

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana



Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Technologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en génie des procédés

Spécialité : Génie pharmaceutique

Thème :

**Etude phytochimique et biologique de la Sauge
(*Salvia officinalis* L.) de la région d'Ain Defla**

Présenté par :

Mr. Benour Ahmed Zineddine

M^{elle}. Azizou Abir

Devant le jury composé de :

President: Mr .D. Addad

Promoteur: Mr. K .Hachama

Examinatrice: M^{me} F. Rahmani

Année Universitaire : 2022/2023.

Remerciement

Avant tout, nous remercions ”**Allah**” le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d’exploiter les moyens disponibles à fin d’accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadrant Le Docteur **Mr K.Hachama** qui nous dirigées ce travail avec une grande rigueur scientifique, son patience, son conseils, son grand disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions très sincèrement notre Co-Promoteur **Mr Hamidi Moussa** pour leur confiance, soutien, attention, les bonnes conseille et ses qualités humaines. Merci de nous avoir guidées avec patience, on exprime notre respect et notre gratitude.

Nos vifs remerciements vont également aux membre de jury **Mr Djeloul Addad** et **M^{me} Fethia Rahmani** pour l’intérêt qu’elles ont porté à notre recherche en acceptant d’examiner notre travail et de l’enrichir par leurs propositions.

On remercie aussi l’ensemble du personnel, les responsables du laboratoire de Génie des procédés, chimie et laboratoire d’analyse **Mr. Chaouchi** pour leur aide et leurs conseils qui nous ont facilité le travail.

Nous souhaiterons également remercier nos professeurs de la faculté des Sciences de la Technologie pendant les cinq années du notre parcours.

Zineddine & Abir



Dédicace

Avant tout nous remercions ALLAH, le tout puissant qui nous a donné, la patience et la santé durant toutes les années de nos études et surtout en accomplissant ce modeste travail

*A ma chère grand mer **Mimi** que j'adore et Mes parents **Lila** et **Saïd** pour leur sacrifice, leurs multiples soutiens, et pour leur affection quotidienne, merci d'être présents dans toutes circonstances. Je pris le tout puissant de*

Vous donnez une longue vie et de représenter votre fierté.

*A mes chères frères et sœurs que j'adore énormément : **Hakim, Ahmed, Amina, Aziz, Habib et Mimi***

*A mon chère ami **AbdEllatif** que j'ai vécu avec-il des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.*

*A mes fidèles amies : **Zizou, Abdellah, Alaeddine, Amin, Amir, Nassim, Abderahim et All** qui ont cru en moi et qui ont toujours encouragé, et avec lui j'ai passé des années inoubliables.*

*A ma chère amie et binôme **Abir** l'exemple de diligence et d'effort, Ce fut un grand plaisir de travail avec elle, qui m'ont partagé la plupart des temps des études et des souvenirs.*

En fin, à tous ceux qui m'aime.

Zineddine



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail Avant tout grâce à **Allah** miséricordieux tout puissant qui m'a éclairé le chemin vers cette réussite*

A mes chers parents,

*« **Boualem & djamila** » qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir, de m'épauler et de m'encourager pour que je puisse atteindre mes objectifs, ainsi pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.*

Merci d'être mes parents.

*À mes chères sœurs « **Hanaa & manel** », pour votre confiance en moi, vos encouragements, vos prières sont ce qui m'a poussé et me pousse toujours à suivre la voie de l'excellence, à rêver et à réaliser mes rêves.*

*À mon cher binôme **zineddine** pour son soutien moral, sa patience, compréhension, ainsi que sa famille.*

Merci à tous ceux qui font parties de ma vie et tous

ABIR

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد التركيب الكيميائي وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات للزيت العطري ومستخلص المريمية (سالفيا أوفيسيناليس ل.) القادمة من منطقة ميليانة بالضبط في سيدي سبع في ولاية عين الدفلى.

تم استخراج المستقلبات الثانوية المتطايرة عن طريق التقطير المائي ، وأعطى عائدا قدره (0.8%). وقد تم استخراج المركبات غير المتطايرة بطريقة النقع (سوكسلت) أعطى عائدا قدره (20.4%).

يظهر التحليل الكروماتوغرافي الغازي وجود الفا- ثوجون مع محتوى 22.20%، يليها الكافور 14.48%، 1.8 سينول 14%، ليمون 13.10%، بيتا ثوجون 6.38%، بيتا بينين 4.75%، بيتا كاريوفيلين 4.74% و الفا هومولين 3.18%، كامفين 2.88% و ميرسين 2.54%، بينون 2.15%، يرافقه مركبات أخرى لديها محتويات منخفضة نسبيا. تم تحديد مركبات الفينول والفلافونويد والتانين بواسطة طرق قياس الطيف الضوئي للكاشف فولين-سيوكالتيو ، وطريقة كلوريد الألومنيوم وطريقة الفانيلين المحمضة ، ونتائج هذا الفحص (5.7 ملغ / غ ، 9.5 ملغ / غ و 1.10 ملغ / غ) على التوالي.

أظهر النشاط المضاد للأكسدة الذي يحدده اختبار (ديبباش) أن لديه نشاط قوي مضاد للجذور للزيت الاساسي مقارنة مع المستخلص وحمض الاسكوربيك.

أثبتت الدراسة النوعية المضادة للميكروبات لهذا الزيت العطري والبوليفينول أنها مثيرة للاهتمام ، نظرا لحقيقة أننا حصلنا على غالبية النتائج الإيجابية لغالبية السلالات المستخدمة.

الكلمات المفتاحية: سالفيا أوفيسيناليس ل. ، الزيوت الطيارة، البوليفينول ، النشاط المضاد للاكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا ، اسي 50 ، الفانيلين المحمض ، فولين-سيوكالتيو ، كلوريد الألومنيوم ، (سبيجي).

Résumé

Cette étude a pour objectif de déterminer la composition chimique et d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait de la sauge (*Salvia officinalis* L.) provenant de la région de Miliana exactement à Sidi sbae de la Wilaya de Ain Defla.

L'extraction des métabolites secondaires volatiles a été réalisée par hydrodistillation, a donné un rendement de ($R_{HE} \approx 0,8\%$). L'extraction des composés non volatiles a été réalisée par la méthode de macération (Soxhlet) a donné un rendement de ($R_{ex} \approx 20,4\%$).

L'analyse chromatographique par (CPG) montre la présence du α -thujone avec une teneur de 22,20% suivi de Camphre (14,48%), 1.8Cinol (14%), limonène (13,10%), β -thujone (6,38%), β -pinène (4,75%), β -cariophyllène (4,74%), et (3,18%) de α -humulène, camphène

(2,88%), myrcene (2,54%) pinène, (2,15%), accompagnés d'autres composés a des teneurs relativement faibles.

Le dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins a été réalisée par les méthodes spectrophotométrie au réactif de Folin- Ciocalteu, La méthode au chlorure d'aluminium et la méthode de la vanilline acidifiée, les résultats de ce dosage (5,7 mg EAG/g, 9,5 mg EQ/g et 1,10 mg EC/g) respectivement.

L'activité antioxydant déterminée par le test DPPH a montré que l'HE a un fort d'activité anti radicalaire par rapport d'extrait et l'acide ascorbique (IC50 plus bas donc l'activité plus haut).

L'étude qualitative antimicrobienne de cette huile essentielle et polyphénols s'ont avérées intéressantes, du fait que nous avons obtenu la majorité des résultats positifs pour la majorité des souches utilisées.

Mots clés : *Salvia officinalis* L., huile essentielle, polyphénol, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, DPPH, IC50, vanilline acidifiée, Folin- Ciocalteu, chlorure d'aluminium, CPG.

Abstract

The objective of this study is to determine the chemical composition and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and the extract of sage (*Salvia officinalis* L.) from the Miliana region exactly in Sidi sbae of the Wilaya of Ain Defla.

The extraction of the volatile secondary metabolites was carried out by hydrodistillation, gave a yield of (RHE \approx 0.8%). The extraction of the non-volatile compounds was carried out by the maceration method (Soxhlet) gave a yield of (Rex \approx 20.4%).

Chromatographic analysis by (CPG) shows the presence of α -thujone with a content of 22.20% followed by Camphor (14.48%), 1.8Cinol (14%), limone (13.10%), β -thujone (6.38%), β -pine (4.75%), β -cariophyllene (4.74%), and (3.18%) of α -humulene, camphene (2.88%), myrcene (2.54%) pineone, (2.15%), accompanied by other compounds has relatively low contents.

The determination of the phenolic, flavonoid and tannin compounds was carried out by the Folin-Ciocalteu reagent spectrophotometry methods, the aluminum chloride method and the

acidified vanillin method, the results of this assay (5,7 mg EAG/g, 9,5 mg EQ/g and 1,10 mg EC/g) respectively.

The antioxidant activity determined by the DPPH test showed that HE has a strong anti-radical activity compared to extract and ascorbic acid (IC50 lower so the activity higher).

The qualitative antimicrobial study of this essential oil and polyphenols proved to be interesting, due to the fact that we obtained the majority of positive results for the majority of the strains used by the disk diffusion method. The results showed that the oil has antibacterial capacity compared to the extract.

Keywords: *Salvia officinalis* L., essential oil, polyphenol, Antioxidant activity, Antibacterial activity, DPPH, IC50, acidified vanillin, Folin-Ciocalteu, aluminum chloride, CPG.

Sommaire

Sommaire :

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	01

Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.Les plantes médicinales	03
I.2.Familles des plantes	03
I.3.La famille des Lamiacées	06
I.4.Genre <i>Salvia</i>	07
I.5. <i>Salvia Officinalis L</i> (sauge).....	08
I.5.1. Définition	08
I.5.2. Historique	09
I.5.3. La dérivation du nom	09
I.5.4.Nomenclature	09
I.5.5. Habitat	09
I.5.6. Description morphologique	10
I.5.7. Classification taxonomique	12
I.5.8. Description botanique	12
I.5.9.Propriétés thérapeutiques	12
I.5.10. Écophysiologie de la sauge	14
I.5.11. Usage de la sauge	14
I.5.11.1. Usage traditionnel	14
I. 5.11.2. Usage médicinal et pharmaceutique	15
I. 5.11.3. Usages cosmétologiques	15
I.5.11.4. Usages alimentaires	15

Sommaire

I.5.12. La toxicologie	15
I.6. Travaux antérieurs sur l'espèce sélectionnée	16
I.6.1. Rendement d'extraction	16
I.6.2. Les antioxydants	17
I.6.2.1. Les polyphénols	17
I.6.2.2. l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L	17
I.6.2.3. Flavonoïdes	18
I.6.2.4. Terpènes.....	19
I.6.3. Polysaccharides et autres constituants.....	20
I.6.4. Propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L	20
I.6.5. Propriétés biologiques de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> L.....	21
I.7. Procédés d'extraction des plantes	22
I.7.1. Hydrodistillation	22
I.7.2. Entraînement à la vapeur d'eau	23
I.7.3. Extraction par fluide supercritique	24
I.7.4. Enfleurage	24
I.7.5. Extraction par solvant	25
I.7.5.1. Macération	25
I.7.5.2. Décoction	25
I.7.5.3. Infusion.....	25

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Objectif de travail	28
II.2. Matériel	29
II.2.1. Produits chimiques	29
II.2.2. Appareillages et verreries	29
II.2.3. Matériel végétal	30
II.3. Choix de la méthode d'extraction	30
II.4. Taux d'humidité.....	31
II.5. Etude de la cinétique d'extraction.....	31

Sommaire

II.6.Extraction des métabolites secondaire	31
II.6.1.Extraction des H.Es	33
II. 6.2.Caractérisation de l’huile essentielle extraite	33
II.6.2.1.Caractéristiques organoleptiques	33
II. 6.2.2.Détermination des propriétés physico-chimiques	37
II.6.3.Extraction des polyphénols.....	40
II.6.3.1.Dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins.....	42
II.7.Analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG).....	43
II.8.Evaluation de l’activité antioxydante.....	44
II.8.1.Test DPPH.....	46
II.8.2.1Acide ascorbique	47
II.9.Evaluation de l’activité antimicrobienne.....	47
II.9.1.Les souches microbiennes testées	48
II.9.2.Le milieu de culture	48
II.9.3.Préparation des prés cultures	48

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1.Taux d’humidité	54
III.2.Extraction d’huile essentielle	54
III.2.1.Rendement d’extraction	55
III.2.2.la cinétique d’extraction.....	55
III.3.1. L’analyse de l’huile essentielle du <i>S,Officinalis L</i>	56
III.3.1.1. Caractères organoleptiques.....	56
III.3.1.2. Caractéristiques physiques	57
III.3.1.3. Caractères chimiques	58
III.4. Extraction des polyphénols de <i>S,Officinalis L</i>	59
III.5. Dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins	59
III.6. Détermination de la composition chimique de l’huile essentielle par CPG.....	63
III.7. Détermination de l’activité antioxydante	65
III.8. Détermination de l’activité antimicrobienne.....	68

Sommaire

III.8.1.Évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne	68
III.8.2. Évaluation quantitative de l'activité antimicrobienne	70
Conclusion générale	/
Références bibliographique	/
Annexes	/

Liste des abréviations et symboles

Liste des abréviations et symboles

AFNOR : Association Française de Normalisation.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

H.E : Huile essentiel.

S.O: *Salvia Officinalis L.*

D_L : Dose létale.

DMSO : Diméthyle Sulfoxyde.

DPPH : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl.

E.coli : *Escherichia coli*.

G+ : Gram positif.

G- : Gram négatif.

H % : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

HCl : Acide chlorhydrique.

Ia : L'indice d'acide.

IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50%.

Ie : L'indice d'ester.

η₂₀ : Indice de réfraction à 20°C.

Is : L'indice de saponification.

Liste des abréviations et symboles

pH : Potentiel Hydrogène

KOH : Hydroxyde de potassium.

MH : Milieu Mueller Hinton.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

UV : Ultra-violet.

% : Pourcentage.

°C : Température en degrés Celsius.

Liste des figures

Liste des Figures

Figure I.1 : Quelques exemples parmi les nombreuses familles de plantes existantes	06
Figure I.2 : Principaux genres des Lamiacées.....	07
Figure I.3 : Certaines espèces de Salvia se trouvant en Algérie	08
Figure I.4: Salvia officinalis L	08
Figure I.5 : Espèce salvia officinalis L	10
Figure I.6 : Feuille du salvia officinalis L	10
Figure I.7 : Fleure du Salvia officinalis L.	11
Figure I.8 : Graine du salvia officinalis L.....	11
Figure I.9 : Structures de quelques flavonoïdes isolés d'espèce Salvia officinalis L	20
Figure I.10 : La molécule d'isoprène	20
Figure II.1 : Photo représentant la plante sèche	30
Figure II.2 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger.....	32
Figure II.3 : Réfractomètre	34
Figure II.4 : Montage de l'extracteur Soxhlet.....	38
Figure II.5 : Rotavapor	39
Figure II.6 : Photo représentant le montage CPG	43
Figure II.7 : Appareil de CPG/ SM	44
Figure II.8 : Cuve de chromatographie CCM	45
Figure II.9 : Préparation d'une solution éthanoïque de DPPH	47
Figure II.10 : Essais de DPPH* avec les différents volumes de solution mère	48
Figure II.11 : les souches bactériennes	48
Figure II.12 : Préparation de milieu de culture	49
Figure II.13 : Photo représentant les préparations des suspensions microbiennes	49
Figure II.14 : Principe de la diffusion sur disque	50
Figure II.15 : Photo représentant la préparation de la dilution d'H.E.	51
Figure II.16 : Photo représentant la préparation de la dilution d'extrait.	51
Figure II.17: Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne.	52
Figure II.18: Photos représentant l'incubation des boîtes.	52
Figure II.19: Photos représentant spectrophotométrie UV.....	(Annexes)

Liste des figures

Figure II.20: Photos représentant le montage d'indice de saponification.....(Annexes)	
Figure II.21: Photos représentant le dosage d'indice d'acide.....(Annexes)	
Figure II.22: dosage de saponification.....(Annexes)	
Figure III.1 : Taux d'humidité de <i>Salvia officinalis</i> L. 54	54
Figure III.2 : l'huile essentielle <i>Salvia officinalis</i> L. 54	54
Figure III.3: Courbe de la cinétique d'extraction d'huile par hydrodistillation. 55	55
Figure III.4 : L'extrait Ethanoïque. 59	59
Figure III.5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique..... 60	60
Figure III.6 : Courbe d'étalonnage de la catéchine. 61	61
Figure III.7 : Courbe d'étalonnage de la quercétine..... 62	62
Figure III.8 : Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>S.Officinalis</i> L. 63	63
Figure III.9 : Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique. 66	66
Figure III.10 : courbe de pourcentage d'inhibition d'huile essentielle. 66	66
Figure III.11 : Courbe de pourcentage d'inhibition d'extrait éthanoïque..... 67	67
Figure III.12 : Effet inhibiteur des huiles essentielles pures de <i>Salvia officinalis</i> contre les bactéries ciblent par rapport à l'antibiotique ampicilline..... 69	69
Figure III.13. : Activité antibactérienne de l'HE pure de <i>Salvia officinalis</i> 70	70
Figure. III.14: Activité antibactérienne des différentes dilutions de l'HE de <i>Salvia officinalis</i> 73	73
Figure III.15: Activité antibactérienne de l'extrait éthanol pure de <i>Salvia officinalis</i> 75	75
Figure.III.16.: Activité antibactérienne des différentes dilutions d'extrait éthanol de <i>Salvia officinalis</i> 77	77

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I.1: Classification taxonomique du <i>salvia officinalis</i> L.....	12
Tableau I.2 : la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> à travers le monde.	18
Tableau I.3: La composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> en Algérie.	18
Tableau I.4 : Exemples de flavonoïdes isolés de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> L.	19
Tableau I.5: Activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de <i>Salvia officinalis</i> L. en provenance du Jardin d'essais.	20
Tableau II.1 : Lieu et tâches effectuées.	21
Tableau II. 2 : Solvants, produits chimiques utilisé lors de cette étude.	28
Tableau II. 3 : Appareillages et verreries utilisés lors de cette étude.	29
Tableau III.1: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huiles essentielles de <i>Salvia officinalis</i> L.	55
Tableau III2 : Les caractères organoleptiques de l'H.E de <i>Salvia officinalis</i> L.	57
Tableau III.3 : Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de <i>S.Officinalis</i> L.	57
Tableau III.4: Les indices chimiques d'HE de <i>salvia officinalis</i> L. étudiées	58
Tableau III.5 : Rendement d'extraction des extraits de <i>Salvia officinalis</i> L.	59
Tableau III.6 : Résultats du dosage des polyphénols.	60
Tableau III.7 : Résultats du dosage des tannins.	61
Tableau III.8 : Résultats du dosage des flavonoïdes totaux.....	62
Tableau III.9 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>S.Officinalis</i> L.	64
Tableau III.10 : Concentration d'inhibition à 50% ($\mu\text{g/ml}$) de l'extrait et d'H.E.....	67
Tableau III. 11 : Valeur des diamètres en millimètre de la zone d'inhibition de l'H.E pure. .	68
Tableau III.12: Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour déférentes concentrations d'H.E.....	71

Liste des tableaux

Tableau III.13 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'HE de <i>Salvia officinalis</i> relatives aux souches testées.....	72
Tableau III. 14 : Valeur des diamètres en millimètre de la zone d'inhibition de l'extrait éthanol pure.....	73
Tableau. III. 15: Valeurs des diamètres des zones d'inhibition de l'extrait éthanol pour différentes concentrations.....	75
Tableau.III.16: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'extrait éthanol de <i>Salvia officinalis</i> relatives aux souches testées.....	76

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale

En Algérie, l'usage de plantes médicinales est une tradition des milliers des années. Les premiers écrits sur les plantes médicinales ont été faits aux l'IXème siècle par Ishà-Ben-Amran et Abdallah Ben-Lounès, mais la plus grande production de livres a été réalisée au XVIIème et au XVIIIème siècle. Même pendant le colonialisme français de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales. En 1942, Fourment et Roque ont publié un livre de 200 espèces végétales d'intérêts médicinales. La plupart d'entre elles sont du Nord d'Algérie et seulement 6 espèces sont localisées au Sahara [1].

Aujourd'hui, le secteur des plantes médicinales et aromatiques concerne majoritairement des marchés tels que la parfumerie, la cosmétique, l'aromathérapie et l'agroalimentaire et il est en constante progression. En Algérie, ce secteur est encore confus contrairement au d'autres pays comme la Tunisie qui ont dans ce domaine un savoir-faire plus affirmé et son développement passe d'abord par une meilleure connaissance de la composition chimique des huiles essentielles [2].

La flore Algérienne est très riche en espèces végétales susceptibles de fournir des substances naturelles, des huiles essentielles et des arômes originales et variées très utiles pour les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, pour ce là nous sommes intéressants pour une espèce végétale très répandue dans le bassin méditerranéen et très utilisée pour ses innombrables vertus thérapeutiques.

Il s'agit de *Salvia officinalis* L. ou Saugé officinale. C'est une espèce de la famille des *Lamiacées*, de 30 à 60 cm de hauteur, de tiges formant des rameaux quadrangulaires dressés et velus, aux feuilles ovales et allongées, gris verdâtre en raison d'une pubescence cotonneuse sur la face inférieure, ont une odeur aromatique caractéristique et de petites fleurs bleu violettes qui s'épanouissent en juin ou juillet.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est l'étude phytochimique et biologique d'huile essentielle et des extraits de la plante médicinale (*Salvia officinalis* L.) de la même famille (lameacea). Nous sommes également penchés sur l'extraction des métabolites secondaires et étudions leurs caractères physicochimiques, ainsi l'étude de l'activité antioxydant et antibactérienne.

Notre travail est réparti en trois chapitres, le premier chapitre concernant l'étude bibliographique consacré à des généralités sur les plantes médicinales, une étude sur la

Introduction générale

matière végétale étudiée (*Salvia officinalis* L.), Leur propriétés thérapeutiques et leur différent Usages, des travaux antérieurs, ainsi que leurs procédés d'extraction, cet aperçu bibliographique a été un support pour réaliser le deuxième chapitre qui est réservée à l'étude expérimentale. Le troisième chapitre présente tous les résultats obtenus ainsi que leurs discussions. Finalement, nous terminerons par une conclusion avec les perspectives souhaitables.

Chapitre I :

Etude bibliographique

I.1. Les plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des milliers d'années par les êtres humains et constituent la base de la phytothérapie. La Pharmacopée française définit les plantes médicinales comme des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques en raison de la présence de substances actives spécifiques dans leurs organes [3]. Il est intéressant de noter que certaines plantes médicinales peuvent également avoir des utilisations alimentaires, condimentaires ou hygiéniques [3].

Une plante médicinale, contrairement à une plante classique contient au niveau de ses organes, une ou des substances « principes actifs » pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques un certain dosage de manière précise [4]. Il est estimé qu'il existe plus de 33 000 plantes avec des propriétés médicinales dans le monde. Cependant, seules 2 000 à 3 000 de ces plantes ont été sérieusement étudiées sur le plan scientifique. Certaines sources mentionnent même qu'il existe environ 60 000 espèces de plantes médicinales, dont 26 000 sont bien documentées. Cela souligne le vaste potentiel de recherche et de découverte de nouvelles plantes médicinales et de leurs utilisations thérapeutiques [5].

I.2. Familles des plantes :

Les plantes d'une même famille ont des fleurs, des fruits et des structures de graines similaires. La plupart des familles du règne végétal sont des angiospermes. Le nom de la famille est souvent le premier niveau de classification des plantes lorsque l'on parle de plantes spécifiques, car les problèmes de ravageurs et les pratiques de gestion au sein d'une même famille peuvent être similaires. Les trois plus grandes familles de plantes sont les Astéracées (famille du tournesol), les Orchidacées (famille de l'orchidée) et les Fabacées (famille des haricots), avec des estimations de 24 000, 20 000 et 18 000 plantes pour chacune d'entre elles. Les noms de famille se terminent toujours par "-aceae" [6].



LES ASTERACEES



LES ORCHIDACEES



Les Fabacées



Les Rubiacées



Les Poacées



les Lamiacées



Les Euphorbiacées



Les Apocynacées



Les Rosacées



Les Cypéracées



Les Malvacées

Figure I.1: Quelques exemples parmi les nombreuses familles de plantes existantes.

I.3. La famille des Lamiacées :

Les Lamiaceae ou Labiatae est une famille importante appartenant aux angiospermes dicotylédones. Ce sont des arbustes, sous arbrisseaux ou plantes herbacées comprennent dans le monde 258 genres et 6970 espèces. Elles se répartissent sur tout le globe, mais principalement du bassin méditerranéen à l'Asie centrale. Dans la flore de l'Algérie, les Lamiaceae sont représentées par 28 genres et 146 espèces, Certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces. Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour l'ornementation et la plupart de ces espèces sont aussi bien utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne. La famille renferme de nombreuses espèces économiquement importantes soit par leurs huiles essentielles, soit pour leur usage condimentaires. Elles appartiennent essentiellement aux genres « Mentha, Lavandula, Marrubium, Nepeta, Salvia et Thymus » [7].

