

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم بيولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière :** Science Biologique  
**Spécialité :** Biodiversité et phtysiologie végétal  
**N° d'ordre :**  
**N° de série :**

Intitulé :

**Investigation sur les activités antioxydantes, antimicrobiennes,  
antifongiques et insecticides des huiles essentielles de  
l'Origanum vulgare L**

Présenté par : HAMEL Amina

Le 20/06/2022

KHENICHE Fatima

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** KARA Karima (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 1 :** BOUZID Salha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur 2 :** HAMOUDA Dounia (PROF - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire  
2021 – 2022**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم بيولوجيا النبات

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière :** Science Biologique  
**Spécialité :** Biodiversité et phtysiologie végétal  
**N° d'ordre :**  
**N° de série :**

Intitulé :

**Investigation sur les activités antioxydantes, antimicrobiennes,  
antifongiques et insecticides des huiles essentielles de  
l'Origanum vulgare L**

Présenté par : HAMEL Amina

Le 20/06/2022

KHENICHE Fatima

**Jury d'évaluation :**

**Encadreur :** KARA Karima (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 1 :** BOUZID Salha (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).  
**Examineur 2 :** HAMOUDA Dounia (PROF - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire  
2021 – 2022**

# Remerciements

*Nous tenons d'abord à remercier le tout puissant, notre DIEU, le clément et le miséricordieux, de nous avoir donné la clair voyance et la persévérance, pour mener à terme ce travail, prière et salut sur notre prophète MOHAMED.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre Encadreur Dr. KARA KARIMA qui a bien voulu diriger ce travail et qui n'a cessé de nous orienter. Nous nous permettons de lui exprimer nos sincères remerciements pour sa disponibilité, ses précieux conseils qu'elle nous a prodigué et pour son aide durant toute la période d'élaboration de ce travail.*

*Profondément Merci.*

*Un grand remerciement aux honorables membres du jury :*

*Mme BOUZID Salha, d'avoir accepté d'être l'examinatrice de notre Mémoire et Mme. HAMOUDA Dounia, d'avoir accepté d'être l'examinatrice de notre travail.*

*Un grand remerciement aussi à notre Chef de département Mr BAKA MBAREK.*

*Nous remercions nos familles pour leurs soutiens, leurs grandes affections et les grands efforts pour nous aider à réaliser ce travail.*



# *Dédicaces*

*Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed, paix et salut sur lui, le sceau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam.*

*Je dédie ce modeste travail :*

- ❖ A mes très chers parents, ma mère que dieu la garde pour moi et mon père Allah yerhmou, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.*
- ❖ A mon mari pour leur soutien et mes enfants.*
- ❖ A toute la famille, KHENICHE, je vous remercie, que la vie ne puisse jamais nous séparer.*
- ❖ A mon binôme Amina.*

**-KHENICHE FATIMA-**

# *Dédicaces*

*C'est grâce à dieu, tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :*

- ❖ A mon très cher papa et ma très chère maman pour leurs sacrifices, leur soutien moral, de leur tendresse.*
- ❖ A mon mari pour son encouragement durant ce mémoire, il m'a offert tout pour que je réussisse.*
- ❖ A ma petite fille que j'aime Marama, et mon neveu Youssef que dieu le protège.*
- ❖ A mes frères Adel, Khaled, Wassim et Farouk.*
- ❖ A ma belle-sœur Nour El Houda.*
- ❖ A toute la famille HAMEL.*
- ❖ A toute la famille IBRAHIMI surtout mes grands-parents.*
- ❖ A ma belle-famille HALIMI.*
- ❖ Je remercie aussi ma collègue Fatima pour tout.*

