

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE des sciences

DEPARTEMENT de Microbiologie et
Biochimie

N° :



DOMAINE : Science de la nature et de la
vie

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par : ABDERREZAK Rima & AIB Salima

Intitulé

Analyse phytochimique et activités biologiques
des extraits aqueux de *Satureja calamintha* des
monts de Maadid (région de Hodna)

Soutenu devant le jury composé de :

Mme BOUDJELAL Amel	Université de M'Sila	Présidente
Mme GUESMIA Khokha	Université de M'Sila	Examinatrice
Dr. FREIDJA Mohamed Lamine	Université de M'Sila	Encadreur

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciements

&

Dédicaces

Remerciement

Tout d'abord nous remercions le bon Dieu tout puissant de la bonne santé, la volonté et la patience qu'il nous a donné tout au long de la période de nos études.

Nous exprimons nos sincères remerciements :

A notre encadreur Dr : FREIDJA Mohamed Lamine pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, et sa disponibilité pour l'accomplissement de ce travail.

Nous remercions Dr. BENKHALED Abderahim, chef du département de microbiologie et biochimie pour son aide précieuse et ses conseils éclairés, ainsi que pour sa grande disponibilité et son immense gentillesse.

A tous les membres du laboratoire du département de biochimie et de microbiologie, en particulier Mr. SGHIRI Kamel et les ingénieurs pour leur soutien et les facilités accordées dans la réalisation de ce travail.

Aux membres du jury qui ont bien voulu consacrer une partie de leur précieux temps pour juger ce travail :

Mme GUESMIA Khokha pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre Soutenance.

Mme BOUDJELAL Amel pour l'honneur qu'il nous a accordé en acceptant d'examiner notre mémoire.

A tous Les collègues de la promotion 2018-2019 pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble.

Enfin un énorme Merci à tous ceux qui nous ont aidé, conseillé, et ouvert leurs portes, parfois même avec un sourire, et qui se reconnaîtront certainement.

Dédicace

Je dédie ce mémoire

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour
A ceux qui m'ont encouragée et soutenue durant toutes mes
années d'études : mes parents tous les mots sont insuffisants
pour exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon
amour. Que le tout puissant les garde et les protégé*

A mes parents Tarfaya et Rekia

A mes chères sœurs Zahra, Warda et Farida

A mes chères frères Ibrahim, Slimane et saïde

A tous mes amis

Salima

A mes parents Aïssa et Lwiza

A mes chères sœurs Bouthina, Toubra, Wisal

A mes chères frères Sofiane et Sohaïb

A toute ma grande famille

A toute mes amis

Rima

SOMMAIRE

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION 01

I. Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de la Plante étudiée 02

1.1. Généralités 02

1.2. La sarriette (*Satureja calamintha*) 03

1.2.1. Description botanique 03

1.2.2. Position systématique 03

1.2.3. Culture et répartition géographique 04

1.2.4. Composition chimique 04

1.2.5. Utilisation de la sarriette dans la médecine traditionnelle 04

I.2. métabolites secondaires 04

2.1. Définition 04

2.2. Classes des métabolites secondaires 04

2.2.1. Les Polyphénols 04

2.2.1.1. Les flavonoïde 04

2.2.1.2. Les tanins 05

2.2.1.3. Les acides phénoliques 05

2.2.2. Les alcaloïdes 06

2.2.3. Les terpénoïdes 06

I.3. Les activités biologiques 06

3.1. L'activité antioxydante 06

3.1.1. Stress oxydatif	06
3.1.2. Les radicaux libres	06
3.1.2.1. Les sources de production des radicaux libres	07
3.1.2.2. Cibles des radicaux libres	07
3.1.3. Les antioxydantes	07
3.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante in vitro	08
3.2. L'activité antibactérienne	08
3.2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro	09
I.4. Méthodes d'extraction des plantes	09
4.1. Extraction par décoction	09
4.2. Extraction Assistée par Micro-Ondes(EAM)	09
4.2.1. Principe de l'EAM	10
4.2.2. Avantages de l'EAM.....	10
II. Matériel & méthodes	
II.1. Matériel végétale	11
II.2. Préparation des extraits aqueux de <i>S. calamintha</i>	11
2.1. Préparation de de l'extrait aqueux par décoction	11
2.2. Préparation de l'extrait aqueux par microonde	12
II.3. Test phytochimiques	12
3.1. Test des flavonoïdes	12
3.2. Test des tanins	12
3.3. Test des quinones	13
3.4. Test des anthraquinones	13
3.5. Test des terpénoïdes	13
3.6. Teste des composés réducteurs	13
II.4. Dosage chimique.....	13
4.1. Dosage de polyphénols totaux.....	13
4.2. Dosage des flavonoïdes totaux	14
II.5. Activité biologique.....	14

5.1. L'activité antioxydante.....	14
5.1.1. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode du DPPH	14
5.1.2. La capacité antioxydante totale	15
5.2. L'activité antibactérienne.....	16
5.2.1. Repiquage et enrichissement	16
5.2.2. Technique de diffusion des disques	16
5.2.3. La coloration de Gram.....	16
5.2.4. L'antibiogramme.....	16
II.6. Etude statistique.....	17

III. RESULTATS

III.1. Rendements de l'extraction de <i>S. calamintha</i>	18
III.2. Caractérisation phytochimique (screening phytochimique).....	18
III.3. Composition chimique (dosage)	19
3.1. Dosage de polyphénols totaux.....	19
3.2. Dosage des flavonoïdes totaux	20
III.4. Activités biologiques des extraits bruts	22
4.1. Activité antioxydante	22
4.1.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	22
4.1.2. Capacité antioxydante totale	23
4.2. Activité antibactérienne.....	24
4.2.1. Coloration de Gram.....	24
4.2.2. Test antibactérien	24
4.2.3. L'antibiogramme.....	25

IV. Discussion

CONCLUSION	31
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	
ANNEXES.	

Liste des abréviations

Abs	: Absorbance.
ADN	: Acide désoxyribonucléique.
AG	: Acide gallique.
ARN	: Acide ribonucléique.
C	: Celsius.
EAA	: Equivalent d'Acide ascorbique.
EAM	: Extraction assistée aux microondes.
EDéc	: Extrait par décoction.
EMO	: Extrait aux microondes.
EQ	: Equivalent de Quercétine.
ERO	: Espèces réactives de l'oxygène.
CI₅₀	: Concentration d'inhibition à 50%.
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé.
pH	: Potentiel Hydrogène.
Q	: Quercétine.
S	: <i>Satureja</i> .
SOD	: Superoxyde dismutase.
UV	: Ultra-violet.

Liste des figures

Figure 01 : Photo des parties aériennes de la plante <i>Satureja calamintha</i>	03
Figure 02 : Structure des flavonoïdes.....	05
Figure 03 : Les différentes classes des flavonoïdes	05
Figure 04 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.....	07
Figure 05 : l'appareillage de microonde	09
Figure 06 : Représentation du spectre électromagnétique et positionnement des micro-ondes domestiques.....	10
Figure 07 : Situation géographique de la région de récolte de <i>Satureja calamintha</i>	11
Figure 08 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux par décoction.	11
Figure 09 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux par microonde.....	12
Figure 10 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	14
Figure 11 : Teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO)	20
Figure 12 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO)	21
Figure 13 : IC ₅₀ des extraits aqueux de <i>S. calamintha</i> (EDéc et EMO) et le BHT	22
Figure 14 : Capacité antioxydante totale des extraits de <i>S. calamintha</i> (EDéc et EMO)	23
Figure 15 : Les zones d'inhibition de la croissance d' <i>Escherichia coli</i> induites par les extraits EDéc et EMO de <i>S.calamintha</i>	24
Figure 16 : Les zones d'inhibition de la croissance de <i>Bacillus subtilis</i> induites par les extraits EDéc et EMO de <i>S.calamintha</i>	25

Liste des tableaux

Tableau 01 : Comparaison entre les deux espèces <i>S.calamintha</i> et <i>S.montana</i>	02
Tableau 02 : Résultats des tests phytochimiques	18
Tableau 03 : Résultats complémentaire des tests phytochimiques	19
Tableau 04 : Teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO)	20
Tableau 05 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO)	21
Tableau 06 : Valeur d'IC ₅₀ des extraits bruts EDéc, EMO et du BHT.....	22
Tableau 07 : La capacité antioxydante totale des extraits bruts E Déc, EMO de <i>S.calamintha</i>	23
Tableau 08 : Gram et forme des souches bactérienne étudiées.	24
Tableau 09 : Les diamètres des zones d'inhibition (mm)	25

Résumé

ملخص

Abstract

Résumé

La sarriette est une plante médicinale qui appartient à la famille des lamiacées. Dans cette étude, nous nous sommes intéressées au *Satureja calamintha* des monts de Maadid (région de Hodna). Deux extraits bruts ont été préparés à partir de la partie aérienne : l'un obtenue par décoction (EDéc) et l'autre par extraction aux micro-ondes (EMO). Les rendements d'extraction sont de l'ordre de $17,5 \pm 0,5$ % et $21,83 \pm 0,7$ % respectivement. Les tests phytochimiques appliqués aux extraits de *Satureja calamintha* ont montré la présence de plusieurs familles de composés chimiques potentiellement bioactives, notamment les flavonoïdes et les tanins. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par méthode colorimétrique a montré que EDéc est plus riche en métabolites secondaires par rapport à EMO. L'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes : i) le piégeage du radical libre DPPH avec des IC_{50} à $24,77 \pm 0,76$ et $23,07 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$ pour EDéc et EMO respectivement et qui sont supérieures à celle obtenue par le BHT ($22,25 \pm 1,24$ $\mu\text{g/ml}$) ; ii) La capacité antioxydante totale (TAC) est estimée à $84,64 \pm 0,72$ $\mu\text{g EAA/mg}$ pour EDéc et $80,41 \pm 19,13$ $\mu\text{g EAA/mg}$ pour EMO. L'activité antibactérienne est déterminée vis-à-vis de deux souches bactériennes de référence : *Escherichia coli* (Gram, négatif) et *Bacillus subtilus* (Gram, positive), selon la méthode de diffusion dans les disques. Les deux extraits n'ont montré aucun effet sur la souche *E. coli*, Cependant, ils possèdent un effet inhibiteur modéré sur la souche *B. subtilus*.

Les mots clés : *Satureja calamintha*, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, TAC, activité antibactérienne.

ملخص

الزعتر هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة الشفويات. في هذه الدراسة اعتمدنا الزعتر البري (*Satureja calamintha*) لجبال المعاصيد) منطقة الحضنة). تم تحضير مستخلصين من الجزء العلوي: الأول متحصل عليه عن طريق الاستخلاص بالإغلاء (EDéc) والآخر بواسطة الميكروويف (EMO); حيث قدر مردود المستخلصات بـ $17,5 \pm 0,5$ % و $21,83 \pm 0,7$ % على التوالي. وأظهرت الاختبارات الكيميائية التي تم تطبيقها على مستخلصات هذه النبتة وجود عائلات من المركبات الكيميائية بما في ذلك الفلافونويدات والدباغ. التقدير الكمي من الفينولات الكمية والفلافونويدات بالطرق اللونية أظهر ان المستخلص المتحصل عليه بالإغلاء هو الاغنى بهذه المركبات مقارنة بمستخلص الميكروويف. تم تقييم النشاطية المضادة للأكسدة بطريقتين: أ) محاصرة الجذر الحر DPPH حيث قدرت قيم الـ IC_{50} بـ $24,77 \pm 0,76$ و $23,07 \pm 0,18$ ميكروغرام / مل لمستخلص الاغلاء والميكروويف على التوالي و هي اكبر من ذلك الذي ابداه BHT $22,25 \pm 1,24$ ميكروغرام / مل . ب) القدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) قدرت بـ $84,64 \pm 0,72$ لمستخلص الاغلاء و $80,41 \pm 19,13$ ميكروغرام مكافئ لحمض الأسكوربيك / ملغ من المستخلص، بالنسبة لمستخلص الميكروويف. تم تحديد النشاطية المضادة للبكتيريا ضد اثنين من السلالات البكتيرية: *Escherichia coli* سالبة الغرام و *Bacillus subtilis* موجبة الغرام وفقا لطريقة النشر في الأقراص، حيث أظهرت النتائج ان كلا المستخلصين ليس لهما تأثير على *Escherichia coli* في حين لهما تأثير تثبيطي ضعيف جدا على *Bacillus subtilis*.

الكلمات المفتاحية: الزعتر البري الطويل، الفينولات الكلية، الفلافونويد، النشاطية المضادة للأكسدة (DPPH) (TAC) (النشاطية المضادة للبكتيريا).