La famille des Lamiacées contient une très large gamme de composés comme les terpénoïdes, les iridoïdes, les polyphénols, les flavonoïdes, les huiles essentielles et plus précisément les courtes chaînes des terpénoïdes qui sont responsables de l'odeur et la saveur caractéristique des Lamiacées[8,9].

**Menthe****Lavande****Rosmarinus****Ocimum****Thymus****Salvia****Figure I.2 : Principaux genres des Lamiacées.**

I.4.Genre Salvia :

Salvia vient du mot latin « Salvare », qui signifie : guérir, sauver. C'est considéré comme une plante miraculeuse qui sauve la vie humaine [10]. Salvia (Sauge) est l'un des genres les plus importants des Lamiacées, comprenant près de 900 espèces réparties dans le monde. Il existe 23 espèces de Salvia en Algérie [11]. Le genre Salvia comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Comme les autres membres des Lamiacées, les tiges sont généralement de forme quadrangulaire. Les feuilles sont généralement complètes mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales. Cette sauge se

présente comme un arbrisseau vivace très rameux, de couleur gris bleuté, due aux poils la couvrant entièrement [12].



Salvia verbenaca (Sauge verveine)

Salvia fruticosa (Sauge arbustive)

Salvia microphylla
(Sauge à petites feuilles)

Figure I.3 : Certaines espèces de *Salvia* se trouvent en Algérie.

I.5. *Salvia officinalis* L (sauge):

I.5.1. Définition :

Salvia vient du mot latin "salvare", qui veut dire «Guérir» [13]. *Salvia officinalis* L est une plante aromatique et médicinale assez largement utilisée soit à l'état naturel, soit sous forme d'extrait ou d'huile essentielle [10]. Elle est très populaire et largement cultivée dans plusieurs pays, essentiellement pour obtenir des feuilles sèches pour les utiliser comme matière première en pharmacie et en industrie alimentaire [14].



Figure I.4 : *Salvia officinalis* L

I.5.2.Historique :

D'après la première histoire, une variété de sauge appelée : Chia, était cultivée par les mexicains, les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la sauge comme tonique et en compresse contre les morsures de serpent. Au VIIIème siècle, les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme et surtout au printemps [15]. C'est une plante sacrée des anciens. Utilisée en tisane depuis le Moyen-âge, elle facilite la digestion. On lui attribue aussi des propriétés antiseptiques, énergétiques et elle permettrait même de stimuler la mémoire [16]. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment Essalma, qui ajoute qu'elle est appelée Salbia, par les botanistes en Espagne. En Algérie, ils ont indiquée l'expression Souek Ennebi, Miramia comme synonyme [17].

I.5.3.La dérivation du nom :

Le nom du genre *Salvia* vient du latin « *salvare* » qui signifie «sauver» et «Guérir» [17], est due aux propriétés curatives de la plante, ce qui était autrefois célébré comme herbe médicinale. Ce nom a été corrompu populairement Sauja et Sauge (la forme française), en vieil anglais, 'Sawge,' qui est devenu nom actuel de Sage [18].

I.5.4.Nomenclature :

- ✓ Noms Communs: Herbe sacrée, thé de Grèce, herbe sage [19].
- ✓ Nom scientifique: *Salvia Officinalis* L.
- ✓ Nom français: Calamenthe vulgare.
- ✓ Nom vernaculaire: Sâlniya, Mrimra, Miramia.
- ✓ Nom anglais: Garden sage. [20]
- ✓ Nom arabe: Elmiramia.

I.5.5.Habitat :

C'est une plante très rependue dans le bassin méditerranéen (sols calcaires) spontanée dans les lieux arides , elle pousse sur les terrains les plus pauvre , même s'ils sont pierreux , car elle est peu exigeante et très généreuse , elle aime l'ensoleillement , elle se cultive dans m'importe quel potager comme plante aromatique et culinaire [21] . La Sauge est cultivée dans tout le bassin méditerranéen, de l'Espagne à la Turquie et en Afrique du nord [22]. Elle est cultivée dans les parcs et jardins comme plante ornementale [23].

I.5.6. Description morphologique :

Salvia Officinalis L. Est un sous arbrisseau atteignant 0.50 à 1m de hauteur, *vivace* très ramifié et très aromatique, devenant ligneux à la partie basale, dont les tiges forment des rameaux quadrangulaires dressés et velus.



Figure I.5.: Espèce *salvia officinalis* L.

Les feuilles sont opposées, rugueuses, aigués, finement crénelées, pubescentes grisâtres, la base du limbe est arrondie, simplement ou doublement auriculée. La forme et la grandeur des feuilles varient selon leur position sur la tige. En général, elles ont de 4 à 10 cm de long et jusqu'à à 2 à 4 cm de large (Figure I.5).



Figure I.6: Feuille du *salvia officinalis* L.

Les fleurs sont bleu-violacé clair en épis terminaux lâches, disposées par 3 à 7 en verticilles espacés. Calice campanulé à 6 dents longues et corolle bilabée supérieure en casque et lèvre inférieure trilobée (Figure I.6).



Figure I.7: Fleure du *Salvia officinalis* L.

Les fruits sont des graines marron (Figure 4) [24]. Floraison: Mars-Mai [25], Odeur fortement balsamique et aromatique, Saveur aromatique, chaude, amère et astringente [26].



Figure I.8: Graine du *salvia officinalis* L.

I.5.7. Classification taxonomique :

Selon Quezel et Santa, La sauge suit la classification dans (tableau I.1).

Tableau I.1: Classification taxonomique de *salvia officinalis* L. [11].

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Embranchement	Spermatophyte
Sous –Embranchement	Angiospermes
Classe	Angiospermes
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Salvia
Espèce	Salvia officinalis. L

I.5.8. Description botanique :

La famille des *Lamiacées* (*Lamiaceae*) ou *Labiées* (*Labiatae*) est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 6000 espèces et près de 210 genres, répartis dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne. Elles sont réparties en sept sous-familles (*Ajugoïdeae*, *Chloanthoïdeae*, *Lamioïdeae*, *Nepetoïdeae*, *Scutellarioïdeae*, *Teucroïdeae*, *Viticoïdeae*, *Pogostemoïdeae*). Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et rarement des arbres ou des lianes, producteurs d'huiles essentielles, largement répartis autour du monde et dans tout type de milieux. La forme de lèvre de la fleur et la présence d'huiles essentielles signent cette famille. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige et les feuilles opposées sont aussi des caractéristiques. De nombreuses espèces de cette famille sont des plantes mellifères, fréquentées par les abeilles [27].

I.5.9. Propriétés thérapeutiques :

La sauge « réunit à un haut degré, écrit Cazin, les propriétés de la famille à laquelle elle appartient » [28].

* **Activité antioxydante:** Les preuves provenant de plusieurs études suggèrent que S.O possède de puissantes activités antioxydantes. Les constituants antioxydants les plus efficaces de S.O sont le carnosol, l'acide rosmarinique et l'acide carnosique, suivis de l'acide caféique, du

rosmanol, du rosmadial, de la genkwanine et de la cirsimaritrine. Outre l'acide rosmarinique, d'autres flavonoïdes de *S. Officinalis* en particulier la quercétine et la rutine ont de fortes activités antioxydantes.

* **Propriétés anti-inflammatoires et antinociceptives:** la recherche de nouveaux agents anti-inflammatoires et anti - nociceptifs avec des actions non désirées reste un sujet moins attrayant. Des études pharmacologiques ont montré que S.O avait des effets anti-inflammatoires et antinociceptifs. Parmi les différents extraits de S.O, le chloroforme montre de plus une action antiinflammatoire, alors que l'extrait méthanolique et l'huile essentielle démontrent une action faible. Les flavonoïdes et les terpènes sont les composés qui contribuent le plus probablement aux actions anti-inflammatoires et anti nociceptives de la plante.

* **Effets anticancéreux et antimutagènes:** L'activité anti tumorale potentielle de *S.Officinalis* a été étudiée sur plusieurs lignées de cellules cancéreuses et sur des modèles animaux de cancer. Les terpènes et les terpénoïdes isolés de S.O, il a été démontré que le caryophyllène et l' α -humulène inhibent la croissance des cellules tumorales. Parmi les flavonoïdes de S.O, l'acide rosmarinique été largement étudié pour ses effets anticancéreux. Il inhibait la croissance de différentes humaines cellules cancéreuses.

* **Effets cognitifs et améliorant la mémoire:** De plus en plus de preuves suggèrent que S.O a des effets cognitifs et améliorant la mémoire. Des études chez l'animal ont montré que l'extrait éthanoïque de *S.Officinalis* augmente la rétention de mémoire des apprentissages dévotement passifs chez le rat. L'extrait hydroalcoolique de S.O et son principal acide rosmarinique flavonoïde.

Améliorent la cognition chez le rat en bonne santé et préviennent les déficits d'apprentissage et de mémoire induits par le diabète. De plus, l'extrait hydro alcoolique de *S.Officinalis* atténue les troubles de la mémoire induits par la morphine.

***Effets métaboliques:** Des études expérimentales et cliniques ont confirmé les effets bénéfiques de certaines plantes médicinales sur le métabolisme corporel, en particulier l'état glycémique. Des études pharmacologiques récentes ont montré que différents extraits de parties aériennes de S.O sont capables de diminuer la glycémie dans des conditions normales et pour le diabète (anti diabétique) [29].

I.5.10.Écophysiologie de la sauge :

La sauge est cultivable jusqu'à 1800 m d'altitude ; elle supporte des climats et des sols très variés, au pH allant de 5 à 9. Le plant adulte résiste à la température de -10°C, mais il est préférable de pailler le jeune plant [30].

I.5.11. Usage de la sauge :

Les sauges ont été employées comme des plantes à plusieurs propriétés pendant des millénaires.

I.5.11.1. Usage traditionnel :

L'appellation latine démontre bien l'importance de la sauge dans la pharmacopée traditionnelle. En effet Salvia en latin signifie guérir et "Salvare" qui veut dire sauver. Salvia a toujours été considérée comme une plante magique qui sauve des vies humaines [31]. La sauge est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche (les aphtes, les gingivites, l'amygdalite et l'ulcère ...), les abcès, et aussi pour la cicatrisation des plaies. Les infusions de la sauge sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies comme la circulation sanguine. Cette plante aromatique est employée dans la cuisine pour son goût puissant légèrement amer et camphré. Elle est utilisée dans la prise en charge de différents problèmes digestifs : ballonnements épigastriques, digestion lente, renvois et flatulences. Aussi comme antibactérien, antiviral, anti tumoral, antispasmodique, antioxydant, calmante, céphalique, fébrifuge, les traitements anti-inflammatoires et des troubles mentaux et nerveux.

Elle est également ajoutée comme désinfectant, cataplasmes et dans certains bains contre les maladies de la peau d'origine mycosique et pour des raisons encore mystérieuse. Elle semblerait efficace contre l'asthénie consécutive à une maladie infectieuse, et contre l'hyperhidration nocturne, notamment lorsqu'elle est liée à la ménopause [32].

I.5.11.2. Usage médicinal et pharmaceutique :

- stimulant pour les gens anémiques,
- leurs effets antioxydants et leur capacité à améliorer la fonction «tête et cerveau», à améliorer la mémoire, à stimuler les sens et à retarder le déclin cognitif associé à l'âge ; elle est conseillée pour les personnes stressées et déprimées et les étudiants en période d'examen.
- elle est appliquée en gargarisme contre les inflammations de la bouche, les abcès et aussi pour le nettoyage et la cicatrisation des plaies [15].et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices [33].

- utilisée pour traiter la bronchite aiguë et chronique, la toux, l'asthme, l'angine de poitrine, l'inflammation de la gorge, Au 18^{ème} siècle, les feuilles de la sauge ont été roulées comme des cigarettes pour les fumer contre l'asthme et surtout au printemps.
- En plus, elle a une activité antispasmodique qui est utilisée lors des troubles digestifs : Digestion difficile, renvois d'air, ballonnements (gaz intestinaux). Elle a une action relaxante sur les muscles de l'estomac et des intestins En agissant sur la sécrétion de la bile, elle facilite la digestion des aliments gras.
- Les grecs, les romains et les arabes ont utilisé la sauge comme tonique, et en compresse contre les morsures de serpent.
- A été principalement utilisée pour traiter l'infertilité dans les anciens L'Egypte
- utilisé pour traiter presque tous les types de maladies, y compris la Peste.
- comme tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux.
- Anti-sudorifique excessif.

I.5.11.3. Usages cosmétologiques :

Les espèces *Salvia Officinalis* L. ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. Officinalis* L. Sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums. La sauge est peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches [34].

Utilisée dans les soins capillaires, la sauge permet de lutter contre les pellicules et donne de la brillance aux cheveux. [35].

I.5.11.4. Usages alimentaires :

Les feuilles servent en cuisine à parfumer les viandes surtout le gibier, quelques feuilles glissées dans les aliments gras tels que les farces et les ragouts leur donnent une saveur piquante très appréciée. Aussi dans les bouillons et dans les vinaigres aux fines herbes [36]. La sauge officinale est riche en huiles essentielles que l'on extrait par distillation ; vu ses propriétés importantes, elle est l'une des plantes les plus utilisées [34].

I.5.12. La toxicologie :

La plante peut être toxique sous toutes ses formes fraîche et sèche, jeune ou en fleur [37]. Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose

prise (concentration) concernent principalement des enfants et en dehors du cadre classique d'utilisation. Ces expositions se font par ingestion, par contact, par inhalation qui peut induire ou aggraver des problèmes respiratoires (une diminution de la fonction pulmonaire et une augmentation de la sensation de poitrine oppressée, une respiration sifflante et augmenter l'asthme chez les populations sensibles). Le manque évident de données sur la toxicité des huiles pour l'homme invite cependant à la prudence quant aux conclusions à tirer [38]. L'huile essentielle de *Salvia Officinalis* contient sclaréol (qui provoque une toxicité aiguë semble être faible étant donné que les DL50s orale et cutanée) et jusqu'à 50% de thuyone (L'excès est toxique pour les tissus nerveux) [39], et aussi peut être dangereuse pour les enfants, elle peut provoquer des convulsions épileptiques [40].

I.6.Travaux antérieurs sur l'espèce sélectionnée :

De nombreuses études ont été menées sur notre espèce en raison de son abondance d'un grand nombre de composés bioactifs et de leurs propriétés biologiques telles que: propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

Le but de cette section est d'analyser et de comparer ces études.

I.6.1.Rendement d'extraction :

Les taux d'extraction varient selon les espèces végétales, les conditions pédologiques et climatiques, le moment de la récolte, les conditions de séchage, les organes utilisés pour l'extraction, la quantité de chaque espèce dans les métabolites et la nature du solvant utilisé dans le processus. Extraction ou fractionnement et sa polarité [41].

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste à exposer le matériel végétal à des solvants (eau, méthanol, éthanol, acétone...), avec ou sans agitation, à température ambiante pendant Une étude de cas d'extraction moléculaire thermosensible [42].

Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité de la paroi cellulaire en facilitant l'extraction de molécules plus polaires, moyennement et faiblement polaires.

Dans les travaux de [43], les rendements d'extraction de la sauge à l'aide de quatre solvants étaient : le méthanol (23,41%), l'éthanol (18,24%), l'éther d'éthyle (5,38%), l'hexane (4,63%). On peut voir d'après les résultats que l'extraction du méthanol a le taux d'extraction le plus élevé.

I.6.2. Les antioxydants :

La famille des *Lamiacées* a été largement étudiée d'un point de vue biochimique, ce qui a permis d'isoler un grand nombre de substances connues pour leur activité antioxydante, telles que les huiles essentielles, les terpénoïdes, les phénoliques et les flavonoïdes [44]. Le but de cette section est d'analyser plusieurs articles portant sur les substances antioxydantes (polyphénols et huiles essentielles) de *Salvia officinalis L.*

I.6.2.1. Les polyphénols :

La teneur en polyphénols de *S. officinalis* est donnée dans la bibliographie ; selon [45] ont déclaré que les extraits méthanoïques de *S. officinalis* d'Algérie étaient riches en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins à (143,41 ; 19,37 et 8,5 meq/g d'extrait), respectivement.

[46] ont également enregistré la teneur en polyphénols et flavonoïdes dans des extraits méthanoïques de plantes médicinales d'Algérie ($31,15 \pm 1,056$ et $18,46 \pm 0,132$ mg GAE/100 g DW), respectivement.

Selon [47] ont démontré la présence de polyphénols et de flavonoïdes dans des extraits méthanoïques de *S. officinalis* originaire du Maroc à des concentrations de ($51,044 \pm 0,044$ mg GAE/g et $0,037 \pm 0,003$ mg EQ/g, respectivement).

Selon [48] ont également documenté la présence de polyphénols dans des extraits à l'éthanol de *S. officinalis* originaire du Maroc à un niveau de ($163,37 \pm 0,73$ mg AG/g Dm).

Dans l'étude de [43], les extraits de sauge ont été préparés avec des solvants à polarité variable (méthanol, éthanol, éther d'éthylrique et hexane), les extraits de méthanol et d'éthanol avaient la teneur totale en polyphénols la plus élevée ($5,95 \pm 2,65$ et $5,80 \pm 1,00$ mg GAE/g MS, respectivement), tandis que la teneur dans l'extrait hexanique était la plus faible ($4,25 \pm 1,00$ mg GAE/g MS).

Selon [49] ont enregistré des teneurs totales en polyphénols et flavonoïdes de $6384,00 \pm 21,21$ et $1905 \pm 26,16$ mg AR/g dm, respectivement, dans des extraits aqueux de feuilles de plantes médicinales originaires de Dalmatie.

I.6.2.2. L'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* :

Plus de 50 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles de tiges et de feuilles de la plante *Salvia officinalis* [50]. La teneur en huiles essentielles des feuilles sauvages séchées est entre 1,5 et 3,5% [51], déterminés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sont illustrés dans le Tableau I.2 [52].

Tableau I.2 : la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Salvia officinalis* à travers le monde.

Pays	Maroc (%)	Tunisie (%)	Italie (%)	Espagne (%)	Brésil (%)	Turquie (%)
Composés	[53]	[10]	[54]	[55]	[56]	[57]
Camphre	17.23	/	26.85	22.9	10.9	11.7
α-thujone	/	3.38	23	20.6	24.8	29.4
β-thujone	/	26.49	/	15.4	/	17.4
β-Caryophyllène	9.89	11.55	/	/	/	/
1.8-cinéole	12.63	/	/	/	14.8	12.5
β-pinène	2.51	9.04	/	/	/	/
pinocarvéol	/	16.96	6.65	/	/	/
Viridiflorol	/	5.19	/	/	/	/
Camphène	4.03	/	5.8	/	/	/
p-cimène	/	/	11.8	/	/	/
Bornéol	1.19	/	7.9	/	11.1	/

Les résultats de la composition chimique de l'espèce *Salvia officinalis* des différentes régions de l'Algérie sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau I.3: La composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Salvia officinalis* en Algérie.

Régions	Alger [58]	Annaba [59]	Batna [60]
α-humulène	3.1	/	/
Camphre	20.4	11.34	16.86
α-thujone	19.6	36.74	24.52
β-thujone	08	8.81	6.80
β-Caryophyllène	4.5	1.54	/
1.8-cinéole	12.3	22.97	15.92
β-pinène	1.4	/	/
pinocarvéol	/	/	/
Viridiflorol	8.0	/	6.35
p-cimène	/	/	/
Bornéol	/	2.94	/

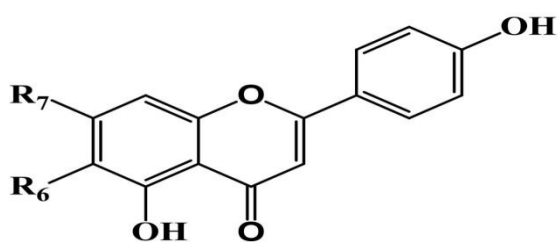
I.6.2.3.Flavonoïdes :

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal. Ce sont des pigments végétaux quasi universels qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. De nombreuses études ont identifié la présence de flavonoïdes dans *Salvia officinalis* L.

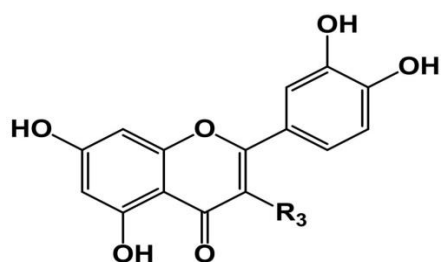
Le tableau(I.4) montre quelques flavonoïdes isolés à partir d'espèces de *Salvia*.

Tableau I.4 : Exemples de flavonoïdes isolés de l'espèce *Salvia officinalis L.*

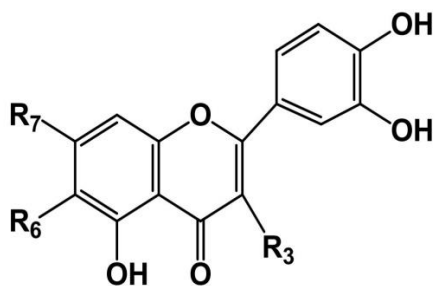
flavonoïde	N° de structure	Références
Apigénine	(1)	[61]
cirsimatine	(2)	[61]
Genkwanine	(3)	[61]
Hispiduline	(4)	[61]
Lutéoline	(5)	[61]
Quercétine	(6)	[61]
Rutoside	(7)	[61]
3,7-diméthoxyquercétine	(8)	[62]
Myricétine	(9)	[63]
5-méthoxysalvigine	(10)	[64]
Galagine	(11)	[65]
Kaempférol	(12)	[65]
Chrysine	(13)	[65]
Pinocembrine	(14)	[65]



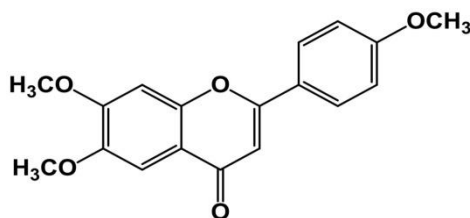
- (1), $R_6=H$, $R_7=OH$
 (2), $R_6=R_7=OCH_3$
 (3), $R_6=H$, $R_7=OCH_3$
 (4), $R_6=OCH_3$, $R_7=OH$



- (5), $R_3=H$
 (6), $R_3=OH$



- (7), $R_3=glucoside$, $R_6=H$, $R_7=OH$
 (8), $R_3=R_6=H$, $R_7=OCH_3$
 (9), $R_3=R_7=OH$, $R_6=H$



(10)

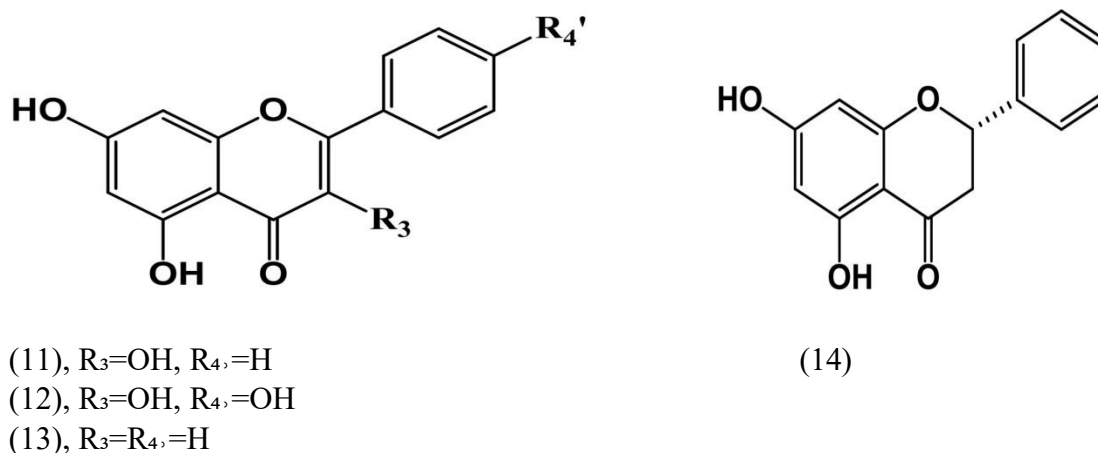


Figure I.9 : Structures de quelques flavonoïdes isolés d'espèce *Salvia officinalis L.*

I.6.2.4. Terpènes :

La feuille de *Salvia* renferme aussi de nombreux triterpènes (C₃₀) dérivés de l'ursane (l'acide ursolique est majoritaire) et de l'oléane (acide oléanolique et dérivés hydroxylés en C - 2). Ainsi que des diterpènes (C₂₀) (carnosol, rosmanol, épirosmanol, acide carnosolique, carnosate de méthyle, acide carnosique - 12 - méthyléther - γ - lactone, rosmadial) [66].

