

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Matière



Mémoire de fin d'étude

*En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en Chimie*

Spécialité: Chimie Pharmaceutique

Thème :

**Contribution à l'étude physico-chimique et l'évaluation de l'activité
microbiologique et antioxydante de *Salvia officinalis* de la région de
Ain Defla**

Devant le jury composé de :

- R. Moumen Président
- K. Hachama Encadrant
- A. Itatahine Examinatrice

Présenté par :

Melle : Kharchouche Ghania

Melle : Bouzeffour Dalila

Année universitaire : 2018 / 2019

Dédicaces

A

Mes parents,

Pour vos mains qui ont tant travaillées,

Pour votre cours qui m'a ton donné. Qu'Allah les protège

Mes frères,

Mes sœurs,

Les membres de ma famille,

Monsieur Hachama .K notre promoteur, pour sa présence

et sa soutien

Aux étudiantes de la promotion chimie pharmaceutique

2018/2019 et à Ghania surtout.

Je dédie ce travail

Dalila

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes chers parents ma mère et mon père

*Pours leur patience, leur amour, leur soutien et leurs
encouragements*

Ames frères

A mes amies et mes camarades

*Sans oublier tout les professeurs que ce soit du primaire, de
la moyenne, du secondaire ou de
l'enseignement supérieur*

Ghanía

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu le tout puissant qui nous accordé la patience et la confiance pour que nos rêves ne restent pas vains. Ce travail étant réalisé en partie de laboratoires de l'Université Djilali Bounaama de Khemis–Miliana et Laboratoire d'analyse biologique médicale Dr. Zebbouche., nous tiens à remercier les responsables de ces laboratoires.

Nous exprimons tout notre gratitude à directeur de ce travail le Docteur Hachama Kamel, enseignant chercheur à l'Université Djilali Bounaama de Khemis–Miliana, qui a accepté de diriger ce travail et pour son investissement et la confiance qu'il nos 'a accordée tout au long de ce travail.

Nous tiens à remercier les membres du jury M. Moumen.R et Mlle Itatahin.A qui ont accepté de prendre de leur précieux temps pour porter un regard critique sur ce travail et suggérer d'autres pistes de réflexion.

Enfin, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont participés à l'enrichissement de ce travail.

ملخص

من اجل تقييم النباتات الطبية نحن مهتمون بدراسة الخصائص الفيزيوكيميائية و النشاط ضد البكتيري لأوراق المرمية بمنطقة عين الدفلى (العامرة)، وكذا التركيب الكيميائي بواسطة (CG/SM). أجرينا في هذه الدراسة استخراج و تحديد الزيت الأساسية وكذلك تقييم قوتها المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن هذه الزيت تتكون و بصفة غالبية من 16 مركبا أهمها (ألفا توجون- سايبينان- كمفر) ، وله قوة ضد جرثومية تهم كل من اشيرشيا كولي و ستافيلوكوكوس أوريوس ، ولديه قوة أكثر فعالية مضادة للأكسدة مع تركيز تثبيطي يقارب 0.365 ميكروغرام/مل.

كلمات مفتاحية: المرمية المختبرة، الزيت الأساسية، التقييم، عين الدفلى.

Résumé

Dans le but de la valorisation des plantes médicinales, nous sommes intéressés à l'étude des caractéristiques physico-chimique et de l'activité antibactérienne de feuilles de la sauge officinalis de la région d'Ain Defla (Amra), et de leur composition chimique par CG/SM. Nous avons procédées dans cette étude à l'extraction et l'identification d'huile essentielle ainsi que l'évaluation de leur pouvoir antibactérien et antioxydant. Les résultats obtenues démontrés que cette huile est formées de 16 composés avec une prédominance de (α thujone, camphr, et sabinene); cette dernière ont un pouvoir antibactérien intéressant sur *Staphylococcus aeuruss* et *Echerichia Coli*, et présente un pouvoir antioxydant plus efficace avec un $IC_{50} \approx$ de 0,365 μ g /ml.

Mots clés : *Salvia officinalis*, Huile essentielle, Valorisation, Ain Defla.

Abstract

In order to promote medicinal plants, we are interested in this study of the physicochemical characteristics and the antibacterial activity of leaves Sage officinalis from the region of Ain-Defla (El-Amra), and their chemical composition by GC/MS. We carried out in this study the extraction and identification of essential oil as well as of their antibacterial and antioxidant power. The results obtained demonstrate that this oil is composed of 16 compounds, with a predominance of α -Thujone, Sabinene and camphr. It has an antibacterial power of interest on *staphylococcus aeuruss* and *Echerichia Coli*, and has a more effective power antioxidant with $IC_{50} \approx$ 0.365 μ g/m.

Key words: *to promote, Sage officinalis, essential oil, Ain-Defla.*

Remercient

Dédicace

Liste des abréviations

Résumé

Table de matière

Introduction générale	01
------------------------------------	----

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

1. Les plantes médicinales et aromatiques	03
1.1. Terminologie.....	03
1.2. Sauge officinale.....	04
1.2.1. Généralité.....	04
1.2.2. Histoire et origine.....	04
1.2.3. Classification.....	05
1.2.4. Description botanique et habitat.....	06
1.2.5. Propriétés thérapeutique de <i>Salvia officinalis</i>	07
1.2.6. Composition chimique de la sauge officinale.....	08
1.2.6.1. Huile essentielle de la sauge.....	08
1.2.6.2. Composés phénoliques	09
1.2.6.3. Polysaccharides et autres constituants.....	10
1.2.6.4. Propriétés biologiques et thérapeutiques des extraits de la sauge officinales	10
1.3. Les huiles essentielles.....	12
1.3.1. Définition.....	12
1.3.2. Répartitions des huiles essentielles dans la plante médicinales.....	12
1.3.3. Caractères physico-chimiques des huiles essentielles.....	13
1.3.4. Contrôle de qualité.....	14
1.3.5. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	14
1.3.5.1 Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.....	15
1.3.5.2 L'enfleurage.....	16
1.3.5.3 Extraction par les solvants organiques.....	16

1.3.5.3 Extraction par le CO ₂	17
1.3.6. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	18
1.3.6.1 Chromatographie surcouche mince CCM.....	19
1.3.6.2 Chromatographie en phase gazeuse CPG.....	19
1.3.6.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GPC/SM...20	
1.3.6.4 La chromatographie liquide à haute performance CLPH.....	20
1.3.6.5. La Résonance Magnétiques Nucléaire RMN.....	21

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

2.1. Matériels et méthodes.....	22
2.2. Extraction d'huile de la sauge officinalis.....	27
2.2.1. Conservation d'huile essentielle.....	28
2.2.2. Détermination du rendement d'huile essentielle de la sauge.....	28
2.3. Détermination le taux d'humidité d'huile essentielle.....	28
2.4. Caractéristiques physico-chimique d'huile essentielle.....	29
2.6. Analyse des huiles par CG/MS.....	32
2.7. Activité biologique.....	33
2.7.1. Activité antioxydant.....	34
2.7.2. Activité antibactérienne	35

Chapitre 3 : Résultats et discussions

3.1. Cinétique d'extraction et rendement d'huiles essentielles de la sauge officinalis.....	39
3.2. Taux d'humidité.....	43
3.3. Caractéristiques physicochimique.....	45
3.4. Activité biologique.....	50
3.4.1. Activité antioxydant.....	50
3.4.2. Activité antibactérienne.....	52

Conclusion générale.....58

Annexe

Références bibliographies

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des symboles et Abréviations

Introduction Générale

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacopée naturelle et pragmatique pour l'homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques [1].

L'être humain recherche dans son environnement de quoi soulager ses maux et traiter ses blessures. La médecine moderne occidentale a rejeté la plupart de ces recours pour développer des médicaments chimiques et une technique de soins sophistiquée. Elle continue cependant d'utiliser certains remèdes à base des plantes médicinales.

Une tendance récente conduit même à rechercher dans les plantes de nouveaux produits de substitutions pour certaines maladies: cancer, paludisme.....Plus de 200 000 espèces végétales sur les 300 000 recensées de nos jours sur l'ensemble de notre planète végétales vivent dans les pays tropicaux d'Afrique.

L'histoire de la médecine traditionnelle montre l'importance de ces espèces dans les thérapies, toutes les sociétés traditionnelles ayant puisé, pour leur soins de santé, dans cette pharmacopée végétale d'une très grande richesse [2, 3].

De nos jours de nombreux travaux consacrés à la toxicologie des plantes aromatiques et médicinales ont contribué à la connaissance scientifique dans ce domaine et à l'élaboration de protocoles standards de phytochimie et de screening biologique.

Ces derniers ont tenu une place prépondérante dans l'art de guérir. Selon les cultures et les époques, elles ont été exploitées sous différentes formes, de diverses manières et pour les usages les plus variés [4]. Les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, aussi à cause du coût élevé des produits pharmaceutiques de synthèse, la plupart des populations mondiales ne sont pas en mesure de s'offrir les soins de santé modernes, et c'est pourquoi elles se tournent vers la médecine populaire et les plantes médicinales, ou simples, pour se soigner [1, 5].

D'après la situation géographique, sa végétation, son climat, son relief sa structure, le forêt Algérienne est typiquement méditerranéenne. Elle présente une grande affinité avec les autres forêts méditerranéens notamment dans sa structure et sa dynamique. Sa flore est réputée pour sa diversité et son endémisme. L'étude floristiques algérienne reste relativement satisfaisante, et plus particulièrement le nord algérienn offrent des paysages botaniques très diversifiés liés à diverses conditions climatiques, pédologiques et topographiques propres à la région [6].

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leurs pouvoirs antibactériens [7] antifongiques et antioxydants [8].

Dans la littérature, les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiaceae: Thym, Origan, Sarriette, Lavande, Sauge, Romarin, Hysope, Menthe [9].

Cette étude, a pour objet l'extraction et l'activité antibactérienne d'huile essentiel d'une plante appartenant a la famille de Lamiaceae représente par la Sauge (*Salvia*).

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographiques

Dans ce premier chapitre nous sommes intéressés à faire une étude bibliographique sur la plante de la sauge en se focalisé sur la culture de cette dernière et sur les différentes méthodes d'extractions et domaines d'utilisations de cette plantes encore les différents composés présentent dans cette dernière.

1 Les plantes médicinales et aromatiques

1.1 Terminologie

Phytothérapie : est un mot d'origine grec : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes...) [10,11,12].

Plante médicinale : définie par la pharmacopée par une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, également appelée « drogue végétale » [11].

Aromathérapie : branche de la phytothérapie, elle recourt aux substances aromatiques des plantes (essences et huiles essentielles). Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante [10,13].

1.2. La Sauge officinale

1.2.1. Généralités

«Qui a de la sauge dans son jardin, n'a pas besoin d'un médecin» latin *salvare*.

La Sauge, *Salvia officinalis*, de la famille des labiées, aussi appelée Sauge de Grèce, Herbe sacrée, Genre Sauge, Thé de Grèce, Thé de France, Thé d'Europe, Salel, Sauge franche, Thé sacré. (Anglais : sage).

Salvia est une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne de la famille des labiées [14]. Il existe environ 900 espèces identifiées autour du monde [15]. En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beyter, les andalous la nomment « *essalma* » qui ajoute qu'elle est appelée « *salbia* » par les botanistes en Espagne. El djizairi indique l'expression « *souek ennebi* » comme synonyme de Saleme.

1.2.2. Histoire et origine

Son nom est déjà une sorte de diplôme d'efficacité puisque *Salvia* vient du *salvare* qui signifie « *sauver* », « *guérir* » ; c'est une des plantes sacrées des anciens. Les Romains la récoltaient avec un cérémonial spécial. Ses effets dus à son huile essentielle et la présence d'un œstrogène, avaient déjà été observés aussi bien par les Romains que par les Égyptiens.

Pendant tout le Moyen Âge, elle reste une plante primordiale et entre dans de très nombreuses préparations : Eau d'arquebuse, Eau céleste, Eau impériale, etc. Les feuilles de sauge séchées sont un condiment employé depuis l'antiquité.

La sauge était une des plantes salvatrices reconnue par les Chinois, ces derniers n'hésitaient pas à échanger des feuilles de thé les plus précieuses contre des feuilles de sauge [16].

1.2.3. Classification

La sauge appartient à la grande famille des *Lamiaceae* (Labiatae), il existe plus de 600 variétés de sauge à travers le monde, tous ne sont pas comestibles, beaucoup d'entre elles sont utilisées en plantes ornementales dans les jardins. Nous consommons la sauge officinale ou sauge des jardins [16].

- **Nom scientifique** : *Salvia officinalis* L.
 - **Nom commune**: Saugue officinale (Français), Agourin Imeksaouen, Tazzourt, marramia (Berbère), Souak El-nabi (arabe).
- **Systematique**

Selon [16] la sauge appartient au :

- Règne : *Plantae* (végétal).
- Embranchement : *Cormophytes*.
- Sous embranchement : *Angiospermes*.
- Classe : *Magnolipsida*.
- Sous classe : *Asteridae*.
- Ordre : *Lamiales*.
- Famille : *Lamiaceae*.
- Genre : *Salvia*.
- Espèce : *Salvia officinalis* L.

1.2.4. Description botanique et habitat

Salvia officinalis L. est un sous arbrisseau de la région méditerranéenne, souvent cultivé dans les jardins [17]. Il possède de nombreuses tiges quadrangulaires ligneuses, values, qui mesurent de 50 à 100 cm, recouverts de feuilles vertes, finement crénelées, qui persistent en hiver grâce à leur revêtement de poils laineux blancs. Les fleurs sont assez grandes, avec une longue corolle de 2 à 3 cm dont la lèvre supérieurs est presque droite, d'un bleu violacé nuancé de rose, groupées en épis terminaux, son fruit est en forme de tétrakène ovoïde [18]. Elle pousse sur les terres chaudes des collines rocailleuses et calcaires, d'une façon spontanée sur des terres arides aux sols bien drainés des régions méridionales ensoleillées, et elle résiste à la sécheresse [19].

- **Organes reproducteurs**

-Type d'idenflorescence : Glomérules spiciformes.

-Répartition des sexes : Hermaphrodite.

-Type de pollinisation : Entomogame.

-Période de floraison : Mai à Août.

- **Graine**

-Type de « fruit » : Akène (tetrakène)

-Mode de dissémination : Barochore



Figure 1.1: plante de la sauge

1.2.5. Propriétés thérapeutiques de *Salvia officinalis*

Le nom scientifique de la définie son rôle en phytothérapie : Sa saveur est chaude, amère et astringente, elle agit contre les maux de gorge, les troubles de la digestion, elle est stimulante, tonique et stomachique. La sauge possède aussi à divers degrés des propriétés antispasmodiques, fébrifuges, antisudorales et emménagogues (action bénéfiques sur les menstruations) [20].

L'huile essentielle de la sauge officinale est neurotoxique, pouvant provoquer des crises nerveuses rappelant l'épilepsie, ainsi que des vomissements. Le thujone et le camphre en sont responsables. Elle est par ailleurs bactéricide et elle est à éviter lors de la grossesse (risque de fausse couche) ou de l'allaitement [21].