Abstract

Savory is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family. In this study, we are interested in *Satureja calamintha* from Maadid mountains (Hodna region). Two extracts were prepared from the aerial parts: one by decoction and the other by microwave. The extraction yields are of the order of $17,5 \pm 0,5 \%$ and $21,83 \pm 0,7 \%$ respectively. The phytochemical tests applied to *Satureja calamintha* extracts have shown the presence of several families of chemical compounds such as flavonoids and tannins. Quantitative estimation of total phenols and flavonoids by colorimetric methods showed that the decoction extract is richer in these compounds compared to the microwave extract. Antioxidant activity was evaluated by two complementary methods: i) Sweeping of DPPH free radicals, where the IC_{50} was estimated to be $24,77 \pm 0,76$ and $23,07 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$ for the decoction and microwave extracts respectively and which are more than that shown by BHT ($22,25 \pm 1,24 \mu\text{g/ml}$). ii): The total antioxidant capacity is estimated to be $84,64 \pm 0,72 \mu\text{g EAA/mg}$ for decoction extract and $80,41 \pm 19,13 \mu\text{g EAA/mg}$ for microwave extract. Antibacterial activity was determined against two bacterial strains: *Escherichia coli* (Gram-) and *Bacillus subtilus* (Gram+), according to the method of diffusion in disks. Our results show that the two extracts were without any effect on the *Escherichia coli* strain, whereas they have a moderate effect on the *Bacillus subtilus*.

Key word: *Satureja calamintha*, Total phenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, TAC, Antibacterial activity.

Introduction

L'homme s'est intéressé depuis longtemps aux plantes dans le but de résoudre ses problèmes de santé. Elles forment la base de la médecine traditionnelle grâce à leur richesse en métabolites secondaires utilisés comme composés actifs. Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**Ventrella et Marinho, 2008 ; Ladoh et al., 2014**). Le recours à la médecine traditionnelle est due à diverses raisons comme : le coût des plantes médicinales qui est faible par rapport aux médicaments conventionnels, la disponibilité de ces plantes surtout dans les régions les plus éloignées et au sein des populations les moins favorisées, les effets secondaires indésirables des médicaments, l'envie de consommer « bio », les effets bénéfiques sur la santé et l'existence des maladies pour lesquelles il n'y a pas de traitement pharmaceutique efficace (**Zenasni, 2014**).

L'Algérie, riche par sa biodiversité et son climat diversifié, est une plate-forme géographique très importante qui mérite d'être explorée dans le domaine de la recherche de molécules thérapeutiques originaires des plantes qui ont pour longtemps servi à une grande tranche de la population comme moyen incontournable de médication (**Bougandoira et Bendimerd, 2013**).

Pour cela, notre choix est apporté sur la sarriette de Maadid (région de Honda). Elle est utilisée comme remède contre les infections respiratoires bénignes ; aussi elle possède des propriétés antiseptiques, désinfectantes et connue comme agent odoriférant dans les parfums (**Bougandoira et Bendimerd, 2013**). Plusieurs travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* et ont révélé la présence d'huiles essentielles, de flavonoïdes, de tanins, d'acides phénoliques (acide rosmarinique, acide caféique) et de saponines. Parmi ces plantes, nous citons l'espèce *Satureja calamintha* qui se trouve au Nord-Est d'Algérie. Durant ce travail nous nous sommes intéressés d'une part à la recherche des substances naturelles potentiellement bioactives et d'autre part à l'étude de leur activités biologiques (antioxydante et antibactérienne). Dans cette optique l'objectif de notre étude est :

- La caractérisation phytochimique et la détermination de la teneur en molécules bioactives des extraits aqueux de la partie aérienne de *Satureja calamintha*.
- L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antibactérienne de ses extraits.
- La comparaison entre les deux extraits bruts obtenus par deux méthodes d'extraction différentes (par décoction et aux micro-ondes).

I. Synthèse bibliographique


I.1 .Présentation de la plante étudiée

1.1. Généralité

La famille des lamiacées (*Lamiaceae*) est une famille importante de plantes dicotylédones. Elle comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres (Naghbi *et al.*, 2015). *Satureja* est le genre qui a été étudié dans le présent travail ; ce genre est constitué d'environ 200 espèces d'herbes et d'arbustes, souvent aromatiques. Il est largement représenté dans la région de la Méditerranée, l'Asie et l'Amérique boréale (Cantino *et al.*, 1992).Ce genre est caractérisé par des parties aériennes ayant un goût distinctifs et peuvent être ajoutées à plusieurs préparations culinaires ou utilisées en médecine traditionnelle, pour traiter diverses affections (Gulluce *et al.*, 2003).

Parmi les espèces de *Satureja* répondues dans la région de Hodna, plus précisément dans les monts de Maadid, *S. montana* a fait l'objet d'une étude ultérieure dans le laboratoire (Bounab et Dehim, 2017). Afin de continuer à caractériser les plantes médicinales de notre région, notre choix s'est porté dans ce travail sur *S.calamintha* qui est identifié par le Dr. SARRI. DJ (tableau 01).

Tableau 01 : Caractéristiques botaniques de l'espèce *S.calamintha*.

Espèce	Image	Feuille	Fleur	Tige	La récolte
<i>S.calamintha</i>		Opposée et légèrement dentée	Rose ou pourpre	> 40 cm	De Juillet à Octobre

1.2. La sarriette (*Satureja calamintha*)

1.2.1. Description botanique

C'est une petite plante vivace qui ne dépasse pas 40 cm de haut au parfum mentholé. Les tiges sont molles et velues, elles portent des feuilles opposées, à pétiole moyen, légèrement dentées. Les fleurs, visibles de juillet à octobre, Le fruit est formé de quatre akènes ovales et lisses (**Baba Aissa, 2000**).



Figure 01 : Photo des parties aériennes de la plante *Satureja calamintha* (**Labioud, 2016**).

Nomenclature

Le nom *Satureja* dérive du latin « saturare » qui indique nourrir ou « satura » qui indique pot à fleur (**Vârban et al., 2009**).

Nom commun : Sarriette, baume sauvage, pouliot de montagne.

Nom botanique : *Satureja calamintha* (subsp. *nepeta*.)

Nom italien : La nepitella.

Nom vernaculaire : الزعتر البري.

1.2.2. Position systématique

La classification botanique de *Satureja calamintha* selon **Quezel et Santa (1963)**.

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Satureja*

Espèce : *S. calamintha*

1.2.3. Culture et répartition géographique

S. calamintha se distribuent dans le pourtour méditerranéen et se développent dans des régions arides, chaudes et rocheuses (Slavkovska *et al.*, 2001). Elle est originaire d'Afrique du Nord, Asie tempérée : Ouest Asiatico (Turquie), du Caucase (Arménie Azerbaïdjan, Géorgie, Russie, Cis Caucasia, Daghestan) et en Europe (Quezel et Santa, 1963).

1.2.4. Composition chimique

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur le genre *Satureja* qui est caractérisé par la présence des huiles essentielles, des flavonoïdes, des tanins, des acides phénols (acide rosmarinique, acide caféique) et des saponines (Vârban *et al.*, 2009).

1.2.5. Utilisation de la sarriette dans la médecine traditionnelle

La sarriette possède des vertus médicinales. Elle combat les flatulences, stimule la digestion, tonique, antiseptique, antispasmodique, et traite les coliques. Elle a un effet «réchauffant» et on la préconise en cas d'infections des voies respiratoires (bronchite) (Iserin, 2001).

I.2. Métabolites secondaires

2.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes (Laurent, 2012).

2.2. Classes des métabolites secondaires

2.2.1. Les Polyphénols

2.2.1.1. Les flavonoïde : Sont les composés phénoliques les plus abondants dans les végétaux. Les flavonoïdes présentent un fort effet antioxydant et peuvent, par conséquent, prévenir les lésions produites par les espèces oxydatives (William *et al.*, 2003).

•Structure

Les flavonoïdes possèdent un squelette carboné à 15 atomes de carbones constitués de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliées entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (W-Erdman *et al.*, 2007) (Figure 02).

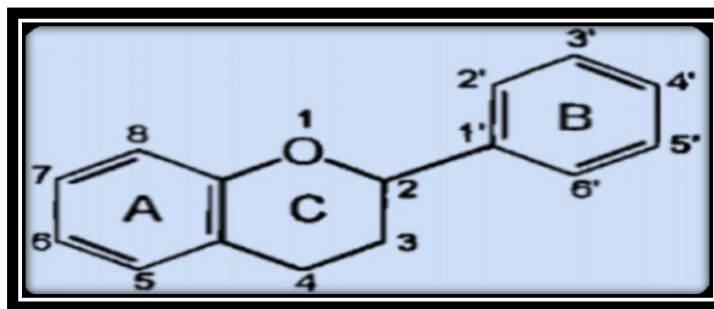


Figure 02 : Structure des flavonoïdes (Tringali, 2001).

• Classification

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques (Figure 03).

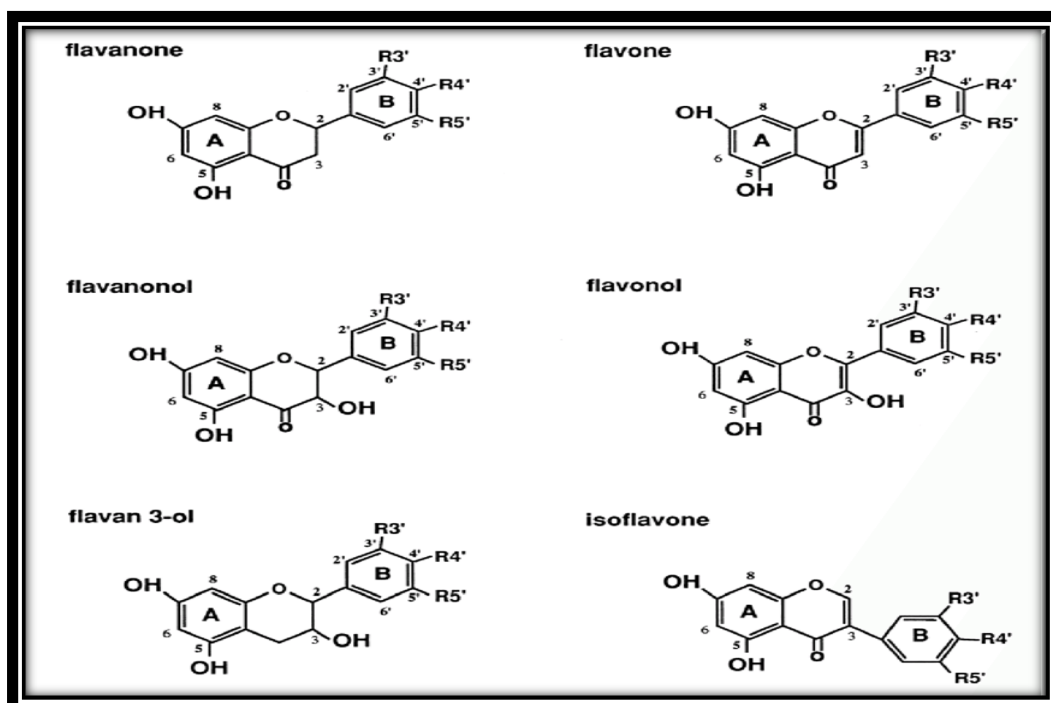


Figure 03 : Les différentes classes des flavonoïdes (Stoclet et Schini-Kerth, 2011).

2.2.1.2. Les tanins : Les tanins sont des groupes de polyphénols à haut poids moléculaire qui sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et à de nombreux éléments minéraux (Alkurd, 2008).

2.2.1.3. Les acides phénoliques : Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénoliques. Ils sont classés en deux groupes : les

dérivés de l'acide hydroxybenzoïques et de l'acide hydroxycinnamiques (**William et al., 2003**).

2.2.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, de nature basique, qui provoquent de puissants effets physiologiques. Il s'agit pour la plupart de poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique. Selon leur composition chimique et surtout leur structure moléculaire, on peut répartir les alcaloïdes en de nombreux groupes (**Borée, 2012**).

2.2.3. Les terpénoïdes

les terpénoïdes sont des composés généralement lipophiles (hydrophobes) (**william et al., 2003**). Ils sont classés en fonction du nombre d'atome de carbone (monoterpénoïdes, diterpénoïdes, triterpénoïdes, tétraterpénoïdes...etc.) (**Marouf et al., 2007**).

I.3. Les activités biologiques

3.1. L'activité antioxydante

La génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO ; *Reactive Oxygen Species* ou ROS) se produit naturellement au cours de la respiration cellulaire (**Tarnawski et al., 2005**). L'appellation ERO n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dits : radical superoxyde, radical hydroxyle, monoxyde d'azote, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singlet, peroxyde d'hydrogène, peroxyde d'azote (**Favier, 2003**).

Ces derniers endommagent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). L'évolution de cette oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telles que le diabète, le cancer, les infections inflammatoires, les maladies cardiaques et accélèrent le processus de vieillissement (**Dasgupta et De, 2007**).

3.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses antioxydants, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydants (**Smirnoff, 2005**).

3.1.2. Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe (**figure 04**). La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte (**Carange, 2010**).

