). La teneur en polyphénols totaux ont été déterminés par colorimétrie en utilisant le Folin-Ciocalteu ; un volume de 200µl de l'extrait en solution est mélangé avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué avec de l'eau distillée) et 800 µl de carbonate de sodium (7.5% w/v). L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg EAG/mg d'extrait) (Bougandoura and Bendimered, 2012).

4. Evaluation de l'activité antioxydante

4.1. Test de DPPH

Le pouvoir de piégeage des radicaux libres de l'extrait et de l'HE de *S. montana* a été déterminé en utilisant le 2,2-diphényl-1picrylhydrazole (DPPH) comme radical libre selon la méthode décrite par (Hebi and Eddouks, 2016). Un volume de 0.5ml de la solution méthanolique de l'extrait méthanolique (EM), l'extrait aqueux (EA) ou de l'HE (à différentes concentrations) est mélangé avec 0,5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%, w/v de 3heures). Dans le contrôle l'EM, l'EA ou l'HE est remplacé par le méthanol. Le milieu réactionnel est vigoureusement agité puis incubé à l'obscurité pendant 30min à la température ambiante. L'absorbance à 517nm est ensuite mesurée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Le BHT est utilisé comme standard et le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante (03) :

$$I(\%) = [(A_c - A_t) / A_c] \times 100 \dots \dots \dots (03)$$

Où **I(%)** est le pourcentage d'inhibition ; **A_c** est l'absorbance du contrôle ; et **A_t** est l'absorbance de l'échantillon. La concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition (IC₅₀) est calculée à partir du graphique représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'EM, l'EA ou de l'HE.

5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

5.1. Microorganismes testés

Les bactéries soumises à l'action de l'EM, l'EA ou de l'HE de *S. montana* sont des bactéries de référence de type ATCC (American Type Culture Collection) disponibles au niveau de laboratoire de microbiologie du département de Microbiologie et Biochimie; c'est des bactéries connues pour leur pathogénicité et leur fréquence élevée de responsabilité dans la contamination des denrées alimentaires (Benouaklil *et al.*, 2020): des bactéries à G⁺ dont, *Bacillus subtilis* ATCC9372, *Proteus mirabilis* ATCC35659, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *S. epidermidis* ATCC12228; et des bactéries à G⁻ dont *Escherichia coli*

ATCC25922, *Klebsiella Pneumoniae* ATCC700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 et *Salmonella enterica* ATCC13311.

Les champignons soumis à l'action des mêmes extraits sont des champignons isolés à partir des denrées alimentaires et identifiés par Dr HENDEL et disponibles au niveau du laboratoire de microbiologie du département : c'est les moisissures *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Penicillium expansum*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata* et la levure de référence *Candida albicans* ATCC10231.

5.2. Tests de confirmation de pureté des souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées sont des souches déjà identifiées et référencées. Nous avons tenu à vérifier leur pureté ; après incubation et à partir de colonies isolées sur milieux sélectifs, on vérifie immédiatement la pureté par la coloration de Gram et l'observations macro- et microscopique.

5.3. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à 37 °C. Les champignons sont cultivés sur le milieu nutritif Potato Dextrose Agar (PDA) pendant 7 j à 25 °C.

Une colonies de chaque bactérie a été prélevée et introduite dans 9 ml d'eau physiologique contenue dans un tube stérile. Après agitation, l'inoculum a été ajusté à une turbidité standard de 0.5 McFarland, ce qui correspond à une densité optique de 0.08-0.13 à une longueur d'onde de 620 nm. La concentration finale de l'inoculum est approximativement de l'ordre de 10^7 - 10^8 ufc/ml (Khrībch *et al.*, 2018).

5.4. Activité antibactérienne

5.4.1. Méthode des puits de diffusion

Avec un emporte-pièce, des puits de 7mm sont creusés dans la gélose de Mueller-Hinton Agar (MHA) coulée dans des boîtes de Pétri (à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte) et ensemencée par écouvillonnage de suspension bactérienne de 10^5 germes/ml, préparée comme ci-dessus (Biyiti *et al.*, 2004). Dans des conditions aseptiques l'EM et l'EA ont été dissous dans du diméthyl sulfoxyde (DMSO), pour atteindre une concentration finale de 300mg/ml et 30µl de cette concentration sont incorporés dans chaque puits. Les diamètres d'inhibition sont ensuite mesurés autour des puits après une pré-incubation de 1 heure à 4°C pour que l'extrait puisse diffuser et une incubation à l'étuve à 37°C pendant 24 heures (Bouyahya *et al.*, 2017a). L'EM ou l'EA ont été remplacés par le DMSO dans les témoins et la gentamicine (GM) à 10µg/disque a été utilisée comme contrôle positif.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque puits, en mm. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle, l'EA ou de l'EM : non sensible (−) pour les diamètres de 8mm (pas d'inhibition autour du disque); sensible (+) pour les diamètres de 9 à 14mm ; très sensible (++) pour les diamètres de 15 à 19mm ; extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm (Ponce *et al.*, 2003).

5.4.2. Méthode des disques de diffusion (aromatogramme)

La réalisation de cette méthode repose sur le principe de l'antibiogramme (NCCLS, 1997), qui est basé sur la diffusion de l'HE à partir des disques sur l'inhibition de la croissance microbienne. En bref, les milieux MHA coulés en boîtes de Petri (90mm) sontensemencés par écouvillonnage de suspension bactérienne de 10^7 germes/ml, préparée comme ci-dessus. Dans des conditions aseptiques l'HE est déposée au volume de 10 μ l (dans le DMSO; 1:1) sur des disques de papier Whatman stériles de 9mm de diamètre placés à la surface des milieux (précédemmentensemencés) à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte de Petri (Mouas *et al.* 2017; Stanojevic *et al.*, 2017). Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure pour que l'HE puisse diffuser, et elles ont ensuite été incubées pendant 24 heures à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètre. Tous les tests ont été effectués en triple exemplaire. L'HE a été remplacé par le DMSO dans les témoins négatifs.

5.5. Activité antifongique

Seule l'HE qui a été testée pour son effet sur les moisissures ; l'effet sur l'aspect filamenteux a été testé par 03 méthodes : méthode de microatmosphère ou fumigation, méthode d'aliment empoisonné ou 'poisoned food method' et méthode des disques de diffusion.

5.5.1. Méthode de microatmosphère ou fumigation

L'activité antifongique des composés volatiles de l'HE a été testée par la méthode des microatmosphères décrite par Singh *et al.*(2006).

Brièvement, le milieu PDA a été coulé dans des boîtes de Petri (90mm). Un disque de culture fongique (âgée de 07 jours) a été découpé aseptiquement à l'aide d'un emporte-pièce de 7mm puis déposé au centre des boîtes Petri contenant 20ml de PDA solidifié. Un disque stérile de papier Wattman (6mm) imbibé par 5 μ L de l'huile essentielle a été placé au centre du couvercle de chaque boîte de Pétri. L'HE a été remplacée par le DMSO dans les témoins. Les boîtes sont fermées par le parafilm puis incubées à 25°C pendant 7 jours. Les diamètres des colonies sont quotidiennement enregistrés jusqu'au septième jour et le taux d'inhibition est mesuré selon la formule suivante (04) (Mohana *et al.*, 2020):

$$I\% = [(D_c - D_t)/D_c] \times 100 \dots \dots \dots (04)$$

Où

I% : Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

D_c : Diamètre de la colonie fongique du témoin (mm)

D_t : Diamètre de la colonie fongique traitée par l'HE (mm)

5.5.2. Méthode d'aliment empoisonné ou 'poisoned food method'

L'activité antifongique des extraits a été évaluée par la méthode d'aliment empoisonné selon [Bashir et al. \(2018\)](#). Une solution d'HE 1µl/ml de DMSO a été mélangée de manière aseptique avec du PDA stérile jusqu'au volume final de 20 ml, puis versée dans une boîte de Petri. Après solidification, un disque de culture fongique (âgée de 07 jours) de 7 mm a été inoculé au centre de la boîte puis incubé à 25 °C pendant 07 jours. Chaque test a été répété 03 fois pour le même champignon. Le PDA sans HE a été utilisé comme témoin négatif. Les diamètres de croissance fongique ont été mesurés pour calculer le pourcentage d'inhibition. Le pourcentage d'inhibition de la croissance a été déterminé selon la formule précédente(4) ([Mohana et al., 2020](#)).

5.5.3. Méthode des disques de diffusion

L'effet de l'HE sur la croissance fongique a été déterminé par la méthode des disques de diffusion. Brièvement, les milieux PDA coulés en boîtes de Petri (90mm) sont inoculés au centre par des disques de 7mm pris de cultures fongiques âgées de 7 jours. Dans des conditions aseptiques, des aliquotes (10µl) d'HE (dissoute dans le DMSO, 1:1) sont déposées sur des disques de papier Whatman stériles (9mm de diamètre) placés sur le PDA à trois points équidistants du centre et des bords de la boîte de Petri ([Rasooli and Abyaneh, 2004](#)). La capacité de croissance et de reproduction de chaque culture dépend de sa sensibilité à l'HE. Donc, si l'effet existe, une zone transparente claire se forme autour des disques de papier indiquant qu'il n'y a pas de croissance de microorganismes ([Stanojevic et al., 2017](#)). Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 01 heure pour que l'HE puisse diffuser, et elles ont ensuite été incubées pendant 7 jours à 25°C. L'HE a été remplacée par le DMSO dans les témoins. La mesure des diamètres d'inhibition s'est basée sur le calcul de la différence entre le diamètre du témoin et celui de la culture test et le taux d'inhibition est mesuré selon la formule (4).