1.2.6. Composition chimique de la sauge officinale

1.2.6.1. Huile essentielle de Saug

L'analyse de l'extrait de *Salvia officinalis*, a montré que cette espèce contient environ 1.0 à 2.8% d'huile essentielle [22]. Les principaux constituants identifiés dans cette huile, par la GC-MS, sont illustrés dans (Tableau 1.1 1) [22].

➤ Les propriétés de l'huile essentielle de la saug

Parmet les propriétés de HE de la saug en peut citée quelques propriétés thérapeutiques :

- Antibactérienne spécifique (coques gram(+), staphylocoques dorés, streptocoques) ;
- Antifongique (candida albicans) ;
- Antivirale puissante ;
- Expectorante, mucolytique ;
- Lipolytique (facilite l'élimination des graisses), anti-cellulitique ;
- Cholagogue et cholérétique (stimule les sécrétions biliaires et pancréatiques, modère l'excès de cholestérol) ;
- Emménagogue et mimétique des œstrogènes (régule les cycles menstruels et soulage les troubles liés aux cycles et à ménopause) ;
- Cicatrisante cutanées, s'oppose à la transpiration et aux bouffées de chaleur, diminue les sécrétions salivaires [24].

➤ Toxicologie

L'huile essentielle de sauge officinale peut contenir jusqu'à 50% de thuyone qui peut se révéler épiléptisante et neurotoxique. Néanmoins, aucune toxicité aiguë ou chronique n'a été signalée après emploi aux doses usuelles des feuilles de sauge et de son huile essentielle (jusqu'à 15 gouttes par jour) [24].

1.2.6.2. Composés phénoliques

Beaucoup d'études sur la sauge ont révélé la présence d'une série impressionnante d'oligomères d'acide caféique biologiquement actifs, d'autres composés phénoliques (**Tableau 1.2**) [25].

Tableau 1.2: Principales classes de composés phénoliques identifiées dans les feuilles de *Salvia officinalis*

Classe	Composé
Acides Phénoliques	Acide gallique, acide 3- <i>o</i> -cafféoylquinique, Acide 5- <i>o</i> -cafféoylquinique, Acide caféique, Acide rosmarinique, Acide salvianolique et dérivée, Melitrane A méthyle saugecoumarine, Acide saugerique, Tanshinone II A, Acide A melitric, Acide royleanonique et Acide oléanolique [26].
Diterpènes phénoliques	Acide carnosolique, Rosmadials, Carnosote de méthyl, Carnosol, Epirosmanol, Epiisorosmanol méthyl éther et Epiisorosmanol éthyle éther [27].
Flavonoïdes et dérivés	Hesperidine, Apigénine, Hispiduline, Cirsimaritine, Genkwanine, Lutéoline et Luteoline 7- glucoside [26].
Tannins	Catéchine et Salvi tannins [28].

1.2.6.3. Polysaccharides et autres constituants

L'analyse de la partie aérienne de *Salvia officinale*, par le spectre FT-IR, a décelé des bandes caractérisant la composition de la plante en polysaccharides, en protéines et en lipides [28]. (Le tableau 1.3 1) présente les Fraction de polysaccharides et autres composés identifiés dans les feuilles de *Salvia officinale* [29].

1.2.6.3. Propriétés biologiques et thérapeutiques des extraits de la sauge officinale

Les feuilles de la sauge sont communément très connues, non seulement comme herbe condimentaire, mais aussi elles possèdent de nombreuses propriétés très exploitées en médecine [30].

- **Activité antioxydant**

Les effets antioxydants de la sauge, ont été attribués essentiellement rosmarinique et l'acide carnosolique [31]. Cette activité est très appréciée comparée aux plantes ayant un fort pouvoir antioxydant telles que Ginkro biloba et panax ginseng [32].

- **Activité antimicrobienne**

L'étude menée par Miladinovié et Milidinovié(2000) a révélé des vertus bactéricides de *Salvia off*, qui sont liées à la présence d'un acide di-terpénique ; la salvine et son ester monométhylque. Cette activité a été confirmée par des tests microbiologies sur des germes pathogènes tels que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella enter dis* [33]. Une activité antifongique est montrée contre *Aspergillus Niger* [34].

❖ Autres effets

Plusieurs extraits de cette herbe sont employés dans le traitement de plusieurs types de maladies ; inflammation de la cavité orale, du tractus digestif et intestinal et dans les gastrites [35].

- Des examens histologiques sur les rats ont révélé la disparition de nécrose hépatique et l'infiltration des cellules victimes après avoir traité ces animaux avec l'infusion aqueuse de *Salvia officinalis*. [36].
- Cette plante est connue depuis longtemps comme antisudorale, ce qu'elle doit à son huile essentielle qui paralyse les terminaisons nerveuses des glandes sudoripares.
- L'essence est riche en une cétone terpénique, la thuyone (voir *Artemisia absinthium L*), convulsivante à haute dose, emménagogue et spasmodique à dose thérapeutique [37].
- L'extrait aqueux des feuilles de *Salvia off L* a montré un effet hypoglycémiant, qui a été confirmé par des études *in vivo* [38], cet effet se présume par inhibition de la lipase pancréatique, et une diminution de la concentration du triglycéride dans le sérum.
- A ces actions de la sauge, s'ajoutent des vertus œstrogènes, cholérétiques et une activité antigonadotrophiques, utilisées également pour traiter les symptômes de la ménopause [39].
- *Salvia officinales*, est utilisée pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.
- l'acétylcholine estérase, de ce fait, la sauge aide à améliorer les fonctions cognitives, chez les patients souffrant de cette maladie [40].
- En usage externe, la sauge est astringent qui due à la présence de tannins [41].

1.3. Les huiles essentielles

1.3.1. Définition

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques [42, 43]. Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs [44], il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelque millilitre d'huiles essentielles [45].

On ne peut définir une essence sans définir la méthode d'extraction. Selon la pharmacopée européenne [46] : «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition».

Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation) [47], ce sont des produits généralement obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction.

1.3.2. Repartitions des huiles essentielles dans la plante médicinales

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant, elles sont particulièrement abondantes par certaines familles [48] telles que : les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées, les Poacées.

Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal [49] : les sommités fleuries (ex : lavande,

menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex : vétiver, gingembre), dans les écorces (ex : cannelles), le bois (ex : camphrier), les fruits (ex : citron, les graines (ex : Muscade) et sont contenus dans des structures spécialement à savoir : les poils, les canaux sécréteurs et les poches [50].

1.3.3. Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à températures ambiante mais volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînables à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau [51]. Il faut donc impérativement une tension active pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge officinal et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité, de ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée [50].

Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) [51].

1.3.4. Contrôle de qualité

Les huiles essentielles doivent répondre à des normes analytiques établis par des commissions nationales et internationales d'experts et imposés par les pays importateurs ou exportateurs.

Les points de contrôle à effectuer pour se prémunir de la falsification des huiles essentielles et éviter les confusions entre les différentes espèces concernant l'origine

géographique, l'espèce botanique, l'organe producteur (feuilles, fleurs, fruits, écorces...) et les caractéristiques physico-chimique (couleur, odeur, densité et indice de réfraction).

Tout ceci permettra d'utiliser une appellation présente dans la nomenclature botanique et valable dans le monde entier [52].

L'institut de Normalisation Scientifique d'Aromatologie INSA a retenu trois critères pour conférer aux huiles essentielles le label «HEBBD» : Huile Essentielles Botaniquement et Biochimiquement Définie [53]. Il s'agit de :

- √ L'espèce botanique.
- √ L'organe producteur.
- √ Le chémotype ou chimiotype de la plante.

1.3.5. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

La quantité d'huiles essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infinie. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle.

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter le produit les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal.

Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation.

L'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche reste la technique la plus utilisée.

On distingue les procédés suivants :

1. Extraction par expression à froid

Il s'agit du procédé d'extraction le plus simple et le plus limité. C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid de l'écorce des fruits [54]. Cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zestes frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique. La rupture de la paroi des poches oléifères fait intervenir trois procédés :

-Une technique qui agit sur le fruit entier, elle utilise des machines exerçant une action abrasive.

-Une technique qui agit sur le fruit sans endocarpe. Elle utilise des machines exerçant une pression suffisante pour libérer l'essence.

-Un troisième procédé permet d'extraire en une seule opération l'essence et le jus sans mélanger les deux produits [55].

Le produit obtenu se nomme «**essence**» et non huile essentielle, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur d'eau n'a lieu [50, 53]

2. Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau

Il s'agit de l'un des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques les plus anciens, apporté par les Arabes. Cette opération s'accomplit dans un distillateur ou «**alambic**». Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. 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. [54, 56] Les parties insolubles sont séparées de l'eau par décantation pour donner l'huile essentielle [55, 56].

Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle de la distillation [66].

3. L'Enfleurage

L'enfleurage est une technique qui date de l'Antiquité égyptienne. Elle consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (fleurs d'organe, pétales de rose) sur une couche de graisse animale qui se sature en essence. On épuise ensuite le corps gras par l'alcool qui récupère les senteurs et qui sera ensuite évaporé sous vide [55, 57].

Cette technique est actuellement abandonnée au profit de l'extraction par les solvants en raison de son faible rendement et de l'importante main d'œuvre qu'elle nécessite [58].

4. Extraction par les solvants organiques

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation.

Etant de nature huileuse, les essences sont solubles dans les solvants organiques. Un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue» [55,59].

On utilise comme solvant organique volatil l'hexane, qui est le plus utilisé actuellement ; le benzène très utilisé dans le passé mais interdit pour des raisons de toxicité, le propane, le toluène, etc.... [60, 61]. L'extraction s'effectue en plusieurs étapes, on lave la matière avec le solvant deux à trois fois.

Il semble que la presque totalité des produits odorants passe en solution dès la première extraction. Mais, étant donné que la matière traitée retient une forte proportion de la solution.

Il est nécessaire de pratiquer des dilutions successives avec de nouvelles charges de solvant (lavages). La matière épuisée retient une proportion importante de solvant. Il faut donc concentrer la solution en évaporant le solvant qui est recyclé pour d'autres lavages.

La récupération du solvant atteint couramment 94 à 96 % de la quantité retenue [62]. De ce fait une proportion résiduelle de solvants reste dans les concrètes d'où un risque de toxicité non négligeable [62]. Pour cette raison, cette technique est limitée à l'industrie des parfums.

5. Extraction par le CO₂

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO₂ en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au delà de son point critique (P=72.8 et T=31.3°C) [63]. A l'état supercritiques, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre.

Les fluides supercritiques comme le CO₂ sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux [60]. Les avantages de ce procédé sont les suivants :

- Le CO₂ est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux [62,65].

- En fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO₂ à l'état gazeux), avec une récupération quasi-totale et peu coûteuse [62].
- L'extraction des huiles essentielles par le CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques [64].
- Cependant l'installation industrielle de ce procédé reste onéreuse, et l'appareillage est encore envahissant.

Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle de la distillation [66].

En conclusion, il n'existe pas de procédé meilleur que d'autres. Chaque méthode possède sa propre indication selon le végétal ou la partie du végétal, et l'utilisation du produit obtenu commande ainsi que l'aspect économique qui est tout aussi important [67].

1.3.6. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

Quelque soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles, une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Ainsi l'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification des composants, reste une étape importante. Cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques [68].

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à

l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. La séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et désorptions successives sur la phase fixe, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase [69].

Plusieurs méthodes existent :

- **Chromatographie surcouche mince (CCM)**

Il s'agit d'une technique de routine utilisée pour l'analyse rapide de fraction, obtenus à la suite d'une séparation initiale. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption.

Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide en plastique ou en aluminium, les substances migrent, entraînées par la phase mobile composée d'un ou de plusieurs solvants. Ensuite, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode [70]. Cette technique, beaucoup moins performante que la chromatographie en phase gazeuse, peut être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles [71].

- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

C'est de loin la technique la plus utilisée pour huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir). Le principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle de la phase stationnaire. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur [72].

- **Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)**

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique [73]. Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectre de masse) des constituants individualisée avec les caractéristiques de référence contenus dans des bibliothèques de spectres [71].

- **La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)**

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis elle sera introduit dans la phase mobile liquide. Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique, les composés se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics, l'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [74].

- **La Résonance Magnétique Nucléaire RMN**

La RMN a été utilisée depuis des années quatre vingt pour confirmer la présence d'un constituant dans un mélange complexe naturel, préalablement identifié par une autre technique, la SM par exemple. Le principe de cette méthode est simple : il s'agit d'observer dans le spectre du mélange de résonance appartenant à un composé donné et ce faisant identifier ce composé. Dans le droit fil des travaux précurseurs de Formàcek et Kubezka.

Dans le domaine des huiles essentielles, la plupart des études continuent à utiliser la RMN comme méthode de confirmation plutôt que méthode d'identification [75].

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

Ce travail a été effectué dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire d'analyse biologique médicale Dr. Zebbouche.
- Laboratoire d'analyse physico-chimique.
- Laboratoire de génie des procédés.

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'une plante médicinales à travers l'étude de leur propriétés physico-chimiques et l'évaluation de l'activité microbiologique d'une espèce de la sauge.

2.1. Matériels

2.1.1. Matériel végétale

Notre étude a porté sur l'espèce, d'une plante de la famille des Lamiaceae qui est:

« *Salvia officinalis* ».

Les échantillons de la sauge ont été récoltés au début de la période de floraison, dans la région d'Ain-Defla (Amra) au mois de Mars et Avril.



Figure 2.1: *Salvia officinalis*

2.1.2. Les souches bactériennes

L'étude a été réalisée sur trois (03) souches bactériennes appartenant à la collection ATCC (American Type Culture collection) qui ont été fournies par laboratoire d'analyses biologiques médicale. On les classifiées dans le (Tableau 2.1).

Tableau 2.1: Classification des souches bactériennes utilisées

Souches bactériennes	Références	Famille	Resistance aux antibiotiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Gram positive	E15
<i>Pseudo menasseaeruginosa</i>	ATCC 27853	Gram négative	NET30
<i>Escherichia Coli</i>	ATCC 25922	Gram négative	AK30

Le tableau 2.2 présente quelques produits utilisés dans notre expérience.

Tableau 2. 2 : Les produits chimiques utilisés

Produits chimiques	Laboratoire	Quelques propriétés
Ethanol	Biochem "Chemopharma"	99.8%
Phénolphtaléine	Biochem	MW= 318.33g/mol
KOH	Biochem	85-100.5 %
HCl	Sigma-Aldrich	36.5-38%
DPPH	Sigma-Aldrich	mp = 135°C, MW = 394.3g/mol
Acide Ascorbique	Biochem	99.99 (Pureté)

2.2. Méthodes

2.2.1. Extraction des huiles essentielle

La partie utilisée dans l'extraction des huiles essentielles sont les feuilles et les boutons floraux (partie aérienne), l'extraction a été effectuée par l'hydro distillation (figure 2.2) à l'aide d'un appareil de type "Clevenger". Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre ou l'on placé le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) ou les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile se sépare par différence de densité. L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger. Son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon.