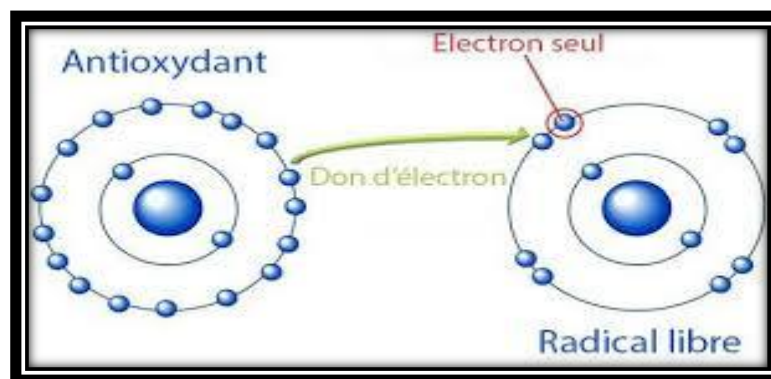


Figure 04 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant (Carange, 2010).

3.1.2.1. Les sources de production des radicaux libres

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques (Favier, 2006)

3.1.2.2. Cibles des radicaux libres

Lorsque les moyens de défense sont débordés, les radicaux libres oxygénés en excès vont agir au niveau de trois grandes cibles cellulaires : les membranes, les protéines et les acides nucléiques (Jadot, 1994).

3.1.3. Les antioxydantes

Les antioxydants sont des molécules oxydables qui, en agissant comme donneurs d'hydrogène vis-à-vis d'un radical hydroperoxyde, interrompent la réaction en chaîne de formation des peroxydes (White, 1994). Ce sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique ; avec l'avantage de ne pas modifier les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire (Poknory, 2001).

❖ Les antioxydantes 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).

- **La superoxyde dismutase (SOD)** : Accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (Piquet et Hebuterne, 2007).

-La catalase : Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

- **La glutathion peroxydase (GPx)** : La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydroperoxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

❖ 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. Par conséquent, il reste un besoin important de recherche des matières de substitution obtenues à partir des sources naturelles et qui pourront être utilisées comme antioxydants dans l'industrie agroalimentaire. (**Wang et al., 2003**).

3.1.4. Evaluation de l'activité antioxydante *in vitro*

Plusieurs méthodes sont utilisées pour déterminer l'activité antioxydante *in vitro* parmi lesquelles, on cite : la méthode utilisant le radical libre DPPH (diphényl-picrylhydrazyle) et la technique ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) (**Popovici et al., 2009**).

3.2. L'activité antibactérienne

A cause du problème de la résistance microbienne qui résulte de l'utilisation non rationnelle des antibiotiques, la découverte de nouvelles molécules antibactériennes constituant une alternative à l'usage des antibiotiques actuellement présents sur le marché du médicament est devenue une nécessité absolue (**Bourchan et al., 2015**). Ces nouveaux composés antimicrobiens doivent avoir une efficacité plus importante que les molécules synthétiques. Les travaux de recherche des dernières années se sont concentrés sur les extraits des plantes médicinales, en raison de leur teneur en substances bioactives, en l'occurrence les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes (**Arab et al., 2014**), qui provoquent sur les microorganismes une altération membranaire ou une inhibition de la synthèse d'ARN et d'ADN (**Clérivet et al., 1996**).

L'activité antibactérienne est une estimation qualitative de l'effet inhibiteur des extraits vis-à-vis de la croissance des agents bactériens par la mesure du diamètre d'inhibition (**Arab et al., 2014**).

3.2.1. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro

Méthode de la diffusion

Un disque de papier filtre contenant des quantités mesurées des molécules naturels sont placés sur un milieu solide qu'on a largementensemencé de microorganismes de test (Bourchan *et al.*, 2015).

I.4. Méthodes d'extraction des plantes

Dans le but de préparer un extrait aqueux à partir des plantes, plusieurs méthodes ont été décrites dans la littérature. Parmi lesquelles :

4.1. Extraction par décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004).

4.2. Extraction Assistée par Micro-Ondes (EAM)

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde intermédiaire entre l'infrarouge et les ondes de radiodiffusion entre 300 GHz à 300 MHz. Cependant, quelques fréquences seulement sont utilisées pour des usages industriels, scientifiques et médicaux comprises entre 0,915 à 2,45 GHz. A cette dernière fréquence, la matière réagit avec le champ électromagnétique principalement via le phénomène de rotation des dipôles et de polarisation induite (Ferhat *et al.*, 2010; Leonelli *et al.*, 2013).

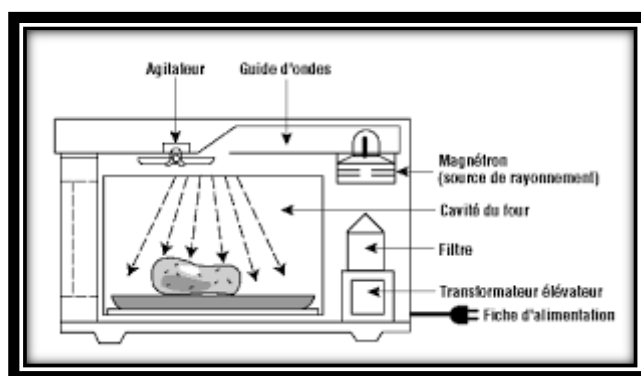


Figure 05 : l'appareillage de microonde (Google image).

4.2.1. Principe de l'EAM :

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques, possédant un champ électrique et magnétique perpendiculaires l'un par rapport à l'autre, qui se propagent dans le vide avec des fréquences situées entre 300 MHz et 300 GHz. Néanmoins, dans le but d'éviter des interférences avec les radiocommunications et les radars, les micro-ondes domestiques et industrielles sont généralement utilisées à une fréquence de 2.45 GHz (Sharma *et al.*, 2008). Les micro-ondes sont positionnées sur le spectre électromagnétique entre les infra-rouges et les radiofréquences, avec des valeurs de longueurs d'ondes comprises entre 1 m et 1 cm (Jones, W.P et Kinghorn, A.D. 2006).

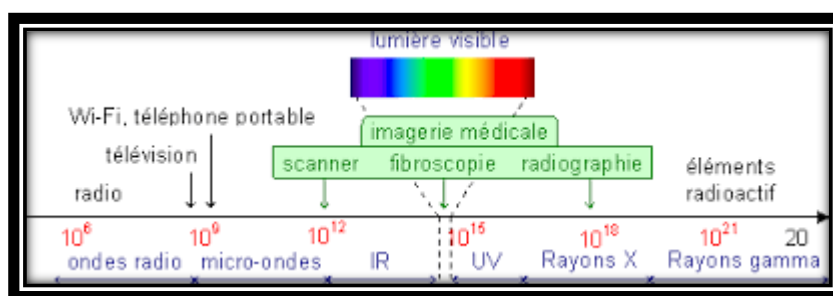


Figure 06 : Représentation du spectre électromagnétique et positionnement des micro-ondes domestiques.

(Jones, W.P et Kinghorn, A.D. 2006).

4.2.2. Avantages de l'EAM :

- Meilleur rendement d'extraction.
- Augmente la pureté de l'extrait,
- Rapidité de l'extraction,
- Utilisation d'une très faible énergie,
- Réduit la dégradation par la chaleur,
- Consommation de faibles quantités de solvant,
- Réduit les coûts du procédé.

L'extraction assistée par micro-ondes a été utilisée selon plusieurs procédés (par solvants, entraînement à l'air, hydrodistillation sous pression réduite, sans solvants...) pour extraire une variété de métabolites secondaires (Ferhat *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2013; Leone *et al.*, 2014; Dahmoune *et al.*, 2015).

II. Matériel & méthodes



II.1. Matériel végétale

La plante *Satureja calamintha* a été récoltée durant le mois de juin au stade floraison de la région de Maadid ; Wilaya de M'sila qui se situe à 35° 52' (35,8667°) latitude Nord et 4° 44' (4,7333°) longitude Est, avec une altitude d'environ 1400 mètres. La partie aérienne est nettoyée, séchée à l'ombre et à température ambiante puis stockée à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 07 : Situation géographique de la région de récolte de *Satureja calamintha* (Google Maps).

II.2. Préparation des extraits :

2.1. Préparation de de l'extrait aqueux par décoction (EDéc) :

1 g de la partie aérienne de *S. calamintha* a été mise à bouillir dans (10 ml ou 75 ml) d'eau distillée respectivement pendant 20 min. Après filtration, les extraits récupérés sont soumis à une centrifugation. Les solutions obtenues sont filtré sous vide et séchée dans l'étuve à 60°C pour l'obtention d'une poudre qui sera conservée à -32°C (Ljubuncic *et al.*, 2005).

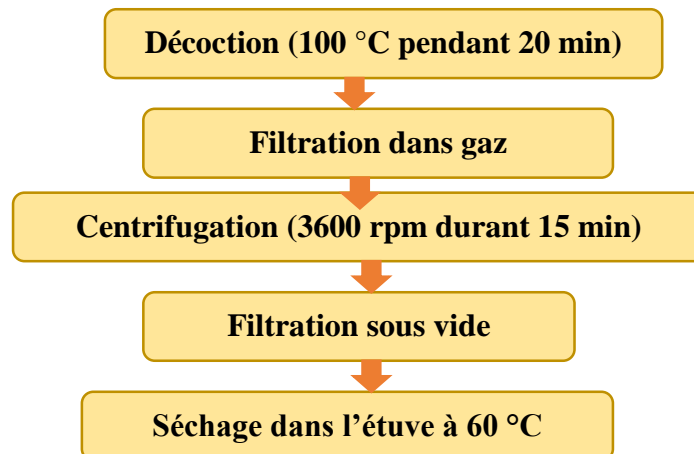


Figure 08 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux par décoction.

2.2. Préparation de l'extrait aqueux aux micro-ondes (EMO) :

L'extraction consiste à prendre 1 g de la partie aérienne de *S. calamintha* dans 75 ml d'eau distillée et mettre la solution dans un four à micro-ondes pendant 2 minutes ou 4 minutes (le temps d'irradiation) avec une puissance de 800 Watts. Après filtration, l'extrait obtenu est soumis à une centrifugation. La solution récupérée est filtrée sous vide et séchée dans l'étuve à 60° C pendant 24 heures pour l'obtention d'une poudre qui sera conservée à – 32 °C (Mouhobi *et al.*, 2019).

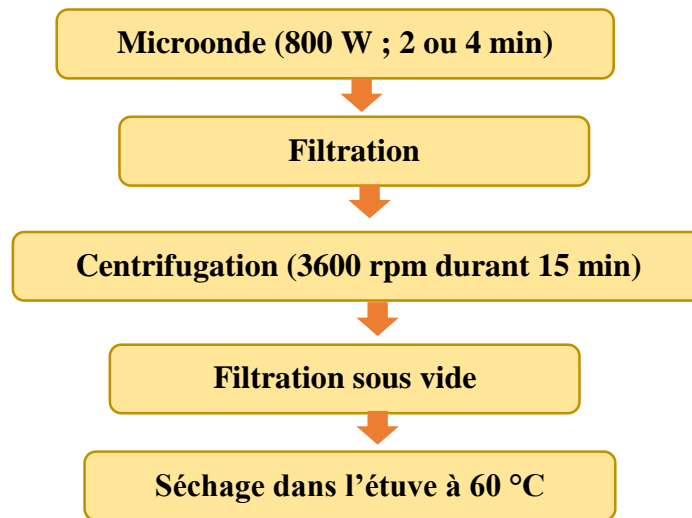


Figure 09 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux par microonde.

II.3. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de métabolites secondaires des plantes par des réactions qualitatives de caractérisation (Bentabet et Boucherit-Otmani, 2014). Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés (Bouterafas *et al.*, 2014).

3.1. Test des flavonoïdes : Quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium sont ajoutés à 0,5 ml de chaque extrait. La coloration rose –rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes (Hadouchi *et al.*, 2016).

3.2. Test des tanins : Quelques gouttes de FeCl₃ (1%) sont ajoutées à l'extrait. L'apparition de la coloration verdâtre indique la présence des tanins cathéchiques ou bleu noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (Hadouchi *et al.*, 2016).

3.3. Test des quinones : Quelques gouttes de NaOH (10%) sont ajoutées à 1ml d'extrait, l'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge orangé ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

3.4. Test des anthraquinones : 2 ml de KOH (10%) est ajouté à 1 ml de l'extrait. Une coloration vire au rouge indique la présence des anthraquinones (Oloyede, 2005).

3.5. Test des terpénoïdes : 5 ml d'extrait est mélangé avec 2 ml de chloroforme, puis 2 ml de H₂SO₄ concentré a été ajouté. L'apparition d'une interphase entre deux phases indique la présence des terpénoïdes (Edeoga *et al.*, 2005).

3.6. Test des composés réducteurs : 1 ml de l'extrait est traité avec quelque gouttes de la liqueur de Fehling (avec chauffage). Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Bouterafas *et al.*, 2014).