*J'espère qu'ils sont fiers de moi.*

*-Hamel AMINA-*



<b>II.4.4. Activité antifongiques</b>	.....	<b>20</b>
<b>CHAPITRE II : Matériel et Méthodes</b>		
<b>1. Expérimentation 1</b>	.....	<b>22</b>
<b>1.1. Extraction de L'Huile essentielle d'<i>Origanum vulgare</i></b>	.....	<b>22</b>
<b>1.2. Activité antifongique</b>	.....	<b>24</b>
<b>1.2.1. Isolement des souches</b>	.....	<b>24</b>
<b>1.2.2. Purification des souches</b>	.....	<b>24</b>
<b>1.2.3. Identification des colonies fongiques</b>	.....	<b>24</b>
<b>1.2.4. Méthode suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d'<i>Origanum vulgare</i> sur le champignon <i>Mucor sp.</i></b>	.....	<b>24</b>
<b>2. Expérimentation 2</b>	.....	<b>25</b>
<b>2.1. Matériel végétal</b>	.....	<b>25</b>
<b>2.2. Extraction de l'Huile Essentielle (HE) par hydro distillation</b>	.....	<b>25</b>
<b>2.3. Analyse des constituants chimiques de l'HE par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS.</b>	.....	<b>26</b>
<b>2.4. Activité antioxydante de l'HE</b>	.....	<b>28</b>
<b>2.5. Activité antibactérienne de l'HE</b>	.....	<b>29</b>
<b>2.6. Activité insecticide de l'HE</b>	.....	<b>30</b>
<b>CHAPITRE III : Résultats et Discussion</b>		
<b>Résultats et discussion</b>	.....	<b>32</b>
<b>Conclusion</b>	.....	<b>40</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N°		PAGE
I	Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie	08
II	Principaux composés de certaines espèces d'origan	14
III	Pourcentage de répulsion	31
IV	Les composés chimiques majoritaires de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i> et leurs pourcentages	33



## Liste des figures

N°		PAGE
01	Partie florale d' <i>Origanum vulgare</i>	06
02	Caractéristiques botaniques d' <i>Origanum vulgare</i>	06
03	Dessin d' <i>Origanum vulgare</i> ssp <i>vulgare</i>	07
04	Distribution du genre <i>Origanum</i> dans le monde	08
05	<i>Origanum floribundum</i> Mumby	09
06	Présentation <i>Origanum vulgare</i>	10
07	Structure chimique de l'isoprène	13
08	Quelques structures de substances majeures rencontrées dans les HES d'Origan	15
09	Quelques structures de mono-terpènes acycliques rencontrées dans les HE d'Origan	16
10	Quelques structures de substances bornanes rencontrées dans les HE d'Origan	17
11	Les feuilles fraîches d' <i>Origanum vulgare</i>	22
12	Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	22
13	Photo d'appareil de la chromatographie en phase gazeuse	23
14	Montage d'extraction de type Clevenger	26
15	Les différents modules de la chromatographie en phase gazeuse	27
16	La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	28
17	La mesure des zones d'inhibition de l'activité antifongique	34
18	Les mesures des Zones d'inhibition du champignon <i>Mucor</i> sp. sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i>	35
19	Principaux composés (en %) de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i>	36
20	Répartition des principales familles de composés de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i>	37
21	Activité antiradicalaire de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i> , d'acide ascorbique et du BHT	38

## **Liste des abréviations**

<b><i>ADN</i></b>	Acide désoxyribonucléique
<b><i>CMI</i></b>	Concentration minimale inhibitrice
<b><i>CPG</i></b>	Chromatographie en phase gazeuse
<b><i>eV</i></b>	Électronvolt
<b><i>He</i></b>	Huile essentielle
<b><i>HEs</i></b>	Huiles essentielles
<b><i>L</i></b>	Litre
<b><i>μL</i></b>	Micro litre
<b><i>ml</i></b>	Millilitre
<b><i>m</i></b>	Mètre
<b><i>mm</i></b>	Millimètre
<b><i>μm</i></b>	Micro mètre
<b><i>min</i></b>	Minute
<b><i>NIST</i></b>	National institute of standards and technology
<b><i>ROS</i></b>	Reactive Oxygen Species (espèces réactives oxygénées)
<b><i>CG/SM</i></b>	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
<b><i>°C</i></b>	Degré celsius
<b><i>DPPH</i></b>	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
<b><i>UFC</i></b>	Unité Formant Colonie
<b><i>DO</i></b>	Densité Optique