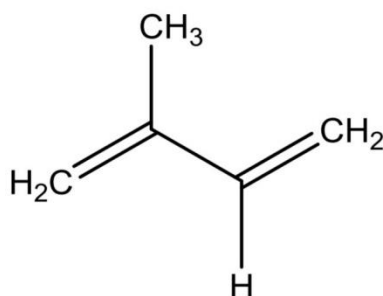


Figure I.10: La molécule d'isoprène.

I.6.3. Polysaccharides et autres constituants :

A partir des parties aériennes libres extraites de la sauge, un mélange brut de polysaccharides (A) a été obtenu par extraction d'eau, suivi par précipitation de l'éthanol, dialyse et lyophilisation d'eau. Le complexe de polysaccharides extractibles (A) présentait un large schéma de distribution de la masse moléculaire et indiquait son caractère hétérogène. Il a été obtenu avec un rendement de 3,8 % et contenait 9,4 % de protéines. L'analyse du sucre a révélé la dominance de l'arabinose, du galactose et de glucose, et de plus petites quantités de mannose, xylose, rhamnose, fucose et les acides uroniques [67].

Les fractions polysaccharidiques brutes, riches principalement en arabinogalactanes (A), en pectine (B) et en polymères apparentés au glucuronoxylane (D), ont été obtenues à partir de parties aériennes de sauge (*Salvia Officinalis L.*) par extraction séquentielle avec divers réactifs.

I.6.4. Propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* :

L'évaluation par la méthode d'antibiogramme, l'activité antimicrobienne de deux échantillons d'huile essentielle :

- Echantillon 1, obtenu à partir de la matière végétale fraîche, ayant un taux d'humidité de 73,9%
- Echantillon 2, obtenu à partir de la matière végétale séchée à l'ombre de taux d'humidité de 16,9%.

En se basant sur des travaux antérieurs [68], nous avons fixé la concentration de l'huile à 2,5µl/disque. Seize souches bactériennes, appartenant à trois familles, cocci, entérobactéries et BGN oxydatif, ont été testées. Certaines proviennent des prélèvements cliniques (PC), d'autres, sont de souches de référence ATCC (American typing culture collection),

Le tableau I.3 regroupe les résultats d'une étude [69] portant sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *S.officinalis L.* fraîche et séchée, provenant du Jardin d'essais d'Alger vis-à-vis de seize souches bactériennes.

Tableau I.5: Activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de *Salvia officinalis L.* en provenance du Jardin d'essais [69].

Microorganisme	Origine	Diamètre de la zone d'inhibition, mm	
		Echantillon 1	Echantillon 2
Cocci			
Staphylococcus aureus P.C. 802	Pus de fistule	<6	<6
Staphylococcus aureus P.C. 830	Pus de fistule	<6	<6
Staphylococcus aureus	ATTC 25923	<6	15
Staphylococcus aureus P.C. 4309	ECBU*	<6	<6
Enterococcus faecalis P.C. 215	ECBU	20	18
Enterococcus faecalis P.C. 270	ECBU	<6	16

Entérobactéries				
Echerichia coli		ATTC 25922	<6	<6
Echerichia coli	P.C. 532	ECBU	<6	<6
Echerichia coli	P.C. 527	ECBU	<6	<6
Echerichia coli	P.C. 464	ECBU	<6	<6
Echerichia coli	P.C. 396	P.V	<6	<6
Serratia marcescens	P.C.	ECBU	<6	<6
Citrobacter freundii	P.C.	ECBU	<6	<6
Citrobacter diversus	P.C.	Coproculture	<6	<6
486		Pus de fistule	<6	<6
Proteus vulgaris	P.C.			
818				
BGN oxydatif				
Pseudomonas aeruginosa	P.C.	Pus de fistule	<6	<6
816				

ECBU : examen cyto bactériologique des urines.

P.V. : prélèvement vaginal ;

PC : prélèvement clinique ;

ATCC : American typing culture collection

L'examen de ces résultats permet aux auteurs de conclure que :

- Seules les cocci sont sensibles à l'action de l'huile essentielle. L'activité de l'huile vis-à-vis de ces microorganismes est très élevée, car le diamètre des zones d'inhibition est supérieur à 13 mm.
- Les cocci sont plus sensibles à l'huile essentielle extraite de la plante sèche: l'huile extraite de la plante fraîche n'a d'effet que sur Enterococcus faecalis P.C. 215.
- Pour la concentration de 2,5µl/disque utilisée, les autres souches bactériennes se sont révélées résistantes à l'huile essentielle.
- Les résultats de ces premiers essais sont encourageants et la recherche dans ce domaine mérite d'être approfondie et orientée, notamment, vers la détermination de la concentration minimale inhibitrice d'huile pour chaque souche bactérienne.

I.6.5. Propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* L. :

Une équipe scientifique du King's College de Londres a testé les effets de l'huile essentielle de sauge sur le cerveau humain. En conséquence, les chercheurs ont découvert qu'il inhibe la cholinestérase, une enzyme cérébrale qui dégrade l'acétylcholine, une hormone cérébrale qui aide à libérer les substances chimiques de la mémoire [70]. L'huile essentielle de sauge semble avoir un pouvoir antioxydant élevé, au moins comparable au BHT (Butyl hydroxy toluène) et au BHA (Butyl hydroxy anisol). Il serait intéressant de l'utiliser, d'autant plus que ces molécules ont des effets délétères sur la santé humaine [71].

L'huile essentielle de sauge sclérée a des effets secondaires qui ne devraient être préoccupants que si elle est prise en excès ou utilisée à long terme. La bêta-thuyone, un composant toxique des huiles essentielles, peut provoquer des symptômes tels que la tachycardie, les bouffées de chaleur, les convulsions et les étourdissements. La toxicité est le double de celle de l'huile essentielle d'absinthe, et 0,3 gramme suffit à tuer un chien.

L'huile essentielle de sauge a un effet convulsif, provoquant de violentes crises d'épilepsie.

Quelques cas d'intoxication ont été décrits en France, notamment chez des enfants. La mère a utilisé les huiles essentielles de manière imprudente [72].

I.7. Procédés d'extraction des plantes :

Les huiles essentielles et les extraits sont extraits des matières végétales par différents procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'essence dans le végétal et de son utilisation dans les divers domaines et industries.

I.7.1. Hydrodistillation :

Plusieurs méthodes d'obtention de produits à base de sauge sont mentionnées dans la littérature scientifique. La plupart des recherches sur cette plante portent sur la production de l'huile essentielle et sa composition chimique. Les méthodes les plus courantes procédées conventionnelles sont utilisées, dont l'hydrodistillation. Il apparaît dans l'appareil de Clevenger. La matière végétale est trempée directement dans un alambic rempli d'eau qui repose sur une source de chaleur. Le tout est ensuite bouilli pour casser les cellules végétales et libérer les molécules aromatiques volatiles qui composent l'huile essentielle de cette plante. La vapeur hétérogène est condensée dans un serpentin, un long et fin tube de verre spiralé plongé dans de l'eau froide. Enfin, l'eau saturée en principes actifs est recueillie dans un récipient spécial appelé "Vase Florentin", où l'hydrolat est séparé et l'huile essentielle. Il est plus léger que l'eau (à de rares exceptions près) et flotte au-dessus de l'hydrolat, qui flotte simplement parce qu'il est moins dense que l'eau (à de rares exceptions lorsqu'il s'accumule au fond du récipient). La

distillation est un temps relativement court (en général 1h30 suffit pour extraire la plupart des composés volatils de la plante) [73].

I.7.2. Entrainement à la vapeur d'eau :

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à faire passer la vapeur d'eau à travers la plante à une température adéquate pour détruire les cellules végétales, libérer les molécules aromatiques et les entraîner dans un serpentin de refroidissement. Là, les vapeurs refroidies retournent à l'état liquide formant un mélange «eau + huile essentielle», Recueillies dans un essencier, l'huile essentielle et l'eau florale se séparent par simple différence de densité. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [74].

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir des plantes fraîches telles que la menthe et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles. Puisque la plante fraîche est riche en eau, donc il n'est pas nécessaire de l'immerger [75].

I.7.3. Extraction par fluide supercritique :

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait [76]. La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des HE ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydrodistillation [77, 78, 79].

I.7.4. Enfleurage :

Ce processus d'extraction, très sophistiqué, plus trop utilisé, est réservé aux huiles florales de très grande qualité. Les pétales fraîchement cueillis sont étalés sur de la graisse sur une surface plate (tamis ou plateau) sont déposées une à une et à la main à sa surface remplacés

toutes les 24H. Par son grand pouvoir d'absorption, les huiles essentielles saturant progressivement la graisse" il s'agit d'une extraction à froid par la graisse [80]. La matière grasse est ensuite récupérée pour former une « pommade ». Cette pommade subit des traitements successifs à l'alcool qui permettent un passage progressif des substances odorantes de la graisse vers l'alcool, qui sera par la suite éliminé pour donner l'absolu d'enfleurage.

I.7.5.Extraction par solvant :

L'extraction par solvant consiste à faire séparer, par solubilisation, la substance à extraire dans un solvant. Celui-ci peut être de l'eau, ou bien un solvant organique, issu de la chimie du pétrole : cyclohexane, éther ... etc. L'extraction par solvant peut être utilisée pour extraire des huiles essentielles thermiquement labiles (par exemple, à partir de fleurs). Au cours de cette méthode, on place le matériel végétal dans un bain de solvant qui va le dissoudre [81]. Le solvant doit posséder différentes propriétés : sélectif, inerte vis-à-vis des substances à extraire et suffisamment volatil pour faciliter son élimination à la fin de l'opération [82]. L'extraction par solvant peut être effectuée par différentes méthodes :

Il s'agit d'une solution diluée du composant facilement soluble de la plante médicinale. Les infusions fraîches sont préparées en macérant les solides pendant une courte période de temps avec de l'eau bouillante [83].

I.7.5.1.Macération :

C'est un procédé qui consiste à mélanger intimement un solide avec un solvant qui doit être obligatoirement liquide pour en extraire les composés solubles. Le végétal est soit en suspension dans le solvant, avec ou sans agitation [84]. La macération peut être effectuée à froid ou à chaud.

I.7.5.2.Décoction :

La décoction s'applique en général aux racines, écorces, bois, rameaux, fruit [85], le processus d'extraction par décoction consiste à faire bouillir, dans de l'eau, une partie ou la totalité de la plante, pendant un temps déterminé (10 à 30min), de la laisser ensuite macérer pendant un autre laps de temps et de procéder enfin au filtrage à l'aide d'un papier spécial ou d'une toile à trame fine [86]. On prend, généralement, 10 g d'eau pour un gramme de produit végétal [87].

I.7.5.3. Infusion :

L'infusion est sans doute la méthode la plus simple en particulier pour préparer les fleurs et les feuilles .Versez de l'eau bouillantes sur la plantes (environ deux cuillerées à soupe d'herbes pour 500ml d'eau). Couvrez et les laissez infuser pendant 5 à 10 minutes, puis

filtrez. L'infusion peut ensuite être bue ou appliquée sur les zones douloureuses ou blessées [88].

Chapitre II :
Matériel et Méthodes

II.1.Objectif de travail :

Cette étude menée sur l'huile essentielle et l'extrait de *Salvia Officinalis L.*, vise à valoriser cette plante médicinale très répandue en Algérie. Les principaux objectifs de notre travail sont l'extraction et la récupération de l'huile essentielle et le polyphénol, l'étude qualitative et quantitative de ces deux extraite ainsi l'évaluation de ses activités biologiques.

Le tableau II.1 illustre l'emplacement et les différentes tâches qui ont été réalisées au niveau de chaque laboratoire

Tableau II.1 : Lieu et tâches effectuées.

Lieu de travail		Laboratoire	Travail expérimental
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana	Faculté ST	Laboratoire de génie des Procédés	L'extraction d'H.E, ainsi l'extrait, l'étude de propriétés physico-chimiques
		Laboratoire d'analyse Chimique	Etude de l'effet antioxydant Dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins
El Harach (Alger)	Ecole National d'agronomie l'ENSA	laboratoire de Technologie Alimentaire	L'analyse CPG d'HE
Khemis Miliana	Laboratoire d'analyse Houti	Laboratoire Microbiologique	Evaluation de l'activité antibactérienne

II.2. Matériel :

II.2.1. Produits chimiques :

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail sont cités dans le tableau **II.2**.

Tableau II. 2 : Solvants, produits chimiques utilisé lors de cette étude.

Solvants	Réactifs
Ethanol 96°	Hydroxyde de potassium Hydroxyde de sodium
L'eau distillée	Permanganate de potassium
Eau physiologique	DPPH
DMSO	Vitamine C
L'acide sulfurique	Carbonates de sodium, Tampon phosphate
Acide chlorhydrique	PBS,
	Solution hypo salin
	L'acide gallique
	Tween 20°
	Phénolphtaléine
	Folin- ciocalteu

II.2.2. Appareillages et verreries :

Tous les appareillages et verreries utilisés dans ce travail sont cités dans le tableau **II.3**.

Tableau II. 3 : Appareillages et verreries utilisés lors de cette étude.

Appareillages	Verreries	Autre consommable
Balance électrique, bain marie, plaque chauffante, thermomètre, réfractomètre, étuve, rota-évaporateur, broyeur, spectrophotomètre UV-visible, micropipette, L'extracteur (Clevenger), Soxhlet, incubateur.	béchers, verre de montre, flacons, burettes graduées, erlenmeyer, entonnoirs, tubes à essais	Boites de pétri, disques en papier filtre, écouvillons, pince, bec bunsen.

II.2.3. Matériel végétal :

La plante étudiée dans ce travail est La sauge officinale (*Salvia officinalis L.*) la partie utilisée est les fleurs et les tiges, ont été récoltées au mois de Mars et mai 2023 dans la région Sidi Sebaa a Miliana (36.290541,2.230020).Wilaya de Ain Defla. Après le séchage à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité pendant 10jours, le matériel végétal est utilisé **figure II.1.**

La plante a été identifiée par le **Dr.M. Kouache**, enseignant chercheur au niveau du département SNV à l'université de Djillali Bounaama Khemis Miliana.



Figure II.1 : Photo représentant la plante avant et après le séchage

II.3.Choix de la méthode d'extraction :

Le choix de la méthode utilisée définit la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation. L'entraînement par la vapeur ou l'hydro distillation de la plante fraîche ou sèche restent les techniques les plus utilisées. La méthode d'extraction d'huile essentielle choisi est l'hydrodistillation vu sa manipulation facile avec un simple montage qui fonction à une pression atmosphérique, et aussi sa capacité à extraire la totalité d'huile contenue dans les plantes sans utilisation des solvants chères et néfastes pour la santé [87].Par contre

l'extraction par solvant (soxhlet) est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première [88]. Ces deux méthodes sont parmi les plus simples procédés d'extraction.

II.4. Taux d'humidité :

Le taux d'humidité représente la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. L'humidité est exprimée en pourcentage et calculée par la formule suivante [89] :

$$H\% = [(M_f - M_s) / M_f] \times 100 \quad \text{II.1}$$

Avec :

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

M_f : masse de l'échantillon avant séchage (matière fraîche).

M_s : masse de l'échantillon après séchage (matière sèche).

II.5. Etude de la cinétique d'extraction :

L'étude de la cinétique d'extraction a pour but de déterminer le temps nécessaire au bout duquel il n'est plus rentable de poursuivre l'extraction, qualifié par le rendement optimum, et c'est la variation de la masse d'huile essentielle en fonction de temps jusqu'à l'extraction totale d'huile essentielle [87].

II.6. Extraction des métabolites secondaires :

II.6.1. Extraction des H.Es :

L'extraction des huiles essentielles est réalisée par la distillation de l'eau à l'aide d'un équipement de type Clevenger (**Figure II.2**). Il se compose d'un ballon chauffant, qui peut répartir la chaleur uniformément dans le ballon. On place le matériel végétal sec et l'eau distillée, une colonne pour condenser la vapeur (réfrigérant) du ballon chauffant, et un collecteur pour recevoir le produit distillé.

- **Principe de l'extraction :**

Les végétaux sont introduits dans le ballon réacteur et immergés dans un bain d'eau, en présence de pierre ponce ou de billes de verre. Lors de la distillation, les vapeurs d'eau et d'huile essentielles se condensent dans le réfrigérant. L'hydrolat refroidi retourne dans le ballon [89]

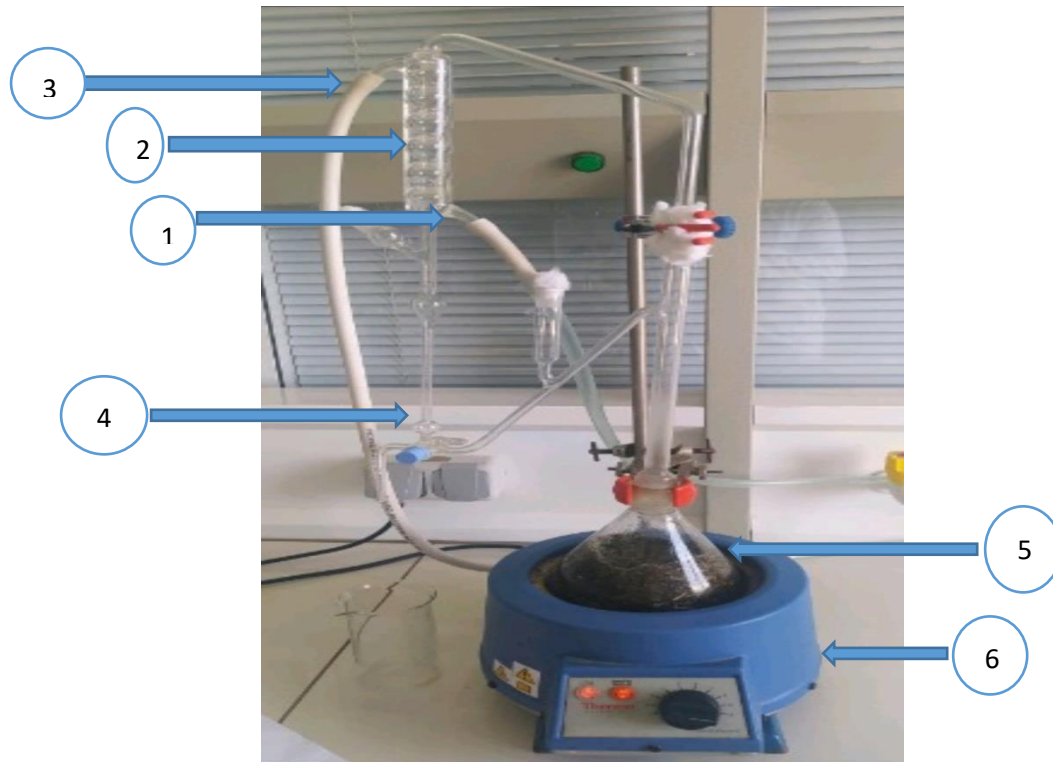


Figure II.2 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger).

1) Sortie d'eau froide ; 2) condenseur ; 3) Entrée d'eau froide ; 4) Huile essentielle ; 5) La plante sèche + eau distillé ; 6) Chauffe ballon

• **Protocole d'extraction :**

- 50 g des Fleurs et feuilles sèche de (*Salvia Officinalis L.*) dans un ballon de 1 litres et imprégnés d'eau distillée (300 ml).
- Ouvrir le robinet d'eau froide reliait au réfrigérant, l'ensemble est porté à l'ébullition pendant 1 heures 30minutes.
- Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant se condensent puis elles sont récupérées dans une ampoule à décanter.
- Huile essentielle se sépare de l'hydrolat
- Récupérer puis stockée à 4°C à l'obscurité jusqu'à son utilisation.

- **Le Rendement d'extraction :**

Le rendement d'huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M_{MV}). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule II.2 suivante:

$$R(\%) = (M_{HE} / M_{MV}) \times 100 \quad \text{II.2}$$

Où :

$R(\%)$: Rendement en huile essentielle exprimé en pourcent.

M_{HE} : La masse d'huile essentielle obtenue.

M_{MV} : La masse de la prise d'essai de matière végétale utilisée

II.6.2. Caractérisation de l'huile essentielle extraite :

La caractérisation des huiles essentielles se fait à fin d'évaluer la qualité des extraits, on réalise une étude analytique, tout d'abord en déterminant les caractéristiques organoleptiques, puis les propriétés physico-chimiques.

II.6.2.1. Caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'une huile essentielle, et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

II.6.2.2. Détermination des propriétés physico-chimiques :

Les H.Es sont caractérisées par leurs propriétés physiques (potentiel hydrogène, densité relative, indice de réfraction) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, indice de saponification, indice d'ester).

a. Potentiel hydrogène (pH) :

Cette mesure a été effectuée à l'aide du papier pH.

b. La densité relative :

La densité d'une huile essentielle, est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à la masse d'un volume égal d'eau distillée à une température de 20°C [90].

• Protocole :

On pèse à l'aide d'un pycnomètre, des volumes égaux d'H.E et d'eau distillée : on pèse successivement le flacon vide, puis le flacon rempli d'eau distillée. Après essuyage, on le remplit avec l'HE et on note leurs poids exacts. La densité de l'huile essentielle est calculée par la formule II.3.

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad \text{II.3}$$

Où :

d : densité,

m_0 : est la masse, en grammes, du pycnomètre vide,

m_1 : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'eau,

m_2 : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'huile essentielle

c. L'indice de réfraction :

La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre **figure II.3**.



Figure II.3 : Réfractomètre.

Après avoir nettoyé l'appareil, déposez 2 ou 3 gouttes d'huile essentielle au milieu du prisme. On regarde ensuite dans l'oculaire et on effectue la mesure en tournant le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, et enfin on note la valeur de l'indice de réfraction et la température de mesure [91].

Une formule empirique permet d'évaluer l'indice de réfraction d'un liquide à 20°C quand on l'a mesuré à une température légèrement différente :

$$\eta_{20} = \eta_{\theta} + 0.00045 * (\theta - 20^{\circ}\text{C}) \quad \text{II.4}$$

Où :

η_{20} : Indice de réfraction à 20°C.

η_{θ} : Indice de réfraction à la température de mesure.

θ : Température de mesure.

0,00045 : Constant de variation de l'indice de réfraction quand la température varie de 1°C.

d. Indice d'acide I_a :

Les acides libres contenus dans les huiles essentielles sont neutralisés par une solution titrée de KOH [81].

- **Protocole :**

On introduit 0,5 g de l'échantillon d'huile essentielle dans l'erlenmeyer propre et sec, puis on ajoute 5ml d'éthanol absolue à 95 % et 5 gouttes de l'indicateur coloré phénophtaléine, puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium à 0,1N.

A la fin on prend le volume exact de KOH consommé pour le calcul de l'indice d'acide à l'aide de la formule suivante :

$$I_a = (M \times N \times V) / m \quad \text{II.4}$$

$$I_a = (5,61 \cdot V_{\text{KOH}}) / m \quad \text{II.5}$$

I_a : indice d'acide

V_{KOH} : volume de KOH versé (ml)

M : masse de KOH (g)

m : masse d'huile (g)

N : Normalité de KOH

e. Indice de saponification :

Le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres et pour saponifier les acides gras combinés (les esters) présents dans les corps gras [89].

Le calcul de l'Is est donné par la formule :

$$I_s = \frac{C_{HCl} \times M_{KOH} \times (V_0 - V_1)}{m} \quad \text{II.6}$$

$$I_s = \frac{28, \times (V_0 - V_1)}{m} \quad \text{II.7}$$

Où :

Is : indice de saponification en mg

C_{HCl} : concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/L

M_{KOH} : masse molaire du KOH en g/mol.

V_0 : Volume d'HCl verse à blanc en (ml).

V_1 : Volume d'HCl versé essai en (ml).

m : masse de la prise d'essai en (g).

- **Protocole :**

Dans un ballon de 250 ml, on introduit 1g d'HE et 25 ml d'une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5M à l'aide d'une burette. L'ensemble est porté au reflux pendant 90 min. Après refroidissement de la solution, on ajoute 5 gouttes de phénolphthaléine. L'excès de KOH est titré par une solution d'acide chlorhydrique (HCL) 0,5N.

Le point d'équivalence a été mis en évidence de la même manière expliquée précédemment.

Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment.

f. Indice d'ester :

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier les esters contenus dans un gramme de corps gras [92].

- **Protocole :**

Le calcul de l'indice d'ester (I_e) se fait à partir de l'indice de saponification (I_s) et de l'indice d'acide (I_a) par la Formule **II.8** :

$$\text{II.8} \quad I_e = I_s - I_a$$

II.6.3. Extraction des polyphénols :

L'extraction par le Soxhlet est une méthode simple et pratique. Le cycle d'extraction est répété en continu avec du solvant frais jusqu'à ce que le soluté dans la matière première soit complètement épuisé [88].