5.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus petite concentration à laquelle aucune croissance macroscopique n'est observée ([Owuama, 2017](#)). Les valeurs de la CMI ont été déterminées pour les souches bactériennes, étant sensibles à l'HE et/ou à l'EA dans les tests précédents. Les suspensions bactériennes ont été préparées à partir des cultures jeunes de 18h sur gélose nutritive

et elles ont ensuite été ajustées à une turbidité standard de 0.5 McFarland. L'EA et l'HE ont d'abord été dissous dans 10% de DMSO. Les valeurs de la CMI des extraits contre les souches bactériennes ont été déterminées par la méthode de micro-dilutions sur microplaque. Brièvement, les microplaques à 96 puits ont été préparées en distribuant dans chaque puits 95µl de bouillon nutritif et 5µl des inoculua. Cent µl de la solution mère des extraits initialement préparés ont été ajoutés dans les premiers puits. Ensuite, 100µl de leurs dilutions ont été transférés dans sept puits consécutifs. Le dernier puits contenant 195µl de bouillon nutritif sans extraits et 5µl d'inoculum a été utilisé comme contrôle négatif. Le volume final dans chaque puits était 200µl et les concentrations finales dans le bouillon étaient de 300 à 2.343mg/ml pour l'EA et de 40µl/ml à 0.312 µl /ml pour l'HE. Les microplaques ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24h. les concentrations, dans les puits au niveau desquels aucune croissance n'est observée à l'œil nu, sont considérées comme des CMI (Sokmen *et al.*, 2004).

5.7. Détermination de la concentration minimale Bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en HE ou en EA capable de tuer plus de 99.9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0.01 % de survivants). Afin de déterminer cette concentration, 0.1ml de chaque puits dans lequel aucune croissance n'est observée estensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h. Les concentrations, dans les boites qui ne présentent aucune croissance, sont considérées comme CMB (AbduRahim *et al.*, 2017).

6. Analyse statistique

Toutes les analyses de l'activité antioxydante sont faites en trois répétitions et la comparaison des moyennes est réalisée par Analyse de la Variance (ANOVA), permettant de calculer les moyennes et les écarts types. Les comparaisons statistiques ont été faites au moyen du test *t* de Student. Pour l'ensemble des données, la significativité a été admise avec une erreur de 5% ($P < 0.05$).

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

1. Rendement de la plante

Les rendements moyens ont été calculés par rapport aux deux échantillons de *Satureja montana* ; Beni-Ilmane (BI) et Medjedel (Mj), et sont représentés dans la figure 4. L'HE BI paraît transparente de couleur jaune pâle avec une odeur forte et celle Mj paraît jaune vif avec une odeur aromatique plus forte. Les rendements moyens en HE des 02 écotypes sont supérieurs à ceux mentionnés par Labiod *et al.* (2015) qui ont travaillé sur *S. calamintha nepeta* du nord Algérien ; 1.48%. En Italie, Panizzi *et al.* (1993) ont trouvé que *S. montana*, d'un sol de nature rocheuse, sec et calcique situé à une hauteur de 300 m par rapport au niveau de la mer et récolté en Juillet, a donné un rendement de 0.48% ; nettement inférieur à notre résultat. Ceci montre que certains facteurs tels que : la nature du sol, le climat, la qualité de la matière végétale utilisée peuvent influencer la sécrétion d'HE chez une plante.

Les EMs présentent une couleur vert foncé, un aspect pâteux et une odeur caractéristique, tandis que les EAs ont une couleur marron foncé et d'un aspect poudreux.

D'après les résultats, les deux échantillons ont donné des rendements légèrement différents en EMs ; 12.5 et 8.08% pour les échantillons Mj et BI respectivement. Ces résultats sont proches de ceux trouvés par Labiod (2016) ou l'EM issu de la plante poussant à Annaba compose 14.6% et celui de la région de Jijel égal à 12% ; mais sont de valeurs inférieures au résultat cité par Bougandoura et Bendimered (2012) qui est de 22.19%, ce qui peut se traduire par la différence du climat entre les régions (Selka *et al.*, 2016), ou même selon plusieurs facteurs tels que le ratio volume de solvant par masse de broyat, le pourcentage en solvant, la granulométrie du broyat et la durée de macération qui influent le rendement d'extraction (Koné *et al.*, 2017).

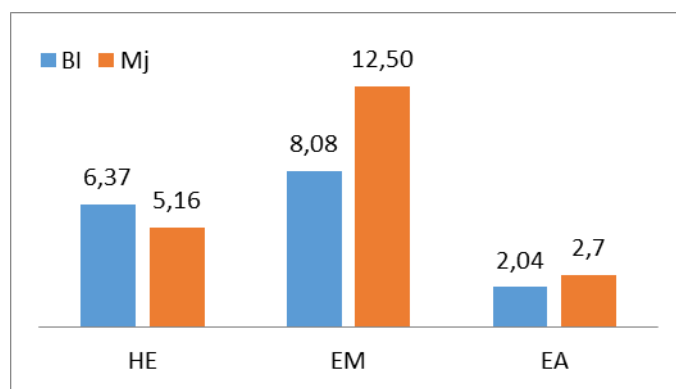


Figure 4 Rendement (%) des échantillons BI et Mj de *S. montana* en HE, EM et EA.

2. Dosage des composés phénoliques de la plante

Les quantités des polyphénols totaux (PPT) correspondantes sont rapportées en microgramme équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/ mg d'extrait}$). La méthode est basée sur l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique, sur la base des valeurs d'absorbance des solutions des EMs et EAs réalisées par méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, et par rapport aux solutions standards d'équivalents de l'acide gallique (Annexe I).

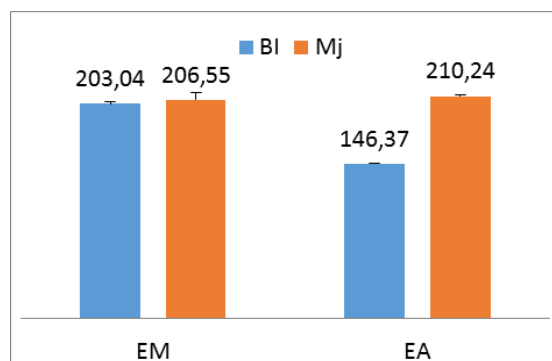


Figure 5. Teneurs en PPT ($\mu\text{g EAG/ mg}$) de l'EM et de l'EA des échantillons BI et Mj de *S. montana*.

Les résultats de l'analyse colorimétrique de PPT montrent que les 02 écotypes sont riches en PPT ; les teneurs des deux EMs sont presque les mêmes, tandis que la valeur de l'EA de BI est inférieure qu'à celle de Mj (figure 5). L'étude réalisée par Labiod (2016) sur le genre *Satureja* a révélé des teneurs élevées en PPT de la plante issue des régions de Annaba ($482.67 \pm 2.52 \mu\text{g EAG/mg}$) et de Jijel ($264.67 \pm 0.58 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait). Les deux types d'extraits ont fait l'objet d'une étude par Bougandoura et Bendimerad (2012) sur *S. calamita nepeta* et les résultats ont montré des valeurs très faibles en polyphénols d'EA ($12.6 \pm 0.775 \text{ mg/g}$) et ($2.968 \pm 0.809 \text{ mg/g}$) pour l'EM.

Le dosage des PPT par la même méthode réalisée par Ćetković *et al.* (2007) sur *S. montana* a donné des teneurs inférieures que les notres mais avec d'autres solvants; $969.43 \mu\text{g/g}$ pour l'extrait acétate d'éthyl et $1358.14 \mu\text{g/g}$ pour celui *n*-butanol. Nos résultats s'accordent avec ceux de Serrano *et al.* (2011) dont les valeurs sont 164.21 ± 1.44 , 187.52 ± 1.98 , 111.18 ± 1.59 et $220.95 \pm 2.12 \text{ mgEAG/g}$ pour l'EA à froid, l'EA à chaud, l'extrait éthanolique et l'HE respectivement. Ces différences peuvent être reliées aux différences de polarité des solvants choisis (Marinova and Yanishlieva, 1997), ou de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, pratiques culturelles, maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Podsedeck, 2007).

3. Activité antioxydante

3.1. Test de DPPH

Le principe de ce test se résume en la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH de couleur violet foncé, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (Yaici *et al.*, 2019).

D'après les résultats qui figurent dans le tableau 01, l'EM, l'EA et l'HE des 02 écotypes étudiés ont un pouvoir piègeur du radical libre DPPH très important par rapport à celui de BHT, l'HE paraît faible par rapport aux extraits ainsi qu'au standard. Selon les valeurs de la concentration requise pour provoquer 50% d'inhibition de l'oxydation (IC_{50}), la capacité antiradicalaire des extraits étudiés peut être présentée selon l'ordre $EM > EA > BHT > HE$ avec une différence significative entre les EMs, les EAs, les HEs entre les 02 échantillons et par rapport à l'antioxydant standard (Annexe I).

Tableau 1 Les valeurs IC_{50} ($\mu g/ml$) de l'EM, de l'EA et de l'HE de *S. montana* et du standard BHT dans le test de DPPH

Echantillon	Extraits			BHT
	EM	EA	HE*	
BI	7.0 ± 0.00 ^a	24.2 ± 0.5 ^a	0.466 ± 0.01 ^a	33.2 ± 2.6
Mj	17.1 ± 0.16 ^b	28.1 ± 0.87 ^b	0.300 ± 0.00 ^b	

* dans chaque colonne les valeurs ayant la même lettre ne présentent pas de différences significatives selon l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA) suivie par le test t de Student, $p < 0.05$.

^a la valeur est exprimée en $\mu l/ml$.