## Résumé

Les huiles essentielles d'*Origanum vulgare* L. sont extraites par hydrodistillation à partir des parties aériennes. 27 échantillons d'Origan sont analysés par la chromatographie en phase gazeuse (GPC) et la spectrométrie de masse (CPGSM). 40 composants ont été entièrement identifiés. Cependant, toutes les huiles ont été caractérisées par la prédominance de quatre composants dits majeurs, le thymol (7.7 –73.1%), le carvacrol (7.6 –72.6%), le p-cymène (1.7 – 25.8 %) et  $\alpha$ -terpinène (1.1 –18.7%). Les propriétés antioxydantes d'huile essentielle d'Origan par rapport à sa composition chimique ont été examinées. L'activité antioxydante a été étudiée par deux méthodes différentes. La capacité antioxydante d'huiles a été mesurée (TBARS). Celle-ci a été comparée à celles du  $\alpha$ -tocophérol et BHT. Les quatre huiles ont été également dotées d'un degré élevé d'activité à la plus basse concentration (100 ppm). Cette activité peut être attribuée à la teneur élevée en composés phénoliques, à savoir le thymol et le carvacrol, qui caractérisent fortement la composition de ces huiles. L'activité de balayage de radical libre d'huiles essentielles a été déterminée par le système 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Les teneurs en Sc50 (concentration à 50%) étaient dans l'intervalle 33,8 – 55.7  $\mu\text{g/ml}$ , représentant une bonne efficacité antioxydante. Les huiles essentielles sont également évaluées pour leur activité antimicrobienne par la méthode des disques de diffusion et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) contre six souches standards (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*). Toutes les souches microbiennes utilisées (les bactéries gram positives et gram négatives et les levures) ont montré un degré de sensibilité assez semblable aux huiles essentielles étudiées. En outre, on a observé un niveau semblable de la toxicité pour toutes les huiles examinées, avec des valeurs de CMI de 31.25 –125.00  $\mu\text{g/ml}$ . En conclusion, l'addition du Tween 80 à l'huile ou à l'agar diminue nettement l'activité antimicrobienne d'huiles essentielles contre toutes les souches microbiennes utilisées, ainsi suggérant que l'activité antimicrobienne d'huiles essentielles dépend des caractéristiques physico-chimiques de leurs composés et également des souches microbiennes utilisées.

**Mots clés :** *Origanum vulgare* L. - Lamiaceae- huile essentielle- 1- activités antimicrobiennes, antioxydantes - activités antifongique.