Le montage d'un appareil Soxhlet est représenté dans la **figure II.4**

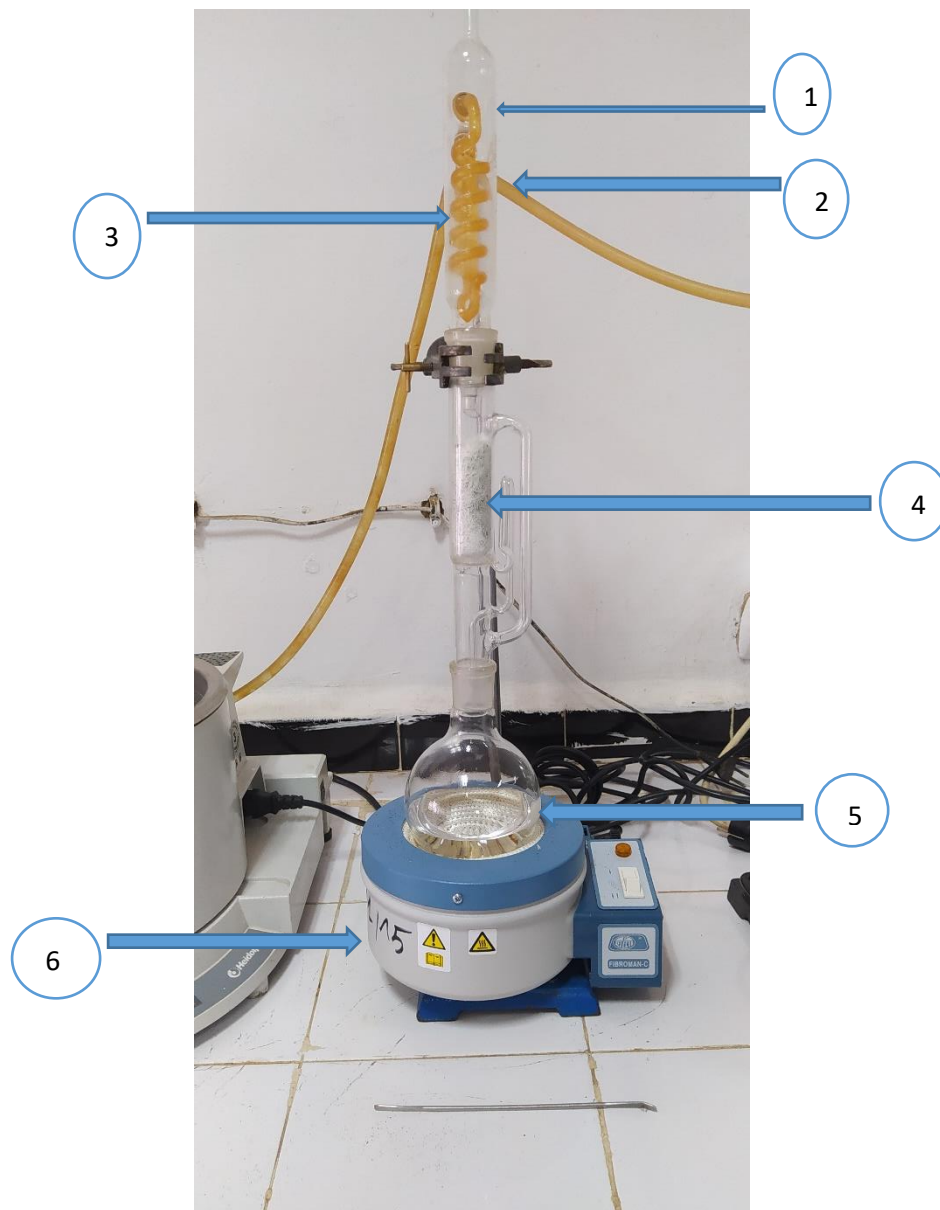


Figure II.4 : Montage de l'extracteur Soxhlet.

1) Sortie d'eau ; 2) Entrée d'eau ; 3) Réfrigérant ; 4) Cartouche poreuse ; 5) Solvant ; 6) Source de chaleur

• **Protocole d'extraction :**

Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant :

- Les fleurs séchées ont été broyées.
- Mettre une quantité de poudre ($m = 10\text{g}$) dans la cartouche (une matière pénétrable pour le solvant).

- La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.
- verser 200 ml d'éthanol dans le ballon et porté à ébullition.
- Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant (éthanol) passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées.
- Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant (éthanol).
- Le solvant (éthanol) condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites.
- L'extraction continue 2 heures jusqu'à l'épuisement de la matière solide, chargée dans la cartouche.
- Séparation entre l'extrait et éthanol nous avons utilisé une machine appelée "Rotavapor" (Figure II.7) à température $T^{\circ}=79c^{\circ}$.



Figure II.5 : Rotavapor,

- **Principe de Rotavapor :**

Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite [88].

- **Protocole :**

- Remplir le bain-marie avec de l'eau distillée.
- On place le ballon rotatif cela contient éthanol et extrait.
- On règle la température (La température d'ébullition de éthanol = 79°C).
- Après une heure de rotation du ballon, l'éthanol est évaporée et récupérer extrait.
- Pour extraire les polyphénols, on utilise plusieurs solvants, à savoir : éthanol, butanol et l'acétate d'éthyle.

II.6.3.1. Dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins :

a. Dosage des phénols totaux :

- **Principe :**

Le test de Folin-Ciocalteu est la méthode la plus utilisée pour évaluer la teneur totale en composés phénoliques des extraits végétaux. Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange oxydé d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique qui, lorsqu'il est réduit, donne un chromophore bleu composé d'un complexe phosphotungstophosphomolybdène, où l'absorption maximale du chromophore dépend de la concentration en composé phénolique. Une longueur d'onde de 760 nm a été utilisée, qui s'est avéré la plus appropriée pour produire le maximum d'absorption du complexe phosphotungstophosphomolybdène [93].

- **Procédure :**

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée avec le réactif Folin-Ciocalteu selon une méthode décrite par Singleton et Rossi [93]. 20 µl de l'échantillon a été mélangé à 100µl de réactif Folin-Ciocalteu dilué fraîchement préparé (1:10v/v). Après 03minutes, 300 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3 à 7,5%) ont été ajoutés, le mélange a été agité réagi pendant

2 heures à température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance a été lue à 765 nm et comparée à une courbe d'étalonnage de l'acide gallique à concentration connue.

b. Dosage des tannins totaux :

• Principe :

Un certain nombre de méthodes colorimétriques, qui diffèrent par leur capacité à distinguer les composés phénoliques non tanniques (qui sont également présents dans le matériel végétal en plus des tanins), ont été utilisées pour estimer les tanins. Contrairement à la plupart des composés phénoliques naturels, les flavanols (tanins condensés, monomères, dimères, etc.) réagissent avec la vanilline en milieu acide pour donner des produits colorés avec une absorbance maximale à 500 nm [93].

• Procédure :

La concentration totale en extrait de *Salvia officinalice L.* a été estimée en utilisant la méthode de la vanilline acidifiée [94]. 400 µl d'échantillon ont été ajoutés à 3 ml de solution de vanilline (4% dans l'éthanol) et à 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après 20 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 500 nm et comparée à une courbe d'étalonnage de catéchine à concentration connue.

c. Dosage des flavonoïdes totaux :

• Principe :

La méthode au chlorure d'aluminium a été largement utilisée pour l'estimation de la teneur totale en flavonoïdes. Cette méthode est basée sur la capacité des flavonoïdes à former un complexe stable avec des ions Al_3^+ dans une solution. La couleur du complexe dépend du rapport des ions Al_3^+ sur les molécules de flavonoïdes et du motif des groupements hydroxyles (OH) de ces dernières. Pour cette raison, les lectures spectrophotométriques utilisées dans cette méthode peuvent varier de 367 à 510 nm dans différentes procédures expérimentales [95].

• Procédure :

La concentration en flavonoïdes totaux a été estimée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium [95], avec une légère modification. 1ml d'une solution d'éthanol $AlCl_3$ à 2% a été ajouté à 1 ml d'extrait. Le mélange réactionnel incube pendant 10 minutes à température ambiante, puis l'absorbance est lue à 430 nm et comparée à une courbe d'étalonnage de quercétine à concentration connue.

II.7. Analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG) :

L'identification des constituants des huiles essentielles nécessite plusieurs techniques chromatographiques et une ou plusieurs techniques spectroscopiques. La chromatographie en phase gazeuse (CG) est une technique de séparation et l'analyse de mélanges multi-composants tels que les huiles essentielles, avec l'utilisation du détecteur à ionisation de flamme et du détecteur à capture d'électrons (qui ont des sensibilités très élevées). L'analyse par la Chromatographie en phase gazeuse peut déterminer quantitativement les matières présentes à de très faibles concentrations [96].

- **Conditions opératoires de la CPG :**

Les analyses chromatographiques ont été effectuées au laboratoire de Technologie Alimentaire de l'ENSA- ex INA, à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de Pression, de type Chrompack CP 9002, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25 μm d'épaisseur de film, d'un détecteur à Ionisation de flamme réglé à 280°C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air et d'un injecteur Split splitless réglé à 250°C. Le gaz vecteur est l'azote à 1 ml/min. Le mode d'injection est split (Rapport de fuite de 1/50, débit de 66 ml/min). La température de la colonne est programmée de **50°C (3mn) à 250°C à raison de 2°C/min, puis est maintenue à 250°C pendant 10 min**. La quantité d'huile essentielle injectée est de 1 μl pour chaque espèce. La détermination des composés chimiques détectés a été réalisée par comparaison des temps de rétention des pics Enregistrés à ceux des étalons disponibles. D'autres pics sont identifiés en se basant sur leurs indices de Kovàts (IK). L'indice du Kovàts est nommé d'après le chimiste suisse Ervin Kovàts, qui a présenté ce concept dans les années 1950 tout en effectuant des recherches sur la composition des huiles Essentielles. Il est utilisé pour convertir les temps de rétention en constantes indépendantes du système.



Figure II.6 : Photo représentant Chromatographe CHROMPACHK CP9002

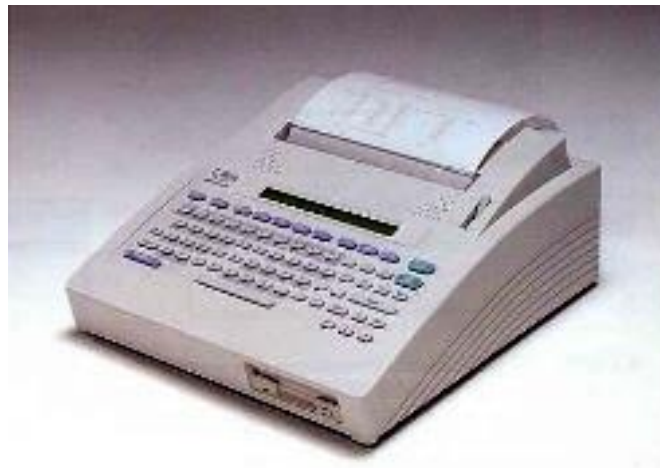


Figure II.7 : Intégrateur Shimadzu

II.8. Evaluation de l'activité antioxydante :

La méthode de piégeage du radical (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant. A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui est changée par la couleur jaune au contact d'une substance donneuse de protons, cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm [99].

II.8.1. Test DPPH :

L'activité antioxydant des extraits a été mesurée in vitro par le 2,2.-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée photométrable à 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine DPPH de coloration jaune-verte. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

L'activité antiradicalaire de l'huile essentielle sera mesurée par la méthode décrite par Deepa et al. [100].

Une quantité de 0,0024mg de DPPH* (1,1 Diphényl 2 PycrilHydrazil) est solubilisée dans 100ml d'éthanol absolue pour avoir une solution éthanolique de DPPH*. On laisse la solution reposer à une température ambiante pendant une heure.



Figure II.8 : Préparation d'une solution éthanolique de DPPH*

- Pour l'huile essentielle :

Dans un bécher sec stérile on introduit la solution mère qui contient 500 μ l d'huile essentielle, on ajoute 1 ml d'éthanol.

- Pour l'extrait :

Dans un bécher sec stérile on introduit la solution mère qui contient 500 μ l de l'extrait, on ajoute 1 ml d'éthanol.

- **Essais au DPPH***

Dans huit tubes secs et stériles, on prépare :

1. 10 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*

2. 20 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*
3. 40 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*
4. 60 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*
5. 80 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*
6. 100 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*
7. 200 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*
8. 300 μ l de solution mère + 1 ml de DPPH*



Figure II.9 : Essais de DPPH* avec les différents volumes de solution mère.

Après 30 min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517nm.

Détermination du pourcentage d'inhibition :

D'après Khodashenas l'inhibition du radical libre de DPPH* en pourcentage (Pr%) est calculée selon la formule II.9 suivante :

$$PI = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100 \quad \text{II.9}$$

Pr: pourcentage d'inhibition (%).

A_{blanc} : Absorbance du blanc (DPPH* dans l'éthanol),

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance du composé d'essai

Le pourcentage du DPPH* inhibé en fonction des concentrations en H.E et en vitamine C (Acide Ascorbique) a été tracé à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC₅₀.

Ce paramètre est défini comme étant la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH* initiale de 50%. La concentration effectrice (IC₅₀) définie comme la concentration de l'échantillon qui produit 50% d'effet piègeur du radical DPPH* (concentration équivalente à 50% de DPPH* perdu). Les résultats peuvent être aussi exprimés en puissance anti radicalaire [101].

$$A = \frac{1}{IC_{50}} \quad \text{II.10}$$

A : Puissance anti radicalaire.

IC₅₀ : La concentration effectrice d'échantillon pour réduire 50% de DPPH*.

II.8.2. L'acide ascorbique :

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif, dans la méthode de l'évaluation de l'activité antioxydant (DPPH*), et aux mêmes conditions expérimentales.

La masse volumique de l'acide ascorbique (Vitamine C) = 176,13g/mol.

- **Protocole :**

- Peser 16 mg de V.C par une balance analytique (0,0016g)
- Introduire ces 16 mg de V.C par tube de 10 ml d'éthanol
- Dans huit tubes stériles on prépare comme suit :
 1. 10 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 2. 20 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 3. 40 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 4. 60 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 5. 80 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 6. 100 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 7. 200 µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*
 8. 300µl d'acide ascorbique + 1 ml de DPPH*

Les solutions sont incubées pendant 30 min à température ambiante. L'absorbance est lue à 570 nm par un spectrophotomètre.

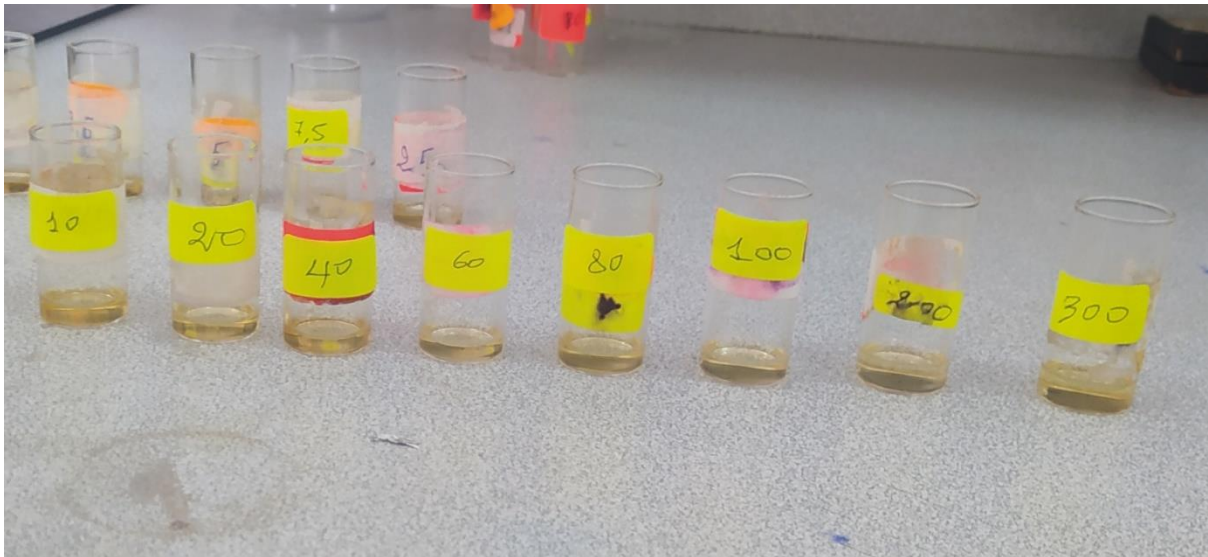


Figure II.10 : Essais de DPPH* avec les différents volumes d'acide ascorbique.

II.9. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Pour la mise en évidence du pouvoir antimicrobienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* nous avons testés Sept bactéries et une seule levure, Les tests microbiologiques ont été réalisés au laboratoire de microbiologie de Dr.Houti de Khemis Miliana.

II.9.1.Les souches microbiennes testées :

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Salvia officinalis* sont les suivants :

- sept souches bactériennes cliniques isolées de patients (au laboratoire Dr.Houti de Khemis Miliana) pour des infections urinaires: : *Enterococcus* , *Staphylococcus aureus* , *Staphylococcus saprophyticus* , *Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* , *Pseudomonas aeruginosa* .

- Nous avons utilisé un seul type de levure de référence, à savoir *Candidat albicans*.

Ils ont tous été fournis par le laboratoire de microbiologie Dr.Houti de Khemis Miliana.



II.11.Figure : les souches bactériennes.

II.9.2.Le milieu de culture :

Le milieu de culture utilisé pour la réalisation des tests antimicrobiens sont :

- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux huiles essentielles et l'extrait de notre plante.

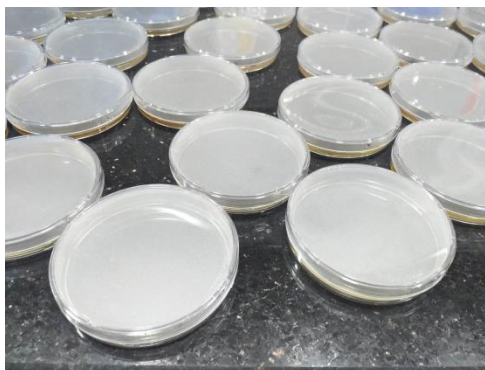


Figure II.12: Préparation de milieu de culture.

II.9.3.Préparation des prés cultures :

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive. Après 18h d'incubation à 37°C, pour chaque microorganisme, des suspensions microbiennes d'une densité optique de 1 McFarland ont été préparées, pour chaque microorganisme, dans 10 ml d'une solution saline d'eau physiologique stérile (0.9% NaCl).

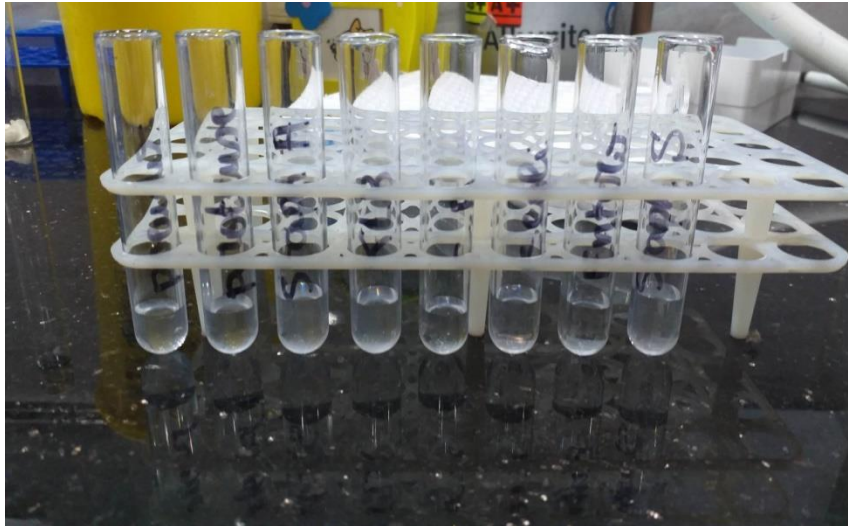


Figure II.13: les suspensions microbiennes.

Principe :

Étalez les souches utilisées sur la surface d'une boîte de pétri contenant un milieu Muller – Hinton approprié, puis placez le disque de papier filtre trempé dans l'huile essentielle testée sur la surface de la boîte de pétri et frottez-le. Après la période d'incubation (24h) dans l'incubateur, utilisez une échelle pour mesurer la zone d'inhibition de croissance qui apparaît autour du disque. Le diamètre de cette zone est directement proportionnel à l'effet antibactérien de l'huile essentielle et l'extrait testés [96].

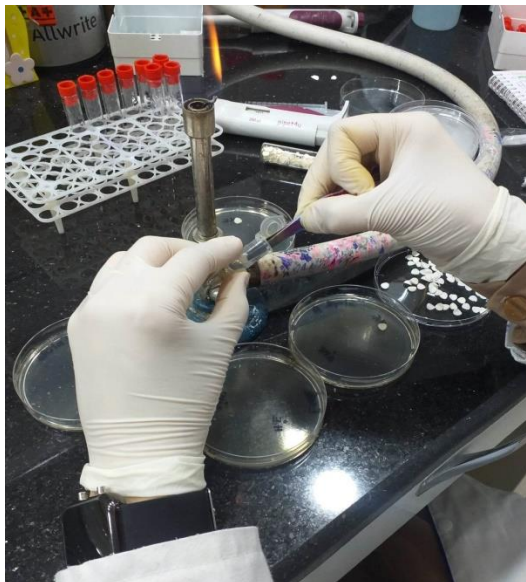




Figure II.14 : Principe de la diffusion sur disque [96].

Protocole :

• **Préparation des disques :**

- Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre.
- Stériliser les disques à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

• **Préparation des dilutions de l'huile essentielle :**

- Réaliser une série de dilution de l'H.E dans le DMSO préparé en laboratoire en débutant par une dilution à 1/2 jusqu'à la dilution de 1/16 dans des tubes stériles.
- Le 1^{er} tube contient **250 µl** d'huile essentielle et **250 µl** de DMSO.
- **250 µl** de la première dilution sont transférées dans le deuxième tube auquel on rajoute **250 µl** de DMSO pour obtenir une dilution 1/4.
- Les dilutions à 1/8, 1/16 sont préparés de la même manière. et on a aussi un tube de **250 µl** d'huile essentielle pure.

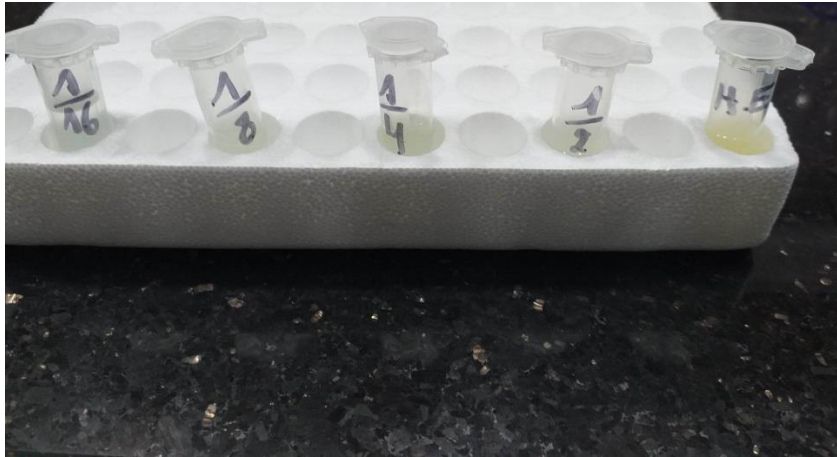


Figure II.15 : Photo représentant la préparation de la dilution d'H.E.

On a fait la même méthode de dilution pour l'extrait.

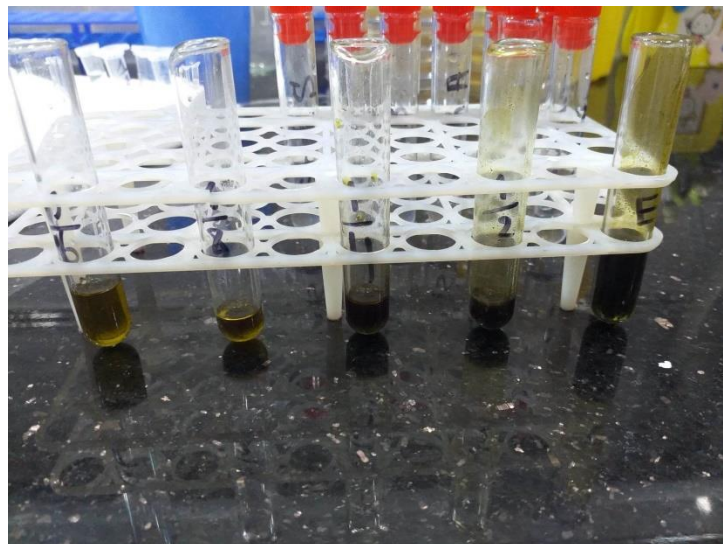


Figure II.16 : Photo représentant la préparation de la dilution d'extrait.