Labioud *et al.* (2015) révèlent des capacités antiradicalaires des HEs de *S. calamintha* avec IC_{50} de 881.466 ± 4.95 pour l'échantillon de la région d'Annaba (S_A) et $2724.51 \pm 2.28 \mu g/ml$ pour l'échantillon de la région de Jijel (S_J), et en EM et aqueux de l'ordre de 169.55 ± 0.43 et $242.14 \pm 0.45 \mu g/ml$ pour S_A et S_J respectivement qui sont inférieures qu'à ceux obtenues dans la présente étude. De même, Bougandoura et Bendimerad (2012) ont trouvé un pouvoir antioxydant en EA et EM relativement faible; leurs IC_{50} sont de 1.876 et 2.075 mg/ml respectivement.

D'après le classement par ordre croissant, on remarque que l'EM, l'EA et l'HE de la même plante présentent des valeurs très distinctes, ce résultat peut être lié à la présence de composés chimiques à activité antiradicalaire, tels que les polyphénols, dépendants de la nature de l'extrait. La différence entre les 02 échantillons peut être liée à d'autres facteurs tels que écologiques et edaphiques. Cela est en accord avec les travaux menés sur les extraits de *S. montana* récoltée dans la région de Sibérie, espèce riche en composés phénoliques (Ćetković *et al.*, 2007), qui sont

en relation avec le nombre de groupes hydroxyles sur le noyau des flavonoïdes (Es-Safi *et al.*, 2006), aux taux élevés des acides phénoliques comme l'acide rosamarinique et ses dérivés (Serrano *et al.*, 2011), qui leur permet d'agir comme des agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, et des désactivateurs d'oxygène singlet (Miguel, 2010).

4. Activité antimicrobienne

4.1. Activité antibactérienne et anti-candida

L'antibiotique utilisé comme contrôle positif pour l'évaluation de l'activité antibactérienne est la gentamicine (GM) (10 μ g/disque). Il appartient à la famille des aminosides (ou aminoglycosides) qui ont un large spectre d'activité contre les bactéries Gram positif et Gram négatif (Nauciel et Vildé, 2005).

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de *S. montana* par l'application des 02 méthodes sur un milieu MHA; l'effet de l'HE est testé par la méthode des disques de diffusion (aromatogramme) et celui des extraits EM et EA par la méthode des puits de diffusion. L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et des puits contenant les extraits à tester vis-à-vis des souches bactériennes (Annexe II). Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 02.

Tableau 2. Diamètres des zones d'inhibition (mm) résultant de l'effet antibactérien et anticandida de l'HE (5 μ l/disque), de l'EM et de l'EA (chacun 300mg/ml) de *S. montana* L. des zones BI et Mj, et la GM (10 μ g/disque).

Souches testées	Diamètre (mm)						GM
	HE		EM		EA		
	BI	Mj	BI	Mj	BI	Mj	
<i>Proteus mirabilis</i>	32.66 \pm 2.51	29 \pm 1	14.33 \pm 0.47	15.66 \pm 0.57	+	+	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	25.66 \pm 1.52	35.66 \pm 0.57	15.33 \pm 0.47	14.33 \pm 0.57	+	+	26
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	29.66 \pm 0.57	30 \pm 2	15 \pm 0.81	14.66 \pm 0.57	+	+	22
<i>Bacillus subtilis</i>	21.66 \pm 1.52	19.66 \pm 1.15	17 \pm 00	17.66 \pm 0.57	+	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29.00 \pm 00	30 \pm 0.57	-	14.66 \pm 0.57	+	+	15
<i>Escherichia coli</i>	29.00 \pm 2.64	-	14 \pm 00	-	+	+	21
<i>Salmonella enterica</i>	30.66 \pm 2.08	40.33 \pm 0.57	11.5 \pm 0.41	12.66 \pm 0.57	+	+	21
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13.33 \pm 0.57	33 \pm 2	14 \pm 0.81	15.33 \pm 0.57	+	+	21
<i>Candida albicans</i>	29.66 \pm 0.57	32 \pm 00	14 \pm 00	14.33 \pm 0.57	+	+	nt

+ : croissance totale
? : inhibition totale
nt : non testé

Les résultats montrent que le DMSO ne présentait aucun effet sur la croissance normale des souches bactériennes. La gentamicine semble avoir une action inhibitrice sur la croissance de toutes les souches testées.

Les deux écotypes de *S. montana* (BI et Mj) ont montré une activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries testées. L'huile essentielle et l'EM de l'écotype Mj ont montré une activité antibactérienne plus importante que ceux de l'écotype BI. L'extrait aqueux (300mg/ml) des 02

écotypes n'a présenté aucune activité antibactérienne. L'huile essentielle était plus active que l'EM de même que la GM. D'après ces résultats, l'EM a présenté un effet inhibiteur moins efficace que celui de l'antibiotique vis-à-vis des bactéries Gram positif (*S. aureus*, *S. epidermidis* et *B. subtilis*) avec des zones d'inhibition allant de 14.33 ± 0.47 jusqu'à 17.66 ± 0.57 mm ; ce qui fait que ces bactéries sont qualifiées de sensibles à très sensibles selon Ponce *et al.* (2003); et des bactéries Gram négatif (*P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enterica*, *K. Pneumoniae*), avec des zones d'inhibition de 11.5 ± 0.41 jusqu'à 15.66 ± 0.57 mm; ce qui fait que ces bactéries sont généralement qualifiées de sensibles. Notons que les bactéries *P. aeruginosa* et *E. coli* sont totalement inhibées par les extraits BI et Mj respectivement, et *B. subtilis* est totalement inhibée par l'antibiotique. D'autre part, l'HE de *S. montana*, appliquée à 5µl/disque, a présenté un effet inhibiteur très important sur toutes les bactéries ; les diamètres des zones d'inhibition variaient de 13.33 ± 0.57 à 32.66 ± 2.51 mm pour l'écotype BI et de 19.66 ± 1.15 à 40.33 ± 0.57 mm pour l'écotype Mj; ce qui fait que ces bactéries sont généralement qualifiées de très sensibles à extrêmement sensibles selon Ponce *et al.* (2003). Notons que l'HE de l'écotype Mj est plus efficace que celle de l'écotype BI et même que la gentamicine, et a provoqué une inhibition totale sur *E. coli*. L'efficacité de l'HE de la plante étudiée a été aussi claire sur la levure *C. albicans* avec des zones d'inhibition de 29.66 ± 0.57 et 32 mm pour les écotypes BI et Mj respectivement. L'effet de l'EM a été moins important que celui de l'HE avec une zone d'inhibition de 14 et 14.33 ± 0.57 mm pour les écotypes BI et Mj respectivement. L'EA n'a pas d'effet sur la levure. Nos résultats corroborent les données bibliographiques mentionnés par Jafari *et al.* (2016) par rapport à l'activité antimicrobienne de l'HE et l'extrait ethanologique de quelques espèces du genre *Satureja* dont *S. montana* contre des espèces du genre *Candida* dont *C. albicans*. L'activité anti-candida des HEs est peut être en relation avec le taux de pulégone qui, selon Fraternali *et al.* (2007), compose 2.14% de l'HE de *S. montana*. Cette molécule est très connue pour son effet antibactérien et anti-candida, deux fois plus active que la nystatine ; antifongique standard utilisé contre *C. albicans* (Duru *et al.*, 2004).

D'après les résultats de la détermination des CMI, CMBs et condidacide (CMC) de l'EM et de l'HE (tableau 03), l'HE_{Mj} semble avoir une activité antimicrobienne très importante contre tous les microorganismes testés, dans le milieu liquide, par rapport à l'HE_{BI}. Leurs CMI est comprise entre 0.62 à 1.25 µl/ml et de 10 à 20 µl/ml respectivement. Les bactéries *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*, *K. pneumoniae* et la levure *C. albicans* sont les plus sensibles à l'action de l'HE_{Mj} avec une CMI de 0.62µl/ml; alors que *E. coli*, *P. mirabilis* et *S. aureus* exigent des CMI plus élevées (1.25µl/ml); la bactérie la plus sensible à l'HE_{BI} est *B. subtilis* (10µl/ml) par rapport à *C. albicans* et aux autres bactéries (20µl/ml). La valeur de la CMB la plus élevée de l'HE_{Mj} est enregistrée pour *P. mirabilis* (2.5µl/ml) et de (40µl/ml) pour

P. aeruginosa de l'HE_{BI}; alors que la valeur la plus faible est celle enregistrée pour *K. pneumoniae*, *S. enterica* et *P. aeruginosa* (0.62µl/ml) pour l' HE_{Mj}, et de (10µl/ml) pour HE_{BI} avec *B. subtilis*. La CMC la plus faible de *C. albicans* est celle marquée pour l'HE_{Mj} avec 0.62µl/ml.

Tableau 3. Les CMI et CMBs ou condidacide (CMC) des EAs et des HEs de *S. montana*.