## ملخص

تم تحليل الزيوت الأساسية المستخلصة بطريقة التقطير المائي من الأجزاء الهوائية لـ 27 عينة من نبات الزعتر، وذلك بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية (CPG) والكروماتوغرافيا الغازية المقرونة بقياس الامتصاص الكتلي (SM-CPG). تم وصف 40 مركبا. غير أن جميع الزيوت تم وصفها بوجود 04 مركبات أساسية هي التيمول (7.7 – 73.1 %)، الكارفاكرول (7.6 – 72.6 %)،  $\alpha$ -cymène (1.7 – 25.8 %) و  $\alpha$ -terpinène (1.1 – 18.7 %). وتم بحث الخصائص المضادة للأكسدة لزيوت الزعتر مقارنة بمكوناته الكيميائية. قيست القدرة المضادة للأكسدة بطريقة TBARS ثم قورنت مع تلك التي تميز  $\alpha$ -tocopherol و BHT. لوحظ أن الزيوت الأربعة تتميز أيضا بنشاط عال عند أقل تركيز (ppm 100). و هذا النشاط راجع إلى محتوى العالي من المركبات الفينولية و منها التيمول والكارفاكرول التي تتميز بها هذه الزيوت. تم تحديد نشاط مسح الجذور الحرة للزيوت الأساسية بالنظام المعياري DPPH ولوحظ أن المحتوى من SC50 تركيز المسح يتراوح بين 33.8 – 55.7 ميكروغرام/مل مبينا قدرة عالية مضادة للأكسدة. وتمت دراسة النشاط ضد ميكروبي للزيوت الأساسية بطريقة الأقراص المساعدة على الانتشار و تحديد التركيز المثبط الأدنى (CMI) على 06 سلالات ميكروبية معيارية هي (*Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*)، (*Enterococcus hirae*، *Candida albicans*، *C. tropicalis*). لوحظ أن جميع السلالات (بكتريا +G و -G و الخميرة) حساسة بصورة متقاربة للزيوت. كما لوحظ مستوى متقارب للزيوت من حيث درجة السمية مع قيم CMI ممتدة من 31.25 إلى 125.00 ميكروغرام/مل. في الأخير لوحظ أن إضافة Tween 80 إلى الزيت أو إلى الوسط يقلل من النشاط ضد الميكروبي للزيوت الأساسية ضد جميع السلالات الميكروبية المدروسة مما يعني أن النشاط ضد ميكروبي للزيوت الأساسية متعلق بالطبيعة الفيزيوكيميائية لمركباتها و كذلك بالسلالات الميكروبية المستعملة.

**الكلمات المفتاحية:** الزعتر – الشفويات - الزيوت الأساسية - النشاط ضد الميكروبي - المضادة للأكسدة - نشاط مضاد للفطريات.

### Abstract :

Essential oils extracted by hydrodistillation from the aerial parts of 27 samples of Algerian *Origanum vulgare* L. ssp *glandulosum* (Desf.) Letswaart. were analysed by gas chromatography (GC) and GC–mass spectrometry (MS). 40 components have been fully characterized. However, all the oils were characterized by the predominance of four components, thymol (7.7–73.1%), carvacrol (7.6–72.6%), p-cymene (1.7–25.8%) and  $\alpha$ -terpinene (1.1–18.7%). The antioxidant properties of the essential oil from oregano in relation to its chemical composition were examined. The antioxidant activity was investigated with two different methods. The antioxidant capacity of the oils was measured by the modified thiobarbituric acid reactive species (TBARS). The activity was compared with those of  $\alpha$ -tocopherol and 2,6-ditertbutyl- 4-methyl phenol (BHT, butylated hydroxytoluene). The four oils (samples of 1998) were also endowed with a high degree of activity at the lowest concentration (100 ppm). This activity is to be ascribed to the high content of phenol components, viz. thymol and carvacrol, which strongly characterize the composition of these oils. The free radical scavenging activity of essential oils was determined by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) model system. The SC50 (scavenging concentration) values were in the range 33.8–55.7  $\mu\text{g/ml}$ , representing a good antioxidant effectiveness (samples 2002-2003). The essential oils were also evaluated for their antimicrobial activity by the agar disc diffusion method and the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) against six standard strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*). All microbial strains employed (Gram-positive and Gram-negative bacteria and yeasts) showed a fairly similar degree of susceptibility to the essential oils under investigation, although no evident difference was observed in their sensitivity. Furthermore, a similar level of toxicity was observed for all oils examined, with MIC values of 31.25–125.00  $\mu\text{g/ml}$ . Finally, the addition of the emulsifier Tween 80 to the oil or to the agar markedly decreases the antimicrobial activity of the essential oils against all microbial strains employed, thus suggesting that the antimicrobial activity of the essential oils is dependent on the physicochemical characteristics of their components and also on the microbial strains employed.

**Key words:** *Origanum vulgare* L.- Lamiaceae - Essential oil - antimicrobial, antioxidant, and antiradical activities.