Figure 2.2 Montage d'hydrodistillation

L'appareillage et matériels utilisés dans notre partie expérimentale sont classés dans le tableau ci-dessus :

Tableau 2.3 : Matériel et appareillage utilisé

Matériel	Appareillage
Un chauffe-ballon, un ballon de 1000 ml	Balance analytique
Un appareil de type de Clevenger	Un refractomètre
Un erlenmeyer muni a un bouchon de 100 ml	Spectromètre UV-Vis
Un bécher de 100 ml	Incubateur
Eprouvette de 50 ml, 10ml	Agitateur magnétique
Thermomètre	GC/MS
Burette graduée de 50 ml	
Entonnoir	
Tubes à essai	
Boites de pétri	
Une plaque chauffante	
Un réfrigérant à bouilles	

2.2.2. Plan d`expérimentation

Le schéma général adopté pour la réalisation de cette étude est résumé par la figure ci-dessous (**Figure 2.3**):

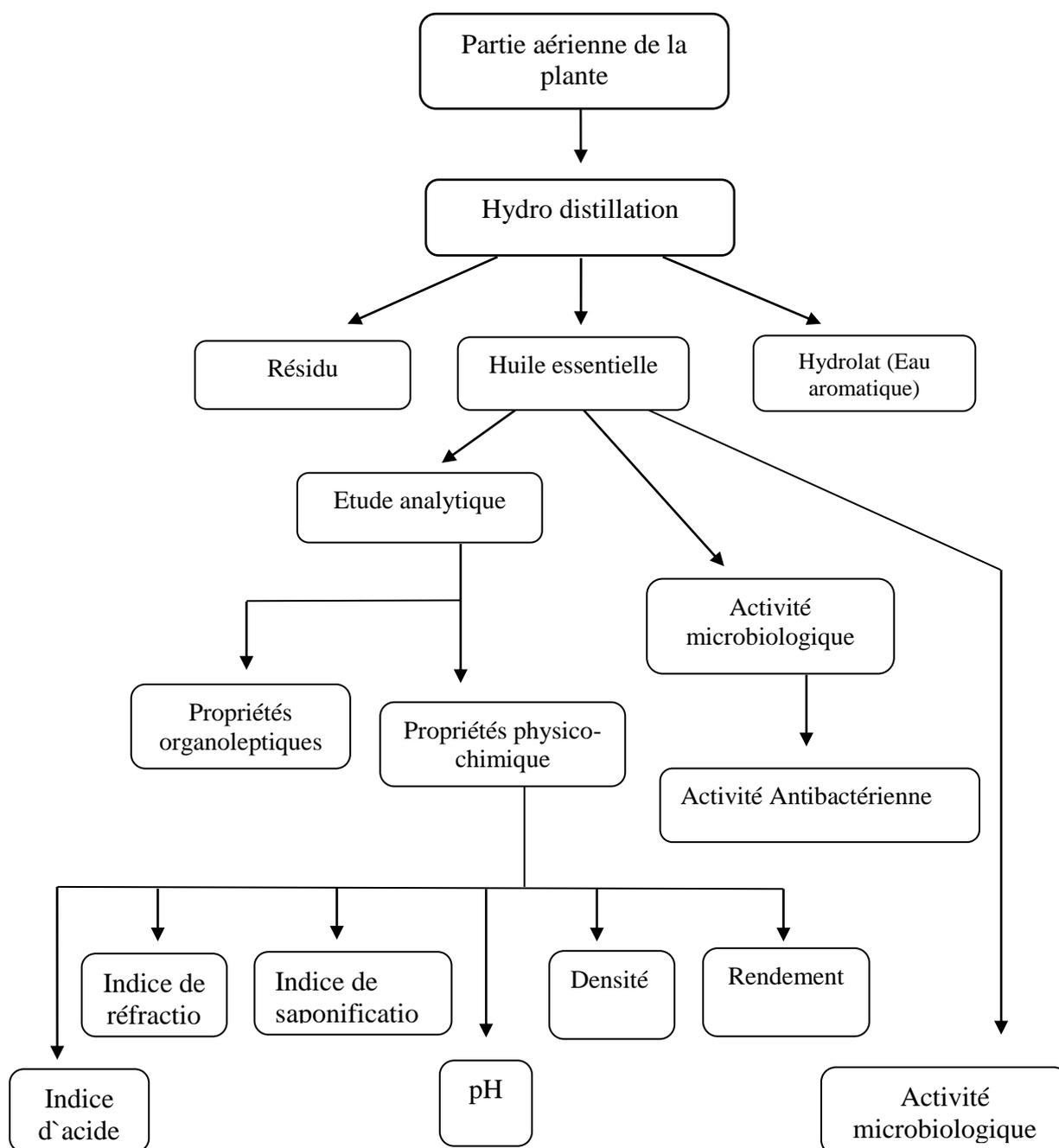


Figure 2.3: Protocole expérimental

2.2.3. Extraction des huiles essentielles

- **Principe**

L'hydrodistillation consiste à porter à ébullition un mélange {eau+ extraits végétaux}. Puis, les vapeurs qui se dégagent seront liquéfiés à l'aide d'un réfrigérant à eau afin de récupérer les huiles essentielles. En effet, les espèces chimiques odorantes que renferment de nombreuses plantes sont faites de molécules peu ou pas solubles dans l'eau mais souvent volatiles. Le distillat obtenu est récupéré dans des tubes à essai ou des éprouvettes.

Le schéma suivant résume l'étape de l'extraction :

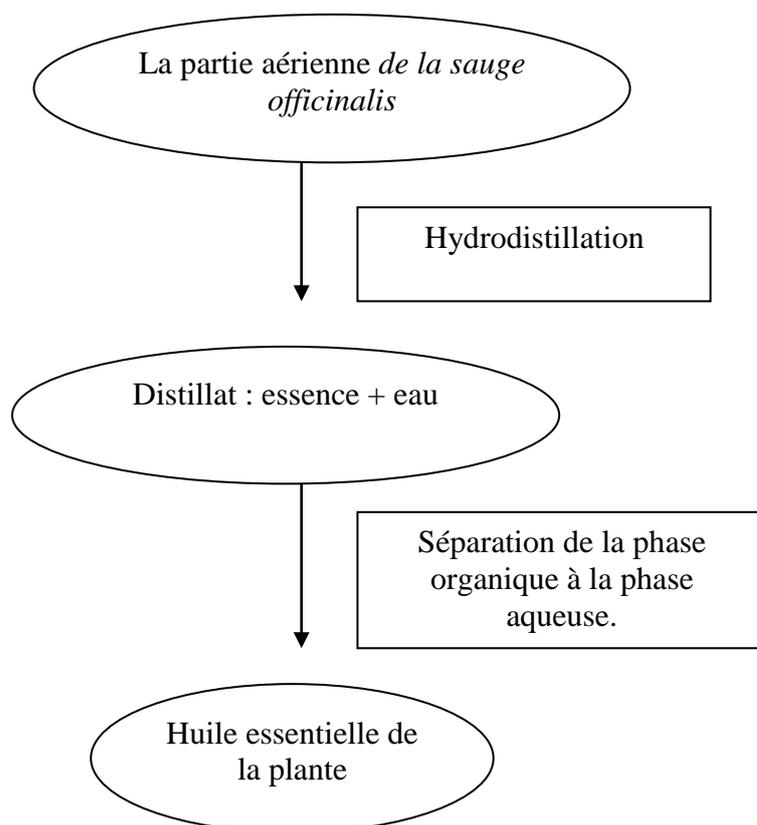


Figure 2.4: Différentes étapes d'extraction

2.2.1. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle des feuilles et fleurs du la sauge officinalis à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier aluminium) [76].

2.2.2. Détermination du rendement d'extraction

Selon AFNOR 1986, le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale à traité [77]. Il est donné par la formule suivante:

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE}/M_S) * 100 \dots \dots \dots (Eq.2.1)$$

Où :

- ✓ **R** : rendement d'huile essentielle en g / g de matière sèche;
- ✓ **M_{HE}** : quantité d'HE récupérée exprimée en g ;
- ✓ **M_S** : quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

Les huiles essentielles sont recueillies et conservées au réfrigérateur + 4°C dans des bouteilles sombres pour les préserver de la chaleur jusqu'à son caractérisation analytique.

2.3. Calcul de taux l'humidité (H%)

165g, 207g de la matière fraîche de la plante (les feuilles et les boutons floraux), approprié au mois Mars, Avril a la suite destinée à l'hydrodistillation ont été séchées à l'abri de la lumière, l'air, après l'obtention de la matière sous forme sec, on va l'est pesée [78].

Le taux d'humidité est calculé selon la relation:

$$H (\%) = \left(\frac{M_f - M_s}{M_f} \right) * 100 \dots \dots \dots \text{(Eq.2.2)}$$

Où :

- ✓ **H** : taux d'humidité en %;
- ✓ **M_f** : masse de la plante à l'état frais en g ;
- ✓ **M_s** : masse de la plante à l'état sec en g.

2.4. Caractérisation d'huiles essentielles de la *sauge officinalis*

2.4.1. Caractères organoleptiques et indices physicochimiques

Les huiles essentielles doivent répondre à certaines caractéristiques analytiques qui sont établies par des normes internationales. Pour caractériser l'huile de la plante nous avons procédé à des essais organoleptiques et à des mesures de quelques indices physicochimiques.

- **Caractéristiques organoleptiques**

- **La couleur** : c'est un paramètre très important. Elle est déterminée à l'œil nu.
- **L'odeur** : c'est un paramètre déterminé d'après teste d'odorat.
- **L'aspect**.

- **Propriétés physicochimiques**

- **Mesure du pH**: cette mesure a été effectuée à l'aide d'un papier de pH.
- **Densité relative à T ambiante**: elle est effectuée par méthode de calcul.

➤ **Indice de réfraction**

Elle est effectuée à l'aide d'un réfractomètre permettant avec une lecture précise de $\pm 0,0002$. La lecture directe des indices de réfraction situés entre 1,300 et 1,700.

○ **Mode opératoire**

Étalonné le réfractomètre, en mesurant les indices de réfraction des produits étalons (eau distillée, d'indice de réfraction 1,333 à T ambiante), mettre l'échantillon "prise d'essai" dans le réfractomètre, puis effectuer la mesure.

➤ **Indice d'acide**

C'est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g de substance [79].

○ **Mode opératoire**

Introduire la prise d'essai dans l'erenmeyer propre et sec, ajouter 10ml d'éthanol à 99.8%, mettre 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine puis neutraliser la solution obtenue par KOH (0.5N) à l'aide d'une burette jusqu'à l'apparition d'une couleur rose dans quelques secondes.

L'indice d'acide est donnée par l'équation [80]:

$$I.A = V \cdot T \cdot 56.1 / m \dots \dots \dots \quad (\text{Eq.2.3})$$

Où :

✓ **V**: le volume en millilitre de solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

✓ **T**: titre de KOH.

- ✓ **m**: la masse en gramme de la prise d'essai.
- ✓ **5.61**: correspond à 0.01mole /l de KOH ajouté.

➤ L'indice de saponification

C'est le nombre qui représente la quantité en milligrammes de KOH (potasse) pour transformer en savon les acides gras libres et les glycérides contenus dans un gramme de corps gras, est déterminé en mélangeant un volume d'huile avec de la potasse et titrage avec de l'acide chlorhydrique [79].

○ Mode opératoire

Dans un erlenmeyer contenant une prise d'essai (HE) de 0.5g, 25ml de KOH éthanolique (0.5N), puis on met la solution dans un ballon. Adapter le réfrigérant et placer le ballon dans un bain marie pendant 1h avec l'agitation. Ensuite, refroidir la solution et ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine. Enfin, titrer la solution obtenue avec la solution HCl (0.5N).

En parallèle, effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions en prenant soin d'ajouter au préalable 25ml d'éthanol neutralisé.

L'indice de saponification est donné par la relation suivante:

$$I.S = \frac{(V_T - V_E) * C * M}{m} \dots \dots \dots (Eq.2.4)$$

Où :

- ✓ **V_T**: le volume en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc.
- ✓ **V_E**: le volume en ml de solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'échantillon à analyser.

- ✓ **C** : concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l (0,5N).
- ✓ **M**: masse molaire du KOH en g/mol (56,1g/mol).
- ✓ **m** : prise d'essai en g.

La détermination des propriétés physico-chimique (densité, indice de réfraction, de saponification, d'ester...), est une étape nécessaire mais non suffisante pour faire la caractérisation de l'huile essentiel. Il est donc nécessaire de compléter-la par des analyses CG-SM (Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse).

➤ L'indice d'ester

Est le nombre qui exprime la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres par l'hydrolyse des esters présentent dans un 01 g de substance.

On peut déterminée la valeur d'IE d'après le calcul, qui est formulée comme le suivant :

$$I.E = I.S - I.A..... (Eq.2.5)$$

2.5. Analyse des huiles par CG/SM

○ Mode opératoire

L'analyse des huiles essentielles extraites est faite à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse de type Shumadzu TQ-8030 MC/W/O, équipé d'un détecteur et muni une colonne capillaire en silice fondue de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 2 °C/ min pendant 43,33 minutes. La température de L'injecteur est fixée à 250 °C et celle de détecteur à 250 °C. Le débit de gaz vecteur (Helium) est fixé à 0.5 µl/min. Le volume de l'échantillon injecté est 0.5 µl de l'huile pure diluée à 10 % dans solvant.

2.6. Activité biologique

2.6.1. Activité antioxydante

- **Principe**

L'oxydation des lipides contenus dans les aliments est responsable de la formation des mauvaises odeurs et des composés chimiques indésirable nocifs pour la santé humaine. Les antioxydants sont utilisés dans les industries alimentaires pour retarder le processus d'oxydation. La méthode du DPPH, consiste à utilisé un radical stable, le 2,2-diphényle -1-picrylhydrazyl, dans un solvant organique généralement le méthanol [81].

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques [82]. Il possède un électron non approprié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire [83].

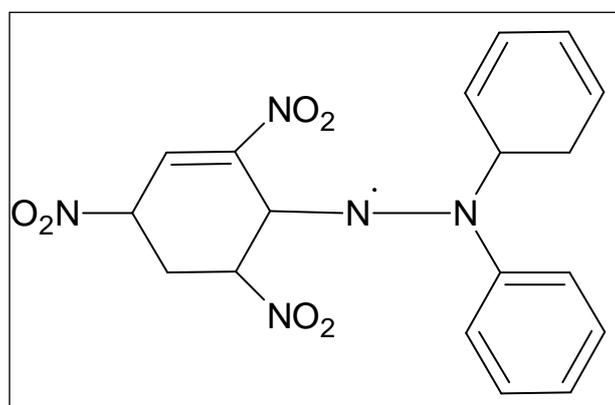


Figure 2.5: Structure chimique du radical libre DPPH[•].

2.6.1. Principe de la méthode : réaction entre le radical libre DPPH et l'antioxydant

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 514nm provoqué par la présence des extraits [84]. Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydant, se transforme en DPPH -H ((1,1-diphényle-2-(2, 4,6-trinitrophenyl)hydrazine avec perte de son absorbance caractéristique à 517nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu alcoolique, qui permet une bonne solubilisation de la plus part des antioxydants ce test est très utilisé, car il est rapide et facile.