Souches testées	µl/ml				mg/ml			
	HE _{BI}		HE _{Mj}		EA _{BI}		EA _{Mj}	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Proteus mirabilis</i>	20	20	1.25	2.50	>300	>300	75	>300
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	20	1.25	10	37.5	75	>300	>300
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20	20	0.62	1.25	75	>300	>300	>300
<i>Bacillus subtilis</i>	10	10	0.62	1.25	37.5	300	150	>300
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	40	0.62	0.62	300	>300	75	>300
<i>Escherichia coli</i>	20	20	1.25	10	300	>300	150	>300
<i>Salmonella enterica</i>	20	20	0.62	0.62	150	>300	37.5	>300
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	20	0.62	0.62	300	>300	75	>300
<i>Candida albicans</i>	20	20	0.62	0.62	>300	>300	150	150

L'extrait aqueux de la plante étudiée semble avoir une activité antimicrobienne moins importante que celle de l'HE avec des CMI allant de 37.5 à >300mg/ml, les EA_{BI} sont moins importants que ceux de l'EA_{Mj}. Les valeurs de la CMI les plus faibles sont celles de *S. aureus* et *Bacillus subtilis* avec 37.5mg/ml pour l'EA_{BI}, et la même valeur pour *S. enterica* de l'EA_{Mj}, tandis que la plus grande valeur de CMI des deux extraits est supérieure à 300mg/ml pour *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* et *E. coli* de l'EA_{BI} et *S. aureus*, *S. epidermidis* pour l'EA_{Mj}. La CMB la plus faible est celle de *S. aureus* (5mg/ml) de l'EA_{BI} et >300mg/ml pour l'EA_{Mj}. L'effet fongicide le plus faible de *C. albicans* est de 150 µg/ml pour l'EA_{Mj} par rapport à l'EA_{BI} (>300mg/ml).

Ces résultats apparaissent différents par rapport à ceux mentionnés par d'autres chercheurs ; Panizzi *et al.* (1993), ont trouvé des valeurs de CMI de 5 à 40 µg/ml, de plus ces valeurs de CMI et CMB coïncident dans la plus part du temps; la CMI a un effet bactéricide, de sorte qu'elle corresponde à la CMB ; cette dernière observation est remarquée dans nos résultats. Serrano *et al.* (2011) ont trouvé que l'HE de *S. montana* présente une activité élevée sur les bactéries dont *E. coli*, *P. putida* et *S. typhimurium* (CMI de 1.10 µg/ml pour *P. putida* à 2.10 µg/ml pour les 02 autres bactéries); alors que la CMI de l'extrait éthanolique varie de 0.04, 15.10 et 30.30mg/ml pour *E. coli*, *P. putida* et *S. typhimurium* respectivement. On outre, l'extrait aqueux n'avait aucun effet sur toutes les bactéries testées. De même Četković *et al.* (2007) ont

trouvé une faible activité de plusieurs extraits organiques de *S. montana* contre plusieurs bactéries dont *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* et la levure *S. cerevisiae* où la CMB est supérieure à 100mg/ml de l'extrait testé.

La plupart des études sur le mécanisme d'action des composés phénoliques des HE sont basées sur leurs effets sur les membranes cellulaires modifiant leur fonction et, dans certains cas, leur structure, provoquant un gonflement et augmentant leur perméabilité. Le carvacrol et le thymol ; composants majeurs des HE de *S. montana*; semblent rendre la membrane bactérienne perméable et agir différemment contre les bactéries G⁺ et G⁻ dont celles G⁻ sont plus résistantes grâce à la structure et au caractère hydrophile de leur membrane externe qui bloque la pénétration des molécules hydrophobiques telles que les polyphénols (Serrano *et al.*, 2011; Bouyahia *et al.*, 2017b).

4.2. Activité antifongique

Seule l'activité antifongique de l'HE de *S. montana* a été évaluée vis-à-vis de 05 moisissures sur le milieu PDA. L'effet de l'HE et des extraits EM et EA de *S. montana* sur la levure *C. albicans* ATCC10231 a été évalué par la méthode de diffusion en disques pour l'HE et par la méthode de diffusion en puits pour les extraits EM et EA comme décrit ci-dessus pour les bactéries.

L'activité antifongique de l'HE de *S. montana* a été étudiée vis-à-vis des moisissures par trois techniques à savoir la technique de microatmosphère ou fumigation, celle de diffusion en disques et celle d'aliment empoisonné ou 'poisoned food method'. La remarque la plus importante est l'inhibition totale de toutes les moisissures sous l'effet de fumigation. Les résultats des 02 autres méthodes, représentés dans la figure 6 montrent que l'HE_{BI} a provoqué, dans le test de diffusion en disque, une inhibition importante sur toutes les moisissures testées et avec un pourcentage d'inhibition qui varie de 70.37% pour *A. niger* qui est le moins sensible et *Cl. herbarum* et *A. flavus* avec un pourcentage de 71.67 et 71.57% respectivement suivis par *P. expansum* de 73.076% et par la suite *Alt. alternata* qui est considéré comme le plus sensible avec 78.63%.

Le second test, représente un pourcentage d'inhibition plus important qui varie du moins sensible, qui est le *P. expansum*, avec 63.41% suivi par *A. flavus* et *A. niger* avec une même valeur, 77.83%, ensuite *Cl. herbarum* avec 82.44%, vers le plus sensible qui est *Alt. alternata* avec un pourcentage de 92.94.

Nos résultats sont en d'accord avec ceux de Labiod *et al.* (2015), qui ont trouvé une inhibition de 62.18% pour *Aspergillus* sp à la concentration de 1µl/ml. De même les travaux de

Bozhuyuk *et al.* (2019) résultent à une inhibition totale sur la croissance de *Fusarium* à 0.5µl/ml d'HE de *S.montana*.

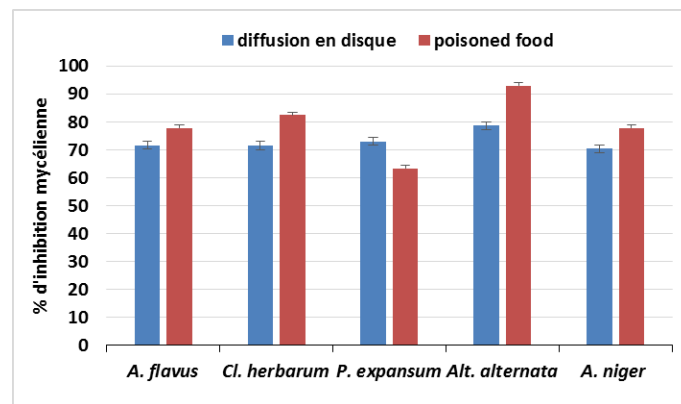


Figure 6. Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne provoqué par l'HE_{BI} de *S. montana* au 7^{ème} jour d'incubation.

Il semblerait possible que le mode d'action antifongique des HEs pourraient être attribué à la présence de menthone, oxyde de pulégone et de pipertone, que *Satureja* en est riche, possédant de fortes propriétés antimicrobiennes; sont des composés bioactifs fongicides (Labioud *et al.*, 2015). De plus, les composés lipophiles comme le carvacrol et le thymol, peuvent altérer l'intégrité structurale et fonctionnelle de la membrane cellulaire chez les bactéries Gram-négatives et Gram-positives ainsi que chez les champignons.(Macceli *et al.*, 2020).

Il a été démontré que les composés volatils mineurs dans les HE possèdent une forte activité antibactérienne. La forte capacité des HEs est due principalement aux terpènes qui constituent les principaux composants des HE, le carvone, menthol et menthone sont des composés bioactifs fongicides structurellement apparentés interviennent dans plusieurs processus comprenant l'inhibition du transport des électrons, la translocation des protéines, la phosphorylation et d'autres réactions enzymatiques qui peuvent avoir lieu. Ces molécules ayant de faibles valeurs de CMI et une cytotoxicité négligeable. En outre, on peut constater que l'activité antimicrobienne dépend de la qualité d'huile essentielle et de l'extrait (écotype) d'une part et d'autre part du type de microorganisme testé (Mouas *et al.*, 2017) et d'un certain nombre de facteurs tels que le solvant et la méthode d'extraction (Nwonuma *et al.*, 2020).

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs, et restent la source prédominante de médicaments pour la majorité de la population mondiale. La région de M'Sila présente une végétation naturelle très intéressante et diversifiée. Notre travail a porté sur le dosage des principes actifs les plus importants de *S. montana*, à savoir la teneur en composés phénoliques, le rendement en huiles essentielles, en extrait méthanolique et aqueux, ainsi que l'évaluation de son activité antioxydante, antibactérienne et antifongique en fonction des régions : Beni Ilmen et Mdjedel de la Wilaya de M'sila.

L'écotype MJ est plus puissant que celui BI; son EM représente le rendement le plus important et le taux le plus élevé en PPT, avec un excellent pouvoir antiradicalaire et une meilleure activité antimicrobienne de son HE qui possède une CMI à de faibles concentrations et un effet bactéricide, de sorte qu'il corresponde au CMB ou au CMC.

L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Une analyse chimique est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur la composition qualitative et quantitative de ces extraits étudiés afin de trouver des applications dans les domaines ayant rapport avec le traitement des infections microbiennes et de la conservation des aliments. Par conséquent, des études *in vivo* de cette activité antimicrobienne sont nécessaires.

REERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **AbduRahim, S. A., Elamin, B. E. K., Bashir, A. A. A., & Almagboul, A.Z., (2017).** In vitro test of antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare mill.* (Fennel) essential oil. *In Vitro*, **3** : (4).
2. **Akassa, H., Ondele R., Peneme, B.M.L., Etou Ossibi, A.W., Morabandza, C.J., Tamboura, Abena, H.H., (2019).** Activité aphrodisiaque et étude du mécanisme d'action de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Pausinystalia yohimbe Kschum* (Rubiaceae) chez le rat wistar. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **39** (1) : 6372-6383 .
3. **Assmann, KE., Adjibade, M., Herberg, S., Galan, P., Kesse-Guyot, E., (2019).** Les apports en acides gras insaturés au milieu de la vie sont positivement associés au fonctionnement cognitif mesuré 13 ans plus tard, avec un effet modulateur d'une supplémentation en antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme* , **33** (1) : 33.
4. **Atere, T.G., Akinloye, O.A., Ugbaja, R.N., Ojo, D.A., Dealtry, G., (2018).** In vitro antioxidant capacity and free radical scavenging evaluation of standardized extract of *Costus afer* leaf. *Food Science and Human Wellness*, **10** : 1016 .
5. **Audrey, j., Corrêaa, F., Gonçalves, A.,Tiago, E., Nazareth,D., Fernando, M., Bittencourt, L., (2019).** Principes fondamentaux du mécanisme d'action moléculaire des peptides antimicrobiens. *Materialia*, **8** : 100494.
6. **Baba Aïssa, F.,(1999) .** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. *Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident : Librairie Moderne Rouiba, EDAS, Alger*, 368p.
7. **Bashir, M. R., Atiq, M., Sajid, M., Mohsan, M., Abbas, W., Alam, M. W., & Bashair, M., (2018).** Antifungal exploitation of fungicides against *Fusarium oxysporum f. sp. capsici* causing Fusarium wilt of chilli pepper in Pakistan. *Environmental Science and Pollution Research*, **25** (7) : 6797-6801.
8. **Bendif, H., (2017).** Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Sciences Biologiques, spécialité : biotechnologies végétales. Alger, L'école Normale Supérieure de Kouba, 145 p.
9. **Benjilali , B., (2004).** Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. *Manuel pratique. Huiles essentielles : De la plante à la commercialisation*, 17-59.
10. **Bougandoura, N., Bendimerad N., (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, **09** : 14-19.
11. **Ben Othmen, M., Salah-Fatnassi, K.B.H., Ncibi, S., Elaïssi, A., & Zourgui. L., (2017).** Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Tercium polium L subsp.gabesianum* (LH) from Tunisia. *Physiologie and molecular biology of plants*, **23** (3) : 723-729.
12. **Benouaklil, F., Hamaidi-Chergui, F., Hamaidi, M. S., & Saidi, F., (2020).** Valorisation d'une adventice poussant en Algérie. *Chrysanthemum coronarium L. Phytothérapie*.
13. **Biyiti, L.-F., Mekoo, D.-J.-L., Tamzc, V., Amvam Zollo, P.-H., (2004).** Recherche de l'Activité Anti bactérienne de Quatre Plantes Médicinales Camerounaises. *Pharm. Méd. Trad. Afr*, **13** : 11-20.
14. **Bouchouka, E., (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes sahariennes.Thèse pour l'obtention du doctorat en sciences biologiques, spécialité : phytochimie, Université Badji Mokhtar, Annaba, P 98.
15. **Boughendjioua, H., (2015).** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zelanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse pour obtention du doctorat en science, spécialité : Biologie végétale. Université Badji Mokhtar , Annaba, Algérie, P177.
16. **Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N., (2017a).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, **15** (6) :379-383.
17. **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017b).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.

18. Bozhuyuk, A. U., Komaki, A., Kordali, S., & Ustuner, T., (2019). Assesment of the growth Inhibiting effect of *Satureja* essential oils on different *Fusarium* species from wheat. *Fresenius environmental bultin*, **28** (11) : 8199-8206.
19. Bruneton J., (1999). Phytochimie, plantes médicinales. Pharmacognosie : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1120.
20. Četković G.S., Čanadanović-Brunet J., Djilas S.M., Tumbas V.T., Markov S.L., Cetković D.D., (2007) . Atioxidant Potential, Lipid Peroxidation Inhibition and Antimicrobial Activities of *Satureja Montana L. subsp. Kitaibelii* Extracts. *International Journal of Molecular Sciences*, **8** (10) : 1013-1027.
21. Daglia, M., (2012). Polyphénols comme agents antimicrobiens. *Opinion actuelle en biotechnologie*, **23** (2) : 174-181.
22. De Castro, M. L., & Priego-Capote, F., (2010). Soxhlet extraction. Past and present panacea. *Journal of chromatography A*. **1217** (16) : 2383-2389.
23. Diallo, A., (2005) . Etude de la pytochimie et des alicivites biologiques de *Syzygium guineense* willd. (Myrtaceae). Thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie, spécialité : Pharmacie, Université d'Odonto-Stomatologie de Bamako, Mali. P100.
24. Duru ME., Ozturk M., Ugur A., Ceylan O., (2004) . The constituents of essential oil and in vitro antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey. *J. Ethnopharmacol.* **94**:43-48.
25. Duval, M., et Cossart, P., (2019), Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques, le recyclage des ribosomes , *nouvelle magazine*, **35**: 8-9.
27. Favier, A., (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **64** : 390-396.
28. Fraternali, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Ricci, D., Epifano, F., Genovese, S., & Curini, M., (2007). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Satureja montana* from central Italy. *Chemistry of natural compounds*, **43** (5) : 622-624.
29. Ghedira, K., & Goetz, P., (2019). Sarriette des montagnes *Satureja montana* (Lamiaceae). *Phytothérapie*, **17** (2) : 101.
30. Gulluce M., Sokmen M., Daferera D., Agar G., Ozkan H., Kartal N., (2003) . In vitro antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the essential oil, methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis L.* *J. Agri.Food. Chem.* **51**: 3958–3965.
31. Harnly, J. M., Doherty, R. F., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Bhagwat, S., & Gebhardt, S., (2006). Flavonoid content of US fruits, vegetables, and nuts. *Journal of agricultural and food chemistry*, **54** (26) : 9966-9977.
32. Harrar, A., (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L.* Thèse pour l'obtention du diplôme du Magister en sciences, spécialité : Biochimie et physiologie expérimentale, . Setif, Université Farhat Abbas, P 67.
33. Hebi, M. & Eddouks, M., (2016). Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana* . *Phytothérapie*, **14** : 17–22.
34. Himed, L., Merniz, S., Benbraham, M., Boudjouada, E., Barkat, M., (2020), Préservation du concentré de tomate par un agent antifongique (huile essentielle du citron). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition & Development*, **20** (2) : 15607-15618.
35. Jafari, F., Ghavidel, F., et Zarshenas, MM., (2016). Un aperçu critique des aspects pharmacologiques et cliniques des espèces populaires de *Satureja*. *Journal des études d'acupuncture et des méridiens*, **9** (3) : 118-127.
36. Jokić, S., Velić, D., Bilić, M., Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., (2010). Modélisation du processus d'extraction solide-liquide de polyphénols totaux à partir de soja. *Czech J. Food Sci.*, **28**: 206-212.
37. Jakovljević, M., Vladić, J., Vidović, S., Pastor, K., Jokić, S., Molnar, M., & Jerković, I. (2020). Application de solvants eutectiques profonds pour l'extraction de la rutine et de l'acide rosmarinique de *Satureja montana L.* et évaluation de l'activité antiradical des extraits. *Plantes* , **9** (2) : 153
38. Kharchouf, S., Bouchador, A., Drioiche, A., Khiya, Z., El Hilali, F., & Zair, T., (2017). Phytochemistry and antioxydante activity of *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, 1-7.
39. Khribch, J., Nassik, S., El houadfi, M., Zrira, S., Oukessou, M., (2018). Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire *Mar. Sci. Agron. Vét*, **6** (3): 300-307 .

40. Kholkhal, F., (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus* et *ssp euciliatus*. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Biologie, Option: Produits naturels, Aspects nutritionnels et Activités Biologiques, Telemcen, Université Abou Bekr, 164.
41. Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S., (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchornea cordifolia (Euphorbiaceae)* et *Tridax procumbens linn (Asteraceae)*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, **44** : 15-22.
42. Labiod, R. , Aouadi, S., et Bouhaddouda, N.,(2015). Chemical composition of the Essential Oil Extracted from the Aerial parts of Sage (*Salvia Officinalis* Collected from North East of Algeria. *Saudi J. Med. Pharm. Sci*,**1** (3) : 83-86.
43. Labiod, R., Aouadi, S., & Bouhaddouda, N., (2015). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Satureja Calamintha nepeta* against phytopathogens fungi. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, **7** (7) : 208-211 .
44. Labiod, R., (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse pour l'otention du Doctorat en Biochimie, Option : Biochimie appliquée, Annaba, Université Badji Mothtar, 115p.
45. Lakey-Beitia, J., Berrocal, R., Rao, KS., Durant, AA., (2015). Les polyphénols comme molécules thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer en modulant les voies amyloïdes. *Neurobiologie moléculaire* , **51** (2) : 466-479.
46. Lahlou, M., (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils. *phytotherapy research*, **18** (6) : 435-448.
47. Maccelli, A., Vitanza, L., Imbriano, A., Frascchetti, C., Filippi, A., Goldoni, P., & Menghini, L., (2020). *Satureja montana L* Essential oils: chemical profiles/phytochemical screening, antimicrobial activity and o/w nanoemulsion formulations. *Pharmaceutics*, **12** (1) : 7.
48. Manandhar, S., Luitel, S., & Dahal, R. K. (2019). In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *Journal of tropical medicine*, **2019** : 5.
49. Marinova, E. M., & Yanishlieva, N. V. (1997). Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chemistry*, **58** (3) : 245-248.
50. Miguel, MG., (2012). Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. *Flavour. Fragr.J.*, **25**: 291-312.
51. Mohana, B., Kameshwari, S., et Kumar, MKP., (2020). Activité antifongique dans *Urginea indica Kunth. (Asparagacées)*. *Journal européen des plantes médicinales*, **31** (2) : 18-23.
52. Mika, A., Minibayeva, F., Beckett, R., Lüthje S., (2004) . Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem. Rev.*, **3** :173-193.
53. Mouas, Y., Benrebiha, F., & Chaouia, C., (2017). Evaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis l.* *Revue Agrobiologia*, **7**(1) : 363-370.
54. Muniyandi, K., George, E., Sthyanarayanan., S., George, B. P., Abrahamse, H., Thamburaj, S., & Thangaraj, P., (2019). Phenolique, tannins, flavonoids and anthocyanins contents influenced antioxydante and anticancer activities of Rubus fruits from Western Ghats, India. *Food Sciencen and Human wellness*, **8** (1) : 73-81.
55. Nauciel. C., & Vildé J.L., (2005). Bactériologie médicale. 2èmeEd : Masson, Paris. 5,10.
56. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 1997, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard M2-A7. *National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA*.
57. Nwonuma, C. O., Adelani-Akande, T. A., Osemwegie, O. O., Olaniran, A. F., & Adeyemo, T. A., (2020). Preliminary in vitro antimicrobial potential and phytochemicals study of some medical plants. *F1000Research*, **8** (81) : 81.
58. Owuama, C. I., (2017). Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration bactéricide minimale (MBC) à l'aide d'une nouvelle méthode de tube de dilution. *African Journal of Microbiology Research* , **11** (23) : 977-980.
59. Panizzi L., Flamini G., Cioni PL., Morelli I., (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean *Lamiaceae*. *J. Ethnopharmacol.* **39**: 167-170.