# INTRODUCTION

Les plantes sont le don de la nature et ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner. Elles sont exploitées dans diverses industries telles que : la parfumerie, l'agro-alimentaire, les cosmétiques et la pharmaceutique, [1]alors qu'ils ont une haute valeur médicinale[2].La valeur médicinale des plantes réside dans certaines substances chimiques qui produisent une action physiologique définie sur le corps humain [3].

Le monde végétal de part sa richesse en végétaux représente une source inépuisable de composés actifs capables de synthétiser par voie métabolique des molécules bioactives afin de faire face aux stress biotiques et abiotiques. Ces molécules grâce à leurs activités biologiques sont une réponse concrète à plusieurs maladies qui touchent l'humanité. Ils possèdent des propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes, anticancéreux , anti-VIH, lutte contre les maladies etc. [4,5].

Entre 20 000 et 25 000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale [6]. La revalorisation de l'herboristerie traditionnelle pourrait aboutir à l'homologation de nouveaux médicaments à base de plantes. La possibilité de concilier le meilleur de chaque discipline, traditionnelle et allopathique, est un grand progrès.

En Algérie, on y trouve plus de 3000 espèces de plantes dont plus de 300 sont utilisées en médecine traditionnelle ou en médecine moderne [7]. La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, Saharienne et il existe une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique dont 15% sont endémiques [8]. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles. Parmi cette végétation, les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatisation des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales. Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne l'intérêt s'est porté sur une espèce de la famille des lamiacées l'origan "*Origanum vulgare* L."

L'origan *Origanum vulgare* L. est particulièrement riche en un très grand nombre de métabolites secondaire. Actuellement, de nombreuses recherches scientifiques montrent que l'origan est une source d'antioxydants qui renforcent les défenses naturelles et contribuent aux bienfaits sur la Santé.

## INTRODUCTION

L'objectif de ce travail purement bibliographique est de faire une investigation sur des travaux antérieurs sur le l'Origan et d'estimer son activité phyto-chimique et anti-oxydante en se basant sur une recherche à travers diverses expérimentations et de se baser sur l'aspect comparatif de ces travaux.

Ce travail a pour but, l'étude de l'*Origanum vulgare* L., tant d'un point de vue ethnobotanique anatomique que chimique et biologique de l'Huile Essentielle extraite de ses feuilles.

A cet effet, la première expérimentation est basée sur une étude phyto-chimique basée sur l'extraction de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et d'estimer son activité antifongique, quand à la seconde étude repose sur l'évaluation de l'activité anti-oxydante telle que l'activité anti-radicalaire DPPH , l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) puis l'évaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* sur un insecte ravageur des denrées stockées.

Cette étude englobe deux parties :

La première partie consacrée à mettre en revue une synthèse bibliographique des travaux bibliographiques du genre *Origanum* sur plusieurs aspects à savoir la distribution, l'écologie, la taxonomie, la biologie puis la phytochimie en axant sur le métabolite secondaire, les stress oxydatifs et les antioxydants ainsi que les autres activités (antimicrobiennes, antifongiques, insecticides).

La deuxième partie illustre les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus avec une conclusion générale.



**CHAPITRE I**  
**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## PARTIE I : Généralités sur l'*Origanum vulgare* L.

### I.1. Historique et généralités

Un grand nombre des plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent des applications dans divers domaines tels que les industries pharmaceutiques, la médecine. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs [1]. La découverte du pouvoir thérapeutique des plantes est un concept traditionnel et ancien [2].

L'Origan est l'une des plantes majeures de l'antiquité. Pline (Ier siècle ap. J.C.) lui consacre une place importante dans le livre XX de son histoire naturelle ; détaillant ses formes et ses utilisations [3].

L'Origan était considéré comme panacée [4], puisqu'on l'utilisait comme anti-infectieux, bactéricide, antitussif, expectorant, carminatif et emménagogue, l'origan est utilisé depuis très longtemps pour soigner les infections respiratoires (en inhalations) mais aussi diverses maladies de peau (avec infections ou non). Tisanes et inhalations, compresses, huile et décoction servaient à l'extérieur comme à l'intérieur du corps [5].