II.4. Dosage chimique :

4.1. Dosage de polyphénols totaux :

Principe :

La méthode est fondée sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif Folin-ciocalteu, qui est un mélange de complexe d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents (Hdouchi *et al.* 2016).

Mode opératoire :

100 µl de l'extrait (EDéc /EMO) est mélangé avec 500 µl du réactif de Folin-ciocalteu (10 %), après 04 min ,400 µl de carbonate de sodium (7,5 %) est ajouté, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 02 heures. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en µg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG /mg d'extrait) (Hdouchi *et al.* 2016).

4.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Principe :

Les flavonoïdes contenus dans les extraits aqueux (EDéc / EMO) sont estimés par la méthode de chlorure d'aluminium (AlCl_3). Elle est basée sur la formation d'un complexe Flavonoïdes-aluminium. La quantification des flavonoïdes a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée par un standard (la quercétine) à différentes concentration (5-40 $\mu\text{g/ml}$) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en μg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait) (Talbi *et al.*, 2015).

Mode opératoire :

1 ml d' AlCl_3 (2 %) est ajouté à 1 ml de l'échantillon contenant différentes concentration. Le mélange est laissé réagir pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture est faite à 430 nm (Talbi *et al.*, 2015).

II.5. Activité biologique :

5.1. L'activité antioxydante :

5.1.1. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode du DPPH :

Principe :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre stable utilisé pour étudier l'activité antioxydante des composés phénoliques, il possède un électron non apparié sur un atome d'azote du pont N-N. En présence des composés antiradicalaire, le radical DPPH est réduit et change sa couleur du violet au jaune. L'absorbance est mesuré à 517 nm (Bentabet *et al.*, 2014).

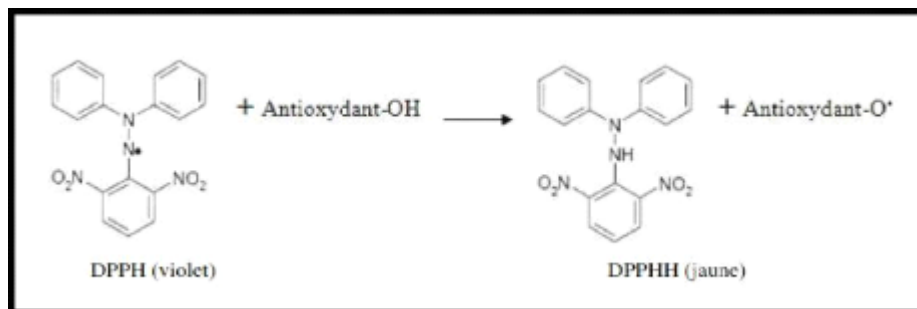


Figure 10 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Hdouchi *et al.* 2016).

Mode opératoire :

500 µl de solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) est ajoutée à 1500 µl de la solution aqueux d'extrait (EDéc, EMO), le mélange est agité vigoureusement, les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. Le témoin négatif est composé de 500 µl de la solution méthanolique de DPPH et 1500 µl du méthanol. Le témoin positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard : le BHT. La lecture est effectuée à une longueur d'onde d'absorption maximale de 517 nm. (Li *et al.*,2009). L'activité antiradicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) * 100$$

Abs contrôle : absorbance du contrôle ou du témoin négatif à 517 nm.

Abs échantillon : absorbance d'échantillon à 517 nm.

Les résultats sont la moyenne de trois mesures \pm écart type.

La concentration inhibitrice 50 % (*The half maximal inhibitory concentration*, IC₅₀) a été déterminée pour le BHT et les deux extraits, elle est définie comme étant la concentration d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre à 50 % (Que *et al.*,2006).

5.1.2. La capacité antioxydante totale

Principe :

La capacité antioxydante totale (*Total Antioxidant Activity*, TAC) des extraits est évaluée par la méthode de Phosphomolybdène, qui est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI), présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄²⁻, à molybdène Mo (V) MoO²⁺. La présence de molécules antioxydantes dans l'extrait entraîne la formation d'un complexe vert de phosphate /Mo (V) à pH acide (Vladimir-Knežević *et al.*, 2014).

Mode opératoire :

100 µl d'extrait (E Déc /E MO) est combiné avec 900 µl de réactif (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM sodium phosphate et 04 mM de molybdate d'ammonium). Les tubes sont incubés à 95C° pendant 90 minutes. On laisse reposer pendant 06 minutes à température ambiante, puis on mesure l'absorbance à 695 nm contre le blanc qui contient 900 µl de la solution du réactif et 100 µl d'eau distillée. La capacité antioxydante totale est exprimée en

microgramme équivalents d'acide ascorbique par milligramme d'extrait (μg EAA/mg d'extrait) (Prieto *et al.*, 1999).

5.2. L'activité antibactérienne :

Les souches utilisées pour tester l'activité antibactérienne des extraits du *S. calamintha* sont des souches de références du laboratoire pédagogique de microbiologie dans notre département ; il s'agit de : une bactérie à Gram $^-$ « *Escherichia coli* ATCC 8739 » et une bactérie à Gram $^+$ « *Bacillus subtilus* ATCC 6633 ».

5.2.1. Repiquage et enrichissement :

Les souches bactérienne ont été repiquées 02 fois successives dans le bouillon nutritive et incubées à 37 °C pendant 24h .Chaque souche a été isolée par la méthode des stries dans la gélose nutritive et incubée à 37°C pendant 24h. Une ou plusieurs colonies identiques sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique stérile afin d'avoir une densité optique de la suspension bactérienne entre 0,08 et 0,1 à 620 nm (Barchan *et al.*, 2016).

5.2.2. Technique de diffusion des disques :

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits aqueux, nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques ,10 ml de milieu Muller Hinton est coulé dans les boîtes de Pétri stériles. Après solidification du milieu, un prélèvement d'inoculum sert à ensemercer dans les boites par la technique d'inondation. Des disques de 06 mm de diamètre sont réalisés ensuite remplis par 50 μl de l de l'extrait (150 mg/ml, 300 mg/ml) à tester, l'eau distille comme contrôle négative. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 h. L'activité antibactérienne des extraits est révélée par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques. Les résultats sont exprimés selon la moyenne des valeurs obtenues des diamètres de la zone d'inhibition en millimètre \pm l'écart type (Barchan *et al.*, 2016).

5.2.3. La coloration de Gram : Une coloration a été réalisée afin de vérifier la forme et le genre de chaque souche (Barchan *et al.*, 2016).

5.2.4. L'antibiogramme :

Pour détecter la sensibilité des souches bactériennes utilisées dans notre expérience, nous avons testé 04 antibiotiques synthétiques qui sont : Ampicilline, Trimethoprim, Oxacilline et Amoxicilline par la méthode de diffusion dans la gélose.

II.6. Etude statistique :

L'analyse statistique a été réalisée en utilisant le logiciel **Graph Pad Prism V 5.00**. Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm l'écart type ($n = 03$ pour toutes les expériences). Les comparaisons statistiques sont faites au moyen du test de *Student* et la valeur $p < 0,05$ est considérée comme significative. Les comparaisons multiples sont effectuées en utilisant l'analyse de la variance à sens unique (Anova one way), suivi du test de *Tukey*. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives au seuil de 0,05.

III. RESULTATS

III.1. Rendement de l'extraction de *S. calamintha*

La préparation des extraits à partir de la partie aérienne (feuilles et fleurs) de *S. calamintha* a été effectuée par deux méthodes différentes, la décoction et au four micro-ondes. Cette opération a permis d'obtenir deux extraits bruts : EDéc et EMO.

Le rendement est exprimé en pourcentage de la masse de l'extrait sec par rapport à la masse de la plante fraîche : $R \% = M/M_0 * 100$

R % : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

L'ensemble des résultats des expériences préliminaires du rendement d'extraction sont représentés dans le tableau A / Annexe 02.

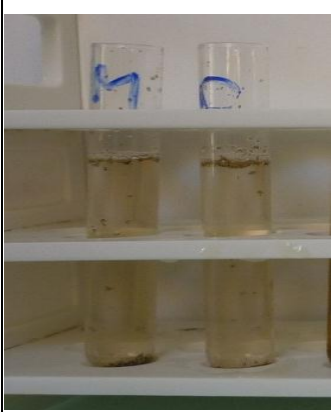
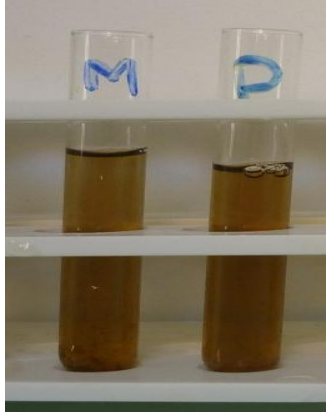

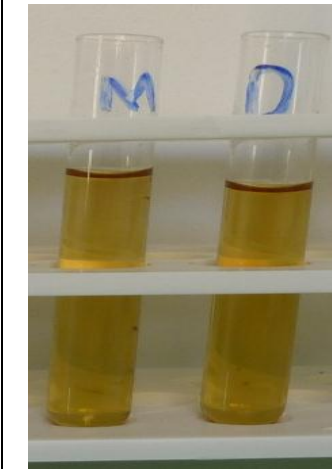
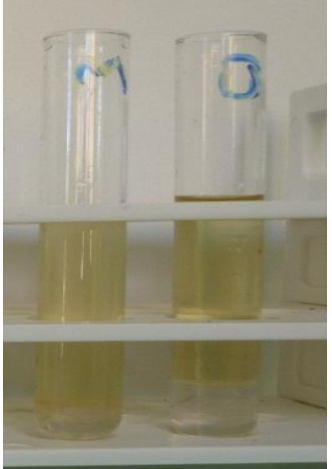
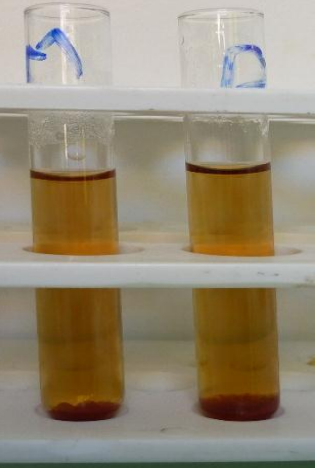
III.2. Caractérisation phytochimique (screening phytochimique)

Tableau 02 : Résultats des tests phytochimiques.

Les principes actifs	EDéc	EMO	Coloration
Flavonoïdes	+	+	Vire au jaune
Quinones	++	+++	Orange
Anthraquinones	-	-	/
Tanins	++	++	Vert
Terpénoides	+++	++	Interphase marron
Sucres réducteurs	++	+++	Précipité rouge brique

+++ : Présence forte, ++ : présence moyenne, + présence faible, - : absence.

Tableau 03 : Résultats complémentaires des tests phytochimiques.

		
Test des flavonoïdes	Test des Tanins	Test des quinones
		
Test des anthraquinones	Test des terpénoides	Test des sucres réducteurs

III.3. Composition chimique (dosage)

3.1. Dosage de polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont déterminés par la méthode de Folin-ciocalteu .Les résultats sont obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Figure A/ Annexe 03**) ; selon l'équation :

$$Y = 0,0107x + 0,0109 \text{ avec } R^2 = 0,9982$$

La teneur en polyphénols totaux est rapportée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait de *S. calamintha* ($\mu\text{g EAC}/\text{mg}$ d'extrait).

Les résultats préliminaires de la teneur en polyphénols sont représentés dans le tableau B / Annexe 02. Ce paramètre est pris comme critère de choix pour la suite de l'étude.

Les résultats avec les conditions de travail choisies sont indiqués dans le tableau 04.

Tableau 04 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits décoction aqueux (EDéc et EMO).

Extrait	[C] des polyphénols ($\mu\text{g EAC}/\text{mg}$ d'extrait)
EDéc	160,39 \pm 6,12
EMO	128,14 \pm 34,77

Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions \pm écart type.

L'analyse statistique des résultats de la teneur en polyphénols totaux des deux extraits aqueux de *S. calamintha* montre une teneur significativement plus importante dans l'EDéc par rapport à l'EMO (**Figure 11**).

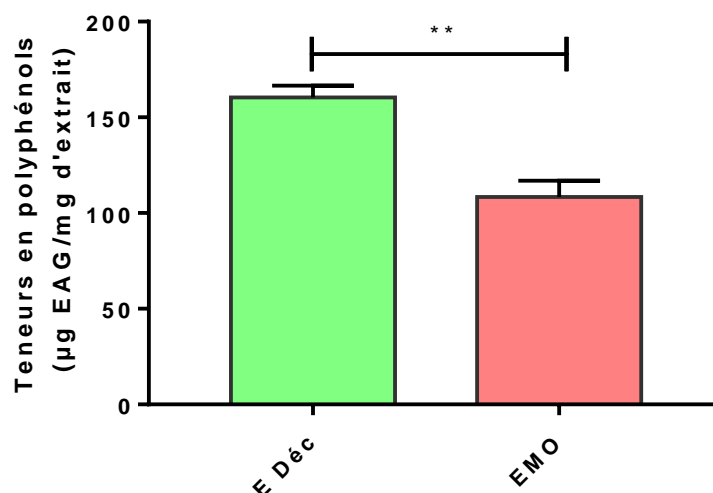


Figure 11 : Teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO), ** correspond à une différence significative ($p < 0,05$).