60. Pauli A., (2001). Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International journal of Aromatherapy*, **11** :126-133.
61. Ponce, A.G., Fritz R., Delvalle, C. et Roura, S.I., (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic*, **36** : 679-684.
62. Rasooli, I., Abyaneh, M.-R., (2004). Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food control*, **15** (6) : 479-483.
63. Rebbas, K., et Bounar R., (2014) . Études floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la région de M'Sila (Algérie) . *Phytothérapie*, **2** : 284–291.
64. Roberts C.K., Sindhu K.K, (2009), Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, **84**(21-22) : 705-712.
65. Ross, J. A., & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of Nutrition*, **22** (1) : 19-34.
66. Selka, M. A., Chenafa, A., Achouri, M. Y., Aoued, L., Tareb, S., Nourredine, M. A., & Toumi, H., (2016). Activité antimicrobienne et antioxydante des feuilles de *Vitis vinifera L.* *Phytothérapie*, **14** (6) : 363-369.
67. Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., Marques, A., (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana L.* extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **91** (9) : 1554-1560.
68. Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M. P., & Catalan, C., (2006). Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. *Food control*, **17** (9) : 745-752.
69. Skocibusic, M., Bezic, N., et Dunkic, V., (2006). Composition phytochimique et activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Satureja subspicata* Vis. grandissant en Croatie. *Food Chemistry* , **96** (1) : 20-28.
70. Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, A.-H., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F., (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, **15**.
71. Stanojevic, P. L., Marjanović-Balaban, Z., Kalaba, V.D., Stanojević, J., Cakic, M., Cvetkovic, D., (2017). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Basil (*Ocimum basilicum L.*) Essential Oil. *Journal of essential oil-bearing plants JEOP*, **20** (6) :1557-1569.
72. Urquiaga, I.N.E.S., Leighton, F.E.D.E., (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol. Res*, **33** : 55-64.
73. Valnet, J., (2000). Alteration of *saccharomyces cerevisiae*. *Phytotherapy. Res*, **19** (5) .
74. Vauzour, D., (2012). Dietary polyphenols as modulators of brain functions: biological actions and molecular mechanisms under pinning their beneficial effects. *Oxid Med Cell Longe* . 1–16.
75. Venkatasubramanian, P., Balasubramani, S. P., Nandi, S. K., & Tariq, M., (2018). Bioactive metabolite profiling for identification of elite germplasms: a conservation strategy for threatened medicinal plants. *Curr Sci*, **114** (3) : 554-561.
76. Wang, L., Yen, JH., Liang, HL., Wu, MJ., (2003). Antioxidant Effect of Methanol Extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera Gertn.*) . *Journal of Food and Drug analysis*, **11**(1) : 60-66.
77. Wolfe, KL., Liu, RH., (2008) . Structure–activity relationships of flavonoids in the cellular antioxidant activity assay. *J Agric Food Chem.* **56**: 84
78. Yaici, K., Dahamna, S., Moualek, I., Belhadj, H., Houali, K., (2019). Évaluation de la teneur des composés
79. phénoliques, des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'espèce *Erica arborea L.*(Ericaceae) dans la médecine traditionnelle du Tell sétifien dans l'Est Algérien. *Phytothérapie*.
80. Zuzarte, M., Gonçalves, M.-J., Cavaleiro, C., Canhoto, J., Vale-Silva, L., Silva, M.-J., Pinto, I., Salgueiro, L., (2011). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis L'Hér.* *Journal of Medical Microbiology*, **60** (5) : 612–618.

ANNEXES

Annexe I

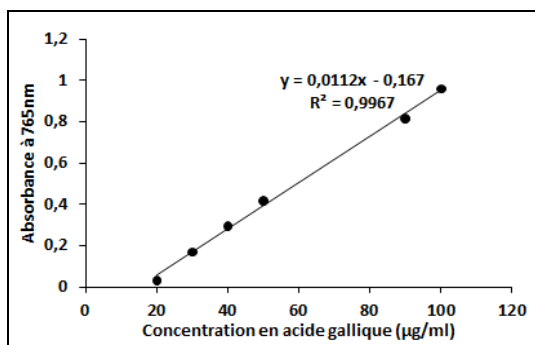


Fig. 1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

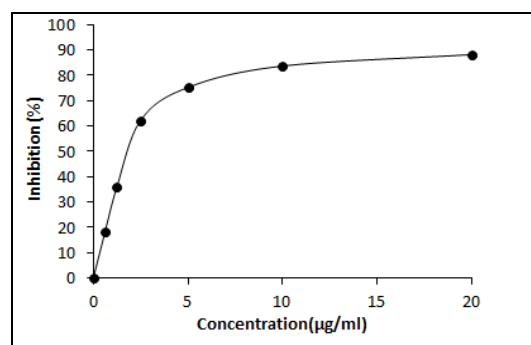


Fig. 2. Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction des concentrations de BHT.

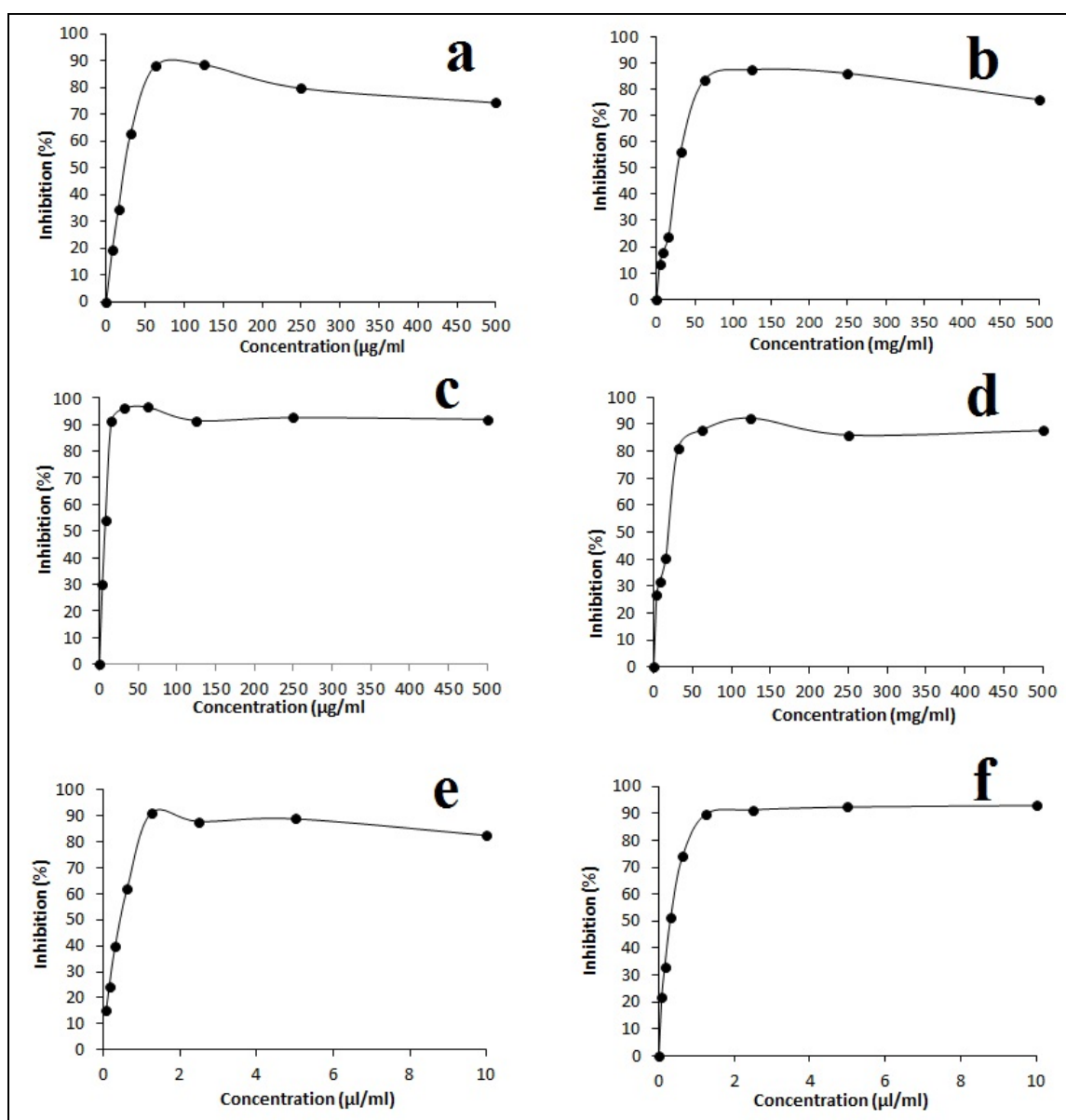


Fig.3. Courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH' en fonction des concentrations des extraits étudiés :
 a) EA_{BI}, b) EA_{Mi}, c) ME_{BI}, d) ME_{Mi}, e) HE_{BI}, f) HE_{Mi}.