En outre l'origan était déjà connu de l'Égypte des pharaons pour ses vertus antiseptiques. Les médecins chinois utilisèrent pendant des siècles l'Origan pour soigner divers maux [6]. Au moyen âge, les pèlerins mettaient de l'Origan dans leurs chaussures pour soulager leurs pieds, tout comme les centurions romains qui connaissaient déjà les propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires de cette plante [7].

L'Origan est reconnu en arabe sous la dénomination de Zaâter. Cependant, il y a lieu de signaler que cette dernière dénomination est peu précise. Le terme Zaâter, englobe en fait diverses plantes aromatiques de la famille des Lamiacées et appartenant à trois genres : Le Thym (*Thymus algeriensis* Desf.), le *Saccocalyx* (*Saccocalyxatureiodes* Dur.) [8] et l'Origan (*Origanum vulgare* sous-espèce *glandulosum* (Desf.) Letswaart [9]).

## I.2. Etymologie des produits phytosanitaires (pesticides)

Le terme « origan » est apparu dans la langue au XIII<sup>ème</sup> siècle. Il dérive du latin *origanum*, qui l'a lui-même emprunté au grec origanon, et signifie « aime la montagne », à cause de la prédilection de la plante pour les régions montagneuses de la Méditerranée [10]. Le terme « origan » vient du grec « orosganos » En décomposant étymologiquement, on trouve “oros” la montagne, et “ganos” éclat, aspectriant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». L'origan porte le nom botanique ou scientifique d'*Origanum vulgare* Linné[11].

Autres noms : Origan, origan commun, origan vulgaire, marjolaine sauvage, marjolaine bâtarde, marjolaine vivace, marjolaine d'Angleterre, thé rouge, pied de lit, joie des montagnes [12].

## I.3. Description botanique et classification du genre *Origanum*

### I.3.1 Position systématique

La classification botanique d'*origanum* [13] est la suivante:

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Série : Superovariées tétracycliques

Super ordre : Tubiflorales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : Népétoïdées

Genre : *Origanum*

L'ordre des Lamiales est un ensemble important comprenant actuellement 17.800 espèces réparties en 21 familles ; l'une des principales est celle des Lamiacées, anciennement appelée Labiées, est composée de près de 258 genres et 6970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres [14]. Elle contient d'importantes plantes aromatiques utilisées en médecine traditionnelle et moderne et dans les industries alimentaires et pharmaceutiques, le Romarin, le Thym, l'Origan et la Sauge, ce sont les plantes plus populaires dans les remèdes traditionnels [15].

### I.3.2 Caractères généraux des Lamiaceae

- Les tiges sont quadra gulaires, au moins dans leur jeune âge, et sont à rameaux opposés,
- Les feuilles opposées sont simples, parfois amplexicaules, toujours sans stipule et à limbe penninerve,
- Les inflorescences formées par de faux verticilles axillaires ou glomérules proviennent de la réunion de 2 cymes bipares,
- Les fleurs hermaphrodites ou unisexuées sont accompagnées de bractéoles et ont évolué vers l'adaptation à la pollinisation par les insectes (Entomophilie),
- Le calice est gamosépale persistant à 5 sépales soudés,
- La corolle est gamopétale et zygomorphe. Elle comprend un tube plus ou moins long, droit ou incurvé, souvent poilu. Le limbe est bilabié, partagé en 5 lobes (2 pour la lèvre supérieure, 3 pour la lèvre inférieure) - les étamines sont au nombre de 4 : 2 grandes et 2 petites (sauf pour le genre *Mentha* qui en compte 5).
- Le gynécée est formé de 2 carpelles formant un ovaire biloculaire reposant sur un disque glanduleux et possédant 2 ovules par loge. Chaque loge se subdivise par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées. Les ovules sont anatropes ascendants à raphé interne,
- Le fruit est un tétrakène formé de 4 nucules secs enveloppés par le calice [16, 17].