- **Ensemencement par écouvillonnage :**

L'écouvillon stérile, trempé et agité dans la suspension bactérienne, préalablement préparée, est essoré sur la paroi de tube à essai. L'ensemencement consiste en étalant par écouvillonnage d'un milieu Muller –Hinton (**Figure II.16**). L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface de manière à obtenir un ensemencement homogène et une culture abondante. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.



Figure II.17: Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne.

- **Incubation :**

Les boîtes sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes.



Figure II.18: Photos représentant l'incubation des boîtes.

- **Lecture des résultats :**

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

Chapitre III :

Résultats et discussions

III.1. Taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % [89].

Après 10 jours de séchage, le poids se fixe à 28 g.

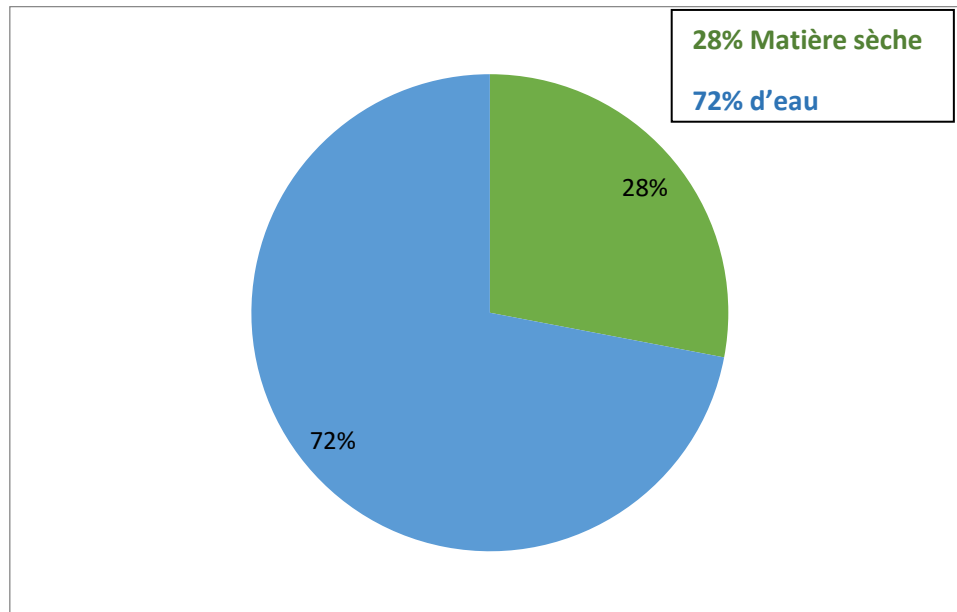


Figure III.1 : Taux d'humidité de *Salvia officinalis L.*

La Figure III.1 montre que *Salvia officinalis L.*, renferme 72% d'eau alors que la matière sèche représente une quantité de 28%.

III.2. Extraction d'huile essentielle

Dans ce travail la quantité d'huile essentielle (figure III.2) formée a été récupérée dans un tube à essai.

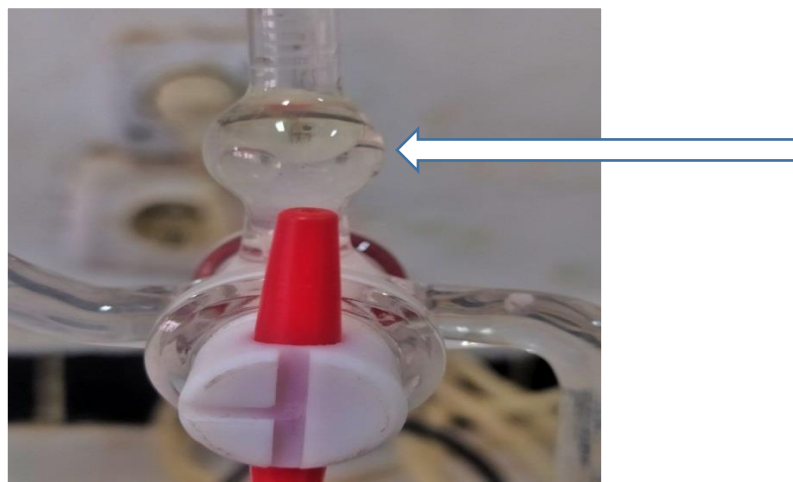


Figure III.2 : l'huile essentielle *Salvia officinalis L.*

III.2.1. Rendement d'extraction

Les résultats d'extraction de l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.*, indique que le rendement ($R_{HE} \approx 0,8\%$).

L'estimation du rendement massique en huile essentielle obtenu par hydrodistillation d'autre travaille antérieur révèle des valeurs comprises entre 0,41-2,3% [87]. Notre valeur est accord avec la littérature, néanmoins une légère différence peut être attribuée aux : conditions opératoires appliquées, la partie de la plante utilisée, ainsi que l'origine de la récolte de la plante.

III.2.2. Cinétique d'extraction

Pour ce test nous avons fixé la masse de la matière végétale sèche à 50g et le volume d'eau à 500 ml alors que le temps d'extraction varie de 15 à 135 minutes, avec un pas de 15 minutes. Les résultats obtenus sont notés dans le **tableau III.1**

Tableau III.1: Influence de la durée d'extraction sur le rendement en huiles essentielles de *Salvia officinalis L.*

Temps (min)	15	30	45	60	75	90	105	120	135
Masse cumulée (g)	0.235	0.397	0.415	0.433	0.469	0.505	0.541	0.541	0.541

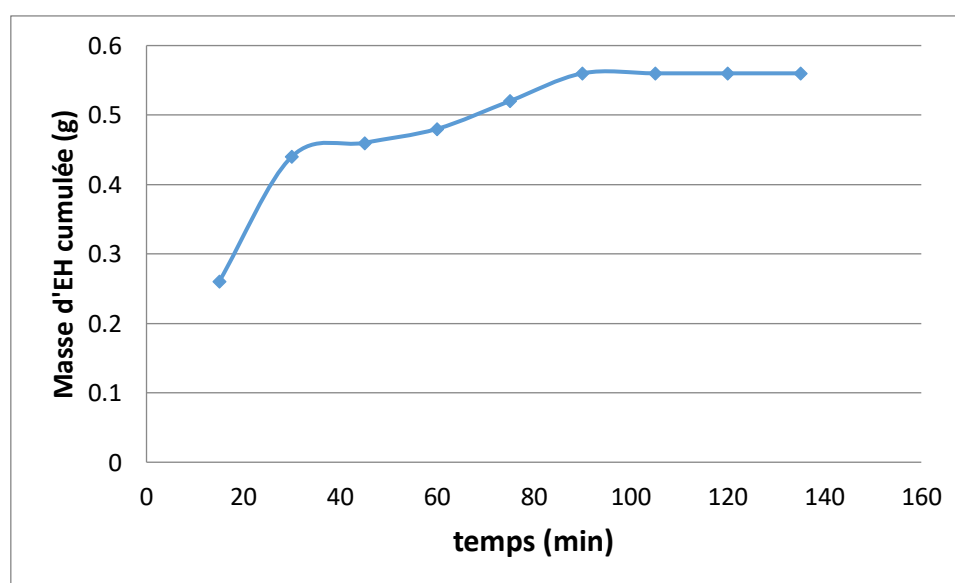


Figure III.3: Courbe de la cinétique d'extraction d'huile par hydrodistillation.

La figure **III.3** représente la variation de la masse cumulée en huile essentielle de Sauge en fonction du temps, D'après l'allure, on peut distinguer trois différentes parties d'extraction :

- La première partie (de 15 jusqu'à 30 min) de l'extraction, c'est la phase d'accélération où l'extraction est rapide (diffusion externe), elle est représentée par une droite. La pente de cette partie montre la facilité de l'extraction, donc cette phase représente 73.38 % de la masse totale extraite pendant 135 min.
- La deuxième partie (de 30 jusqu'à 90 min) correspond à la phase de ralentissement où l'extraction est limitée par la diffusion interne.
- Enfin au cours de la troisième étape (90 jusqu'à 135 min), Dans cette période, l'extraction se stabilise, et correspond donc au temps nécessaire pour extraire la quasi-totalité des huiles contenues dans la plante.

On peut déduire le temps adéquat pour l'extraction d'huile essentielle de *Salvia* par une valeur de 60 min, où le début de ralentissement ce commence, dont le but est de minimiser le temps et économiser l'énergie.

III.3.1. L'analyse de l'huile essentielle du *Salvia officinalis* L.

III.3.1.1. Caractères organoleptiques

Après l'extraction, On déterminer les caractères organoleptiques d'huile essentielle de *Salvia officinalis* L., obtenue et comparé avec ceux donnés des travaux antérieures [87] et [102].

Les résultats des caractères organoleptiques sont présentés dans le tableau **III.2**.

Tableau III.2 : Les caractères organoleptiques de l'H.E de *Salvia officinalis* L.

Huile essentielle	Aspect	Couleur	Saveur	Odeur
Huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i>	Liquide	Jaune	Piquante	Camphrée
D'après [102]	Liquide	Jaune foncé	Piquante	Camphrée
D'après [87]	Liquide	Incolore	/	Camphrée

III.3.1.2. Caractéristiques physiques

Le tableau III.3 regroupe les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de *salvia officinalis* L., en comparaison avec celles données par des travaux antérieurs

Tableau III.3 : Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de *S. Officinalis* L.

	pH	La densité Relative	Indice de réfraction
Résultats Obtenus	5	0,902	1,479
[103]	3,2	0,929	1,467

La densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles et l'un des paramètres de pureté. La densité de notre huile essentielle elle est inférieure à celle de l'eau.

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acide, de leurs degrés d'insaturation et de la température. Il varie essentiellement avec la teneur en mono terpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpènes donnera un indice élevé [96]. L'indice de réfraction obtenu est de 1,479 .Notre résultat est proche à celui de [103]

III.3.1.3. Caractères chimiques

Les indices d'acide, ester et de saponification de l'H.E de *Salvia officinalis* L. sont calculés et présentés dans le tableau III.4.

Tableau III.4: Les indices chimiques d'HE de *salvia officinalis* L., étudiées

	Indice d'acide	Indice de saponification	Indice d'ester
Résultats Obtenus	1,122	8,968	10,09
[102]	1,683	/	5,9

Les caractéristiques chimiques de notre huile essentielle concordent avec ceux cités par AFNOR (1998) indiquant que les valeurs des indices d'acide et de saponification d'une huile essentielle ne dépassent pas en générale 6,5 et 28 respectivement [96].

- L'I_a est un critère de qualité indiquant la quantité d'acides gras libres présents dans notre huile essentielle et la susceptibilité de l'H.E à subir des altérations notamment l'oxydation [104], il est augmenté avec la durée de la conservation au cours de laquelle les huiles essentielles pourraient être oxydées et dégradées rapidement [105].
- L'I_s indique simplement combien de milligrammes de base sont nécessaire pour saponifier complètement 1 gramme de corps gras (huile ou graisse). Ce chiffre indique habituellement la quantité d'hydroxyde de potassium (potasse) nécessaire plutôt que la quantité d'hydroxyde de sodium (NaOH) nécessaire.

Dans notre cas, il faut 8,968 g de soude pour saponifier 1g d'huile de *Salvia officinalis* L., ainsi ce qui veut dire que l'huile est riche en acides gras.

Les esters sont des molécules à peu près privées de toxicité aux doses physiologiques normales. On a obtenu dans nos résultats un taux d'indice d'ester de 10,09.

Les résultats obtenus indiquent que les caractéristiques organoleptiques et les caractéristiques physicochimiques des échantillons analysés oscillent dans des intervalles comparables aux travaux antérieurs ainsi aux normes internationales reconnues. Ces paramètres diffèrent suivant l'origine des espèces étudiées.

Les valeurs obtenues, témoignent l'influence de la technique d'extraction sur les caractéristiques des huiles essentielles, ces paramètres étant influencées aussi par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de cultures des plantes, il est logique que leurs valeurs diffèrent d'un endroit à l'autre [96].

III.4. Extraction des polyphénols de *Salvia officinalis* L.

Dans cette étude, l'extraction des polyphénols de *Salvia officinalis* L. été réalisée par Soxhlet en utilisant de solvant organique (Ethanol 96%).

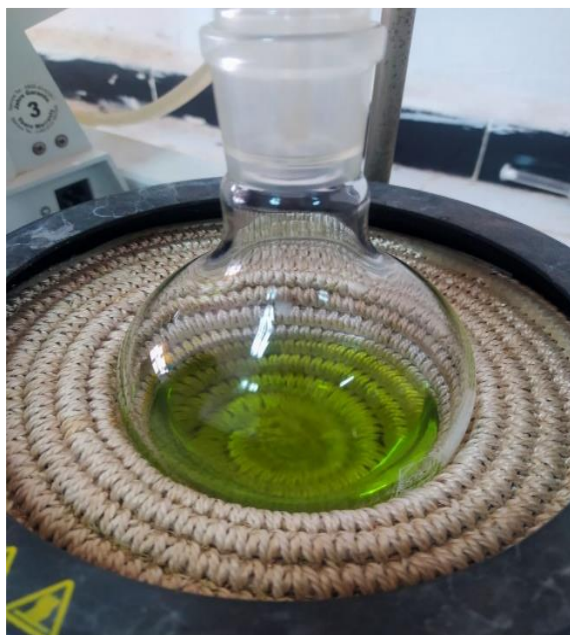


Figure III.4 : L'extrait Ethanoïque

Les résultats de rendements d'extraction sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau III.5 : Rendement d'extraction des extraits de *Salvia officinalis* L.

Plante de <i>Salvia officinalis</i> L	Partie collectrice	Poids des extraits (g)		Rendement d'extraction R (%)
	Fleurs et feuilles	Ethanol	10g	20.4 %

III.5. Dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins :

a. Dosage des phénols totaux

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées parce qu'elles sont réputées pour leurs excellentes propriétés antioxydant et antimicrobiennes. Pour ces raisons, un dosage de ces composés a été effectué pour L'extrait Ethanoïque par la méthode spectrophotométrie au réactif de Folin- Ciocalteu. Les teneurs obtenues sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg EAG/g) (**Tableau III.5**),

en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

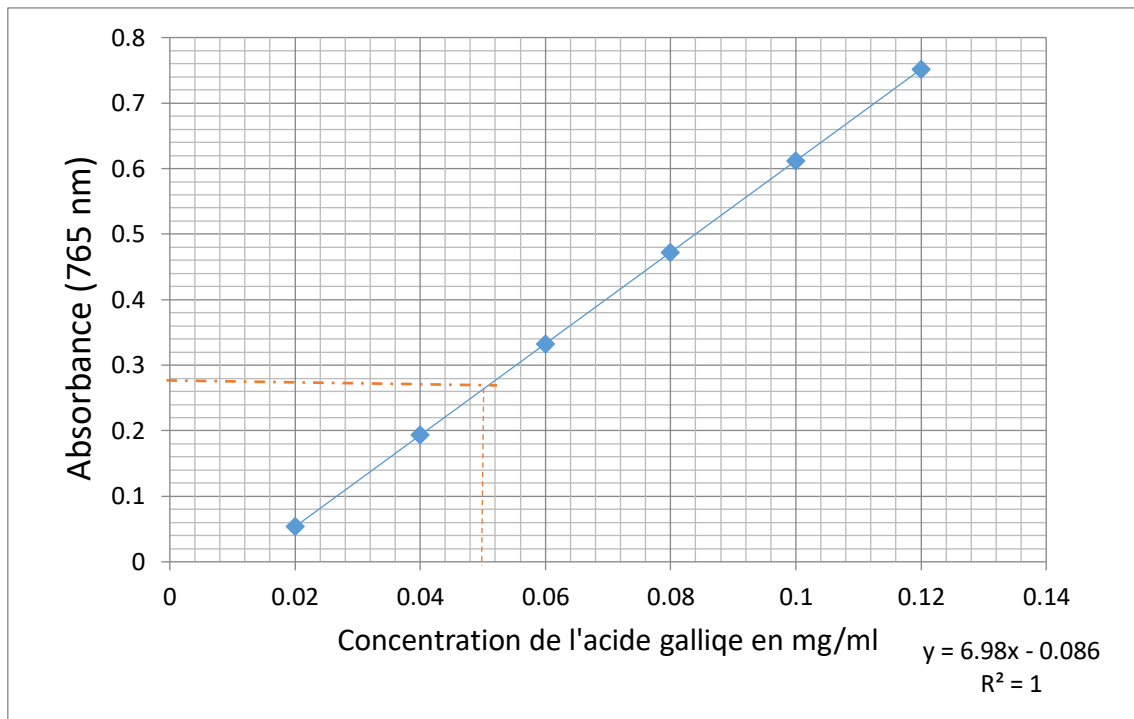


Figure III.5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau III.6 : Résultats du dosage des polyphénols

absorbance de l'échantillon	Quantité des polyphénols
A=0,285 nm	5,7 mg EAG/g

Après la lecture l'absorbance de notre échantillon $A = 0,285$ nm, on rapporte cette valeur sur la courbe d'étalonnage pour déterminons la concentration correspondante d'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux est 5,7 mg EAG/g, pour notre extrait. Par contre, un travail antérieur montre que la teneur en polyphénols l'extrait éthanol de *Salvia officinalis L.* contient 22,1 mg EAG / g [106], est largement supérieures à notre résultat car, La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant la croissance de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols [107].

g. Dosage des tannins totaux

La linéarité de la droite de régression de la courbe d'étalonnage a été évaluée en préparant des solutions standards de catéchine à des gammes de concentration connue. Pour la teneur totale en tannins. L'équation obtenue à partir de la courbe d'étalonnage linéaire des concentrations étudiées $y = 3.4797x + 0.1033$ ($R^2 = 0.9998$).

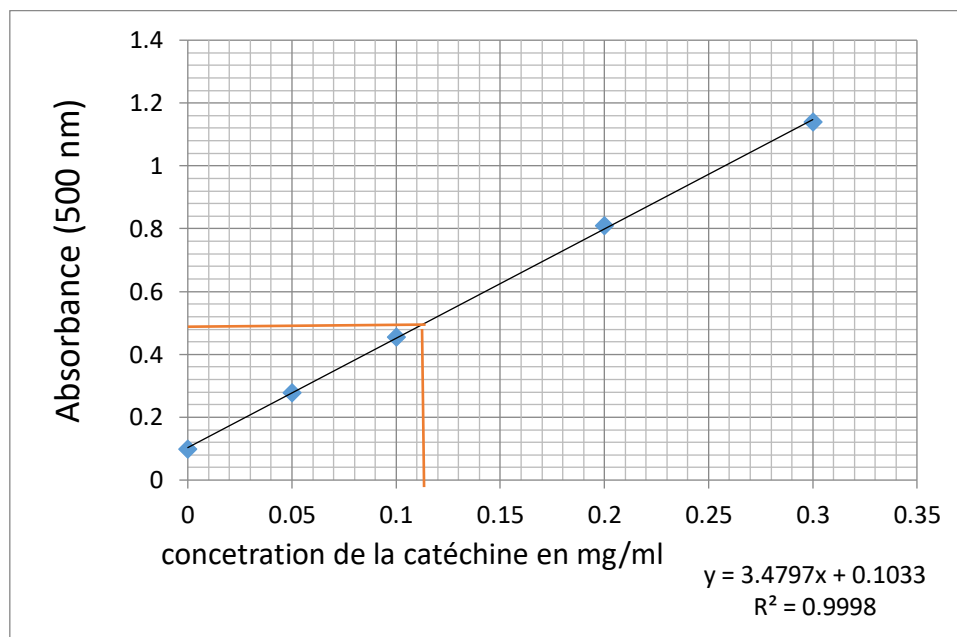


Figure III.6 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Tableau III.7 : Résultats du dosage des tannins

absorbance de l'échantillon	Quantité des tannins
0,476 nm	1,10 mg EC/g

Après la lecture, l'absorbance de notre échantillon $A = 0,476$ nm, on rapporte cette valeur sur la courbe d'étalonnage pour déterminons la concentration correspondre la catéchine.

Les teneurs en tannins condensés est de 1,10 mg EC/g, ce dosage révèle que l'échantillon est enregistré une teneur importante par rapport la catéchine. La présence des tannins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant [96].

C. Dosage des flavonoïdes totaux :

La linéarité de la droite de régression de la courbe d'étalonnage a été évaluée en préparant des solutions standards de quercétine dans l'éthanol pour la teneur totale en flavonoïdes. L'équation obtenue à partir du graphique d'étalonnage linéaire des concentrations étudiées $Y = 1,8982X + 0,0434$ ($R^2 = 0,9702$) où y représente la valeur de l'absorbance et X est la valeur de la concentration de quercétine.

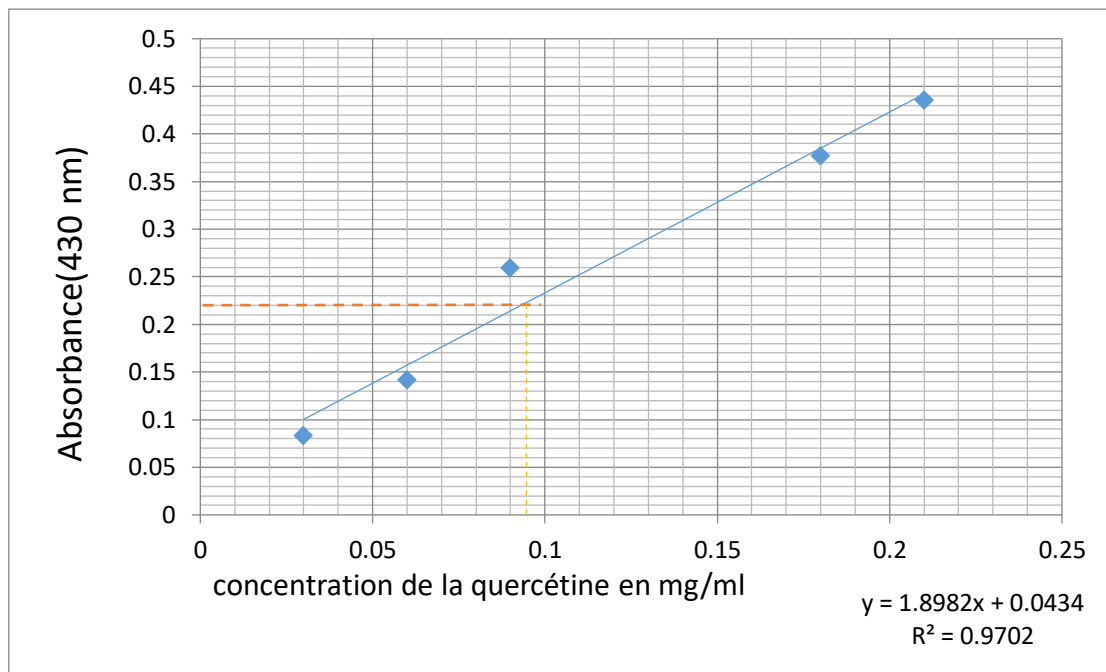


Figure III.7 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Tableau III.8 : Résultats du dosage des flavonoïdes totaux

absorbance de l'échantillon	Quantité des flavonoïdes
0,226 nm	9,5 mg EQ/g

Les résultats présentés dans le Tableau III.7 montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux, l'extrait éthanoïque enregistre (95 mg EQ/g).

Après la lecture l'absorbance de notre échantillon $A = 0,226$ nm, on rapporte cette valeur sur la courbe d'étalonnage pour déterminons la concentration correspondante la quercétine.

Les teneurs en flavonoïdes totaux est 9,5 mg EQ/g. Par contre, un travail antérieur montre que la teneur en polyphénols l'extrait éthanol de *Salvia officinalis L.* contient 8,5 mg EQ / g [106]. Ces dosages révèlent que les échantillons ont enregistré une teneur importante par rapport à la quercétine.

La teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage ces dosages révèlent que la fraction éthanol est enregistrée une teneur importante par rapport à l'acide gallique [107].

III.6. Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG

L'analyse chromatographique du gaz (CPG) de l'huile essentielle de *S. Officinalis* nous a permis d'identifier 11 composés majoritaires illustrés sur le chromatogramme.