Annexe II

Milieux de culture utilisés

- **Bouillon nutritif (BN) (g/l)**

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.3

- **Gélose nutritive (GN) (g/l)**

Peptone	10 g
Extrait de viande	3 g
Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	18 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.3

- **Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)**

Extrait de viande	3 g
Hydrolysate acide de caséine	17.5 g
Amidon	1.5 g
Agar	16 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7.3

- **Potato Dextrose Agar (PDA) (g/l)**

Filtrat de pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 ml
pH	5.6

- **Eau physiologique**

Eau distillée	1000 ml
NaCl	09 g

Annexe III

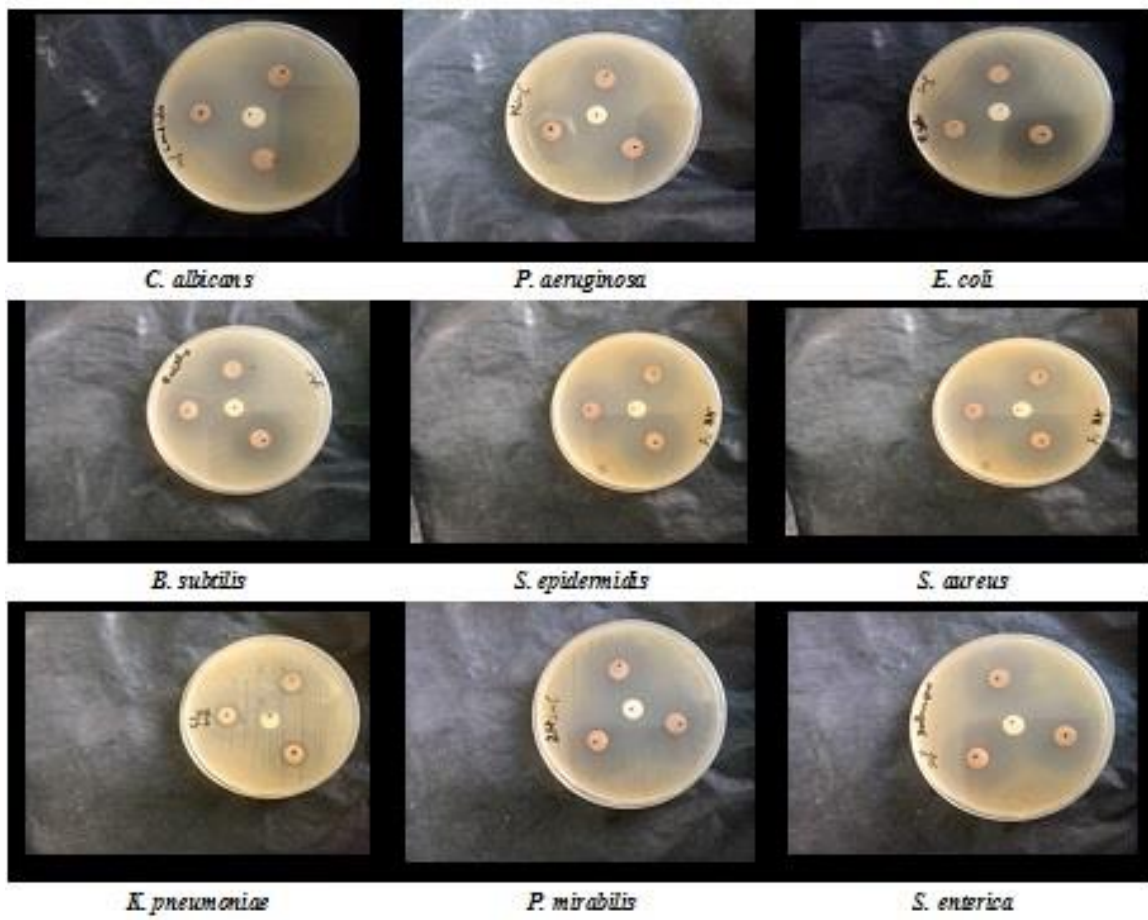


Fig.1. Photos représentant l'activité antimicrobienne de l'HE_{B1} par la méthode de disque diffusion.

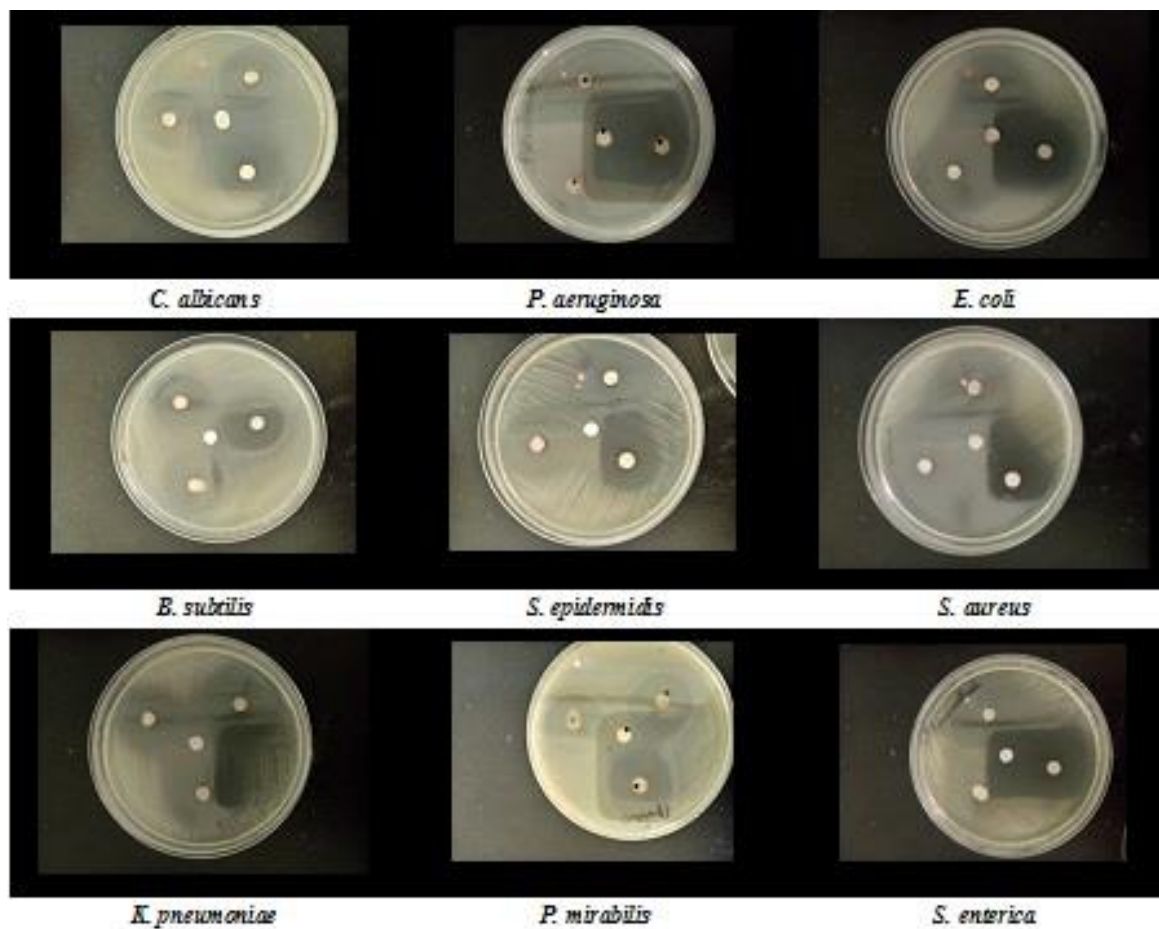


Fig.2. Photos représentant l'activité antimicrobienne de l'HE_{Mj} par la méthode des disques de diffusion.