2.6.2. Dosage d'huile essentielle en utilisant une solution de DPPH

Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 0.093g de DPPH dans 300ml d'éthanol, différentes concentrations de solutions d'échantillons et de contrôle sont ajoutées à 01ml de la solution de DPPH. Après incubation de 30min à l'obscurité et à température ambiante, et les absorbances sont mesurés à 517nm.

- **Calcul du pourcentage d'inhibition I%**

$$I\% = \frac{A_b - A_{éc}}{A_b} * 100 \dots\dots\dots (Eq.2.6)$$

✓ **A_b** : Absorbance de la solution DPPH sans l'échantillon (contrôle négatif).

- ✓ $A_{éc}$: Absorbance de la solution DPPH en présence de l'échantillon.

La concentration d'inhibition minimale (IC_{50}) est estimée par l'extrapolation à $I = 50\%$ en traçant la courbe $I\% = f(\text{concentrations})$.

2.7. Activité antibactériennes

C'est une méthode in-vitro du pouvoir antibactérien des composés ou la technique utilisée est celle du contact direct, qui contient de la méthode des disques.

Nous avons testé l'activité de notre huile essentielle par la méthode de diffusion par disque [85].

2.7.1 Origine et choix des souches bactériennes

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes impliquées fréquemment dans la contamination et l'altération des denrées alimentaires.

Ces souches entretenues par repiquages sur gélose nutritive favorable à leur croissance à l'obscurité pendant 24 à 37°C.

2.7.2. Préparation de l'inoculum

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24h) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide. Les conditions de stérilisation doivent être respectées, à savoir : ne pas dépasser les 20cm du bec bunsen et utiliser du matériel stérile [86].

2.7.4. Préparation des dilutions de l'HE

Pour solubiliser l'huile essentielle, on a utilisé le diméthylsulfoxyde (DMSO) qui ne possède aucune efficacité antimicrobienne [87].

Les huiles essentielles sont généralement soluble dans l'eau, ce qui rend leur étude biologique et pharmacologique difficile, pour résoudre ce problème plusieurs auteurs suggèrent l'utilisation des solvants organiques comme l'acétone, DMSO ou l'utilisation des produits émulsifiants (tension actif comme le tween 20 ou tween80) pour aider l'huile essentielle de se solubiliser dans le milieu de culture [88].

2.7.5. L'antibiogramme

L'antibiogramme repose sur le principe de la compétition entre la croissance d'une bactérie et la diffusion d'un antibiotique dans un milieu gélosé à partir d'un support papier pré imprégné. Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques.

La réalisation pratique de l'antibiogramme est résumée dans la figure 2.6 :

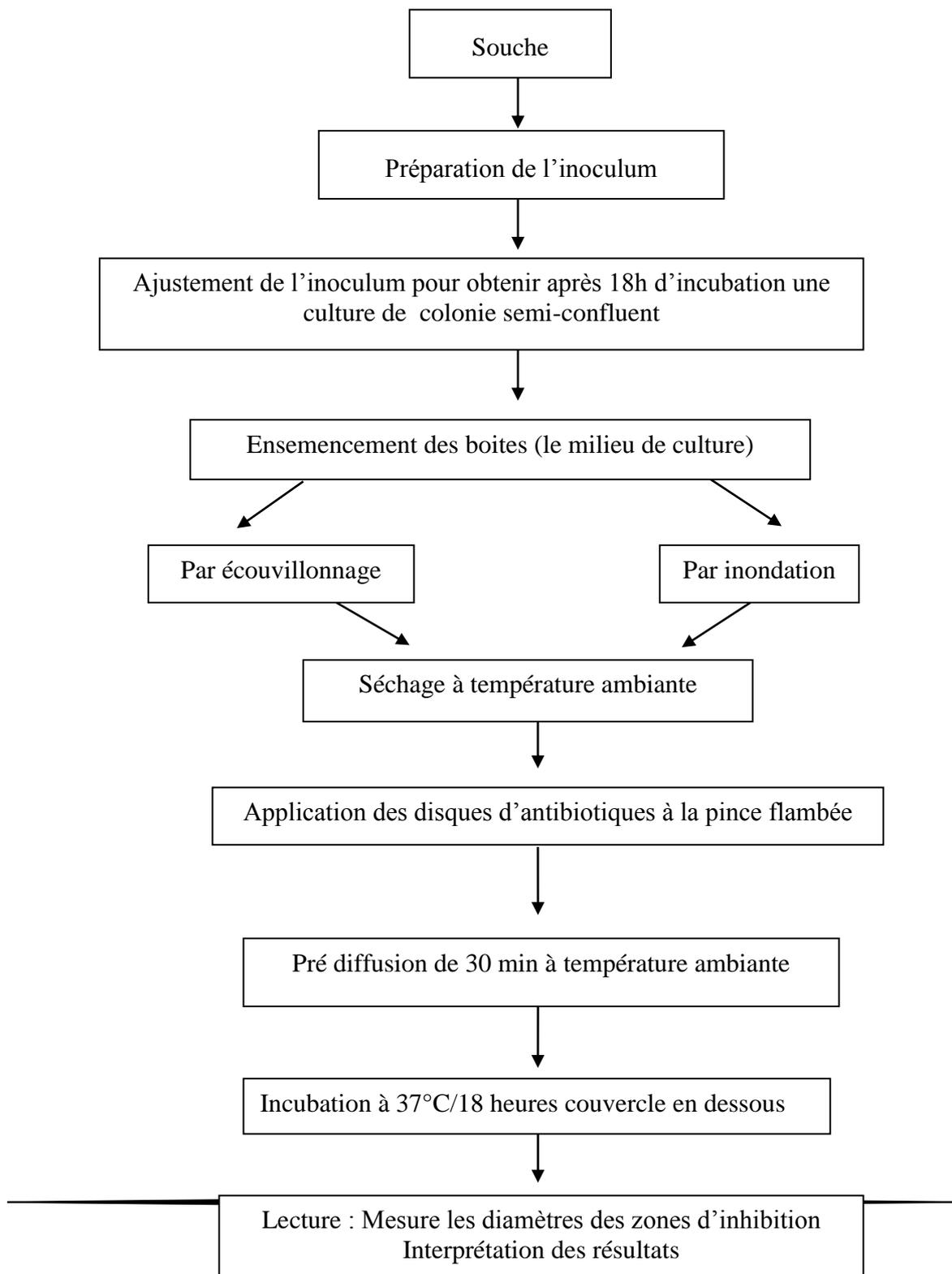


Figure 2.6: Réalisation pratique de l'antibiogramme par diffusion [89]

2.7.6. La méthode de l'aromatogramme

Appelée aussi la méthode de diffusion des disques, la méthode de l'aromatogramme est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne de l'HE à tester à cause de son large utilisation par les chercheurs [90].

- **Principe**

La technique de l'aromatogramme utilise des disques de papier buvard imprégnés d'une concentration donnée de l'huile testée. Ces disques sont déposés à la surface d'une gélose spécifique coulée au boîtier de pétri uniformémentensemencée d'une suspension microbiennes. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien de l'HE sur la souche étudiée.

- **Protocole expérimentale**

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé en surfusion dans des boîtes de Pétri. On laisse solidifier sur la paillasse, prenez la solution de l'inoculum et dans chaque boîteensemencé la solution uniformément (faire cette étape pour chaque souche bactérienne), laissées sécher pendant 5 min. Puis, l'huile essentielle a été préparée à différentes concentrations d'après une solution mère de 1 g/ml avec le DMSO. Ensuite, des disques stériles en papier (0.9cm de diamètre) sont imprégnés avec différentes concentrations (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 g/ml) d'HE, et le solvant utilisé (DMSO) en mettant en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'huile essentielle jusqu'à l'imprégnation totale du disque, puis déposer sur la gélose.

Enfin, les boîtes de Pétri étaient maintenues pendant 10 min à une température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24h [91].

Chapitre 3 : Résultats et discussions

Ce chapitre a été dédié à l'étude des deux échantillons de l'huile de *Salvia officinalis* cité précédemment (huile de mois de Mars, Avril). Cela en menant une analyse sur leur différente caractéristique, on parle encore sur le rendement de cette huile et leurs composés d'après les résultats obtenus par l'analyse CG/SM. Pour l'étude biologique de notre huile on a fait une étude sur le pouvoir antioxydant et antibactérien.

3.1. Cinétique d'extraction et rendement en l'huile essentielle de la sauge

La durée d'extraction est le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Lors de cette étude, un suivi de la cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'huile essentielle.

Tableau 3.1 : les paramètres de l'étude cinétiques

Le mois de la récolte	La masse (g)	Le temps (h)
Mars	60	2
Avril	60	2

Cette étude a pour but d'extraire le maximum d'huile et pour optimiser le temps de cette extraction.

Le suivi de la cinétique d'extraction de l'HE indique que le rendement augmente en fonction du temps puis il tend à se stabiliser à partir de 2 deux heures, ici on remarque une augmentation du rendement avec une façon très faibles. On estime donc que le temps optimum de cette hydrodistillation est d'environ de 02 heures. Le résultat est représentée comme suite (**Figure 3.1**).

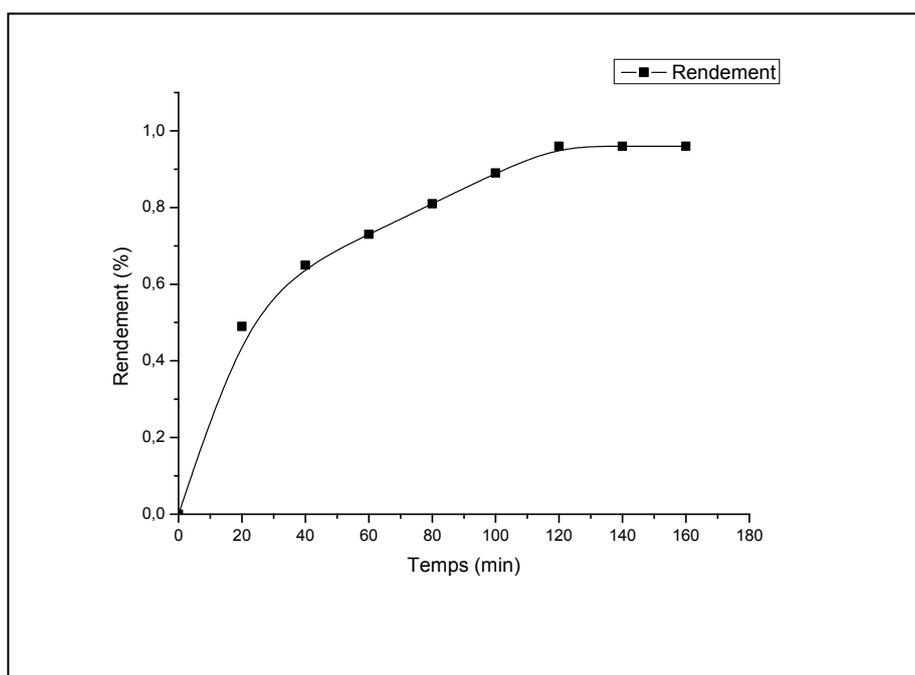


Figure 3.1 : L'évolution du rendement en huile essentielle de *la sauge officinalis* en fonction du temps par hydrodistillation (mois de Mars).

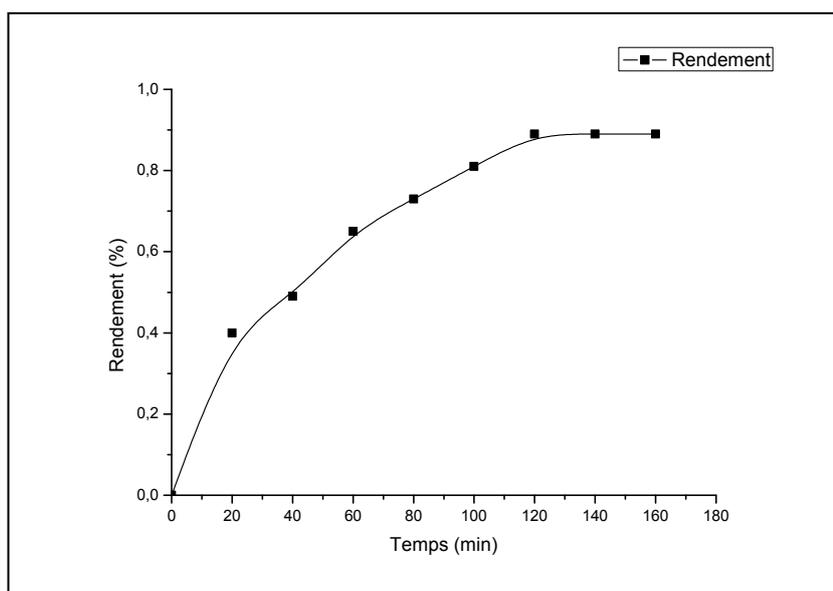


Figure 3. 2: L'évolution du rendement en huile essentielle de *la sauge officinalis* en fonction du temps par hydrodistillation (mois d'Avril)

Le rendement en huile essentielle obtenue par notre étude atteint un maximum de 0,96 %. En effet, Bouaziz et al., (2009) en Tunisie ou ils ont notés un rendement de 0,72% , de même les résultats rapportés par Rasmy et al., (2012) en Egypte :le rendement atteint de 1,2% et un rendement de 0,46% obtenue par Hussain et al.,(2011) à partir d'un échantillon de *Salvia officinalis* provenant du Pakistan. Le tableau suivant résume le résultat obtenu pour chaque étude :

Tableau 3.2: Rendement en HE de la sauge suivant les régions

Equipe	[92]	Notre étude	[92]	[92]
Région	Egypte	Ain Defla	Tunisie	Pakistan
Année	2012	2019	2009	2011
Rendement (HE) (%)	1.2 %	0,96%	0,72 %	0,46 %

Cette variation dans le rendement attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la technique d'extraction mais également à la période de la récolte de la matière végétal, de cycle végétatif et de la nature de l'organe végétal [93]

Ainsi le taux de thujone de *Salvia officinalis* présente variété de 26% pour une récolte de printemps et de 51% pour récolte d'automne [94].