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Le dosage des flavonoïdes est réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Les résultats obtenus sont déterminés à partir d'une courbe d'étalonnage (**Figure B/ Annexe 03**) :

$$Y = 0,0377x \text{ avec } R^2 = 0,9991$$

La teneur en flavonoïdes totaux est rapportée en microgramme équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$).

Les résultats préliminaires de la teneur en flavonoïdes sont représentés dans le tableau C/ Annexe 02. Les résultats avec les conditions de travail choisies sont indiqués dans le tableau 05.

Tableau 05 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO).

Extrait	[C] des flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$)
EDéc	$14,26 \pm 1,05$
EMO	$13,24 \pm 2,799$

Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions \pm écart type.

La teneur en flavonoïdes totaux est comparable dans les deux extraits bruts (EDéc et EMO) de *S. calamintha* (**Figure 12**).

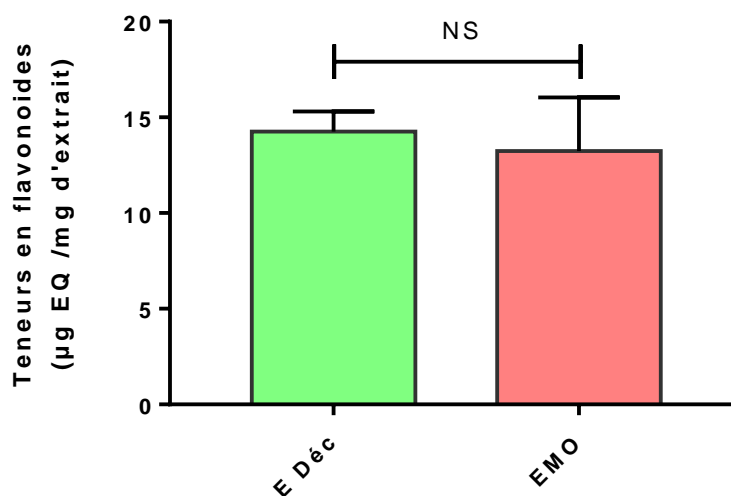


Figure 12 : Teneur en flavonoïdes totaux des extraits aqueux (EDéc et EMO). NS correspond à une différence non significative ($p < 0,05$).

III.4. Activités biologiques des extraits bruts

4.1. L'activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir antioxydant des extraits aqueux de la plante a été réalisée par deux techniques différentes : la capacité antioxydante totale (TAC) et le piégeage du radicale libre DPPH.

4.1.1. La méthode de piégeage du radicale libre DPPH

La présence des piègeurs de radicaux libres permet de réduire le DPPH de couleur violette en DPPH (2,2 Diphényl-1-picryl hydrazine) de couleur jaune.

Détermination d'IC₅₀

L'IC₅₀ du BHT et des deux extraits aqueux (EDéc et EMO) est déterminée à partir de la partie linéaire de la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration.

Tableau 06 : Valeurs d'IC₅₀ du BHT et des extraits bruts de *S. calamintha*.

Extraits	BHT	EDéc	EMO
IC ₅₀ (µg/ml)	22,25±1,24	24,77±0,76	23,07±0,18

Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions ± écart type.

IC₅₀ de EDéc est significativement élevée par rapport à celui du BHT. Alors que EMO ne montre aucune différence significative (**Figure 13**).

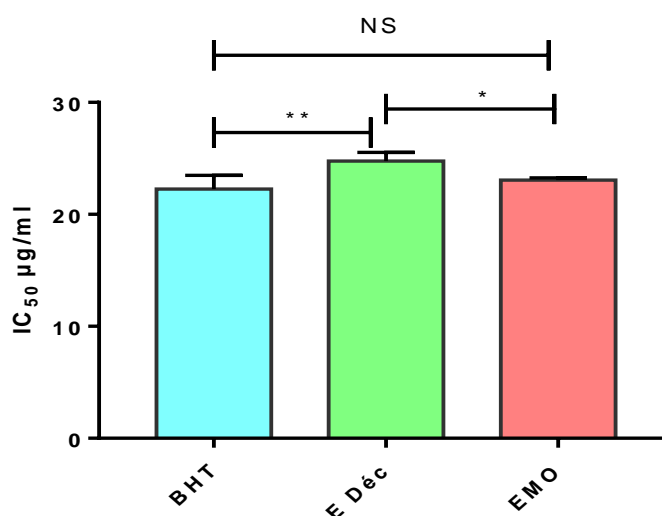


Figure 13 : IC₅₀ des extraits aqueux de *S. calamintha* (EDéc et EMO) et le BHT. (*) Correspond à une différence significative entre les deux extraits (p< 0,05).

4.1.2. Capacité antioxydant totale (*Total antioxidant capacity, TAC*)

La capacité antioxydante totale des extraits est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique dont l'équation est la suivante (**Figure E/ Annexe 03**) :

$$Y = 0,0079x \text{ avec } R^2 = 0,9982$$

Nous avons déterminé la TAC des extraits bruts EDéc et EMO ; les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 07.

Tableau 07 : La capacité antioxydante totale des extraits bruts (décoction et micro-onde) de *S. calamintha*.

Extrait	La capacité antioxydante totale [$\mu\text{g EAA/mg d'extract}$]
EDéc	84,64 \pm 0,72
EMO	80,41 \pm 19,13

Les valeurs sont la moyenne de trois répétitions \pm écart type.

Les deux extraits bruts de *S. calamintha* montre une TAC comparable (**Figure14**).

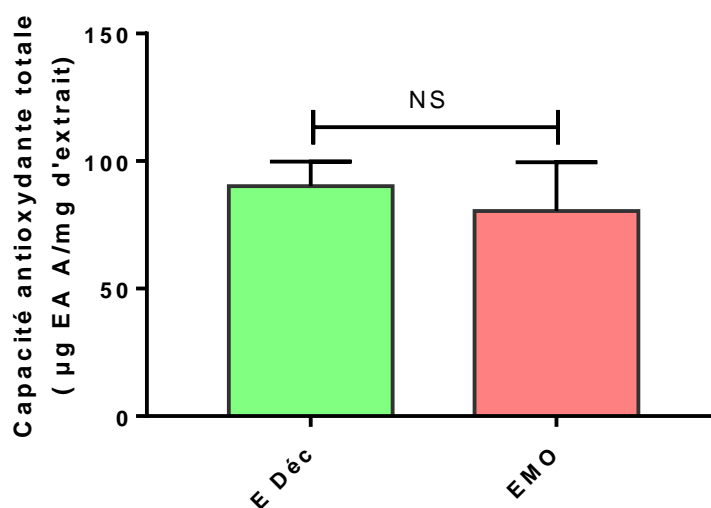


Figure 14 : Capacité antioxydante totale des extraits de *S. calamintha* (EDéc et EMO), (NS) correspond à une différence non significative entre les deux extraits (p< 0,05).

4.2. L'activité antibactérienne

4.2.1. Coloration de Gram

Les résultats de la coloration de Gram des deux souches bactériennes de référence permettent de déterminer la forme et la nature de chaque bactérie (**tableau 08**). Cette coloration est réalisée dans un but de confirmer l'absence de contamination sur nos cultures.

Tableau 08 : Gram et forme des souches bactérienne étudiées.

Les souches	Gram (+/-)	La forme
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	Bacille
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram+	Bacille en forme de bâtonnet

4.2.2. Le test antibactérien

L'activité antibactérienne des extraits du *S.calamintha* est testée vis-à-vis de deux souches bactériennes par la méthode de diffusion de disques. Les résultats sont présentés dans le tableau 09 et les figures 15 et 16.

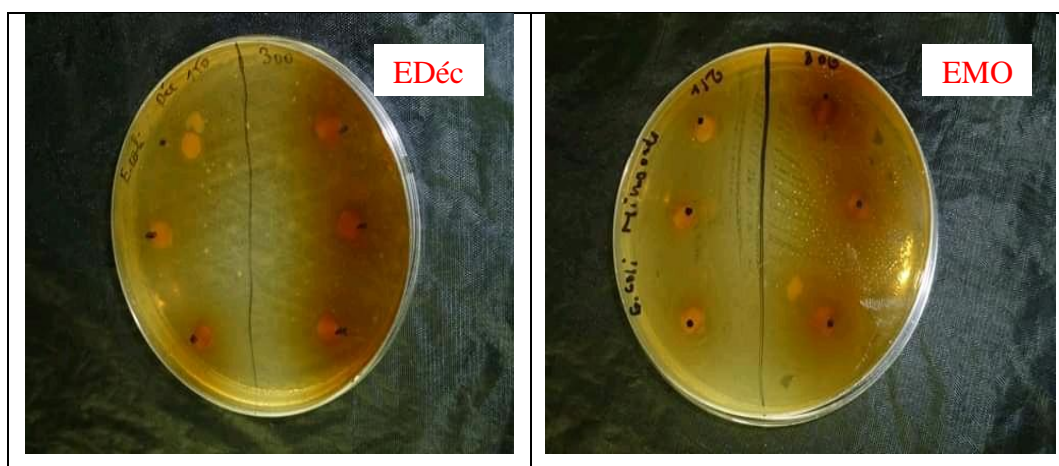


Figure 15 : Les zones d'inhibition de la croissance d'*Escherichia coli* induites par les extraits EDéc et EMO de *S.calamintha*.

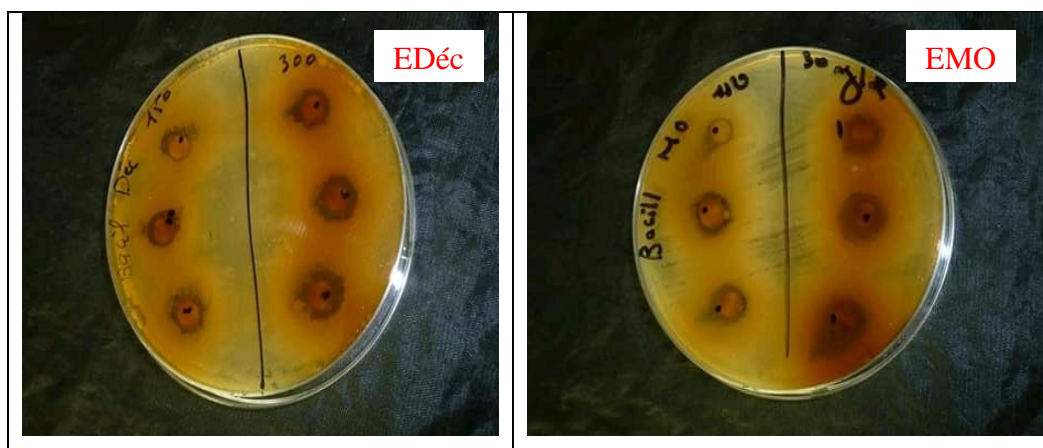


Figure 16 : Les zones d’inhibition de la croissance de *Bacillus subtilis* induites par les extraits EDéc et EMO de *S.calamintha*.

Tableau 09 : Les diamètres des zones d’inhibition (mm).

		Diamètre des zones d’inhibition (mm).			
		EDéc		EMO	
Extrait	Contrôle négatif	150 mg/ml	300 mg/ml	150 mg/ml	300 mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	0	2,44±1,71	7,33±0,66	3,22±1,47	6,22±0,83

4.2.3. L’antibiogramme

Afin de vérifier la résistance des souches bactériennes utilisées dans notre expérience, nous avons testé 04 antibiotiques dans les mêmes conditions que les extraits. Les résultats des zones d’inhibition sont présentés dans la figure A et le tableau B / Annexe 04.

IV. Discussion

IV.1.Extraction par décoction et aux microondes :

L'extrait aqueux de la sarriette des monts de Maadid (région de Hodna) obtenu par extraction aux microondes donne un rendement de $21,83 \pm 0,7$ %, qui est supérieur à l'extrait obtenu par décoction $17,5 \pm 0,5$ %. Ce résultat montre que l'extraction aux micro-ondes permet d'améliorer la quantité de l'extrait sec.

L'extraction par décoction de *S. calamintha* montre un rendement comparable à celui précédemment obtenu dans notre laboratoire par **Bounab et Dehim (2017)** sur une autre espèce de la région, *S. Montana* (18,70 %). Cependant, il est plus faible par rapport à celui obtenu par **Bougandora et Bendimerd (2013)** sur *S. calamintha* (22,19 %). Ceci pourrait être dû à la différence des techniques d'extractions utilisées qui affectent le taux total en polyphénols et en flavonoïdes. D'autres facteurs comme le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans ce procédé d'extraction (**Lee et al., 2003**).