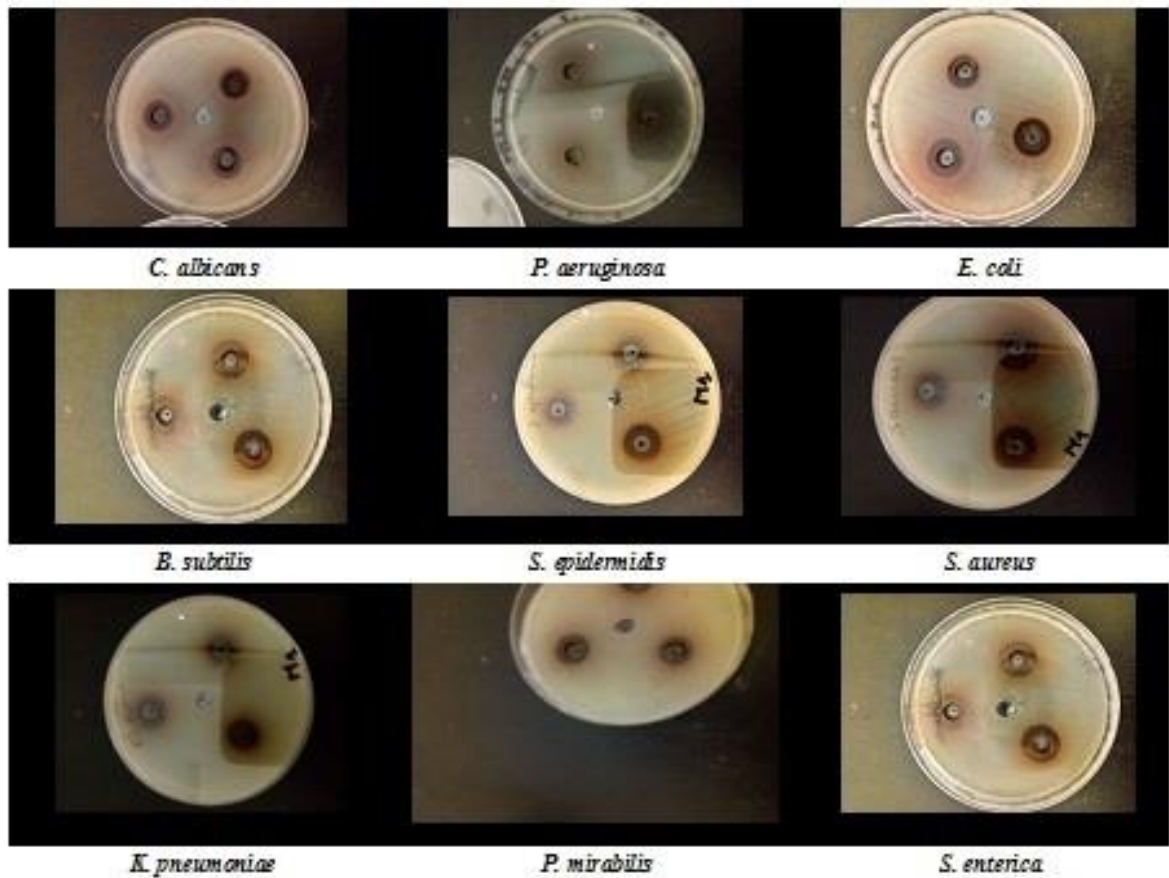


Fig.3. Photos représentant l'activité antimicrobienne des EM_{BI} avec la méthode des puits de diffusion.

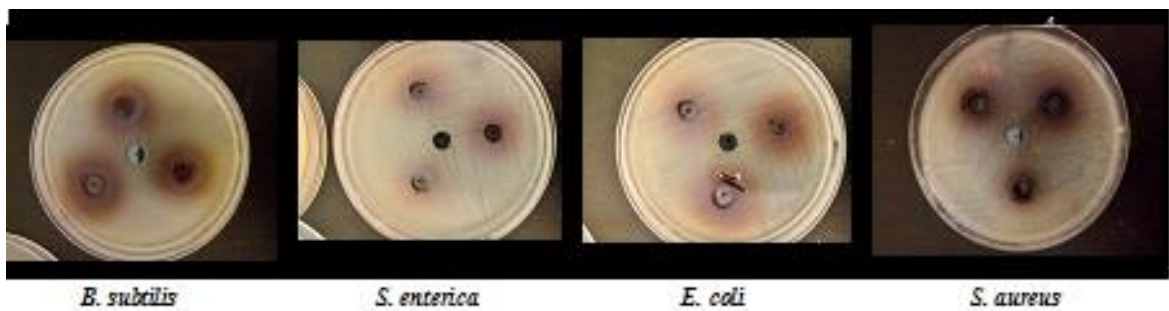


Fig.4. Photos représentant l'activité antimicrobienne des EA_{BI} avec la méthode des puits de diffusion.

Satureja montana L هو نبات طبي ينتمي إلى العائلة الشفوية Lamiaceae و يستخدم على نطاق واسع في مجالات الطهي والطب التقليدي وحفظ الأغذية. الهدف من هذا العمل هو تحديد المحتويات من عديدات الفينول للمستخلصات الميثانولية والمائية والزيت الأساسية الموجودة في هذا النبات ، وكذلك تقييم أنشطتها المضادة للأوكسدة والبكتيريا والفطريات. كانت العينتان، BI و Mj ، المأخوذتان من منطقتين مختلفتين من ولاية المسيلة موضوع هذه الدراسة. كانت حصيله الاستخلاص الميثانولي بالنقع 12.5% و 8.08% (وزن/وزن) للعينتين على التوالي. أعطى الاستخلاص المائي بالغلي 2.7 و 2.04% ؛ في حين كانت حصيله التقطير المائي 5.16 و 6.37% على التوالي. تم تحديد إجمالي محتويات عديدات الفينول بطريقة Fonic-Ciocalteu ، و تم إجراء اختبار النشاط المضاد للأوكسدة بواسطة DPPH و تم تحديد IC₅₀ للمستخلصات. تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لـ 08 سلالات بكتيرية (G⁺ و G⁻) و 05 فطريات، بطرق مختلفة (التبخير، الانتشار بطريقة القرص، الانتشار بطريقة الآبار و طريقة الطعام المسموم) ، و تم تحديد MICs بطريقة التخفيف الدقيق. أظهر الزيت الأساسي Mj نشاطاً مضاداً للميكروبات أكبر من الزيت الأساسي BI مع MICs من 0.62 إلى 1.25 ميكرو لتر/مل ومن 0.62 إلى 10 ميكرو لتر/مل على التوالي. كانت المستخلصات المائية لكلا النوعين الإيكولوجيين أقل قوة أو حتى غير فعالة مع MICs تتراوح من 37.5 إلى < 300 ملغ/مل و MBC من 37.5 إلى < 300 ملغ/مل. أحدث الزيت الأساسي تثبيطاً مائلاً للفطريات بطريقة التبخير ، وثبطها بشكل كبير (36% إلى < 92%) بالطرق الأخرى. تظهر هذه النتائج أن الزيت الأساسي لنبات *Satureja montana* ذو خصائص مضادة للميكروبات ، في حين أن مستخلصه الميثانولي و المائي ذوا نشاط مضاد للأوكسدة أعلى، وأن النمط البيئي Mj أكثر فعالية من BI .

كلمات مفتاحية: *Satureja montana* ، العائلة الشفوية ، زيت أساسي، مستخلص ميثانولي، مستخلص مائي، نشاط مضاد للأوكسدة، نشاط مضاد للجراثيم.

Abstract

Satureja montana L. is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family. It is widely used in culinary fields, traditional medicine, and food preservation. The aim of this work is to determine the polyphenolic contents of methanolic (ME), aqueous (AE) and essential oil (EO) extracts in from this plant, as well as to evaluate their antioxidant, antibacterial and antifungal activities. Two samples, BI and Mj, collected from two different regions of M'sila sate were the subject of this study. The yields of the methanolic extraction by maceration were 12.5 and 8.08% (w/w) respectively; those of aqueous decoction extraction were 2.7 and 2.04%; while EOs extraction by hydrodistillation yielded in 5.16 and 6.37% respectively. The total polyphenolic contents (TPP) were determined by the Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity was carried out by the DPPH test and the IC₅₀ of the extracts were determined. The antimicrobial activity was evaluated for 08 bacterial strains (G⁺ and G⁻) and 05 fungi, by different methods (fumigation, disc diffusion, well diffusion and poisoned food), and the MICs were determined by the microdilution method. The EO Mj exhibited greater antimicrobial activity than BI with MICs from 0.62 to 1.25 µl/ml and from 0.62 to 10 µl/ml respectively. The AEs of the two ecotypes were less potent or even ineffective with MICs from 37.5 to > 300 mg/ml and MBCs of 37.5 to > 300 mg/ml. The EO completely inhibited molds by fumigation, and significantly inhibited them (36% to > 92%) by the other methods. These results show that the EO of *Satureja montana* has antimicrobial properties, while the EM and EA extracts have greater antioxidant activity, and that the Mj ecotype is more potent than BI one.

Key words - *Satureja montana* , Lamiaceae, essential oil, methanolic extract, aqueous extract, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Résumé

Satureja montana L. est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiaceae*. Elle est largement utilisée en domaine culinaire, médecine traditionnelle, et préservation des aliments. Le but de ce travail est de déterminer la teneur des extraits méthanolique (EM), aqueux (EA) et huile essentielle (HE) en composés phénoliques de cette plante, ainsi que d'évaluer leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique. Deux échantillons, BI et Mj, collectés de deux régions différentes de la wilaya de M'sila ont fait l'objet de cette étude. Les rendements de l'extraction méthanolique par macération, étaient de 12.5 et 8.08 % (m/m) respectivement ; ceux de l'extraction aqueuse par décoction étaient de 2.7 et 2.04% ; alors que l'extraction des HE par hydrodistillation a donné des rendements de 5.16 et 6.37% respectivement. La teneur en Polyphénols totaux (PPT) a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'activité antioxydante a été réalisée par le test de DPPH et les IC₅₀ des extraits ont été déterminées. L'activité antimicrobienne a été évaluée, pour 08 souches bactériennes (G⁺ et G⁻) et 05 champignons, par différentes méthodes (fumigation, disques de diffusion, puits de diffusion et aliment empoisonné 'poisoned food'), et les CMI ont étaient déterminées par la méthode des microdilutions. L'HE Mj a présenté une activité antimicrobienne plus importante que celle de BI avec CMI allant de 0.62 à 1.25µl/ml et de 0.62 à 10µl/ml respectivement. Les EA des deux écotypes ont été moins puissants voir inefficaces avec des CMI de 37.5 à >300 mg/ml et des CMB de 37.5 à >300 mg/ml. L'HE a totalement inhibé les moisissures par fumigation, et les a inhibé considérablement (de 36 à >92%) par les autres méthodes. Ces résultats montrent que les l'HE de *Satureja montana* possède des propriétés antimicrobiennes alors que les extraits EM et EA ont une activité antioxydante plus importante, et que l'écotype Mj est plus puissant que BI.

Mots clés - *Satureja montana*, Lamiaceae, huile essentielle, extrait méthanolique, extrait aqueux, activité antioxydante, activité antimicrobienne.