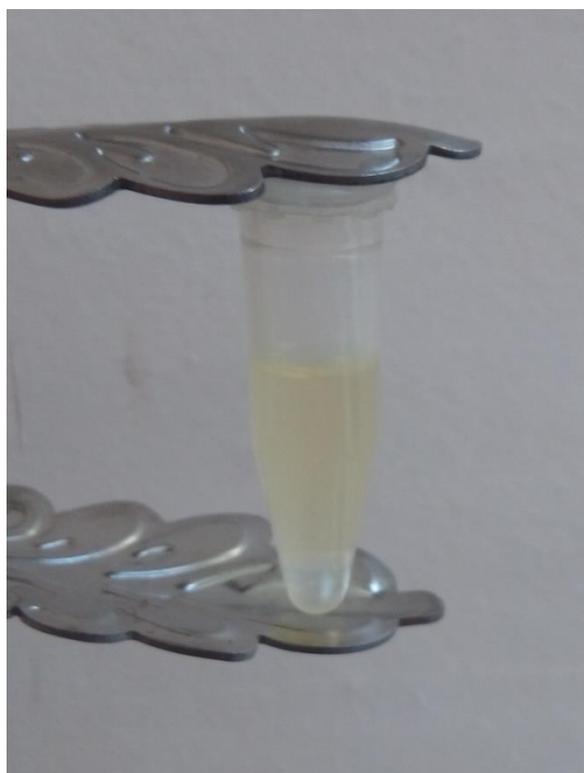


Figure 3.3 : Huile essentielle de la sauge

La valeur trouvée d'après cette étude (pourcentage) on peut être considéré comme une valeur acceptable pour un huile essentielle, qu'en faire une comparaison avec d'autres huiles essentielles (*la lavande stéchade*) et de l'espèce étudié lui-même. Ces valeurs on peut les-indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 3.3: Les rendements des HE de *la sauge officinalis* des régions différents [95]

Payes	France	Hongrie	Portugal	Iran
Rendement(%)	2.05	2.5	2.9	0.9

Tableau 3.4: Les rendements des HE de la lavande des régions différents [96]

Pays	Italie	Turquie
Rendement (%)	2.7	2.16

3.2. Taux d`humidité

Les taux d`humidité obtenus de la plante étudiée varient entre 42.86% et 33.33% selon la plante (le temps du récolte de l`espèce), cela signifie que la plante récolté au mois de mars présente une teneur en eau plus que c`elle a trouve dans l`espèce récolté au mois d`avril.

Les graphes ci-dessus montrent la teneur en eau dans la plante pour deux (02) récoltes :

Où la plante récolté au mois de Mars présente une teneur en eau environ de la moitié du poids frais de la plante, par contre la plante fauché au mois d`Avril présente une proportion considérable en eau 42.86% donc un tiers du poids frais.

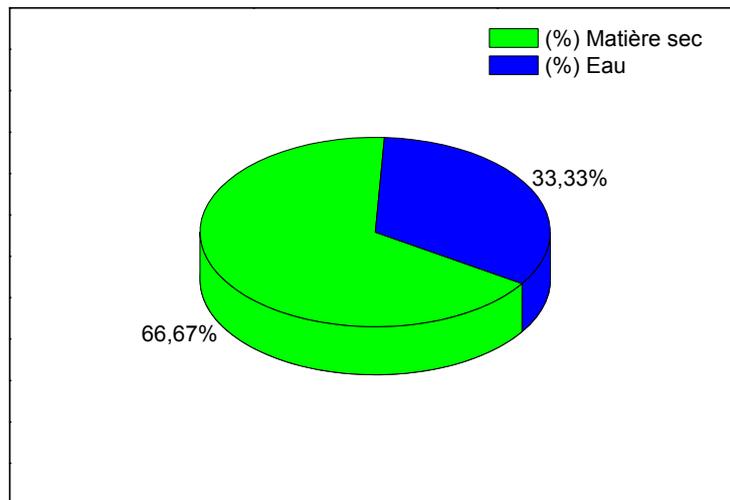


Figure 3. 4 : Taux d'humidité de l'espèce « mois de Mars »

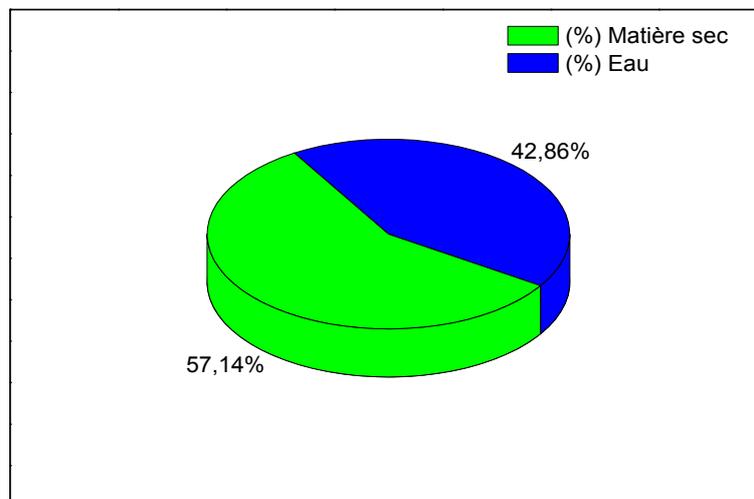


Figure 3. 5: Taux d'humidité de l'espèce « mois d'Avril »

Les études bibliographiques montrent que le taux d'humidité des feuilles de *la sauge officinale* varie d'une région à l'autre comme par exemple les feuilles de la sauge officinale de Maroc qui ont un taux d'humidité de 38.87 % pour la sauge de Fès et 53.04 % pour la sauge de Taounate [97].

La différence remarquable est due à de nombreux facteurs, mentionnant par exemple : le climat, le sol, l'altitude, la température,....

3.3. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques d'HE

3.3.1. Caractéristiques organoleptiques

L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la caractérisation de l'huile essentielle. Dans cette étude, trois 03 critères sont considérés pour évaluer la qualité organoleptique classées dans le tableau (3.5) comme:

Tableau 3.5 : Caractéristiques organoleptique de l'HE de *Salvia officinalis*

<p>Propriétés Organoleptiques d'HE (mois de Mars)</p>	<p>Aspect : liquide mobile. Couleur : jaune claire. Odeur : caractéristique.</p>
<p>Propriétés Organoleptiques d'HE (mois d'Avril)</p>	<p>Aspect : liquide mobile et limpide. Couleur : transparent. Odeur : caractéristiques.</p>

3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques

- **pH**

Après l'utilisation de papier-pH en lire une valeur de pH de l'huile essentielle qui est égal à un pH de 4. Ce qui signifie que notre huile essentielle présente un caractère acide.

- **Densité**

La formule de la densité est donnée par :

$$d = \frac{m_{HE}}{V_{HE}}$$

m_{HE} : la masse de notre HE en g ;

V_{HE} : le volume en ml (même volume que l'on pesé) ;

Pour le calcul de la densité de notre huile essentielle :

$$d = 0.981$$

La densité d'huile essentielle est inférieure de l'eau (1).

La même valeur a été trouvée pour l'huile essentielle obtenue pour les deux (02) mois du récolte.

- **L'indice de réfraction**

La valeur est obtenue d'après la mesure qui est effectuée à l'aide d'un réfractomètre, elle est trouvée égale à 1.467.

L'indice de réfraction est considéré comme un critère de la pureté, également utilisé pour identifier les huiles. Chaque substance a son indice de réfraction. Pour cela on peut dire que l'indice de réfraction varie selon la composition chimique, la masse volumique, et augmente avec l'instauration ou la présence de fonctions secondaires [98].

- **L`indice d`acide**

L`indice d`acide de notre huile essentielle trouvée est : 1.40

L`indice d`acide donne une idée sur le taux d`acide libres. En réalité, une huile essentielle fraîche contient très peu d`acide libre [99]. De même, un indice d`acide inférieur à 2 est un indicateur d`une bonne conservation

- **L`indice de saponification**

L`indice de saponification d`un corps gras est d`autant plus élevés que la chaîne carbonée des acides gras courts [79].

Le résultat d`I.S de l`huile obtenue est : 280.5.

- **L`indice d`ester**

Il faut d`abord déterminée l`indice d`acide et l`indice de saponification et calculer l`indice d`ester, qui admet une valeur équivalent à 279.1

Plus l`indice d`ester est élevé plus la quantité d`HE sera mieux [100].

Les résultats physicochimique de l'HE de l'espèce étudiée, et celles qui sont obtenues de l'étude menée par [92] sont reportées dans (**Tableau3.7**) [101].

Tableau3.6: Caractéristiques des analyses physico-chimiques d'HE de *Salvia officinalis*

Caractéristiques d'HE	Densité à T ambiante	I.R à T ambiante	I.S	I .A	I.E
HE de notre étude	0.981	1.467	280.5	1.40	259.93
HE obtenue par [92]	0.912	1.462	/	/	/

3.3. Analyse par CG/SM

Les composés majoritaires trouvées dans l'huile essentielle sont 21 composés les plus dominant dans notre huile présentent dans le **tableau 3.7**:

Tableau 3.7 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*

Mois et TR Composés	Mois de mars		Mois d'avril	
	TR (min)	(%)	TR (min)	(%)
Thujene	6.05	0.56	6.05	0.48
α -Pinène	6,186	3,75	6,155	2,63
Camphène	6,531	6,77	6,484	5,16
Sabinene	7,171	4,22	7,119	4,29
β -Pinène	/	/	7,340	1,90
Para-cymène	/	/	8,402	0,77
Eucalyptole	/	/	8.66	7.6
γ -Terpinène	/	/	9,115	1,29
α -Thujone	10.46	7.39	10.54	9.91
Pinocamphone <cis>	11,942	0,75	/	/
Bornéol	12,087	2,58	11,867	3,30
Camphor	11.87	11.02	11.95	7.73
Thymol	12,358	0,18	/	/
Humulène -(1)	17,362	0,03	/	/
caryophyllene	18.07	3.73	18.08	2.02
Caryophyllée	20,848	0,07	17,633	0,05
Caryophyllène oxide	21,309	0,07	22,495	0,55
Viridiflorol	22 ,036	0,04	/	/
Limonène dioxyde 1	24,340	0,01	/	/
-1-Naphtalène propanol α	33,028	0,02	/	/
Bornyle acétate	/	/	14,704	0,55
Humulène oxide	/	/	22,076	0,5

Le chromatogramme obtenu lors de l'identification de l'huile essentielle a révélé la présence de 16 composés majoritaires.

D'après la banque de donnée intégrée dans le logiciel de traitement des chromatogrammes, nous avons pu identifier la majorité des substances présentées dans l'huile analysée, les composés les plus abondants dans notre espèce récoltée dans les mois de Mars et Avril sont respectivement : camphre (11,02%; 9,91%), α -Thujone (6,77 %; 5,16%) et Thujone (0,56 %; 0,48%).

Concernant les composés terpéniques on remarque que ces derniers deviennent non négligeables l'eucalyptol (8,66%), bornéol (0.5%), pour le reste des composés on peut dire que ces dernières ont des teneurs faibles compris entre 0.05% et 1.92% (**Tableau 3.8**).

Tableau 3.8 : La composition chimique des huiles essentielles

Composés	(%) Nos résultats	(%) [102]
Eucalyptole	8.66	3.2
α -Thujone	9.91(Avril)	36.74
β -Thujone	/	8.18
Camphor	11.02(Mars)	1.10
L-Linalool	/	2.94
Bornéol	3.30(Avril)	0.25
β - Pinène	0.37	1.90
Caryophyllène	3.73(Mars)	1.34

3.4. Activité biologique

3.4.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de notre huile de *Salvia officinalis* et de l'antioxydant standard (Acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH présente une variation des résultats. Ce qui implique une variation dans la réduction des radicaux libres.

Cette capacité de la réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

Pour l'antioxydant standard (Acide Ascorbique), le résultat obtenue est 19.73 [103], cette résultat est pour l'huile essentielle de fenouil.

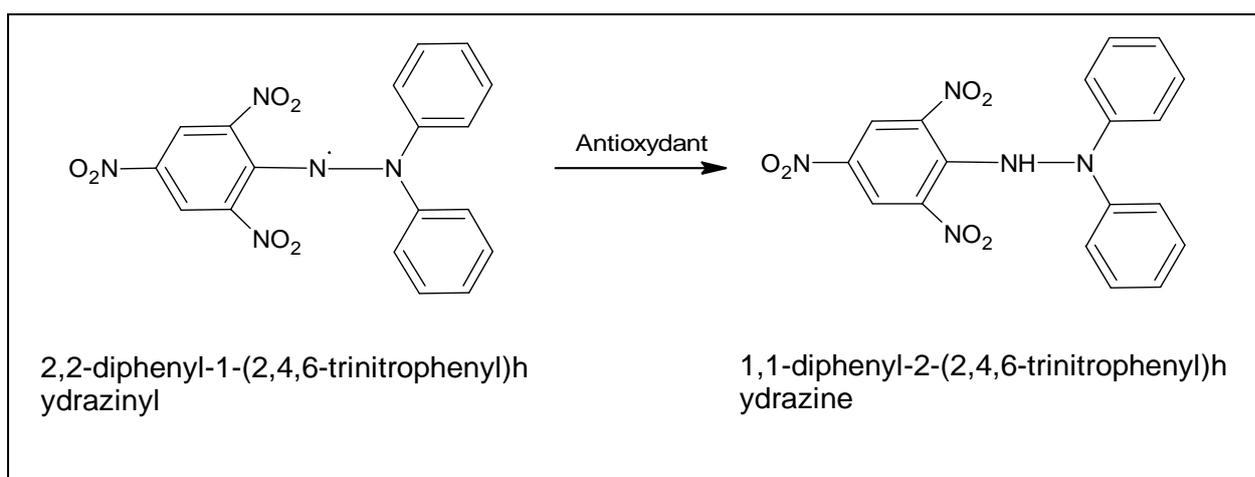


Figure 3.6: La réduction du radicale libre DPPH

Les résultats du pouvoir antioxydant de l'huile testé montrent que le pourcentage est supérieur à 80 % pour une concentration de 25 µL/ml.

Le graphique suivant montre le pourcentage d'inhibition de l'activité du DPPH en fonction de la concentration de l'HE de *Salvia officinalis*.

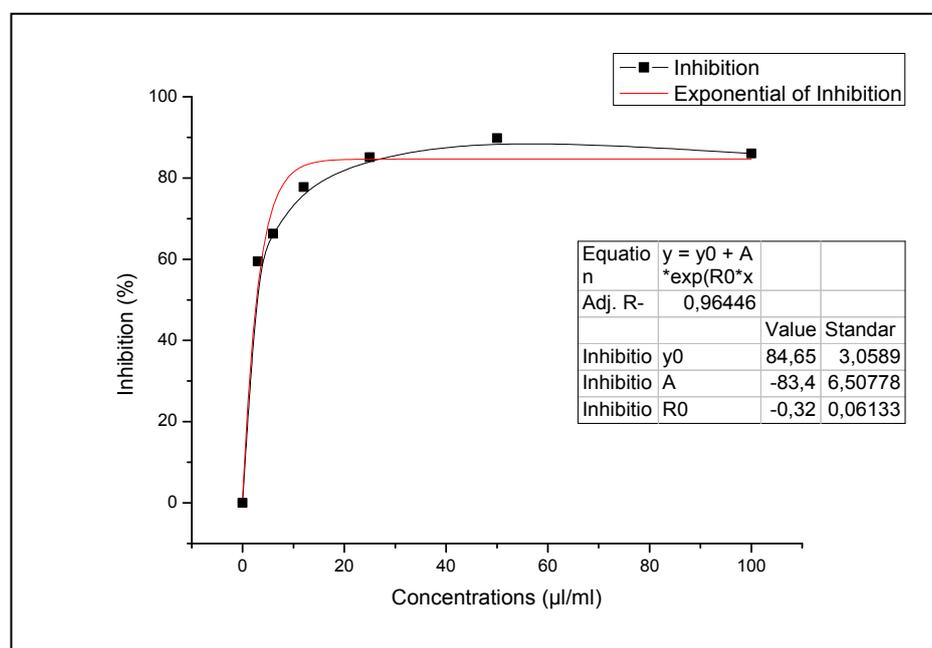


Figure 3.7 : Pouvoir antioxydant de l'HE de *Salvia officinalis*

Le résultat obtenu d'après l'étude de pouvoir antioxydant pour l'antioxydant standard est supérieure à celle trouvée par l'huile essentielle dont leur concentration inhibitrice $\approx 19.73 \mu\text{g/ml}$ et notre huile donne une valeur $\approx 0.365 \mu\text{g/ml}$. Cette valeur est moins que celle obtenue par l'acide ascorbique, pour cela on peut dire que notre huile essentielle présente une activité antioxydante plus efficace que celle de l'antioxydant standard.