IV .2. Caractérisation phytochimique :

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les deux extraits préparés à partir de la partie aérienne de *S. calamintha* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de *S. calamintha*. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité ainsi que le changement de couleur spécifique pour chaque réaction (**Bentabet et al., 2014**).

Les résultats des tests réalisés sur les deux extraits bruts de *S. calamintha* montrent la présence des flavonoïdes, quinones, terpénoïdes et sucres réducteurs mais l'absence des anthraquinones (**Tableau 02**). Ces résultats sont comparables à ceux obtenu par **Bounab et Dehim, (2017)** pour l'espèce *S. montana* de la même région.

La présence en abondance des tanins et des flavonoïdes confère à cette plante des propriétés biologiques très importantes. Les tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquences de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides. Ils ont aussi la propriété de tanner la peau par création de liaisons entre

les molécules de tannins et les fibres de collagène (**Smythies, 1998**). Ces tanins permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Iserin, 2001**).

Les flavonoïdes constituent un groupe de substances très importantes qui présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés antioxydante, antivirale, antibactérienne, tinctoriale, les prédestinent à des utilisations dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques (**Pietta, 2000**).

Des travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *S.calamintha* (**Bougandoura, 2011**) (région de Tlemcen) sont en accord avec nos résultats sauf en ce qui concerne les sucres réducteurs qui sont présents en abondance dans notre extrait.

IV.3. Les dosages chimiques :

3.1. Dosage des polyphénols :

Les polyphénols sont des composés fortement hydroxyles que l'on retrouve dans diverses fractions d'extraits végétaux. Ils ont la capacité d'absorber les radicaux libres dans les systèmes biologiques. Ce qui en fait de potentiels agents antioxydants (**Hagerman et al., 1998**).

L'analyse quantitative des extraits bruts de *S. calamintha* a été effectuée par des méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV- visible par la méthode de Folin-Ciocalteu dont le but est la détermination des quantités en polyphénols présentes dans chaque extrait. La méthode de Folin-Ciocalteu était choisie pour doser les polyphénols parce qu'elle satisfait aux critères de faisabilité et reproductibilité, la disponibilité du réactif de Folin et elle est bien standardisée. Par ailleurs, la grande longueur d'onde d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent coloré (**Huang et al., 2005**).

Nos résultats révèlent que les deux extraits bruts sont riches en polyphénols, avec un taux de $160,39 \pm 6,12 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait pour EDéc, qui est relativement supérieure à celui de l'extrait EMO ($128,14 \pm 34,77 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait) (**Tableau 04**). **Bougandoura et Bendimerd (2013)** ont montré une teneur en polyphénols totaux très faible ($12,6 \pm 0,78 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait) sur l'extrait aqueux de la même espèce *S.calamintha* récoltée dans la région de Tlemcen. En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturales, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) ; cette composition varie d'une espèce à une autre et parfois au sein d'une même espèce (**Podsdek, 2007**).

3.2. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Les résultats des extraits aqueux de la partie aérienne de *S. calamintha* montrent que la teneur en flavonoïdes totaux de EDéc ($14,26 \pm 1,05 \mu\text{g EQ/mg d'extract}$) est similaire à leur teneur dans EMO ($13,24 \pm 2,799 \mu\text{g EQ/mg d'extract}$) (**Tableau05**). Selon **Bounab et Dehim, (2017)**, la teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux de *S.montana* ($33,57 \pm 1,63\mu\text{gEQ/mg d'extract}$) est nettement supérieure. Cette déférence pourrait être due à plusieurs facteurs tels que le rapport quantité de matière au volume du solvant. La comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux entre les deux méthodes d'extraction montrent qu'il n'y a pas de déférence sur la même espèce entre la décoction et l'extraction aux micro-ondes.

IV.4. Activité biologique *in vitro* :

4.1. L'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante a été mise en évidence par l'utilisation de deux méthodes différentes mais complémentaires, à savoir : le test du DPPH et la capacité antioxydant totale (TAC).

4.1.1. Test du DPPH :

Les résultats de l'action antiradicalaire des extraits de *S.calamintha* montrent que l'extrait microondes est significativement ($p<0,05$) plus actif, avec une IC_{50} de l'ordre de $23,07 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$ par rapport à l'extrait décoction qui présente une IC_{50} de $24,77 \pm 0,76 \mu\text{g/ml}$. Nos extraits sont légèrement moins actifs que le BHT (IC_{50} de $22,25 \pm 1,24 \mu\text{g/ml}$) (**Tableau 07**).

La différence de l'action antiradicalaire entre les deux extraits peut être liée à la variété des classes des polyphénols qui peuvent avoir des activités antioxydantes différentes. Les résultats du test de piégeage du radical libre DPPH montrent que les deux extraits de *S.calamintha* contiennent des molécules antioxydantes, telles que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins, qui ont la capacité de céder l'hydrogène et par conséquent réduisent et décolorent le DPPH. C'est un phénomène de transfert de (s) électron (s) célibataire (s) qui sont localisés dans l'orbitale externe du DPPH ; la molécule antioxydante va réagir complètement avec le radical, et quand nous augmentons la concentration, l'activité antioxydante reste constante à cause de la saturation des couches électroniques du radicale (**Ghedadbaet al., 2014**).

En comparaison avec la BHT (une molécule antioxydante pure), les extraits bruts ne sont pas formés d'une seule molécule mais de plusieurs dizaines de composés à des concentrations variables (Talbi *et al.*, 2015).

4.1.2. Capacité antioxydante totale

La détermination de la capacité antioxydante totale des deux extraits a été faite par la méthode de Phosphomolybdène. Les résultats obtenus montrent que les deux extraits aqueux (EDéc et EMO) de *S.calamintha* possèdent des capacités antioxydantes similaires : $84,64 \pm 0,72$ et $80,41 \pm 19,13$ $\mu\text{g EAA/mg d'extract}$ (Tableau 07).

Ce résultat confirme que les extraits de *S.calamintha* possèdent des composés réducteurs. En effet, la formation d'un complexe vert de phosphate /Mo (V) à pH acide indique la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo (V) MoO^{2+} . Ce pouvoir antioxydant observé dans les deux extraits peut être due essentiellement à la présence de polyphénols dans les extraits, particulièrement les flavonoïdes (Vladimir-Knezevic *et al.*, 2014).

4.2. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits aqueux (EDéc et EMO) de *S.calamintha* a été évaluée vis-à-vis de deux souches bactériennes de référence, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilus*, par la méthode de diffusion des disques. La détermination des diamètres de la zone d'inhibition est faite autour des disques contenant les extraits testés à deux concentrations : 150 et 300 mg/ml.

Nos résultats montrent que les deux extraits ne sont pas actifs et ne présentent aucune zone d'inhibition sur la souche *Escherichia coli*. Cependant, les diamètres des zones d'inhibition induits par les deux extraits montrent une certaine activité antibactérienne vis-à-vis de *Bacillus subtilus* qui est comparable à celle observée dans l'antibiogramme sous l'action de l'oxacilline (4 mm) et de l'amoxicilline (7 mm) (Tableau 08).

Selon (Ponce *et al.*, 2003), il y a un lien étroit entre l'étendu du diamètre d'inhibition (d) et la sensibilité de la souche bactérienne. En effet elle considérée comme : i) Non sensible (-) ou résistante si $d < 8$ mm, ii) Sensible (+) si d est compris entre 9 à 14 mm, iii) Très sensible (++) si d est compris entre 15 à 19 mm. iiiii) Extrêmement sensible (+++) lorsque $d > 20$ mm.

Les extraits aqueux de *S. calamintha* n'ont pas fait l'objet de beaucoup d'études auparavant en ce qui concerne l'activité antibactérienne. Cependant, une étude réalisée avec les huiles essentielles de *S. calamintha* montre l'absence d'effet sur *Escherichia coli* (**Arab et al., 2014**). Ce qui est en concordance avec l'absence d'action de l'extrait aqueux de *S. calamintha* sur la même souche, observée dans notre étude.

L'effet antimicrobien décrit chez les plantes médicinales est étroitement influencé par leur teneur en composés phénoliques, alcaloïdes, terpénoïdes et stéroïdes, qui provoquent des altérations membranaires, mais aussi l'inhibition de la synthèse d'ARN et d'ADN (**Clérivet et al., 1996**).

Conclusion

L'exploration de nouvelles ressources naturelles à partir du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques.

L'espèce *Satureja calamintha* appartient à la famille des lamiacées, une des familles les plus importantes dans la flore algérienne et parmi celles les plus utilisées en médecine traditionnels. Notre étude a permis de mettre en évidence à travers un criblage phytochimique la présence des tanins, des flavonoïdes et des triterpènes.

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes sur les extraits aqueux obtenus par deux procédés différents a révélé une teneur importante dans l'espèce *S. calamintha*.

Nos résultats montrent que les deux extraits sont dotés d'une activité antiradicalaire considérable et une activité antioxydante totale satisfaisante, ce qui est en parfaite concordance avec leur grande teneur en polyphénols.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien par la méthode de diffusion de disque, nos résultats montrent que les deux extraits aqueux de *S. calamintha* ne possèdent aucun effet sur la croissance de bactérie Gram + : *Bacillus subtilus* et de bactérie Gram - : *E. Coli*.

L'espèce *S. calamintha* est riche en métabolites secondaires, une exploitation de leurs propriétés antioxydante et antibactérienne implique une recherche plus poussée sur ses principes actifs.

Notre étude montre que les deux méthodes d'extraction (décoction et microonde) appliquées sur *S. calamintha* donnent des extraits aqueux comparables de par leur composition et leurs activités biologiques.

Références bibliographiques

Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K., (2014). Etude physico-chimique et évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la sarriette des montagnes vis-à-vis des bactéries isolées des infections urinaires. *Revue agriculture*, 07 : 12-19 .

Baba Aissa, F., (2000). Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed Librairie moderne-Rouïba, 46p.

Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., Laglaoui, A., (2016). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *phytothérapie*, 14(2) :88-96.

Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., (2014). Composition chimiques et activité antioxydante d'extrait organique des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Bechar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6): 364-371. **Brantner, A.H., (2014).** Acetylcholine esterase Inhibitory, Antioxydante and Phytochemical properties of Selected Medicinal plants of the Lamiaceae Family. *Molecules*, 19:767-782.

Bougandoura, N., Bendimerad, N., (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*. 09:14-19. Higher Antioxidant Capacity than teas and Red Wine. *J. Agric. Food. Chem.* 51: 7292-7295.

Bounab, S., Dehim, S., (2017). Etude phytochimique et évaluation de l'activité in vitro des extraits bruts de la sarriette des monts de Maadid (région de Hodna). Mémoire de Master .Université Mohamed Boudiaf- M'sila.

Bouterfas, K., Chenafa, A., Achori, M., Aoued , L., (2014). Activite antioxydante et antibacterienne des feuilles de *vitis vinifera* L .

Brantner, A.H., (2014). Acetylcholine esterase Inhibitory, Antioxydante and Phytochemical properties of Selected Medicinal plants of the Lamiaceae Family. *Molecules*, 19:767-782.

Cantino, PD., Harley, R M., Wagstaff, S., (1992). Genera of Labiatae: Status and Classification. In R.M. Harley & T. Reynolds (Eds.), *Advances in Labiatae Science*. Kew : Royal Botanical Garden, P : 511–522.

Référence bibliographique

Carange, J., (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassins stéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection. Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières.

Clérivet, A., Alami, I., Breton, F., Garcia, D et Sanier, C., (1996). Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Botanica Gallica*, 134(6): 531-538.

Dasgupta, N., De, B., (2007). Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: a Comparative study. *Food Chem.* 101:471 – 474.

Edeoga, H.O., Okwu, D.E. Mbaebie, B.O., (2005). Phytochemical Constituents of some Nigerian medicinal plants. *African. Journal of Biotechnology.* 4 (7), 685-688

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus*L. Organes, and their biological activities. *ComptesRendusBiologies*, 331, 372-379.

Favier, A., (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique.* 108-117.

Favier, A., (2006). Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annales of Pharmacotherapy SAGE Journal*, Vol 64, pp. 390-396.

Ferhat, M.A., Meklati, B. Y., Chemat, F., (2010) Citrus d'Algérie, Les Huiles Essentielles et leurs Procédés d'Extractions. O.P.U. Algérie.

Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benia, S., Mouloud, Y., (2014). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1) :15-24.

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.

Hadouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Référence bibliographique

Hagerman, A., Riedl, K., Jones, G., Sovik, K., Ritchard, N., Hartzfeld, P., Huang, D., Ou, B., Prior, R., (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. agric. food Chem.* 53(6): 1841-1856.

Handa, S., (2008). An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology.

.Huang, D., Ou, B., Prior, R., (2005). The chemistry behind Antioxidant capacity assays. *J. Agrc. Food. chem.* 53:1841-1856.

Iserin, P., (2001). Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparation, soin. Ed Larousse. P : 267.