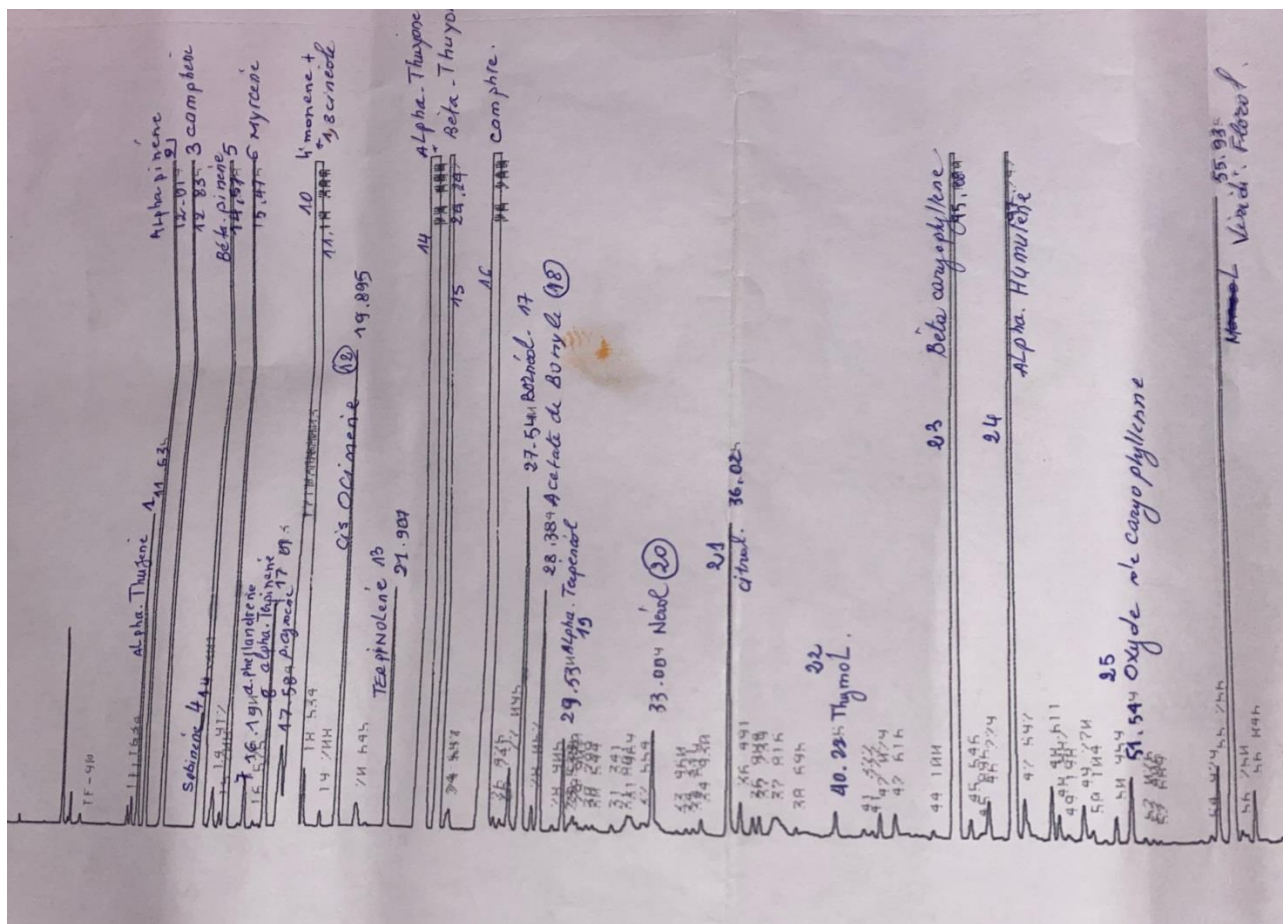


Figure III.8 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *S. Officinalis L.*

Le tableau III.9 regroupe les résultats obtenus illustrant la composition chimique de l'huile essentielle de *S.Officinalis L.*

Tableau III.9 : Composition chimique de l'huile essentielle de *S.Officinalis L.*

Composés en % de l'huile essentielle de <i>salvia officinalis L.</i>			
N° de Pic	Nom des composés	Temps de rétention	Echantillon Teneur(%)
01	<i>α-thujène</i>	11.63 mn	0.67 %
02	α-pinène	12.01 mn	2.15 %
03	camphène	12.83 mn	2.88 %
04	Sabinene	14.30 mn	0.16 %
05	β-pinène	14.57mn	4.75 %
06	Myrcene	15.47 mn	2.54 %
07	a.phellarene	16.57 mn	0.86 %
08	ã-terpinène	17.01 mn	0.33 %
09	Para-cymene	17.58 mn	0.17 %
10	limonène	17.93----18.29 mn	13.10 %
11	1.8 Cineol	18.29----18.38 mn	14 %
12	Cis-Ocimene	19.89 mn	1.70 %
13	Terpinolene	21.90 mn	0.63 %
14	α- thujone	23.42---23.64 mn	22.20 %
15	β-thujone	24.24 mn	6.38 %
16	Camphre	26.11 mn	14.48 %
17	Borneol	27.59 mn	1.15 %
18	<i>Acetate de Bonyle</i>	28.38 mn	0.63 %
19	alpha terpinéol	29.33 mn	0.23 %
20	<i>Nerol</i>	33.00 mn	0.11 %
21	<i>Citral</i>	36.02 mn	0.90 %
22	<i>Thymol</i>	40.22 mn	0.06 %
23	Béta.Cariophyllene	45.08 mn	4.74 %
24	Alpha-Humulene	47.24 mn	3.18 %
25	<i>Oxyde de Cariophyllene</i>	51.54 mn	0.19 %
26	<i>Viridi-Florol</i>	55.93 mn	1.86 %

Parmi les composés identifiés de notre H.E, le constituant majeur qui est le α -thujone avec une teneur de 22,20% suivi de Camphre (14,48%), 1.8Cinol (14%), limonène (13,10%), β -thujone (6,38%), β -pinène (4,75%), β -cariophyllène (4,74%), et (3,18%) de α -humulène, camphène (2,88%), myrcène (2,54%) pinène, (2,15%) qui pourrait expliquer les activités antifongiques, antioxydants et antimicrobienne.

D'autre étude réalisée sur *Salvia officinalis* à travers le bassin méditerranéen est rapporté la composition chimique suivante : L'étude menée en Alger, sur *Salvia officinalis*, a montré que les principaux composés sont Camphre (20,4%), le α -thujone avec une teneur de 19,6%, 1.8Cinol (12,3%), β -thujone (8%), β -cariophyllène (4,5%), (3,1%) de α -humulène, β -pinène (1,4%) [108].

Cette différence dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment et la zone de la récolte, la méthode d'extraction, les conditions de stockage.

III.7. Détermination de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer l'activité antioxydante des plantes [100].

Le DPPH* est un radical libre synthétique de couleur violette foncée. C'est le radical le plus utilisé dans l'analyse de l'activité anti-radicalaire des substances bioactives contenus dans les extraits des plantes médicinales [100] pour :

Leur absorbance maximale à 517 nm, ce qui permet donc d'évaluer l'activité anti radicalaire, par spectrophotométrie, en mesurant toute diminution d'absorbance de DPPH*.

A partir de ces courbes nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur de l'IC₅₀ pour H.E et l'extrait.

Plus la valeur de l'IC₅₀ est petite, plus l'extrait possède une bonne activité antioxydant. L'activité est considérée comme une diminution de l'absorbance de l'échantillon par rapport à la solution standard de DPPH*.

La Figure III.9 représente la concentration d'acide ascorbique $\mu\text{g/ml}$ en fonction de pourcentage d'inhibition.

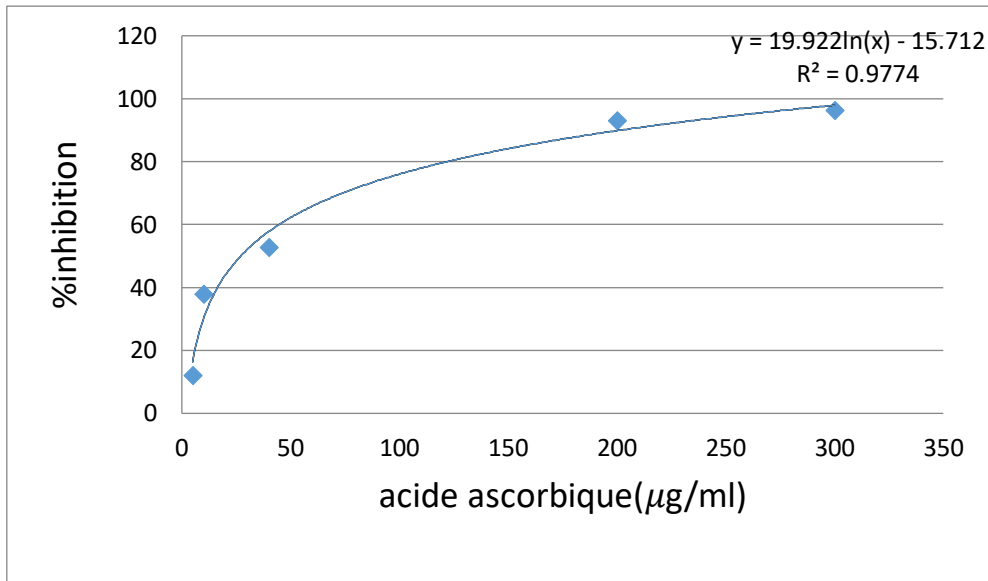


Figure III.9 : Pourcentage d’inhibition de l’acide ascorbique

Les figures (III.10), (III .11), sont représentés les courbes de pourcentage d’inhibition de HE (*Salvia officinalis.*) et d’extrait (Ethanol) par différente méthode d’extraction (Soxhlet, Clevenger).

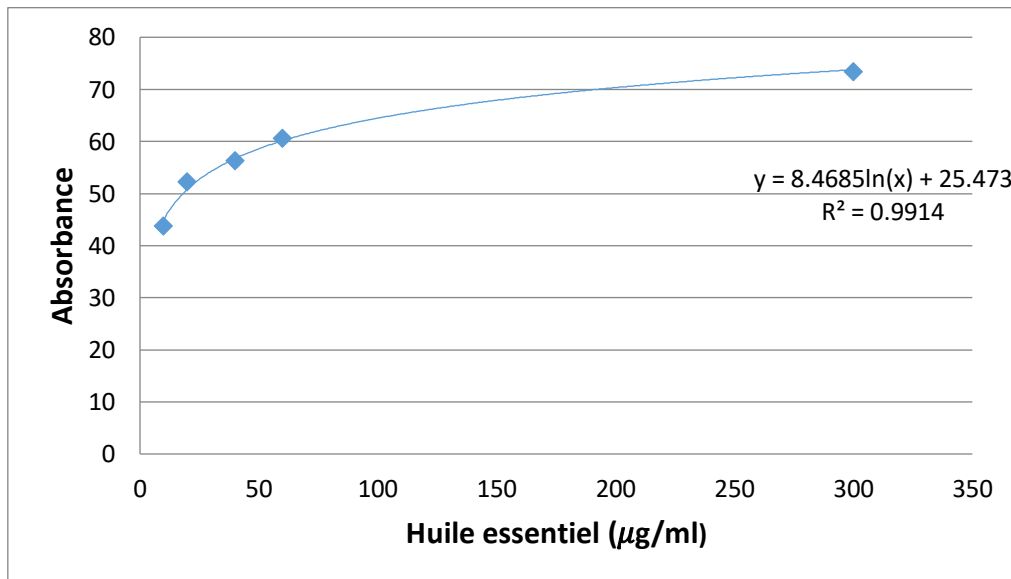


Figure III.10 : courbe de pourcentage d’inhibition d’huile essentielle.

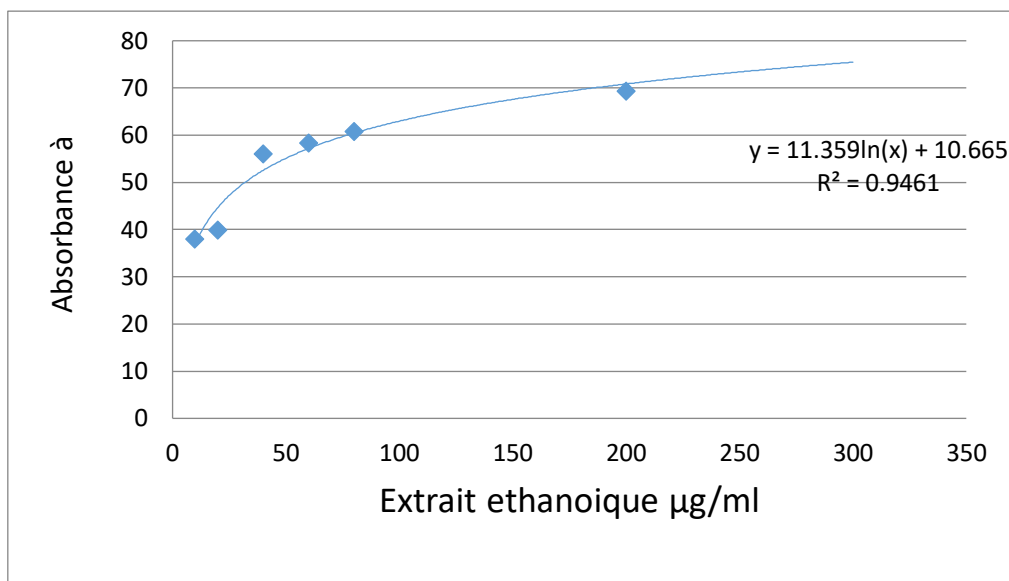


Figure III.11 : Courbe de pourcentage d'inhibition d'extract éthanoïque

Les concentrations d'H.E, de l'extract, et de l'acide ascorbique qui inhibent 50% du DPPH* (IC_{50}) déterminés graphiquement (**figures III.10- III.11**). Les résultats calculés des IC_{50} sont représentés dans le tableau **III.10**.

Tableau III.10 : Concentration d'inhibition à 50% (µg/ml) de l'extract et d'HE

	IC_{50} (µg/ml)	Puissance anti radicalaire (ml/µg)
L'H.E de <i>Salvia officinalis</i> L.	18,11	0,0552
Extract éthanoïque	31,90	0.0031
Acide ascorbique	27,07	0.0369

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que (l'antioxydant de référence) possède une forte activité antioxydant par le pourcentage élevé d'inhibition de radical DPPH* de l'ordre 27,071 (µg/mL). Le pouvoir réductrice de L'extract de l'ordre 31,90 (µg/mL) est largement supérieure par rapport l'H.E 18,11 (µg/mL) et l'HE est largement inférieure à celle d'acide ascorbique. Ce qui explique le forte d'activité anti radicalaire de l'H.E par rapport d'extract et

l'acide ascorbique (IC50 plus bas donc l'activité plus haut). Si on parle de la puissance anti radicalaire, plus P augmente l'activité anti oxydant augment.

Ramdan et al, ont montré que l'extrait éthanolique capable de réduire le fer et leur résultat est exprimés en IC50 (262 µg / mL). Mekhaldi et al. Ont obtenu pour l'huile essentielle de *S.officinalis* 1, (IC50 = 62.65 µg / mL) en Algérie [109]. On peut dire que notre H.E, ainsi notre extrait ont des propriétés anti radicalaire mieux que ces résultats.

III.8.Résultats d'étude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* :

III.8.1.Évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne :

Le pouvoir antimicrobien de notre huile essentielle est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètre.

Suivant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit [110] :

- Résistante : Diamètre \leq 8 mm.
- Modérément sensible : Diamètre compris entre 8 et 14 mm.
- Sensible : Diamètre compris entre 14 et 20 mm.
- Extrêmement sensible : Diamètre $>$ 20 mm.

Les diamètres des zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés d'HE pure, après 24 heures d'incubation à 37°C pour les différentes souches sont résumés dans le tableau III.11.

Tableau III. 11 : Valeur des diamètres en millimètre de la zone d'inhibition de l'H.E pure.

<i>souches testées</i>		<i>Diamètre d'inhibition en mm</i>	<i>Diamètres d'inhibition (Ampicilline)</i>
Gram +	<i>Enterococcus</i>	12	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	14
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	7	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	10

	<i>Proteus spp</i>	8	22
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
Levure	<i>Condida albicans</i>	10	-

Les résultats précédents obtenus sont présentés sous forme du diagramme suivant:

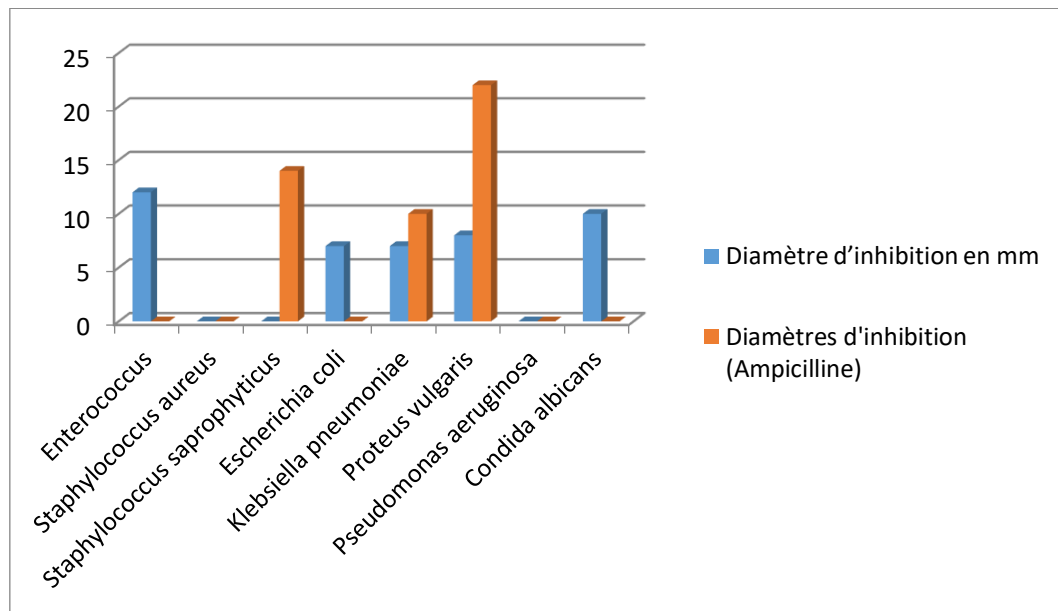


Figure III.12 : Effet inhibiteur des huiles essentielles pures de *Salvia officinalis* contre les bactéries ciblent par rapport à l'antibiotique ampicilline.

Selon l'échelle citée par [110] :

L'HE de *salvia officinalis* pure a une forte activité sur certaines souches microbiennes testées, sauf sur *Klebsciella pneumoniae* et *Escherichia coli* elle est Résistante (Diamètre ≤ 8 mm). Les diamètres d'inhibitions obtenues pour les différentes souches, varient de (8mm) à (12mm).

Pour les bactéries, le plus grand diamètre est obtenu avec *Enterococcus* (12 mm) et le plus petit avec *Proteus spp* (8 mm). Donc, les résultats obtenus montrent que l'HE de *salvia officinalis* possède un large spectre d'activité antibactérienne sur les bactéries Gram (+) : l'exemple d'*Enterococcus* que les Gram (-) : l'exemple des autres bactéries.

L'huile essentielle de *Salvia officinalis* possède également une activité Modérément sensible (Diamètre compris entre (8 et 14 mm) sur la levure utilisée *Condida albicans* par rapport aux autres bactéries utilisées, dont la zone d'inhibition est de (10mm) de diamètre. (Figure III.13.)



Figure III.13. : Activité antibactérienne de l'HE pure de *Salvia officinalis*

Cette étude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'HE testée s'est avérée très intéressante, du fait qu'il a obtenu des résultats satisfaisants. D'après résultats obtenus, il faut dire que l'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* possède une activité antibactérienne et antifongique très importante. Aussi certaines souches semblent se distinguer par une sensibilité élevée par rapport aux autres.

Ce test préliminaire n'est qu'un criblage des activités antimicrobiennes de notre produit. Les résultats de cette étude qualitative méritent une étude quantitative plus approfondie pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de notre HE.

III.8.2.Évaluation quantitative de l'activité antimicrobienne :

Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique des différentes dilutions d'huile essentielle de *Salvia officinalis L.* sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau III.12: Valeurs des diamètres des zones d'inhibition pour différentes concentrations d'H.E.

souches testées		Diamètre d'inhibition en mm				
		DMSO	1/2 (M)	1/4 (1)	1/8 (2)	1/16 (3)
Gram +	<i>Enterococcus</i>	-	-	8	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	-	-	-	-
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	-	-	8	6	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	9	6	8
	<i>Proteus spp</i>	-	7	8	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	-	-	-	-
Levure	<i>Condida albicans</i>	-	7	10	9	-

(M): Solution mère (1/2).

(-): lecture impossible.

Dans ce tableau on a testé quantitativement l'activité antimicrobienne des différentes doses de H.E par différentes souches, on observe que dans la Gram+ le seul diamètre marqué est 8mm pour la *Enterococcus* (1/4) qui signifie la résistance de cette souche.

Pour les Gram – on observe un diamètre de 8 et 6 pour les doses 1/4 et 1/8 d'E.Coli qui signifie la sensibilité d'E.Coli, on marque le même diamètre pour *Klebsiella pneumoniae* pour les doses 1/16 et 1/8 et un diamètre de 9 mm pour 1/4.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* on n'observe aucune trace et pour *proteus spp* on marque 7 et 8 mm pour les doses 1/2 et 1/4 qui signifie la sensibilité de cette souche sur ces diamètres.

Pour la *Levure* on observe des diamètres de 7 mm à (1/2) ce qui signifie sa résistance et 9 et 10 mm pour (1/8 et 1/4) ce qui signifie que cette souche est modérément sensible à ces diamètres.

Nous rapportons dans le tableau.III.13 les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de notre HE, obtenues pour chaque souche.

Tableau III.13 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'HE de *Salvia officinalis* relatives aux souches testées.

<i>souches testées</i>		<i>CMI % (V/V)</i>	<i>Diamètre des zones en mm</i>
Gram +	<i>Enterococcus</i>	1/4	8
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	1/8	6
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/8	6
	<i>Proteus spp</i>	1/2	7
Levure	<i>Condida albicans</i>	1/2	7

(CMI): concentration minimale d'inhibition.

Ce tableau reprisant les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'HE de *Salvia officinalis* relatives aux souches testées

Pour les Gram + la seule valeur CMI marqué est 1/4 pour un diamètre de 8mm est pour *Enterococcus*.

Pour les Gram – on marque un même CMI (1/8) pour un même diamètre 6mm pour E,Coli et *Klebsiella pnunioniae*, pour *Proteus spp* on marque 1/2 pour 7 mm de diamètre.

Pour la *Levure* on a un CMI de 1/2 pour 7 mm de diamètre.



Figure. III.14: Activité antibactérienne des différentes dilutions de l'HE de *Salvia officinalis*

Tableau III. 14 : Valeur des diamètres en millimètre de la zone d'inhibition de l'extrait éthanol pure.

<i>souches testées</i>		<i>Diamètre d'inhibition en mm</i>	<i>Diamètres d'inhibition (Ampicilline)</i>
Gram +	<i>Enterococcus</i>	17	48
	<i>Staphylococcus aureus</i>	8	-
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15	10
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	8	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	11
	<i>Proteus spp</i>	10	24
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	-
Levure	<i>Condida albicans</i>	9	-

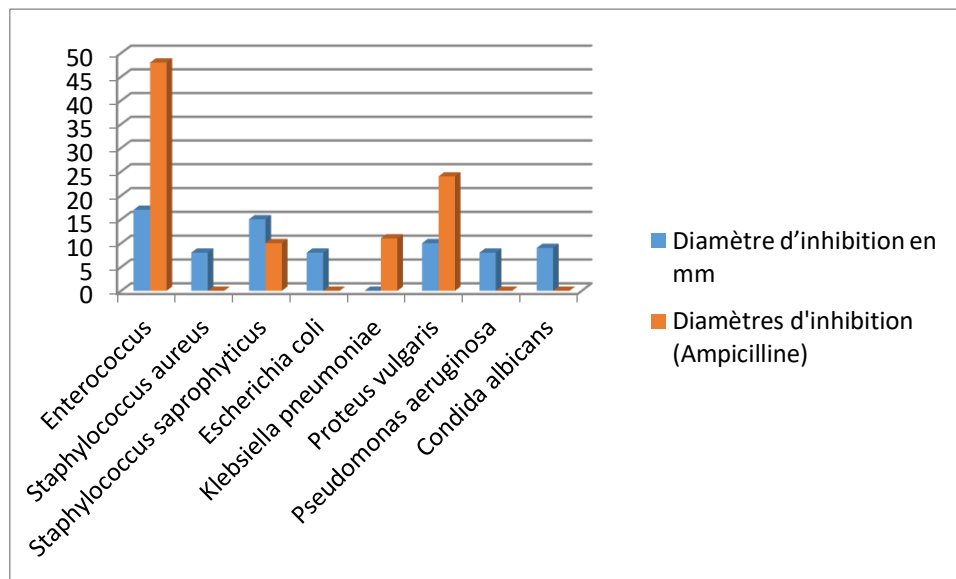


Figure III.14: Effet inhibiteur d'extrait éthanol pure de *Salvia officinalis* contre les bactéries cibles par rapport à l'antibiotique ampicilline.