• Détermination d'IC₅₀

L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

D'après ces résultats nous pouvons estimer graphiquement la valeur de IC₅₀ par extrapolation pour I = 50% qui correspond à une concentration de 0.3~ $\mu\text{L/ml}$.

Comme on peu déterminé cette valeur par l'utilisation de l'équation suivante :

$$Y = y_0 + A \cdot \exp(R_0 / x) \dots \dots \dots (\text{Eq.3.1}) [104]$$

D'où

- ✓ **Y** : présente la valeur d'inhibition = 50 ;
- ✓ **X** : présente la valeur de la concentration de notre HE ;
- ✓ **y₀** : 84.65 ;
- ✓ **A** : - 83.41 ;
- ✓ **R₀** : - 0.32.

3.4.2. Activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité inhibitrice a été effectuée par la méthode des disques (Aromatogramme). Les mesures des diamètres des zones d'inhibition ont pour but de mettre en évidence l'action d'HE sur les souches microbiennes testées.

A cet effet, une échelle de mesure de l'activité antibactérienne émise par [105], répartissant les diamètres des zones d'inhibition en 04 classes. On va les montrées dan le (Tableau 3.9)

Tableau3.9 : Les normes utilisées par [105]

Diamètre de la zone d'inhibition	Degrés de sensibilité des germes	Résultat
D < 8mm	Non sensible	(-)
8mm < D < 14mm	Sensible	(+)
15mm < D < 19mm	Très sensible	(++)
D > 20mm	Extrêmement sensible	(+++)

- **Résultats de l'antibiogramme**

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber croissance bactérienne *in-vitro*.

La représentation graphique des diamètres d'inhibition des bactéries étudiées vis-à-vis de différents antibiotique sont illustrés dans **la Figure 3.8**.

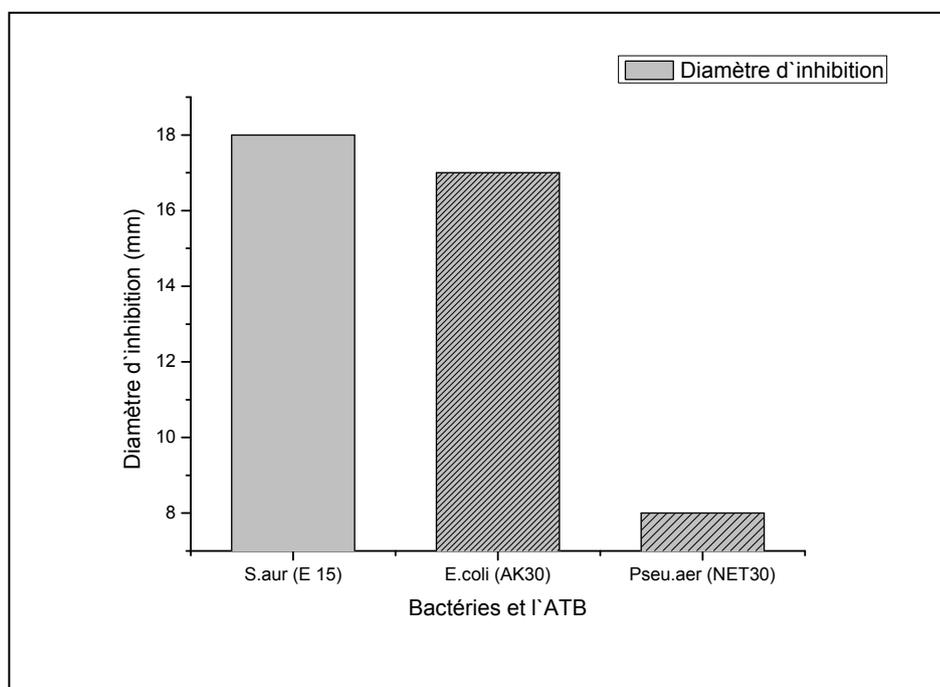
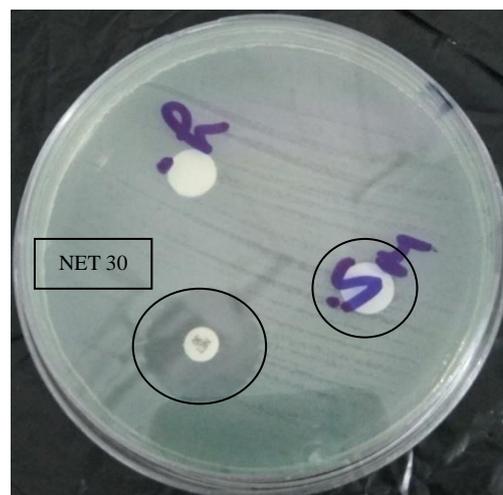


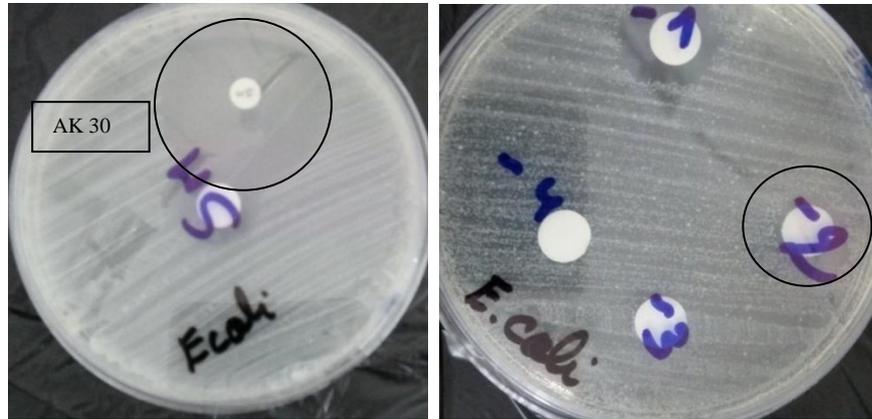
Figure 3.8: les diamètres d'inhibition en mm des souches testées vis-à-vis leur antibiotiques

Les diamètres d'inhibition selon [105] induites par les antibiotiques utilisées obtenus présentés dans le tableau suivant :

Tableau 3.10: Diamètres d'inhibition des ATB sur les souches bactériennes

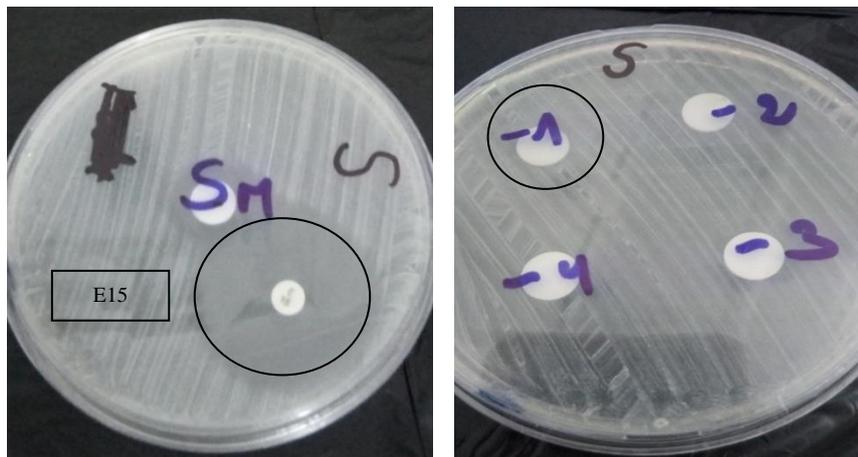
Souches bactériennes	L'antibiotique	Degrés de sensibilité des germes	Résultat
<i>Staphylococcus</i>	E15	Sensible	(+)
<i>Escherichia coli</i>	AK30	Très sensible	(++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NET 30	Sensible	(+)

*Pseudomonas aeruginosa*Figure 3. 9: Effet d'HE et l'ATB sur *Pseu.ae*



Escherichia coli

Figure 3.10 : Effet d'HE et l'ATB sur *E.Coli*



Staphylococcus aureus

Figure 3.11: Effet d'HE et l'ATB sur *S.aureus*

l'HE est révélés active contre les bactéries testées. un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induite une zone d'inhibition de $D \geq 8\text{mm}$ [105].

L'activité de l'huile essentielle varie d'une souche à une autre, cette variation peut observée dans les diamètres des zones d'inhibition qui montre que certaines souches sont plus sensibles que l'autre.

D'après le classement effectué par [105], nous remarquons que *E. Coli* est la souche la plus sensible a l'huile essentielle par rapport aux autre souches bactériennes, car le diamètre de la zone d'inhibition était le plus grand (il est de l'ordre de 15mm). La sensibilité de *S.aureus* (D=12mm) était la même que celle *Pseu.aer* (D=12mm).

Selon [105], deux principaux facteurs peuvent influencer les résultats d'un teste de l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle :

La composition et la solubilité d'HE ;

Le microorganisme et la vitesse de sa croissance.

Conclusion Générale

Un grand nombre de plantes médicinales contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles de ces plantes.

Ce travail consiste à l'étude de l'extraction et l'activité biologique de l'huile essentielle de la partie aérienne de la plante *Salvia officinalis L.* cultivée de la région El-Amra (Ain Defla) pendant deux mois (Mars et Avril).

Après l'extraction par hydrodistillation, l'huile essentielle obtenue est de couleur jaune claire à incolore avec une odeur piquante et un aspect liquide, son rendement est de l'ordre de 0.96%. L'analyse de la composition chimique de cette huile a été réalisée par application de la technique chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM), qui a permis de séparer vers 150 composés pour la plante cultivée du mois de mars et 98 composés pour celle d'Avril, et les constituants majoritaires sont respectivement camphre et thujone.

De l'activité antibactérienne évaluée, il ressort que les huiles essentielles présentent un pouvoir antibactérien important sur les germes pathogènes étudiés. L'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne et de la concentration du produit testé. Parmi les souches testées, une d'entre a montré très sensible vis-à-vis de notre huile essentielle qui est *Escherichia coli ATCC 25922*.

De pouvoir antioxydant étudié, notre huile essentielle a présenté une activité antioxydante plus efficace par rapport à un témoin standard « l'Acide ascorbique » avec une valeur de IC50 égal à 0.372 μ L/ml.

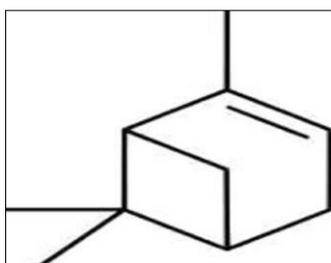
D'après cette étude, nous pouvons dire que, l'huile essentielle de cette plante donne un taux du rendement intéressant par rapport aux celles obtenues par les autres études. On peut dire que le rendement de cette huile peut atteindre des valeurs élevées que celle trouvées par l'utilisation de la méthode d'hydrodistillation, à partir de l'addition d'autres paramètres et la variation de les conditions opératoires. En effet, la variété de la nature, le climat, la récolte le mode de fabrication (extraction) et le stockage, tout ces variables influent sur le rendement d'huiles essentielles.

Concernant l'activité biologique de notre huile, et d'après le résultat que nous avons trouvés on peut dire que cette huile présente un pouvoir antioxydant et une activité antibactériennes très intéressantes, surtout d'après les problèmes qu'on a remarqués dans l'alimentation (conservation des aliments), et l'émergence de microorganismes pathogènes qu'il pose un problème de santé publique particulièrement préoccupant.

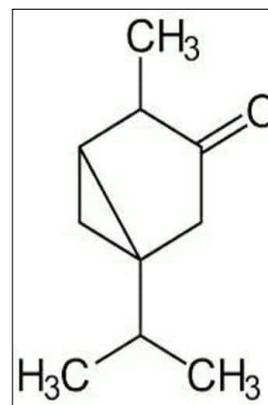
Il est intéressant d'extraire les principes actifs de la plante et de tester leur pouvoir antibactérien sur un large panel de souches bactériennes et fongiques devenues à l'heure actuelle multi-résistantes aux antibiotiques.

Chapitre 1

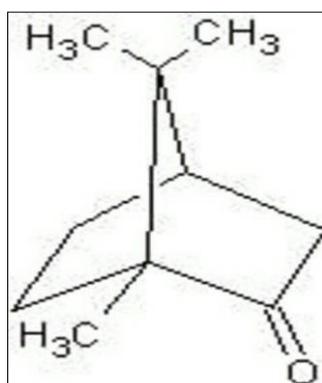
Quelque composés majoritaires dans l'HE de la sauge



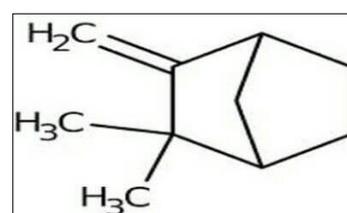
α -Pinène (3.5%)



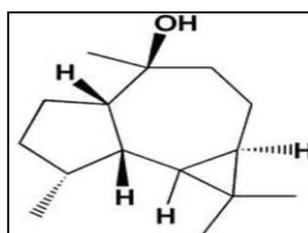
α -thuyone (24.88%)



Camphène (3.14%)



camphre (16.03%)



Viridiflorol (7.87%)

Chapitre 1

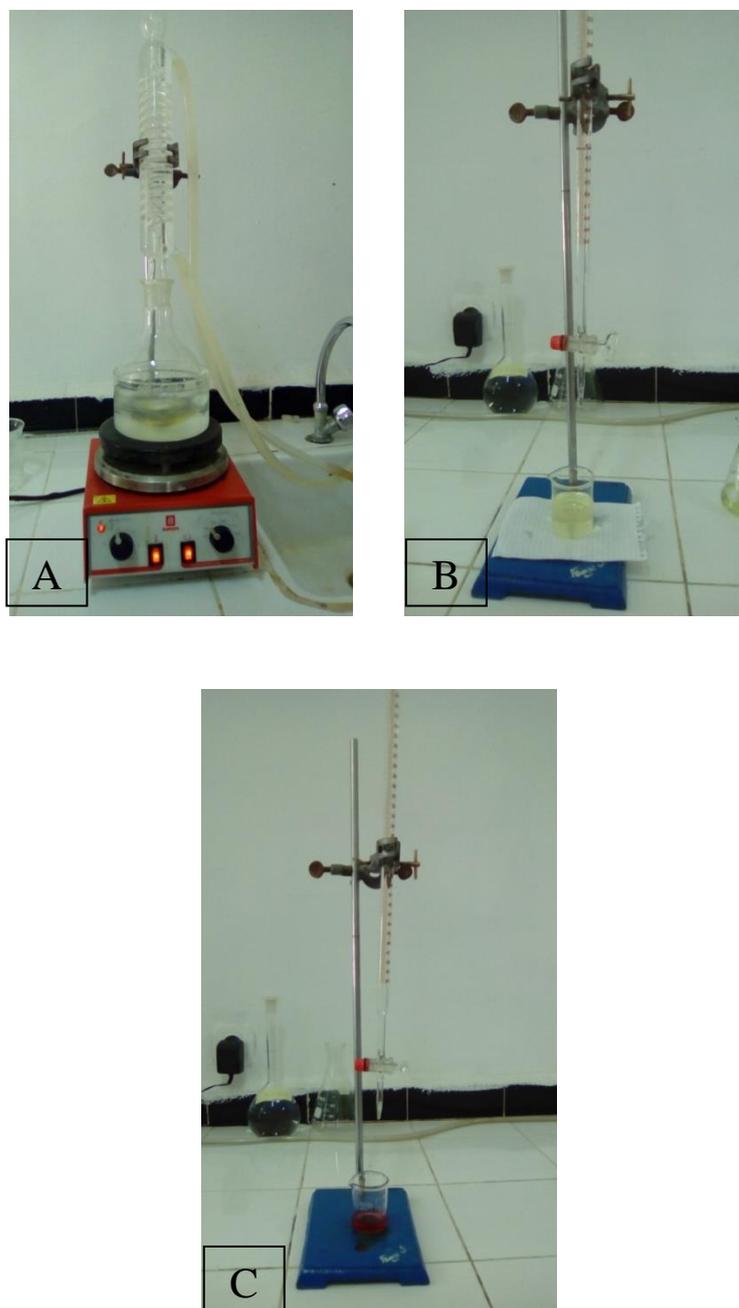
Tableau 1.1 : Les principales constituantes biochimiques de l'huile essentielle de sauge officinale [24].