Jadot, G., (1994). Antioxydante et vieillissement, John Libbey Eurotext, Paris, 300 P.

Jones, W.P., and Kinghorn, A.D., (2006) Extraction of plant secondary metabolites. In *Natural Products Isolation*, Humana Press, 2ème éd. Totowa, pp. 323-351. Trieste, Italy. p 21-54.

Judd, W., Campbell, C., Kellogg E.A, Stevens P.F., (2002). Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. 1ère Edition De Boeck Université. Paris, 383.

Mouhobi, K., Bolekbache, L., Madani, K. (2019). Optimization of Microwave-Assisted Extraction of phenolic compounds from Coriander. *Laboratory of Biomathematics, Biochemistry, Biophysics and Scientometrics, Abderrahmane Mira University of Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria.*

Labioud, R., (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat. Université de Badji Mokhtar, Annaba. 115p.

Ladoh Yemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., Djembissi Talla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo Mpondo, E., Yinyang, J. et Wansi, J.D., (2014). Activité antioxydante des extraits méthanolique de *Phragmanthera capitata (Loranthaceae)* récoltée sur *Citrus sinensis*. *J. Appl Biosci*, 84:7636– 7643.

Laurent, B., (2012). Initiation à la botanique et découverte des petits secrets du monde vert Interactions végétales Conservation du jardin botanique de la ville Paris science végétale .

Lee, K., Kim, Y., Lee, H., Lee, C., (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxydante capacity than teas and Red Wine. *J. Agric. Food. Chem.* 51: 7292-7295.

Référence bibliographique

Li, H., Hao, Z., Wang, X., Haung, L., Li, J., (2009). Antioxidant activities of extracts and fractions from *Lysimachia foenum-graecum* Hance. *Biores. Techn.*100:970-974.

Ljubuncic, P., Song, H., Cogan, U., Azaizeh, H and Bomzon, A., (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 198-204.

Marouf, A., Reynaud, J., (2007). *LABotanique de A à Z*. Paris, Dunod, 352p.

Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Smolčić-Bubalo, A., and Mornar, A., (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica chemica acta*, 77(1-2), 361-366.

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. Revu.* 3:173-193.

Mouhobi, K., Bolekbache-Makhlofi, L., Cardoso, S and Madani, K., (2019). Optimization of Microwave-Assisted Extraction of phenolic compounds from Coriander leaves powder: comparison with Conventional Extraction. *Laboratory of Biomathematics, Biochemistry, Biophysics and Scientometrics, Abderrahmane 7 Mira University of Bejaia.*

Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed S-M, Ghorbani, A., (2015).Labiata Family in Folk Medicine in Iran: from Ethno botany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.

Oloyede, O.I., (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica Papaya*. Pakistan. *Journal of Nutrition*, 4(6): 379-381.

Ordóñez, A., Baldoncini, S., Berioli, G., Chaves, G., Bled, L., Massuh, Y., Liébana, C., Torres, L., Ojeda, M., (2006). Domestication of native aromatic plants. *Mol. Med. Chem.* 11:58-59.

Pietta, P., (2000). Flavonoïdes as antioxydants. *J. Nat. Prod.*63 :1035-1042.

Piquet, MA., Hébuterne, X., (2007). Nutrition en pathologie digestive ; Ed : DOIN ; p : 16, 20.

Poknory, J., Yanishlieva, N., Gordon H., (2001). Les antioxydants dans les aliments. Les Applications pratiques. Wood head Publishing limited. CRC Press. Cambridge Angle Terre.

Référence bibliographique

Ponce, A.G., fritz, R., DEL Valle, C., roura, S.I., (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Libensmittel wissenschaftund technology*, p 500-508

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4 :25-39.

Pourrut, B., Perchet, G., Silvestre, J., Cecchi, M., Guiresse, M., Pinelli, E., (2008). Publishers, p 115-136.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M., (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxydant capacity through the formation of phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analyt. Biochem.*269:337-341.

Que, F., Mao, L et Pan, X., (2006). Antioxydant activisties of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Int*, 39:581-587.

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

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

Sharma, U.K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H.P. and Sinha, A.K., (2008). Microwave-assisted efficient extraction of different parts of *Hippophae rhamnoides* for the comparative evaluation of antioxidant activity and quantification of its phenolic constituents by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(2), 374-379.

Simonpoli, P., (1993). Arburi, arbe, arbigliule : Savoirs populaires sur les plantes de Corse. Ajaccio, Parc naturel régional de la Corse.

Slavkovska, V., Jancic, R., Bojovic, S., Milosavljevic, S.,and Djokovic, D., (2001). Variability of essential oils of *Satureja Montana L.* and *Satureja kitaibelii wierz.* Ex Heuff. From the central part of the *Balkan Peninsula*. *Phytochemistry*, 57(1), 71-76.

Smythies J., (1998). Every Person's Guide to Antioxidants. Ed: BRITISH CATALOGING; p: 89-110.

Référence bibliographique

Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A., (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L.Sci, 6 (4) :1111-1117.

Tarnawski, M., Depta, K., Grejciun, D., Szelepin, B., (2006). HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract - a natural immunomodulator. *J.Pharm. Biomed.Anal.*41: 182–188.

Tringali C., (2001). Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation Characterization and Biological Properties. Ed1 Taylor and Francis, London, 693p.

Vârban, D., Duda, M., Varban, R., and Muntean, S., (2009). Research concerning the organic technology for *Satureja Hortensis* L. Culture. *Bulletin UASVM Agriculture*, 66, (2), 225-229.

Ventrella, M., et Marinho, C., (2008). Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) leaves. *Revista Brasil. Bot*, 31(3): 457-467.

Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Kindl, M., Vladić, J., Lower-Nedza, A.D et W Erdman J., Balentine J D., Arab L., Beecher G., Dwyer J T., Folts J., Harnly., Hollman J P ., L- Keen C., Mazza G., Messina M., Emerenciano V P., Barbosa K O., Scotti M T and Ferrero M J P ., (2007). Self-organization maps in chemotaxonomic studies of asteraceae: a classification of tribes using flavonoid data. *Journal of Brazilian chemical society*.18 (5), p891-899.

Wang, L., Yen, J., Liang H., Wul, 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.

West, C., (2010). Caractérisation et classification de systèmes chromatographiques. Habilitation à Diriger des Recherches - Orléans : Université d'Orléans.

White, N., (1994). Artemisinin : CUITent statut. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 88:3- 4.

William, G.H., (2003). Molécules et métabolisme. Ch. 14. In : *Physiologie végétale*. 1éd. Bruxelles. De Boeck. Pp. 367-384.

Zenasni, L., (2014). Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Organum compactum* Benth et du genre *Nepeta* et évaluation

Référence bibliographique

de leur propriété antibactérienne. Thèse de doctorat. Université Mohammed V Agdal, Rabat. 155p.

Google Maps

<https://www.google.com/maps/place/Maadid/@35.7781862,4.5918471,11z/data=!4m13!1m7!3m6!1s0xg128b7b20f2abd599:0xcc4edd89f7559039!2sM'Sila!3b1!8m2!3d35.677109!4d4.5418141!3m4!1s0x128b5ff83b844681:0x562c96ceeea089cb!8m2!3d35.7998547!4d4.748497>.

ANNEXE

Annexe 01

Matériels utilisés :

Les différents appareils utilisés pour nos travaux sont :

- ✓ Agitateur du tube **VORTEX FISCHER SCIENTIFIC TOPMIX FB 15024.**
- ✓ Agitateur magnétique **RCT basic**
- ✓ Balance analytique **KERN /ALJ 220_4NM**
- ✓ Balance de palliase **KERN FTB**
- ✓ Centrifugeuse **Sigma**
- ✓ Etuve **Memmert**
- ✓ Plaque chauffante **RCT basic**
- ✓ Spectrophotomètre **Optika B_350**
- ✓ Microonde **BOMANN**

Appareillage de l'extraction EAM

Les systèmes de four micro-ondes commercialisés et adaptés aux laboratoires sont constitués de cinq éléments principaux.

- un générateur de micro-ondes, aussi nommé magnétron, qui va générer les microondes à partir d'énergie électrique.
- un guide d'ondes métallique qui va propager les micro-ondes du magnétron à l'échantillon.
- un réacteur transparent aux micro-ondes dans lequel est disposé l'échantillon.
- une cavité protectrice (ou four), dans laquelle le réacteur sera placé.
- un système de contrôle des températures.

Produits de travail :

- Acide gallique (100 µg/ml) : préparé dans le méthanol.
- Carbonate de sodium Na_2CO_3 (7,5%) : préparé dans l'eau distillée.
- Réactif de Folin : dilué 1/10 par l'eau distillée.
- Quercétine (1mg/ml) : préparé dans le méthanol.
- AlCl_3 (2%) : préparé dans l'éthanol.
- BHT (1mg/ml) : préparé dans le méthanol.
- Acide ascorbique (1mg/ml) : préparé dans l'eau distillée.
- Solution de FeCl_3 (0,1%) : préparé dans l'eau distillée.

- Réactif de TAC :

Molybdate d'ammonium (4 mM) : préparé dans l'eau distillée.

Phosphate de sodium (28 mM) : préparé dans l'eau distillée.

Acide sulfurique (6M) : préparé dans l'eau distillée.

Annexe 02

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
EDéc 1g / 10 ml	Poudre	Marron foncée	13 (n=2)
EDéc 1 g / 75 ml	Poudre	Marron foncée	17,5 ± 0,5
EMO 800 w / 2 min	Poudre	Marron	21,83 ± 0,7
EMO 800 w / 4 min	Poudre	Marron	27

Tableau A : Aspect, couleur et rendement de différents extraits de *S.calamintha*.

Extrait	[C] des polyphénols (µg EAC/mg d'extrait)
EDéc 1g / 75 ml	160,39± 6,12
EDéc 50 g / 500 ml	143,82
EMO 800w / 2 min	128,14 ± 34,77
EMO 800w / 4min	79,208

Tableau B : Teneurs en polyphénols totaux des extraits décoction et micro-onde.

Extrait	[C] des flavonoïdes (µg EQ/mg d'extrait)
EDéc 1g / 75 ml	14,26 ± 1,05
EDéc 50 g / 500 ml	14,182
EMO 800w / 2 min	13,24 ± 2,799
EMO 800w / 4min	16,702

Tableau C : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits décoction et micro-onde.

Annexe 03

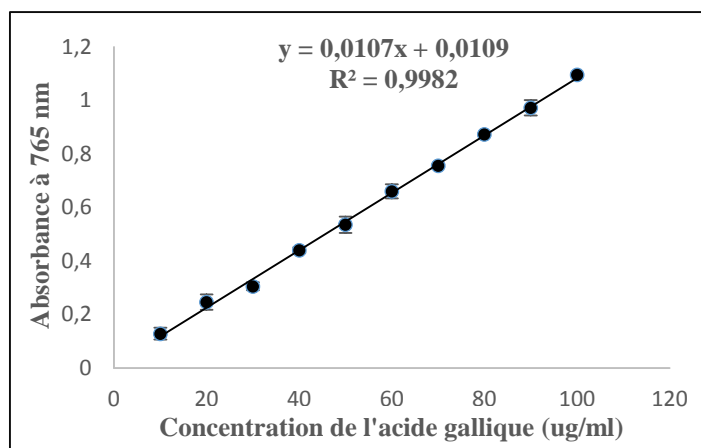


Figure A : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux. Les barres d'erreurs représentent l'écart type (n = 3).

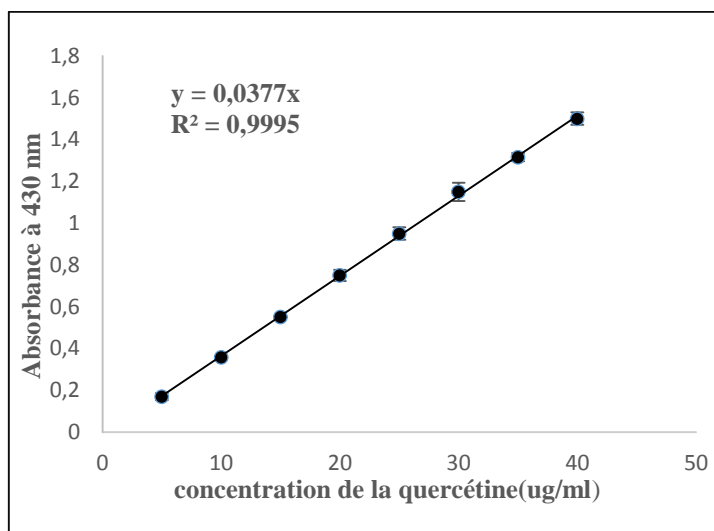


Figure B : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux. Les barres d'erreurs représentent l'écart type (n = 3).