L'extrait de *salvia officinalis* pure a une forte activité sur certaines souches microbiennes testées, sauf sur *Klebsciella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *condida albicans* elle est Résistante (Diamètre ≤ 8 mm).

Les diamètres d'inhibitions obtenues pour les différentes souches, varient de (8mm) à (17mm).

Pour les bactéries, le plus grand diamètre est obtenu avec *Enterococcus* (17 mm) et le plus petit avec *Proteus spp*, *E.Coli* et *Pseudpmpnas* (8 mm). Donc, les résultats obtenus montrent que l'extrait de *salvia officinalis* possède un large spectre d'activité antibactérienne sur les bactéries Gram (+) : l'exemple d'*Enterococcus* que les Gram (-) : l'exemple des autres bactéries.

L'extrait de *Salvia officinalis* possède également une activité sensible (Diamètre compris entre 14 et 20mm) sur la Gram+ par rapport aux Gram- et Levure utilisées, dont la zone d'inhibition est (<10mm) de diamètre.

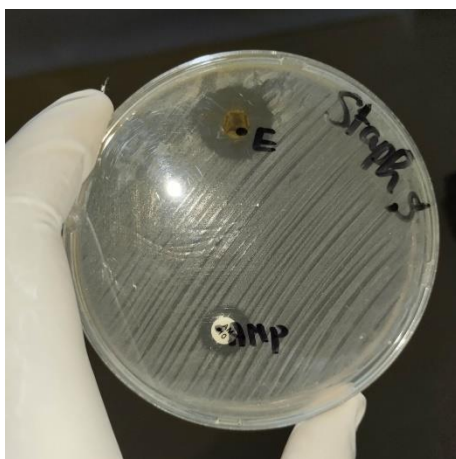


Figure III.15: Activité antibactérienne de l'extrait éthanol pure de *Salvia officinalis*

Tableau. III. 15: Valeurs des diamètres des zones d'inhibition de l'extrait éthanol pour différentes concentrations.

souches testées		Diamètre d'inhibition en mm				
		DMSO	1/2 (M)	1/4 (1)	1/8 (2)	1/16 (3)
Gram +	<i>Enterococcus</i>	-	16	17	13	11
	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	14	13	12	7
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	7	-
	<i>Proteus spp</i>	-	8	9	9	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	7	-	6	-
Levure	<i>Condida albicans</i>	-	7	-	-	-

Dans ce tableau on a teste quantitativement l'activité antimicrobienne des déférent dose de l'extrait par déférent souches, on observe que dans la Gram+ on a un diamètre de <8<14 mm pour *Enterococcus* (1/8 et 1/16) et *Staphylococcus saprophyticus* (1/4 et 1/8) ce qui signifie que ces souches sont modérément sensible à ces doses. Et ont un diamètre entre 14 et 17 pour (1/2 1/4) qui signifie la sensibilité, par contre on n'observe aucun trace pour *Staphylococcus auerus*.

Pour les Gram – on n'observe aucune trace d'*E.Coli* et un seule diametre *Klebsiella pneumoniae* (7mm) on marque le même diamètre (9mm) pour *proteus spp* pour les doses 1/4 et 1/8 et un diametre de 8 mm pour 1/2.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* on n'observe aucune trace et pour *proteus spp* on marque 7 et 6mm pour les doses 1/2 et 1/8 qui signifie la résistance de cette souche sur ces diamètres.

Pour la *Levure* on observe des diametre de 7 mm a (1/2) ce qui signifie ca résistance.

Tableau.III.16: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'extrait éthanol de *Salvia officinalis* relatives aux souches testées.

<i>souches testées</i>		<i>CMI % (V/V)</i>	<i>Diamètre des zones en mm</i>
Gram +	<i>Enterococcus</i>	1/16	11
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1/8	12
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/8	7
	<i>Proteus spp</i>	1/2	8
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1/8	6
Levure	<i>Condida albicans</i>	1/2	7

Ce tableau reprisant les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'extrait de *Salvia officinalis* relatives aux souches testées

Pour les Gram + on marque deux valeur de **CMI** 1/6 et 1/8 pour un diamètre de 11 et 12mm respectivement est pour *Enterococcus* et *Staphylococcus saprophyticus*,

Pour les Gram – on marque un même CMI (1/8) pour un diamètre de 7 et 6mm pour *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, et pour *Proteus spp* on marque 1/2 pour 8 mm de diamètre.

Pour la Levure on a un CMI de 1/2 pour 7 mm de diamètre.



Figure.III.16.: Activité antibactérienne des différentes dilutions d'extrait éthanol de *Salvia officinalis*.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait de *Salvia officinalis* face aux différentes souches bactériennes étudiées à travers les tests, a montré une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus.

D'après les résultats représentée dans les tableaux (III.11-III.14) nous remarquons que L'huile essentielle pure de *salvia officinalis* présente une activité légère sur *Enterococcus* dont la zone d'inhibition atteint des diamètres de 12mm et 8mm (Modérément sensible) pour *Proteus spp* Par rapport à l'extrait éthanol brut qui présentait une bonne activité contre les souches bactériennes *Enterococcus* et *Staphylococcus saprophyticus* et *Proteus spp* dont les diamètres des zones d'inhibition sont 17, 15, 10 mm (sensible et Modérément sensible).

De cette comparaison, nous concluons que l'extrait éthanol brut de *salvia* a un bon effet contre les souches bactériennes, mieux que l'huile essentielle pure.

Concernant la levure *Candida albicans* ont réagi bien selon L'huile essentielle pure (10mm) par rapport à l'extrait éthanol brut (9mm).

Parmi toutes les concentrations utilisées, les HE diluées au 1/4 semblent plus efficaces par rapport aux autres concentrations vis-à-vis des germes étudiés avec des zones d'inhibition comprises entre 8 et 10 mm de diamètre. Quant à l'extrait éthanolique, les concentrations 1/2, 1/4 et 1/8 représentent une bonne activité contre les souches *Enterococcus* et *Staphylococcus*

saprophyticus, *Proteus* spp avec des zones d'inhibition comprises entre 8 et 17 mm .En conclusion, les concentrations d'extrait d'éthanol ont donné les meilleurs résultats par rapport aux concentrations d'huile essentielle.

D'après les travaux de [111] on observe grande activité de huile dans la bactérie *Proteus mirabilis* avec diamètre 16 mm alors que très sensible, en suite dans le cas la bactérie *Enterobacterie* présente une activité petite c'est-à-dire sensible, et une faible activité dans la bactérie *Escherichia coli*.

Des tests de l'activité antibactérienne évaluée, il ressort que les huiles essentielles de *Salvia officinalis* L. sont très efficaces contre toutes les bactéries testées et plus particulièrement à la concentration $\frac{1}{4}$. Les meilleurs résultats sont constatés envers des souches d'*Escherichia coli* que celle de *Proteus* qui ne joue qu'occasionnellement un rôle pathogène [112].

De même, [113] Ont constaté que l'huile essentielle de la sauge a exercé une forte inhibition vis-à-vis d'*Escherichia coli* avec 13mm de diamètre de la zone D'inhibition comparée à *Pseudomonas aeruginosa* qui a manifesté une résistance à cette huile Essentielle.

Klebsiella pneumoniae s'est montré la plus sensible à l'action des huiles essentielles parmi les bactéries gram-, cette forte activité des huiles essentielles sur *Klebsiella pneumoniae* est confirmée par [114,115,116]. A la fine de ce résultat on résume le pouvoir antibactérien différent d'un extrait à autre.

Le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait étudié diffère d'une bactérie à une autre Et d'un extrait à un autre, cette variation de l'activité antimicrobienne des extraits vis-à-vis

D'une même bactérie est due principalement à la variation de leurs compositions chimiques [117,118,119].

De plus, [120] Ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antibactérienne des composés phénoliques des plantes.

L'activité antibactérienne des flavonoïdes peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que L'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, La chélation des ions métalliques, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de Substances nécessaires à la croissance des bactéries [121].

Selon [122] la date de récolte de la plante a une grande influence sur sa composition chimique et par conséquent sur son activité biologique. L'on ces études, on peut dire qu'il est quelque peu identique à notre étude.

Conclusion générale

Conclusion générale

En conclusion, notre étude approfondie sur l'extrait et l'huile essentielle de *Salvia officinalis* a permis de déterminer leur composition phytochimique ainsi que d'évaluer leurs propriétés biologiques, en mettant l'accent sur leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes

Dans la première partie, l'extraction par l'hydrodistillation reste une méthode simple et efficace pour l'obtention l'huile essentielle de cette plante, a révélé une valeur du rendement de l'ordre de 0,8% pour H,E de *Salvia Officinalis* L., et l'extraction par solvant a révélé une valeur de 20,4%. Ces résultats restent en accord avec celui citées dans la littérature.

La soumission du produit fini à différents tests de qualité (pH, densité, Contrôle toxicologique, Contrôle microbiologique) a montré qu'il est conforme aux normes pharmaceutiques ; néanmoins, l'étude de sa stabilité durant la période de conservation pour autoriser sa commercialisation est indispensable.

Aussi pour la caractérisation de l'H.E de la plante *S.officinalis* L., on a réalisé une étude de la composition chimique par la technique analytique CPG, L'analyse de l'H.E a montré que l'H.E est principalement constituée de : α -thujone avec une teneur de (22,20%) suivi de Camphre (14,48%), 1.8 Cineol (14%), limonène (13,10%), β -thujone (6,38%), β -pinène (4,75%), Béta.Cariophyllene avec une teneur (4,74%) et (3,18%) de Alpha-Humulene, camphène (2,88%), myrcene (2,54%), pinène (2,15%). Cette composition est en accord avec celle cités dans les travaux ultérieurs pour les majorités des composés.

Dans la deuxième partie, les polyphénols a été extraite à l'aide d'un appareil Soxhlet en utilisée l'éthanol comme solvant, le dosage des composés phénoliques, flavonoïdiques et tannins montre la présence de ces composés dans notre extrait.

L'activité anti-oxydante a été réalisée en employant le test du piégeage du radical libre DPPH*. Les résultats obtenus montrent que notre huile essentielle et l'extrait de polyphénols présentent une bonne activité anti oxydante en comparaison à la vitamine C. L'étude qualitative antimicrobienne de cette huile essentielle et polyphénols s'ont avérées intéressantes, du fait que nous avons obtenu la majorité des résultats positifs pour la majorité des souches utilisées.

Nos résultats ont également démontré que l'huile essentielle et l'extrait de *Salvia officinalis* exhibaient tous deux des activités antimicrobiennes significatives contre un large

Conclusion générale

éventail de micro-organismes pathogènes. Ces activités antimicrobiennes pourraient être attribuées aux composés spécifiques présents dans l'huile essentielle et l'extrait, tels que le thujone et les flavonoïdes, qui ont montré des effets inhibiteurs sur la croissance microbienne dans d'autres études.

En ce qui concerne les propriétés antioxydantes, nos résultats ont révélé que l'huile essentielle et l'extrait de *Salvia officinalis* présentaient une capacité significative à piéger les radicaux libres et à prévenir les dommages oxydatifs. Ces effets antioxydants sont attribués à la présence de composés tels que les tanins et les acides phénoliques, qui sont connus pour leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène.

En résumé, nos résultats soutiennent l'utilisation traditionnelle de *Salvia officinalis* L. en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant. Les composés présents dans l'huile essentielle et l'extrait de *Salvia officinalis* jouent un rôle crucial dans ces activités biologiques. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action de ces composés et pour explorer leurs applications potentielles dans d'autres domaines thérapeutiques.

Il serait intéressant de faire des recherches plus approfondies sur cette huile essentielle et l'extrait, par exemple :

- Étude des mécanismes d'action.
- Étude de la toxicité et de la sécurité.
- Synergie avec d'autres substances.
- Étude de la stabilité et de les formulations médicamenteuse.

References
Bibliographies

Références bibliographies

- [1] Benhouhou S., A brief overview on the historical use of medicinal aromatic plants of Algeria. Université Mohamed khider-Biskra, 2015
- [2].GOUAIDIA, S., HADDAD, L. and MESSAADI, A. Etude de la génotoxicité de *Zygophyllum cornutum*: *Allium cepa* test. 2021.
- [3].Aline Merca .Manuel de phytothérapie écoresponsable. Littérature sur les plantes médicinales. Edition Terre vivante. P: 22. 2021.
- [4].The Arnold Arboretum of the Harvard University: Inventory of the living collections 2003
Arnold Arboretum the Arboretum, Jamaica plain 2003.
- [5].B.Hamdi, Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques *in vitro* des extraits actifs de quelques lamiacées: *Ajuga reptans* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss & Reut) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Four. thèse de doctorat, l'école normale supérieure de Kouba –Alger, 2017.
- [6].Simpson M. G. Plant systematics. *Edition Elsevier/Academic Press, Amsterdam, 590*.2006
- [7].Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. *Edition Omega S.A, Barcelone, Espagne* .2000.
- [8].Fellah, S., Romdhane, M., Abderraba, M. Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie*, 16(2) :193-202.2006
- [9].Quezel, P., & Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed, CNRS. Paris. Tom. 2 : 793p. 1963.
- [10].Scully, R .Key to lamiaceae of Colorado (MintFamily). Colorado, USA Univ Colorado Press.2008.
- [11].Wolfgang Hensel.350.plantes médicinales. Ed française de la Chaux et Neustlé, Paris.Pp:152.2007.

Références bibliographies

- [12].Djelili Farida. Etude de pouvoir de precipitation de la protéine BSA des extraits polyphénoliques des plantes médicinales de la region de Beni-Djellil (wilaya de bejaia). Mémoire de magister.Université abderahmane mira de bejaia.Pp:21.2007.
- [13].Djerroumi A., et Nacef . 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 - 131.2004.
- [14].Pujuguet pierre. Entre capitelles et lavognes découvrez la flore de la garrigue, Sentier Botanique Vigneron, Bourg-Saint-Andéol Ardèche.2008.
- [15]. Maksimovic M., DAnijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A. et Sonja S.Y. Effet of the environmental condition on essential oil profile in two dinaric Salvia species: Salvia brachydonvandas and Salvia officinalis L. Biochemical Systematics and Ecology. 35: 473-478.2007.
- [16]. Grieve M. A Modern Herbal. Savvas Publishing. ISBN unknown .1984.
- [17].Fabre Marie-Claude., Genin Aimé., Merigoux Jacques et Moget Elisabeth.Herboristerie Familiale, Des Recettes Simples, Pour Résoudre Les Problèmes Simples, p93.1992.
- [18].Ghourri Mohamed., Zidane Lahcen&Douira Allal. Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocaine (Tan-Tan), Journal of Animal & Plant Sciences, 17 :1, 2388-2411.2013.
- [19].Cretti.« Les plantes aromatiques et médicales, comment les reconnaitre et les utiliser ». Ed., ATLAS, 197 p.1981.
- [20].Rombi M., Robert D. « 120 plantes médicinales ». Ed., Alpem 09, avenue Albert II Mc-98000 MONACO, 225-227.2007.
- [21].Özkan M., Özdemir C., Soy E. Morphological, anatomical and Karyological properties of Salvia cadmica (Lamiaceae), Journal of Botany; N° 18: 361-371.2008.
- [22].Hans W.K. 1000 plantes Aromatiques ET Médicinales. Terre édition.2007.
- [23].Beloued, A. Plantes médicinales d'Algérie, officede la publication universitaire, Alger. P 184, 196,206.2005.

Références bibliographies

- [24].Wichtl M & Anton R. Plante thérapeutiques : Traditions, pratique officinale, science et thérapeutique, 2 ième édition, Tec & Doc.2003.
- [25].T.Ouassila, these de doctorat. Etude phytochimique de plantes medicinales du nord et du sud algeriens, universite mentouriconstantine,2010.
- [26].Powers, SK., et Lennon, SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Prod. Nutr. Soc.*, 58, 1025-1033.1999.
- [27].Mak, S., Egri, Z., Tanna, G., Colman, R., Newton, G.E. Vitamin C prevents hyperoxiamediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependant vasodilatation, *American Journal Physiol.*, 282: 414-421.2002.
- [28].Guy Gilly. Plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse, Edition L'Harmattan.2005.
- [29].Kabouche, A.Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine.389p.2005.
- [30].Bruneton, J. Pharmacognosie,phytochimie des plantes médicinales ,3 eme édition ,TEC et DOC .Paris ,p :310-312-318-319-321-370-371-372-463-783-784- 790.1292.2009.
- [31].Frag R. S., Salem, H., Badei, A., &Hassanein, D. E. Biochemical studies on the essential oil of some medicinal plants. *Fette Seifen Anstrichmittel.*, 88 (2), pp. 69 -72.1986.
- [32].Radulescu V., Silvia C & Eliza O. Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of salvia officinalis. *Journal of chromatography a*, 1027:121-126.2004.
- [33].RAMI K. et ZHENG-GUOL. Antibacterial activity of essential oil of Salvia officinalis L. collected in Syria, *African journal of biotechnology*, vol 10 (42), 8397-8402.2011.
- [34].Chaumeton H. Les plants aromatiques, comment les reconnaitre.Paris.Solar.355-358p.1959.
- [35].Ozenda, P. Flora of the Sahara. Flora of the Sahara, (ed. 2).1977.
- [36].Anne-Claire, D., Ianis, D., Marie-Alix, V.Atelier sante environnement Risques et bénéfices possibles des Huiles Essentielles. Ingéniorat du Génie Sanitaire. p 87.2008.

Références bibliographiques

- [37].Iserin .P, Encyclopédie des plantes médicinales .2eme Ed .pp 18-54.2001.
- [38].Bruneton, J. Plantes toxiques: vegetaux dangereux pour l'home et les animaux/Jean Bruneton. Paris: Tec Doc.1996.
- [39].Yashaswini, Sh., John, F and Jim, S. Ethnobotany, phytochemistry, cultivation and medicinal properties of Garden sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry ; 8(3): 3139-3148.2019.
- [40].Mahmoudi, S., Khali, M et Mahmoudi, N. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). Nature & Technologie, n° 09, Pages 35 à 40.2013.
- [41].Roby, M. H., Sarhana, M. A., Selima, K., Khalel, I. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Industrial Crops and Products, 43: 827-831.2013.
- [42].Naghbi F., Mosaddegh M., Motamed M., Ghorbani A. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 2: 63-79.2005.
- [43].Dif S., Stella M., Abdul H., Saidi F., Khali M. Activité antimicrobienne des huiles essentielles et l'extrait méthanolique de *Salvia officinalis* L. Afrique Science 11(4).ISSN 1813-548.2015.
- [44].Mekhaldi, A., Bouznad, A., Djibaoui, R., Hamoum, H. Phytochemical Study and Biological Activity of Sage (*Salvia officinalis* L.). International Journal of Bioengineering and Life Sciences, Vol:8, No:11, pp : 1253-1257.2014.
- [45].Khiya Z., Hayani M., Gamar A., Kharchouf S., Amine S., Berrekhis F., Bouzoubae A., Zair T., Elhilali F. Valorization of the *Salvia officinalis* L of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant and anticorrosive activities, Journal of King Saud University – Science 31(3): 322-335.2018.
- [46].Ramdan B., Amakran A., Bakrim N., Vannier B., Greche H., Nhiri M. Anti glycation and radical scavenging activities of hydro-alcohol and aqueous extracts of nine species from Lamiaceae family.Journal of Medicinal Plants Studies 5(1): 331-345.2017.

Références bibliographies

- [47].Dent M., Kovačević D.B., Bosiljkov T., Dragović-Uzelac V. Polyphenolic Composition and Antioxidant Capacity of Indigenous Wild Dalmatian Sage (*Salvia officinalis* L.).Croat. Chem. Acta90(3): 451–459.2017.
- [48].antos-Gomes, P. C., & Fernandes-Ferreira, M. Organ-and seasondependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(6), 2908-2916.2001.
- [49].Raal, A., Orav, A., & Arak, E. Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. Natural product research, 21(5), 406- 411.2007.
- [50].Khedher, M. R. B., Khedher, S. B., Chaieb, I., Tounsi, S., & Hammami, M.Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. EXCLI journal, 16, 160.2017.
- [51].Khiyaa Z., Hayania M., Gamara A., Kharchouf S., Amine S., Berrekhis F., Bouzoubae A., Zair T., El Hilali F."Valorization of the *Salvia officinalis* L. of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant activity and corrosion inhibition" journal of saud university - science 3; 322-335.2019.
- [52].Bozan B., Ozturk N., Kosar M., Tunalier Z. et Baser K.H.C.Activités anti- oxydantes et anti-radicaux libres de huit espèces de *Salvia*. Chem. Nat. Compd., 38, 198 .2002.
- [53].Gomez P. S., Cano M.C.S., Sanchez J.A.S. et Garcia-Vallejo M.C.Essential Oils of a New Hybrid: *Salvia officinalis* x *S. lavandulifolia* ssp. *vellerea* J. Essent. OilRes., 7, 317.1995.
- [54].Delamare A.P.L., Moschen-Pistorello I. T., Artico L., Atti-Serafini L., Echeverrigaray S.Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Salviaofficinalis* L. et *Salviatriloba* L. cultivées dans le sud du Brésil, Food Chemisrty., 100 (2): 603-608.2007.
- [55].Bayrak A.et Akgul A. Composition of essential oils from Turkish *Salvia* species, Phytochemistry, 26, 846.1987.
- [56] Benkherara S., Bordjiba O. et Djahra A.B.Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *salviaofficinalis*, phytothérapie,lavoisier SAS.2015.

Références bibliographiques

- [57].Lakhal H., Ghorab H., Chibani S., Kabouche A., Semra Z., SematiF., Abuhamdah S.et Kabouche Z.Chemical composition and biological activities of the essential oil of salvia officinalis from Batna (Algeria); Der Pharmacia letter 5(3):310-314.2013.
- [58]. Dob T., Berramdane T.,Dahmane D., Benabdelkader T. and Chelghoum C."composition of the essential oil of salvia officinalis from algeria chemistry of natural compounds, 43 (4), 491-494.2007.
- [59].GhorbaniA. et EsmailizadehM.“Pharmacological properties of salvia officinalis and its components” ,journal of traditional and complementary medicine 7 ,433-440.2017.
- [60].Qnais E., BseisoY, KayedK.,Wedyan M.,Alkhateeb H.Analgesic effect of quercetin 3,7-o-dimethyl ether isolated from salvia officinalis”pharmacology online.vol.2-64-73.2018.
- [61]. WangM. , ShaoY. , Li J., Zhu N, Rangarajan M.LaVoie EJ. et HoCT.Antioxidative Phenolic Glycosides from sage (*salvia officinalis*) JNat.Prod, 62.454-456.1999.
- [62]. BrieskornC.H. and Kapadia U. Constituents of *Salvia officinalis* 5-Methoxysalvigenin in Leaves of *Salvia officinalis* l Vol. 35, pp. 376-378.1979.
- [63].Jasicka-Misiak I., Poliwoda A., Petecka M., Buslovych O., Shlyapnikov V.A. and Wieczorek P.P.Antioxidant phenolic compounds in *salvia officinalis* l. and *salvia sclarea* l.” ECOL CHEM ENG S.;25(1):133-142.2018.
- [64].Botineau, M. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed : Lavoisier.2010.
- [65].Capek, P.A water soluble glucomannan isolated from an immunomodulatory active polysaccharide of *Salvia officinalis* L. Carbohydrate polymers, 75(2), 356-359.2009.
- [66].S. Charchari, A.Dahoun, F.Bachi, A.Benslimani .Activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles d'Artemisia herba-alba Asso. et d'Artemisia judaïca L. d'Algérie Rivista Italiana EPPOS, N°10, Avril 1996.
- [67].K.Kassoussi, M.Zekri, L'huile essentielle de *Salvia officinalis* L.: extraction, composition chimique, propriétés physiques et antimicrobiennes. Projet de fin d'études, ENP, Département Génie Chimique, Alger, 2008.
- [68].M. EDEAS, Guide du Gourmet, Ed la société française des antioxydants. 3ème Conférence Ingrédients Minceur, 2007.

Références bibliographiques

- [69].M.Cuvelier, C.Berset et H. DRichard, Antioxydant constituents in sage (*Salvia officinalis* L.) J.Agric, Food chem, 1994.
- [70].M.Wichtl, R.Antona , Plantes thérapeutiques, tradition pratique officinale science et thérapeutique, 2ème édition, Ed TEC et DOC, 2003.
- [71].Piollet N. Se soigner grâce aux huiles essentielles, Ido Eds, 250 p.2010.
- [72].NEFFATI A. Thèse de doctorat en Sciences de l'université de Caen, Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie: *Pituranthos chloranthus*.2010.
- [73].Bouhadouda . N. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local :*Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba. Pp: 18.2016.
- [74].Leszczynska, D. Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse. Editions l'Harmattan, Paris, France.2007.
- [75].Gomes, P. B., Mata, V. G., & Rodrigues, A. E. Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 41(1), 50-60.2007.
- [76]. Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M., & Hirose, T. Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(2), 167- 172. 2006.
- [77]. Pereira, C. G., & Meireles, M. A. A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 340-372.2010.
- [78].Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D. Extraction technologies for aromatic and medicinal plants. United Nations Industriel Développement Organisation and the International Centre for Science and High Technology, 260p.2008.
- [79].Beneteaud, E. Les techniques d'extraction. Comité Français du Parfum.2011.
- [80].Fernandez, X., & Chemat, F. La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation. Vuibert, Paris.2012.
- [81].Lucchesie, M. E.Extraction sans solvant assistée par micro-ondes. Conception et application aux huiles essentielles. Thèse de l'Université de la Réunion, France.2005.