Constituante biochimiques	Quantité (%)
Cétones terpéniques	cis-thujone 28,82 camphre 15,07 trans-thujone 3,78
Mono-terpène	α -pinène 6,45 camphène 5,73 limonène 5,05 myrcène 2,86 p-cymène 1,99 β -pinène 1,58 γ -terpinène 1,50
Oxydes terpéniques	1,8-cinéole 8,44
Monoterpénols	Bornéol 2,12 Linalol 1,36 Terpinèn-4-ol 0,65 α -terpinène 0,30
Sesquiterpéniques	α -humulène 4,21 β -caryophyllène 2,97
Sequiterpénols	Viridiflorol

Tableau 1.3: Fraction de polysaccharides et autres composés identifiés dans les feuilles de *Salvia officinale* [29].

Constituants identifié	Quantité (%)
<u>La Fraction de polysaccharides</u>	30,4
	17,9
Arabinose	3,0
Galactose	15,5
3- <i>o</i> -méthylgalactose	8,3
Glucose	7,6
Mannose	2,6
Xylose	6,7
Fructose	8,0
Rhamnose	
Acides uronique	1,7
<u>Autres</u>	9,4
	9,8
Groupements methoxyls	
Protéines	
Matières inorganiques	

Chapitre 2



Photos2.1 : Montage de la détermination de l'indice de saponification A et Be et de l'indice d'acide C.

Chapitre 3

Tableau 3.1: Pourcentage d'inhibition aux doses de l'HE de *Salvia officinalis*.

Concentration de l'HE (µL/ml)	% Inhibition
3	59.47
6	66.29
12	77.77
25	85.09
50	89.83
100	86.07

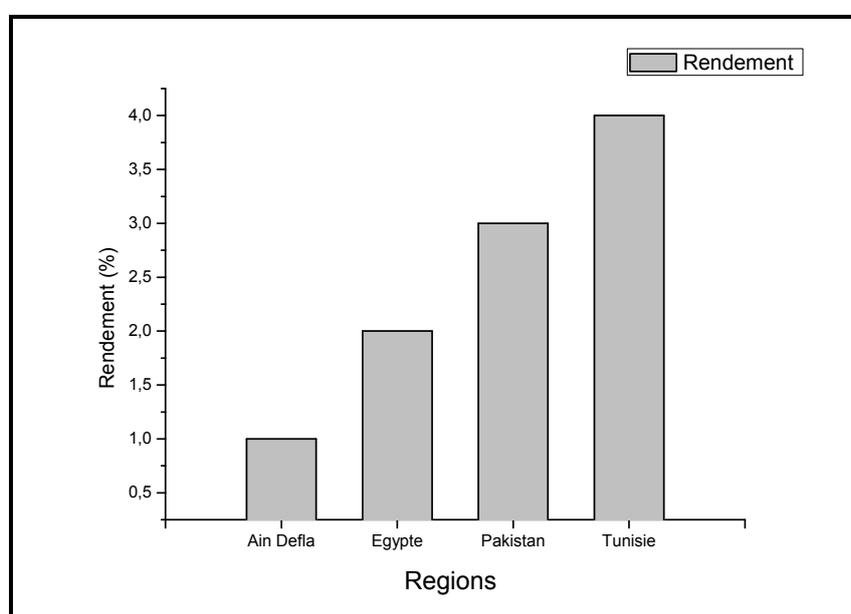


Figure 3.2 : Le rendement en huile essentielle de *Salvia officinalis* originaire d'Ain Defla et dans quelques Pays.

Chapitre 3

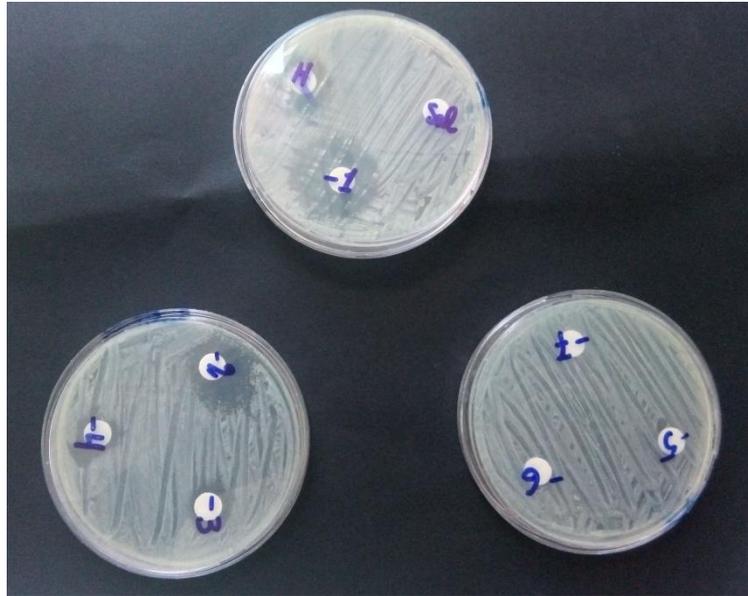


Figure 3.3 : Effet d'HE sur *Echerichia coli*.

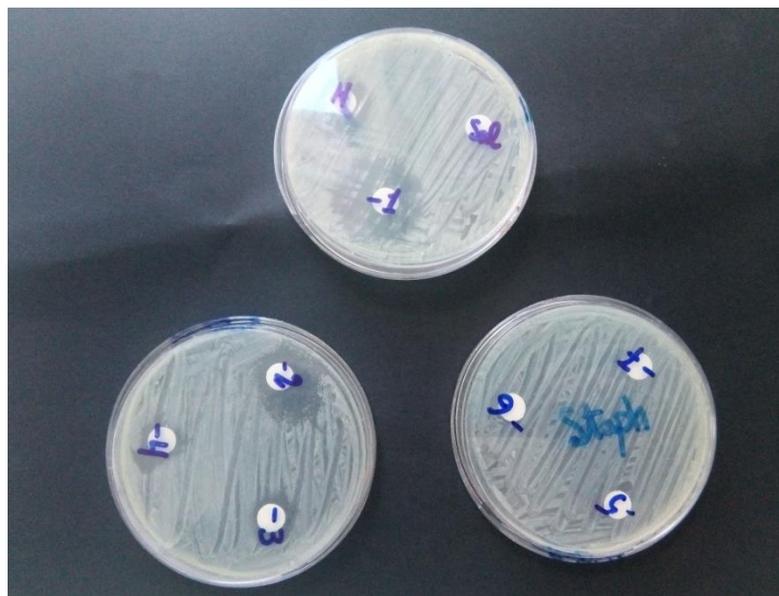


Figure 3.4 : Effet d'HE sur *staphylococcus aureus*.

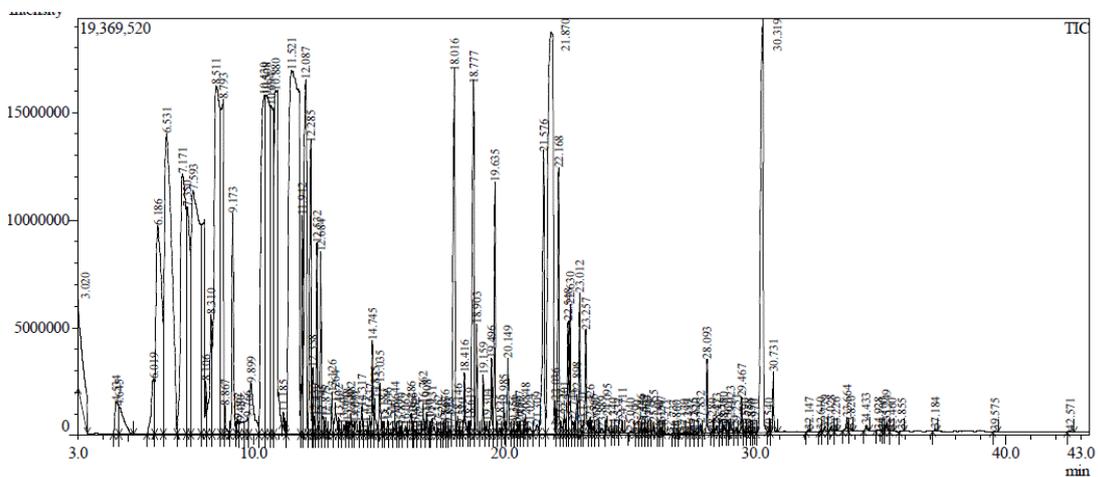


Figure 3.4 : La chromatogramme d'huile obtenue par CG/SM
mois de Mars.

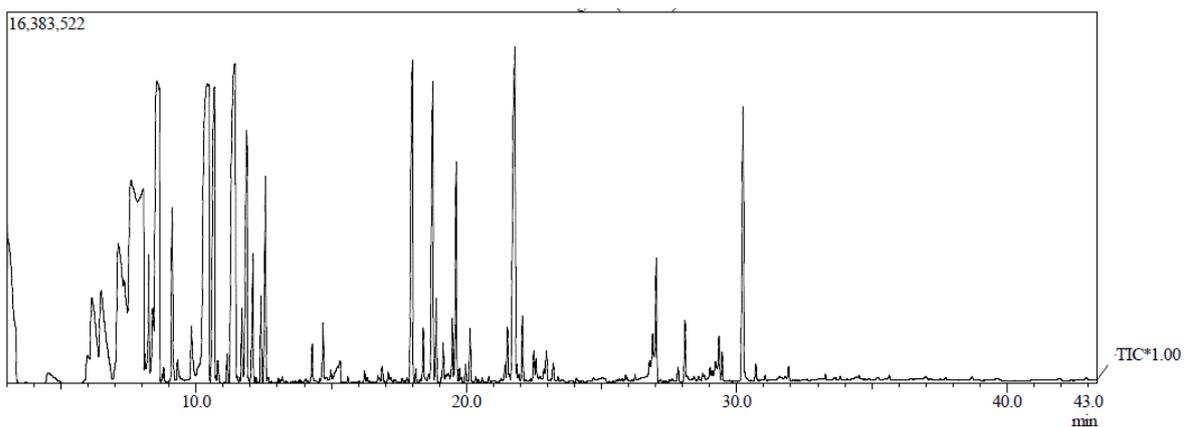


Figure 3.5 : Le chromatogramme d'huile obtenue par CG/SM mois d'Avril.

Références bibliographiques

- [1] Schauenbergue P. et Paris F., Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Detachaux et Niesilté. (2010).
- [2] Sofowara A., Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Ed Karthala, (2010).
- [3] Roulier G., Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes, Ed Dangles, France, (1992).
- [4] Bassene E., Initiation à la recherche sur les substances naturelles : Extraction-Analyse-Essais biologiques, Presses universitaires de Dakkr, (2012).
- [5] Small E., Calting P.M., les cultures médicinales canadiennes, NRC research press, (2000).
- [6] Garreta R., des simples à l'essentiel : de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales, presses universitaire du Mirail, (2007).
- [08] Gezengel J-M., Orecchioni A-M. Le préparateur en pharmacie. 2^{ème} édition Ed. Lavoisier, Paris, (2013).
- [09] Larousse médicale. 3^{ème} Ed Larousse, Boulogne, (2001).
- [10] Lorrain E. 100 questions sur la phytothérapie. Ed la boétie, Italie, (2013).
- [11] Djerroumi A. et Nacef ., 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed palais du livre, (2004).
- [12] Maksimovic M., DAnijela., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., et Sonja S.Y.
Effet of the environmental condition essential oil profile in two dinaric Salvia species: Salvia brachydon Vandas and Salvia officinalis L. Biochemical Systematic and Ecology, (2007).
- [13] Avato P., Fortunato I. M., C Ruta. et Elia D. Glandular hairs and essential oils in micropropagated plantes of Salvia officinalis L. Plant Science (2005).
- [14] Palese R. et Aexhmann D. . Labiées : Rosmarinus, Salvia. In « la grande flore en couleur de Gaston Gounier ». Ed : BELIN, (1990).
- [15] Pelikan W. L'homme et les plantes médicinales. Ed : Centre Triade, (1986).
- [16] Duke J A., Bogenschutz-Godwin du cellier M J., et Duke P A K, Médicinal Herbs. Edition CRC Press LLC., (2002).

[17] Jean-Michel, plantes médicinales et huiles essentielles : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles (2012).

[18] Radulescu V., Chiliment S. et Operea E., Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*. Journal of Chromatography A.,(2004).

[19] Miladinovic D., and Miladinovic I L. Antimicrobial activity of essential oil of Sage from Serbia. Physics, Chemistry and Technology, 2001.

[20] Duke J A. Medicinal Herbs. Ed CRC Press LLC, 2002.

[21] Lu et foo L. Y, Antioxidant activities of polyphenols from Sage (*Salvia officinalis*) (2001).

[22] Ninomiya K., Matsuda H., Nishida N., Kasajima N., Yoshino T., Morikawa T. et Yoshikawa M, Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (2004).

[23] Santos-Gomes P. C., Seabra R. M., Andrade P. B. et Fernandes-Ferreira M, Phenolic antioxidant compounds produced by In vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L). Plant Science, (2002).