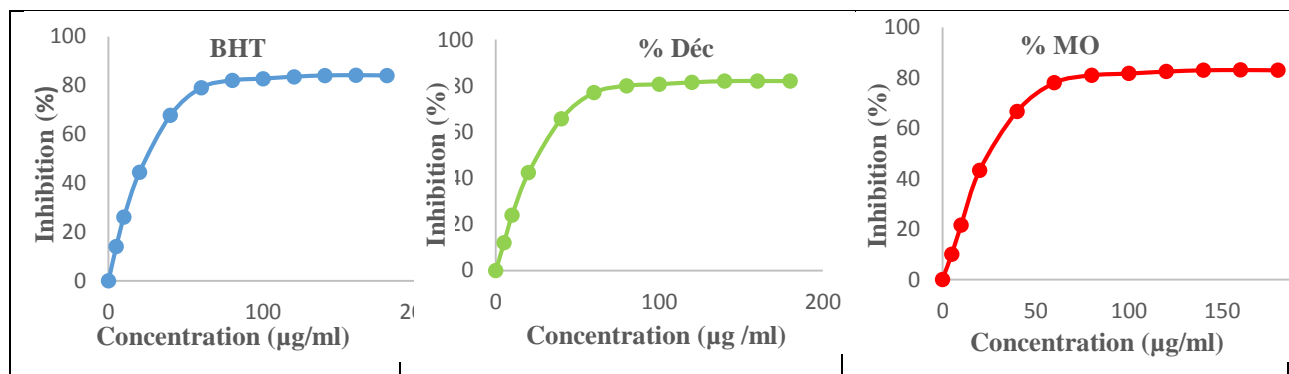


Figure C : Pourcentages d'inhibition du BHT et des extraits bruts (décoction et micro-onde) de *S. calamintha* en fonction de la concentration.

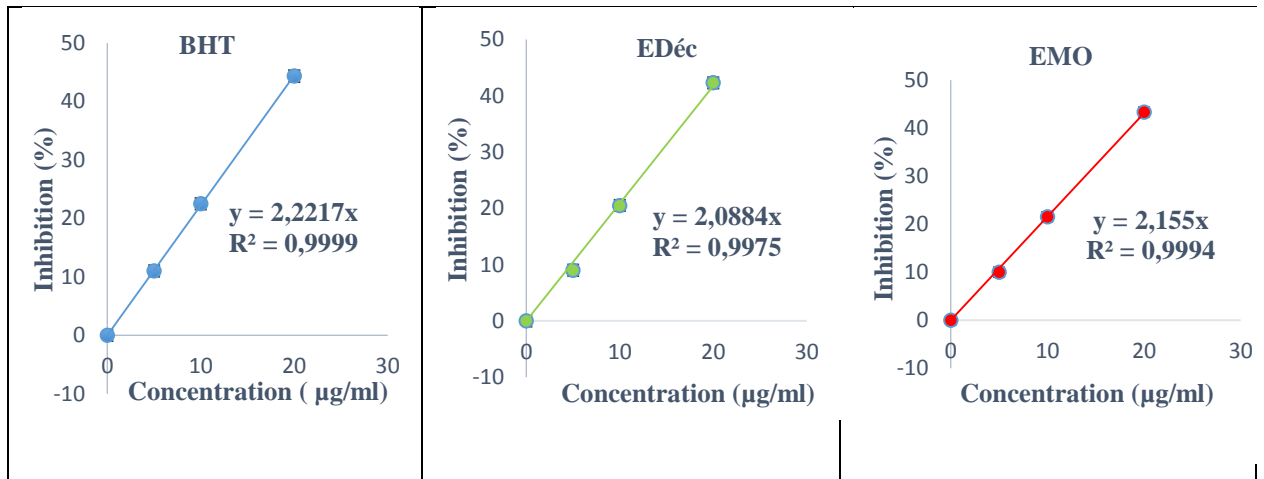


Figure D : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration du BHT, l'extrait décoction (Déc) et l'extrait microonde (EMO). Les barres d'erreurs représentent l'écart type (n = 7).

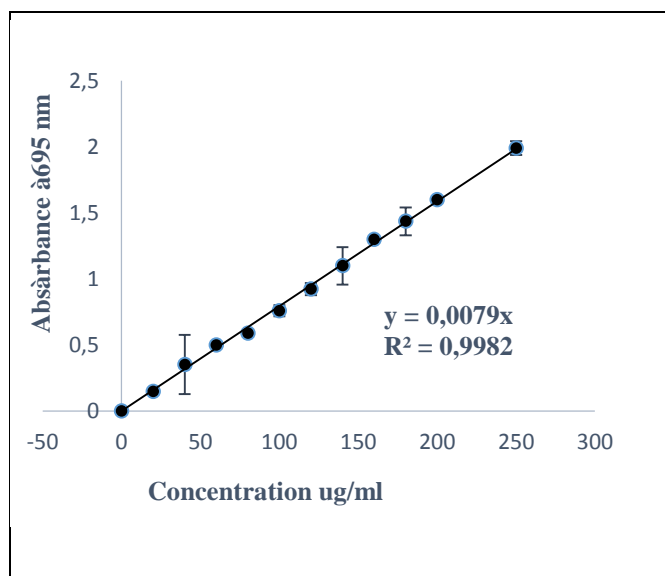


Figure E : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour l'activité antioxydante totale (TAC). Les barres d'erreurs représentent l'écart type (n = 3).

Annexe 04

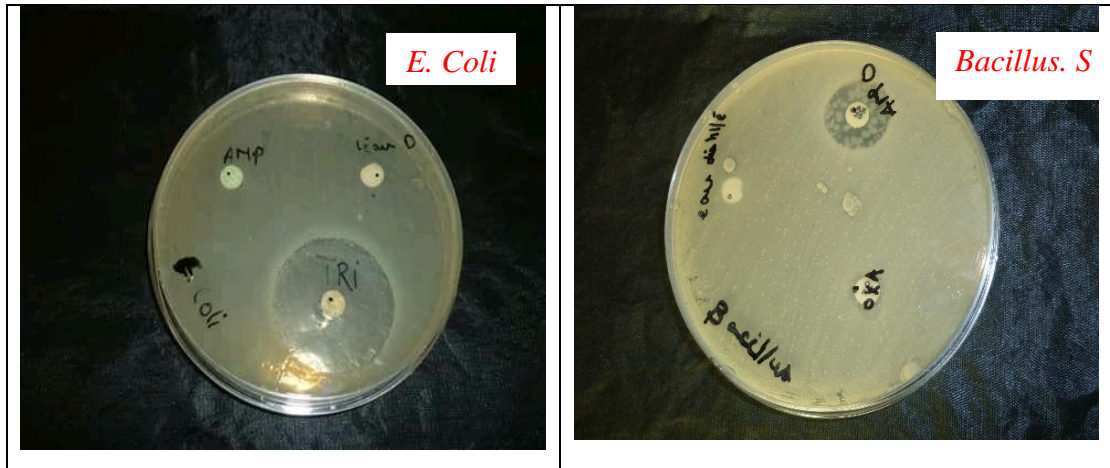


Figure A : L'antibiogramme de d'*Escherichia coli* et de *Bacillus subtilus*.

Antibiotiques	Diamètre de la zone d'inhibition (mm).	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilus</i>
Ampicilline	0 mm	-
Triméthoprim	15 mm	-
Oxacilline	-	4 mm
Amoxicilline	-	7 mm

- : absence d'antibiotique.

Tableau B : Zones d'inhibition de l'antibiogramme d'*Escherichia coli* et de *Bacillus subtilus*

Résumé

La sarriette est une plante médicinale qui appartient à la famille des lamiacées. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés au *Satureja calamintha* des monts de Maadid (région de Hodna). Deux extraits bruts ont été préparés à partir de la partie aérienne : l'un obtenu par décoction (EDéc) et l'autre par extraction aux micro-ondes (EMO). Les rendements d'extraction sont de l'ordre de $17,5 \pm 0,5$ % et $21,83 \pm 0,7$ % respectivement. Les tests phytochimiques appliqués aux extraits de *Satureja calamintha* ont montré la présence de plusieurs familles de composés chimiques potentiellement bioactives, notamment les flavonoïdes et les tanins. L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes par méthode colorimétrique a montré que EDéc est plus riche en métabolites secondaires par rapport à EMO. L'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes : i) le piégeage du radical libre DPPH, avec des IC_{50} à $24,77 \pm 0,76$ et $23,07 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$ pour EDéc et EMO respectivement et qui sont supérieures à celle obtenue par le BHT ($22,25 \pm 1,24$ $\mu\text{g/ml}$) ; ii) La capacité antioxydante totale (TAC) est estimée à $84,64 \pm 0,72$ $\mu\text{g EAA/mg}$ pour EDéc et $80,41 \pm 19,13$ $\mu\text{g EAA/mg}$ pour EMO. L'activité antibactérienne est déterminée vis-à-vis de deux souches bactériennes de référence : *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Bacillus subtilus* (Gram positif), selon la méthode de diffusion dans les disques. Les deux extraits n'ont montré aucun effet sur la souche *E. coli*. Cependant, ils possèdent un effet inhibiteur modéré sur la souche *B. subtilus*.

Les mots clés : *Satureja calamintha*, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, DPPH, TAC, activité antibactérienne.

ملخص

الزعرور هو نبات طبي ينتمي إلى عائلة الشفويات. في هذه الدراسة اعتمدنا الزعرور البري (*Satureja calamintha*) لجبل المعاضيد (منطقة الحضنة). تم تحضير مستخلصين من الجزء العلوي: الأول متحصل عليه عن طريق الاستخلاص بالإغلاء (EDéc) والآخر بواسطة الميكروويف (EMO); حيث قدر مردود المستخلصات بـ $17,5 \pm 0,5$ % و $21,83 \pm 0,7$ % على التوالي. وأظهرت الاختبارات الكيميائية التي تم تطبيقها على مستخلصات هذه النبتة وجود عائلات من المركبات الكيميائية بما في ذلك الفلافونويدات والديباغ. التقدير الكمي من الفينولات الكلية والفلافونويدات بالطرق اللونية أظهر ان المستخلص المتحصل عليه بالإغلاء هو الاغنى بهذه المركبات مقارنة بمستخلص الميكروويف. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين: أ) محاصرة الجذر الحر DPPH حيث قدرت قيم IC_{50} بـ $24,77 \pm 0,76$ و $23,07 \pm 0,18$ ميكروغرام / مل لمستخلص الاغلاء والميكروويف على التوالي و هي اكبر من ذلك الذي ابداه BHT $22,25 \pm 1,24$ ميكروغرام / مل. ب) القدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) قدرت بـ $84,64 \pm 0,72$ $\mu\text{g EAA/mg}$ لمستخلص الاغلاء و $80,41 \pm 19,13$ $\mu\text{g EAA/mg}$ ميكروغرام مكافئ لحمض الأسكوربيك / ملع من المستخلص، بالنسبة لمستخلص الميكروويف. تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا ضد اثنين من السلالات البكتيرية: *Escherichia coli* مسالبة الغرام و *Bacillus subtilus* موجبة الغرام وفقا لطريقة النشر في الأقراص، حيث أظهرت النتائج ان كلا المستخلصين ليس لهما تأثير على *Escherichia coli* حين لهما تأثير تثبيطي ضعيف جدا على *Bacillus subtilus*.

الكلمات المفتاحية: الزعرور البري الطويل، الفينولات الكلية، الفلافونويد، النشاط المضاد للأكسدة (DPPH) (TAC) النشاط المضاد للبكتيريا

Abstract

Savory is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family. In this study, we are interested in *Satureja calamintha* from Maadid mountains (Hodna region). Two extracts were prepared from the aerial parts: one by decoction and the other by microwave. The extraction yields are of the order of $17,5 \pm 0,5$ % and $21,83 \pm 0,7$ % respectively. The phytochemical tests applied to *Satureja calamintha* extracts have shown the presence of several families of chemical compounds such as flavonoids and tannins. Quantitative estimation of total phenols and flavonoids by colorimetric methods showed that the decoction extract is richer in these compounds compared to the microwave extract. Antioxidant activity was evaluated by two complementary methods: i) Sweeping of DPPH free radicals, where the IC_{50} was estimated to be $24,77 \pm 0,76$ and $23,07 \pm 0,18$ $\mu\text{g/ml}$ for the decoction and microwave extracts respectively and which are more than that shown by BHT ($22,25 \pm 1,24$ $\mu\text{g/ml}$). ii) The total antioxidant capacity is estimated to be $84,64 \pm 0,72$ $\mu\text{g EAA/mg}$ for decoction extract and $80,41 \pm 19,13$ $\mu\text{g EAA/mg}$ for microwave extract. Antibacterial activity was determined against two bacterial strains: *Escherichia coli* (Gram-) and *Bacillus subtilus* (Gram+), according to the method of diffusion in disks. Our results show that the two extracts were without any effect on the *Escherichia coli* strain, whereas they have a moderate effect on the *Bacillus subtilus*.

Key word: *Satureja calamintha*, Total phenols, flavonoids, antioxidant activity, DPPH, TAC, Antibacterial activity.