Références bibliographiques

- [82].Perino, S., Makerri, C., Abert-vian, M., Chemat, F., Extraction d'actifs cosmétiques, J2215, 2016.
- [83]. BABA AISSA F. Encyclopédie des plantes utiles, (Flore d'Algérie et du Maghreb).1999.
- [84]. Chiej R.Les plantes médicinales, Ed. Solar.1982.
- [85].Volak,j and Stodola ,j. Les plantes médicinales, Ed. Gründ, Paris. Pp: 29-53.1983.
- [86].Hans,W.kothe. 1000 plantes aromatiques et médicinales, Ed terres. Pp:11-14.2007.
- [87].D.Marwa, Extraction d'huile essentielle de l'espece vegetale salvia officinalis L. par hydrodistillation : caracterisation physicochimique et modelisation parametrique,thèse de master, université Badji-mokhtar-annaba,2017.
- [88].P,I.Penchev, Etude des procedes d'extraction et de purification de produits bioactifs a partir de plantes par couplage de techniques separatives a basses et hautes pressions , these de doctorat, Ecole nationale polytechnique de Toulouse,2010
- [89].K.Taleb-Toudert « Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien), Evaluation de leurs effets sur le bruche de niébé *Callosobruchusmaculatus* (Coleoptera : bruchidae) », Thèse Doctorat, 2015.
- [90].N.Methanni, M.E. Benabdelkader, « Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques et l'activité antifongique ds huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et médicinales » Doctoral dissertation, Université de Jijel.2016.
- [91].C. Kanko et Al, C.R. Chimie J. p : 1039-1042.2004.
- [92].C.Paquot « Union internationale de chimie pure et appliquée (I.U.P.A.C). Commission des huiles, graisses et dérivés, méthode standard pour l'analyse des huiles », des graisses et ses dérivés, 6 éme Ed, Pergamon press, 1979.
- [93].Blainski, A., Lopes, G., and de Mello, J., Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. Molecules, 18(6): p. 6852-6865.2013.
- [94].Wang, H., Gao, X.D., Zhou, G.C., Cai, L., and Yao, W.B., *In vitro and in vivo* antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. Food Chemistry. 106(3): p. 888-895.2008.
- [95].Broadhurst, R.B. and Jones, W.T., Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. Journal of the Science of Food and Agriculture, 29(9) : p. 788-794.1978.

Références bibliographiques

- [96].Y.Boumahdi, Elaboration de lotions à base d'huiles essentielles d'une plante algérienne pour lutter contre les microorganismes et parasites externes chez l'homme et l'animal. Mémoire de Magister, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene ,2014.
- [97].Adams, M., Plitzko, I., Kaiser, M., Brun, R« HPLC-profiling for antiplasmodial compounds—3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*»*Phytochem.*2, 159–162 (2009).
- [98].Cowan, M.M. «Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*», 12, 564- 582 (1999).
- [99].Blois M.S. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 181, p1199-1200.1958.
- [100].Deepa, B., Prema, G., Sai Krishna, B., et Cherian K. M. Antioxidant and freeradical scavenging activity of triphala determined by using different in vitro models, *Journal of Medicinal Plant Research*, 7(39), 2898-2905.2013.
- [101].W.Brand-Williams, M.E.Cuvelier, C.Berset « Use of free radical method to evaluate antioxidant activity », *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 25-30, 1995.
- [102].B.Sonia, Etude comparative des caractéristiques physicochimiques de deux huiles essentielles (*Salvia officinalis*, *Mentha piperita*), thèse de Master, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou , 2017.
- [103].De Guzman C.C, Siemonsma JS, eds. *Plant resources of South-east Asia*, No.13. Spices. Bogor, PROSEA, 1999.
- [104].Seddik M, "Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d 'Ammoides Verticillata de la région d'Adrar. Etude de son activité biologique et antioxydante", Thèse de magister, Faculté des sciences, Université d'Oran, 2010.
- [105].Boukhatem, M.N., Hamaidi, M.S., Saidi, F., Hakim, Y. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Revue Nature et Technologie*, 03: 37-45.2010.
- [106].Khezan.H et Ouali.C, L'évaluation de l'activité antioxydante des Extraits polyphénolique issus de deux plantes médicinales de la région de Tiaret, diplôme de Master académique, Université Ibn Khaldoun, Tiaret, 2021.
- [107]. Bezzina.R, Cheraoui.Z, Etude activité biologique sur l'huile essentielle de la sauge (*Salvia Officinalis*), Master, Université Blida 01, 2017.

Références bibliographiques

- [108]. Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A. and Capasso, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sci.* 65(4) : 337-353.1999.
- [109].Issolah.Y, et Zoreka.K, Synthèse bibliographique sur l'évaluation de l'activité antioxydante de *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis*, Présenté pour l'obtention de diplôme MASTER, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2020.
- [110].Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani MC., Desjobert JM., Bolla JM., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A. Phytochemical composition of Corsican *Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxii Infectious pathogens. *Food Control.* 30: 354-363.2013.
- [111].Dahmani,S et Dahmani.f . Evaluation de l'activité biologique des différents extraits, et des huiles essentielles de la plante : *Salvia officinalis* L. . Mémoire présenté pour l'obtention Du diplôme de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf de M'Sila, p63.2018.
- [112].Djahra AB, Bordjiba O, Benkherara S. Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée. *Marrubium vulgare*.p29-37.2011.
- [113].Bouajaj S, Benyamna A, Bouamama H, Romane A, Falconieri D, Piras A, Marongiu B. Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research.* Sep 1;27(18):1673-6.2013.
- [114].Bousbia N. Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin). Thèse Magister. INA. ,130 p.2004.
- [115].Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-kaki Z., Bentabed K. Comparative antimicrobial activity of five lamiaceae essential oils from Algeria. *The international journal of aromatherapy.* N° 15; 129-133.2005.
- [116].Ait Guenissaid O., Elharani S. Extractions des huiles essentielles de *Laurus nabilis* et de *Salvia officinalis* et évaluation de leur activité antimicrobienne, mémoire de DES.Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 77 p. 2008.
- [117]. Boudjouref, M.Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits D'Artemisia campestris L.p-51. 2011.
- [118]. Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri ,F., and Aouni1, M .Investigation of somem edicinal Plants fromTunisia for antimicrobial activities .*J. Pharmaco. Bio.* 45 (5): 421–428. 2007.

Références bibliographies

- [119]. Sansalone, V., Naili, S., Bousson, V., Bergot, C., Peyrin, F., Zarka, J., Laredo, J.D. and Haiat, G. Determination of the heterogeneous anisotropic elastic properties of human femoral bone: from nanoscopic to organ scale. *Journal of Biomechanics*, 43(10), pp.1857-1863.2010.
- [120]. Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M., Hayouni, E.A. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, Vol.105: 1126-1134.2007.
- [121]. Karou, D., Dicko, M.H., Simpore, J. and Traore, A.S. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African journal of biotechnology*, 4(8), pp.823-828.2005.
- [122]. Chea, A., Hout, S., Bun, S.S., Tabatadze, N., Gasquet, M., Azas, N., Elias, R. and Balansard, G. Antimalarial activity of alkaloids isolated from *Stephania rotunda*. *Journal of ethnopharmacology*, 112(1), pp.132-137.2007.

Les Annexes

Les annexes



Figure II.19: Photos représentant spectrophotométrie UV.



Figure II.20: Photos représentant le montage d'indice de saponification.

Les annexes



Figure II.21: Photos représentant le dosage d'indice d'acide.



Figure II.22: dosage de saponification.

Les annexes

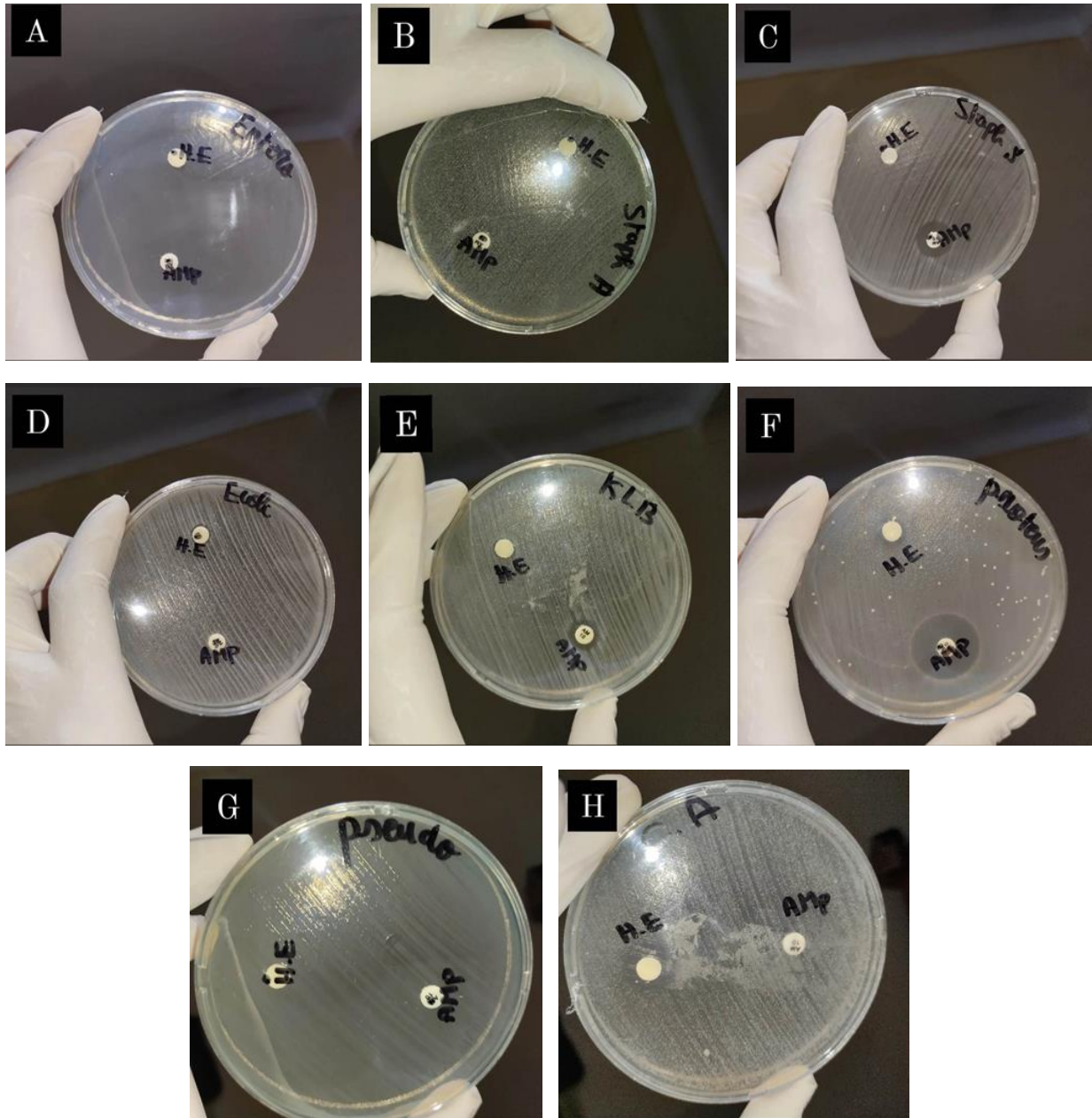


Figure : Activité antibactérienne de l'HE pure de *Salvia officinalis* sur:

A : *Enterococcus* , B : *Staphylococcus aureus* , C: *Staphylococcus saprophyticus* ,

D: *Escherichia coli* , E: *Klebsiella pneumoniae*, F : *Proteus vulgaris* ,

G : *Pseudomonas aeruginosa* , H : *Candida albicans*

Les annexes

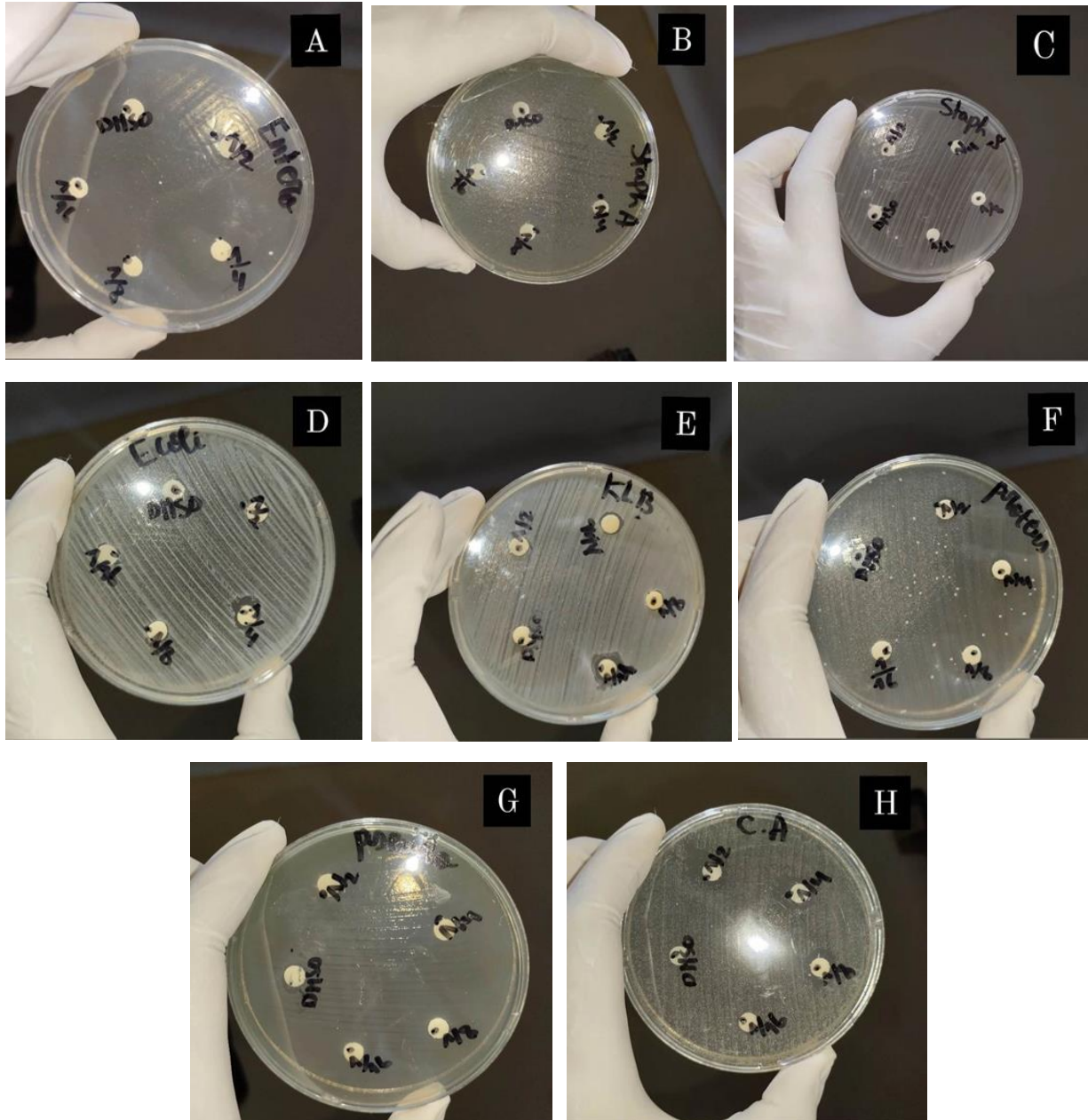


Figure : Activité antibactérienne des différentes dilutions de l'HE de *Salvia officinalis* sur:

A : *Enterococcus* , B : *Staphylococcus aureus* , C: *Staphylococcus saprophyticus* ,

D: *Escherichia coli* , E: *Klebsiella pneumoniae*, F : *Proteus vulgaris* ,

G : *Pseudomonas aeruginosa*, H : *Candida albicans*.

Les annexes

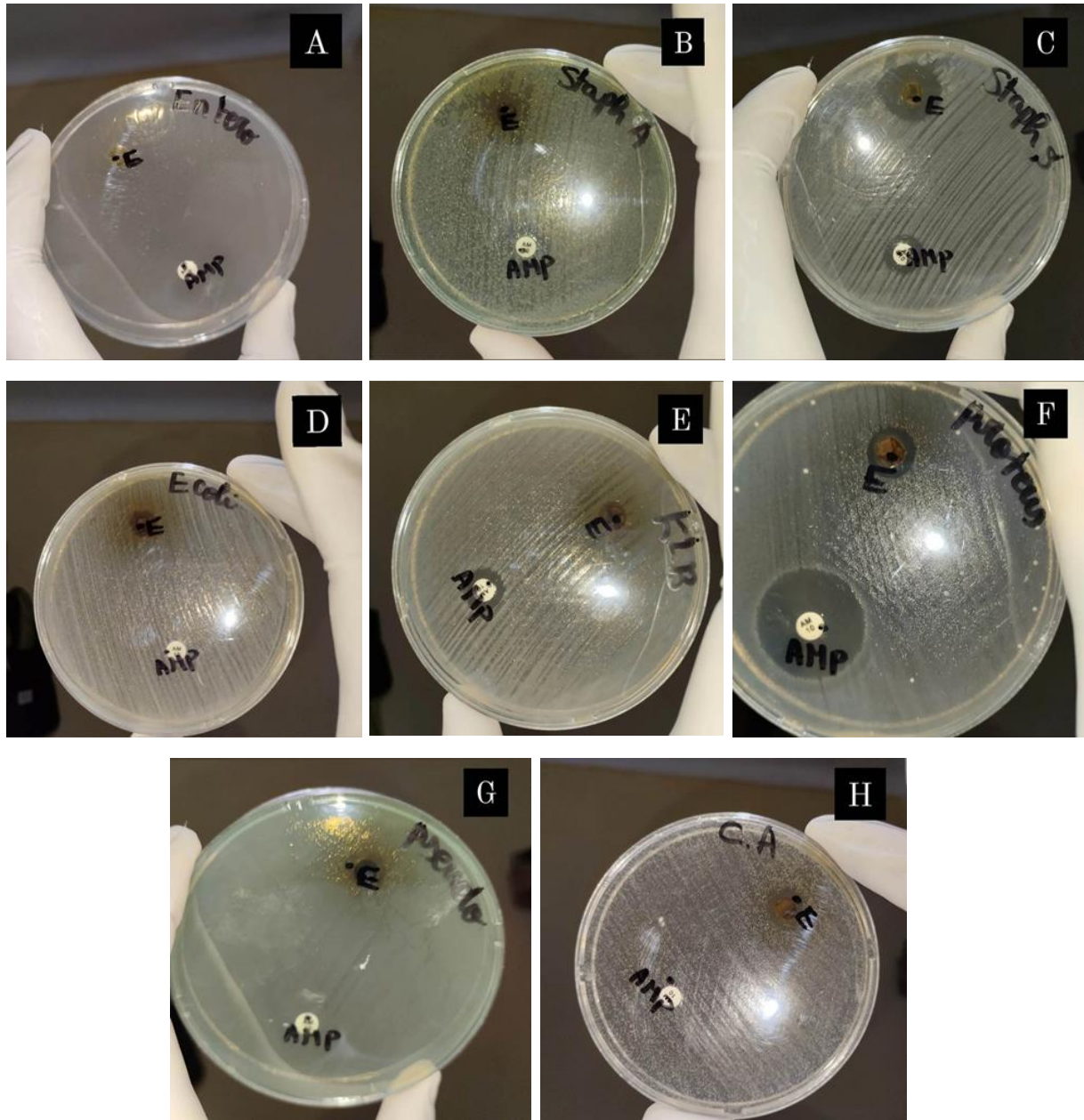


Figure : Activité antibactérienne de l'extrait éthanol pure de *Salvia officinalis* sur:

A : *Enterococcus*, B : *Staphylococcus aureus*, C : *Staphylococcus saprophyticus*,

D : *Escherichia coli*, E : *Klebsiella pneumoniae*, F : *Proteus vulgaris*,

G : *Pseudomonas aeruginosa*, H : *Candida albicans*

Les annexes

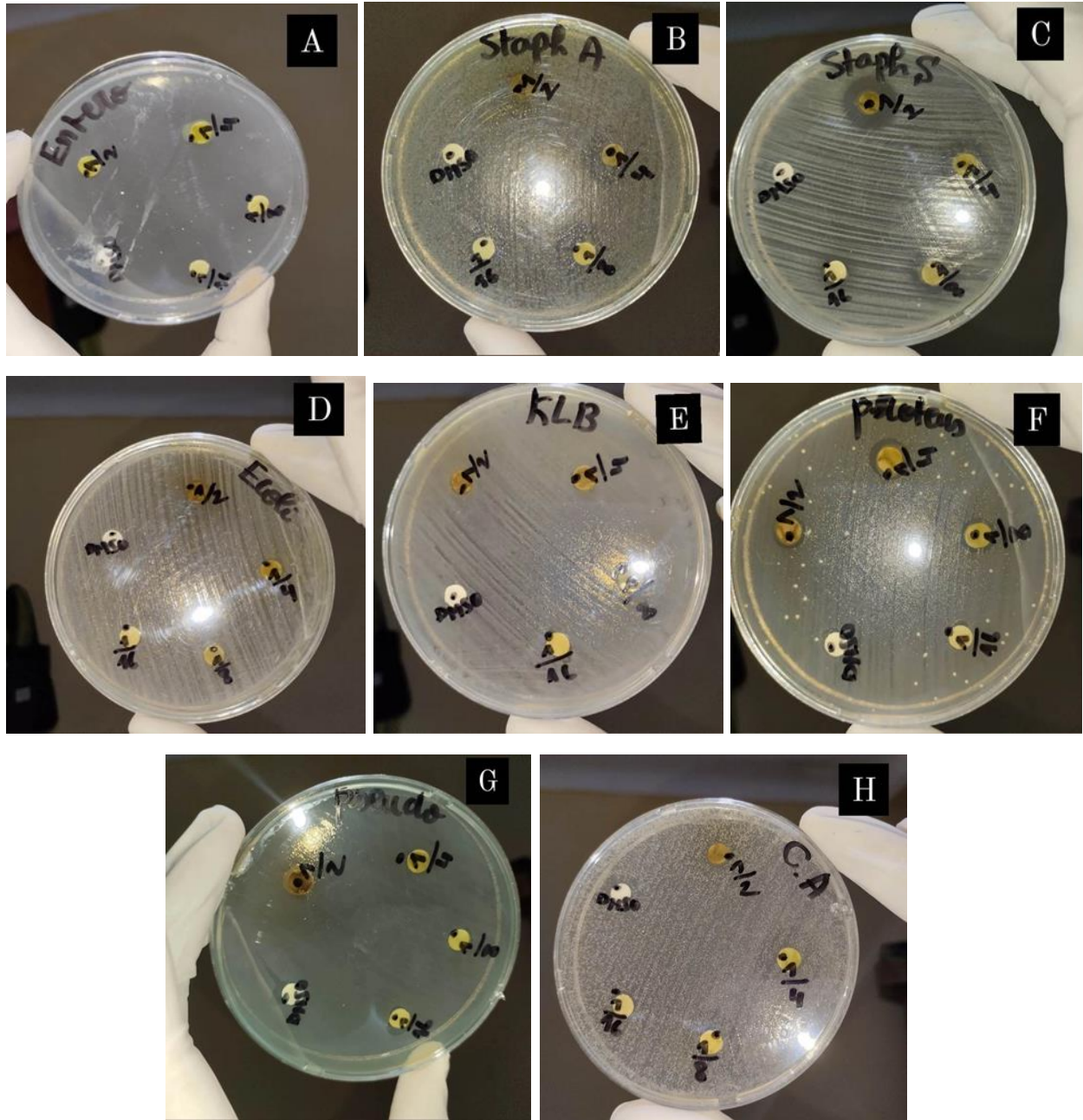


Figure : Activité antibactérienne des différentes dilutions d'extrait éthanol de *Salvia officinalis* sur: A : *Enterococcus* , B : *Staphylococcus aureus* , C : *Staphylococcus saprophyticus* ,D: *Escherichia coli* , E : *Klebsiella pneumoniae*, F : *Proteus vulgaris* ,
G : *Pseudomonas aeruginosa* , H : *Candida albicans*