[24] Amin T. A. ET Hamza A.A , Hepatoprotective effets of Hibiscus, Romarinus and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. Life Sciences, (2005).

Bailly F., Queffelec C., Mbemba G., Mouscardet J. F. et Cotelte P, Synthesis and

HIV-1 integrase inhibitory activities of caffeic acid dimers derived from *Salvia officinalis*. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (2005).

[25] Lima C.F., Carvalho F., Fernandes E., Bastos M. L., Santos-Gomes P.C., Fernandes-Ferreira M. et Pereira-Wilson C. Evaluation of toxic/protective effects of the essential oil of *Salvia officinalis* on freshly isolated rat hepatocytes. Toxicology Vitro, (2004).

[26] Santos-Gomes P. C., Seabra R. M., Andrade P. B. et Fernandes-Ferreira M. (2002).

Amin T.A. et Hamza A.A (2005).

[27] Lu et Foo L.Y, Polyphenolics of *Salvia*. Phytochemistry Review, (2002)..

[28] Ebringerova A., Kardosova A., Hromadkova Z. et Hribalova V. Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. Fitoterapia, (2003).

[29] Capek P., Hribalova V., Svandova E., Ebringerova A., Sasinkova V. et Masarova J. Characterization of immunomodulatory polysaccharides from *Salvia officinalis* L. international Journal of Biological Macromolecules, (2003).

[30] Hohmann et J., Redei D., Mathea I. et Blunden G. Phenylpropanoid glycosides and diterpénoides from *Salvia officinalis*. *Biochemical Systematic and Ecology*, (2003).

[31] Lu et foo L.Y. (2001).

Bailly F., Queffelec C., Mbemba G., Mouscardet J.f, (2005).

[32] Tildesley N. T. J., Kennedy D. O., Perry E. k. Ballarde C.G., Salvelev S., Wesnes K.A. et Shholeya A.B., *Salvia lavandulaefolia* (Spanish sage) enhances memory in health young volunteers. *Pharmacology, Biochemistry et Behavior*, (2005_a).

[33] Abu-Shanab B., Adwan G., Abu-Safia D., Jarrar N. et Adwan K. Antimicrobial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. *Turkish journal of Biology*, (2004).

Radulescu V., Chiliment S. et Oprea E. (2004).

[34] Pereira R.S., Sumita T.C., Furlan M.R., Jorge A.O.C. et Ueno M. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Revista de Saude Publica*, (2004).

[35] Capek P. et Hribalová V. Water-soluble polysaccharides from *Salvia officinalis* L.

Possessing immunomodulatory activity. *Phytochemistry*, (2004).

Kamatou G.P.P., Viljoen A.M., Gono-Bwalya A.B., Van ZYL R.L., Vuuren V.S.F., Lourens A.C.U., Baser K.H.C., Demirci B., Lindsey K. L., Staden V.J. et Steenkamp P. The In vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *Journal of Ethnopharmacology*, (2005).

[36] Amin T.A et Hamza A.A. (2005).

Lima C.F., Andrade P.B., Seabra R.M., Fernandes-Ferreira M. et Pereira-Wilsona, The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, (2005)

[37] Leclerc H. Les antisudoraux. In «le précis de phytothérapie par les plantes Françaises ». Ed : MASSON,(1994)

Radulescu V., Chiliment S. et Oprea E. (2004).

[38] Eidi M, Eidi A. et Zamanizadeh H. Effect of *Salvia officinalis* L. leaves on serum glucose and insulin in healthy and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, (2005).

[39] Bezanger-Beauquesne I., Pinkas M., et Trotin F. *Plantes médicinales des régions tempérées*. Ed : MALOINE, Paris, (1990)

[40] Mohammadi M., AKhoudzadeh S. et Noroozian M. *Salvia officinalis* extracts in treatment of patient with mild to moderate Alzheimers disease: a double blind, randomized and placebo controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*,(2003).

Tildesley N. T. J., Kennedy D. O., Perry E. K., Ballard C.G., Wesneasa K. A. et Scholey A. B. Positive modulation of mood and cognitive performance following administration of acute doses of *Salvia lavandulaefolia* essential oil to healthy young volunteers. *Pharmacology and Behavior*, 2005.

[41] Volac J., Stodaya J. ET Severa F. La Sauge. In «Plantes médicinales: 256 illustrations en couleurs». Ed: GRUND, (1983).

Kouhila M., Belghit A. et Bouteleb B.C. Experimental determination of sorption isotherms of mint, sage and verbena. *Journal of Food Engineering* (2001).

[42] Roulier G. Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Editions Dangles(1990).

[43] Wegrzyn R., Lamendinh H. Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Chir. Dent. Fr*, (2005).

[44] Lardry J-M, Haberkorn V. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev* (2007).

[45] Nogaret-Ehrhart A-S. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris (2008).

[46] Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (Afssaps) Mai (2008).

[47] Paris M., Hurabielle M. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I, édition Masson (1981).

[48] Mann J. Secondary metabolism. Second edition, Clarendon press, Oxford, (1987).

[49] Lamendin H. Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Chir. Dent. Fr* (2008). Paolini J. Caractérisation des huiles essentielles par cpg/ir, cpg/sm-(ie et ic) et rmn du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux asteraceae endemiques de corse : *eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *doronicum corsicum*. Thèse de doctorat (2005).

[50] Couic-Marinier F., Lobstein A. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques* (2013).

- [51] Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (AFSSAPS). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Mai (2008).
- [52] Bego GV. Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles. Ed. MDB (2003).
- [53] Joulain D. Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture: use and abuse, *Perfumer & Flavorist*, (1994).
- [54] Benjlali B. 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. (2004).
- [55] Garnero J. Phytothérapie-aromathérapie. *Encycl. Méd. Nat* (1991).
- [56] Belaiche P. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I, Edition Maloine (1979).
- [57] Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. TEC et DOC, Paris, (1999).
- [58] Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils'. *Essent. Oil Res.*(1997).
- [59] France-Ida J. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info-essence*(1996).
- [60] Abou Zaid, E. N. Aromatic and medicinal plants—their agricultural and medicinal products. *El-DarEl-ArabiaforPublishing,Cairo*(1988).
- [61] Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. Cahiers de phytothérapie clinique 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. *Masson,Paris*(1992).
- [62] Peron L., Richard H. Epices et aromates, techniques et documentations *Lavoisier* (1992).
- [63] Stagliano M. Actifs et additifs en cosmétologie, techniques et documentations *Lavoisier*(1992).
- [64] Lorrain E. 100 questions sur la phytothérapie. Ed. La boétie, Italie (2013).
- [65] Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris, (1999).
- [66] Wichtel M. et Anton R. Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, *scienceetthérapeutiques,Ed.TecetDoc*.
- [67] Scheffer J.J.C. Various methods for the isolation of essential oils. *Phyther. Res.*

(1996).

[68] Collin G. Quelques techniques d'extraction de produits naturels. Info-essences, (2000).

[69] Audigie C.L., Dupon G. et Zonsgain F. Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, (1995).

[70] Caude M. et Jardy A. Méthodes chromatographiques. Base documentaire : Techniques d'analyse, (1996).

[71] De Maack F. et Sablier M. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse. (1994).

[72] Paolini J. Caractérisation des huiles essentielles par cpg/ir, cpg/sm-(ie et ic) et rmn du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux *asteraceae* endémiques de Corse : *eupatorium cannabinum* subsp. *Corsicum* et *doronicum corsicum*. Thèse de doctorat, (2005).

[73] Audigie C.L., Dupon G. et Zonsgain F. Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, (1995).

[74] Günther H. La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie, Ed Masson, Paris, (1994).

[75] Platzer N. Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, (2002).

[76] Burt S., Essential oils. International journal of food microbiology, (2004).

[77] AFNOR, Recueil des Normes Françaises. AFNOR. Paris, (1986).

[78] Mémoire de Master. « Etude de l'activité des extraits de feuilles et fleurs de deux plantes aromatiques : la sauge et la lavande ». Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc (2016).

[79] Wolf. Manuel d'analyse des corps gras. Ed Azoulay-Paris, (1968).

[80] NF T, détermination de l'indice de réfraction (homologuée le 5 septembre), (1977).

[81] Devairauskaite et al. Characterization of steam volatiles in the essential oil of black currant bud extracts. J. Agric. Food Chem., (1985).

[82] Wooton-beard.P et al., Stability of the total antioxidants capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS. Food research international.

[83] Osmana. Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH[•] and the oxidized form of the polyphenol. Biochemical and biophysical research communications.

[84] Porovici C et al. Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Rvue de genie industriel (2009).

- [85] Djenane D., Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agent antibactériens. *Nature et technologie*.n°7,(2012).
- [86] Duraffourd C., .traité de phytothérapie clinique. *Medicine et endobiogénie*. Ed Masson (2002)..
- [87] Djenane D., 2012. Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agent antibactériens. *Nature et technologie*.n°7, (2012).
- [88] Mémoire de Doctorat. « Etude de l'activité biologique de l'armoise blanche ». Université de Mascara (2016).
- [89] Amhis W . Teste de sensibilité utile au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb* n°91(2009).
- [90] Mémoire. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Fridolia Arettiodes*.2012.
- [91] Mémoire de Doctorat. « Etude de l'activité biologique de l'armoise blanche ». Université de Mascara (2016).
- [92] Mémoire de Magister « Composition chimique et activités antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de l'aneth, de la sauge (*Salvia officinalis*) et de la rue des montagnes (*Ruta montana L*). Ecole supérieure agronomique El-Harrach-Alger, (2013).
- [93] Fellah., Valorisation d'huile essentielle de la *Salvia officinalis* de Tunis. DEA en chimie organique Fac des Sciences de Tunis (2001).
- [94] Laouer H., Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, et de Msila, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides psilla*. Thèse de doctorat d'état. UFA de Sétif '2004).
- [95] Fellah S et al., Extraction et étude des huiles essentielles de *Salvia officinalis* cueillie dans 02 régions différentes dans Tunisie ; *J. Soc. Alger. him.*, (2006).
- [96] Alberto A et al., *J. Agric food chem.*, (2006).
- [97] Mémoire de Master. « Etude de l'activité des extraits de feuilles et fleurs de deux plantes aromatiques : la sauge et la lavande ». Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc.2016.
- [98] Thèse de doctorat. « Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara ». Université de Mascara, (2016).
- [99] Fauconnier M-L., Huile essentielle de Ylang-ylang: sa fiche de qualité et son suivi de distillation- Exposé pour le GIE maison des épices des comors(2006).

[100] Mémoire de fin d'étude. Contribution a l'amélioration de la qualité d'huile essentielle d'ylang-ylang.

[101] Mémoire de Master. «Extraction d'huile essentielle des grains de fenouils », Université d'Ain-Defla (2018).

[102] Benkhrara et al.,Etude de l'activité antibacterienne des huiles de la sauge officinale.n°23. Octobre 2011.

[103] Mémoire. Etude phytochimique et évaluation de l'activité ant-iradicalaire des extraits de Fredolia Aritioides. Université de Tlemcen (2012).

[104] Ponc et al., « Antimicrobial activity of essential oil o, the native microflora of organic Swiss Chard.(2003).

[105],[105] Mémoire de Doctorat. « Etude de l'activité biologique de l'armoise blanche ». Université de Mascara.(2016).

Liste du tableau

Tableau 1.1 :Les principales constituantes de l'extrait d'HE de la sauge officinalis.....	Annexe.
Tableau 1.2 : principales classe de composes phénoliques dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	09
Tableau 1.3 : Fraction des polysaccharides identifiant dans les feuilles de <i>Salvia officinalis</i>	Annexe
Tableau 1.4 : Les constituantes biochimiques d'HE de la sauge.....	Annexe
Tableau 2.1 : Classification des souches bactériennes utilisées	Annexe
Tableau 2.2 : Les produit chimiques utilisés	23
Tableau 2.3 :Matériel et appareillage utilisés.....	23
Tableau 3.1 : Les paramètres de l'étude cinétiques	29
Tableau 3.2 :Rendement d'HE de la sauge dans 4 régions.....	41
Tableau 3.3 : Les rendement des HE de la sauge officinale.....	43
Tableau 3.4 :Le rendement des HE des lavandes des régions déférentes.....	43
Tableau 3.5 : Caractéristiques organoleptiques d'HE de sauge off	45
Tableau 3.6 Caractéristiques des analyses physico-chimiques d'HE de <i>Salvia officinale</i>	48
Tableau 3.7 Composition chimique d'HE de <i>Salvia off</i>	49
Tableau 3.8 Composition chimiques d'HE de <i>Salvia officinale</i>	50
Tableau 3.9 Les normes de zone d'inhibition des souches bactériennes.....	53
Tableau 3.10 Diamètres d'inhibition des ATB sur les souches bactériennes.....	55

Liste des figures

Figure 1.1 La plante de la sauge.....	7
Figure 2.1 La sauge off fleuriste.....	22
Figure 2.2 Montage d'hydrodistillation	24
Figure 2.3 Protocole expérimental.....	26
Figure 2.4 :Différentes étapes d'extraction	27
Figure 2.5 : Structure chimique du radical libre DPPH.....	33
Figure 2.6 :Réalisation pratique de l'antibiogramme par diffusion.....	37
Figure 3.1 : L'évolution du rendement en huile essentielle de la sauge en fonction du temps par hydrodistillation mois de mars	40
Figure 3.2 : L'évolution du rendement d'HE de la sauge mois d'avril.....	41
Figure 3.3 : HE de la sauge.....	42
Figure 3.4 :Taux d'humidité de l'espèce mois de mars	44
Figure 3.5 : Taux de d'humidité de l'espèce mois d'avril.....	44
Figure 3.6 : La réduction du radical libre DPPH.....	51
Figure 3.7 :Pouvoir antioxydant de l'HE de <i>Salvia officinal</i>	52
Figure 3.8 :Les diamètres d'inhibition en mm des souches testent vis-à-vis leurs antibiotiques	54
Figure 3.9 : Effet d'HE et L'ATB sur <i>Pseu.ae</i>	55
Figure 3.10 :Effet d'HE et L'ATB sur <i>E.coli</i>	56
Figure 3.11 : Effet d'HE et L'ATB sur <i>S.aureus</i>	56

Liste des symboles et Abréviations

Symbole	Désignation	unités
AFNOR	Association Française de Normalisation	/
ATTC	American Type Culture Collection	/
AK30	Amikacin30	/
CCM	Chromatographie sur Couche Mince	/
CO ₂	Chromatographie sur Couche Mince	/
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse	/
CPG/SM	Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse	/
CLHP	Chromatographie Liquide à Haute Performance	/
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl	G
DMSO	Diméthyle sulfoxyde	ml
E15	Erythromycine 15	/
FT-IR	Spectroscopie-Infrarouge	/
H	heure	/
HE	Huile essentielle	/
HCL	Acide chlorhydrique	MI
IA	Indice d'acide	/
IC ₅₀	Concentration	µg/ml
IE	Indice d'ester	/
IS	Indice de saponification	/
KOH	Hydroxyde de potassium	G
NET30	Netilmicin 30	/
OE	Oil Essentielle	/
PH	Potentiel d'Hydrogène	/
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire	/
Uvi-Visible	Ultra Violet Visible	/