### I.3.3 Caractères botaniques du genre *Origanum*

Le terme origan provient du latin *Origanum*, lui-même issu de grec origanon. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». En effet, l'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté [18]. Le genre *Origanum* comprend environ 70 espèces, sous-espèces, variétés et hybrides, caractérisés par une extrême variabilité dans leurs caractères morphologiques (longueur de la tige, arrangement, nombre et longueur des branches, formes des feuilles, ...) [19].

L'espèce *Origanum vulgare* L. la plus répandue et la plus connue de la famille des Lamiacées (figure 01) [20].



**Figure 01** : Partie florale d'*Origanum vulgare* [18]

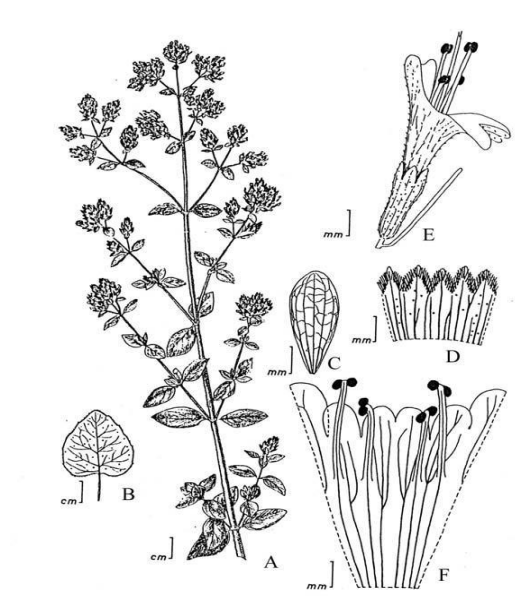
L'origan est une herbacée vivace de 30 à 60 cm de hauteur, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude [21].

Les tiges dressées, souvent rougeâtres et velues, portent les feuilles ovales opposées et espacées. Celles-ci possèdent des glandes sécrétrices non apparentes. Les fleurs blanches ou rose sont groupées en inflorescences (figure 02). Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, et dépassant le calice. Ce calice est lui-même en tube gamosépale et persistant. Le fruit est constitué d'akènes. La floraison se prolonge de mai à octobre [22-23].



**Figure 02** : Caractéristiques botaniques d'*Origanum vulgare* [18]

Les caractères fondamentaux du genre *Origanum* résumés ci-dessus présentent le plus souvent des variations caractéristiques de chaque section.



**Figure 03 :** Dessin d'*Origanum vulgare* ssp *vulgare* [9] (B : feuille, C: bractée, D : calice coupé par la lèvre inférieure ,E : fleur avec bractée avec vue de côté, F: corolle coupée par la lèvre inférieure)

Les parties utilisées pour obtenir l'huile essentielle sont les sommités fleuries récoltées en période estivale. Cette huile est peu utilisée en médecine traditionnelle, toutefois l'origan possède diverses propriétés thérapeutiques. Ainsi, en usage externe, il pourra être utilisé comme bactéricide et antiseptique, stimulant et antispasmodique des voies respiratoires comme l'a démontré Baratta [24].

### I.3.4 Répartition

Le genre *Origanum* est principalement réparti autour du bassin Méditerranéen (figure 04) dont 81% des espèces se distribuent exclusivement dans l'Est Méditerranéen, essentiellement en Turquie, en Grèce et au Moyen Orient. L'espèce d'*Origanum vulgare* est largement distribuée en Euro-Asie et en Afrique du Nord. L'aire géographique s'étend jusqu'aux Açores, îles Canaries, Bretagne, Scandinavie et Chine et Taiwan.



Figure 04 : Distribution du genre *Origanum* dans le monde [9].

#### I.4 Genre *Origanum* en Algérie

En Algérie, l’Origan est représenté par trois espèces : *Origanum majorana* L., *Origanum floribundum* Munby et *Origanum glandulosum* Desf. La première espèce *Origanum majorana* L. est cultivée et plus ou moins subspontanée. Son aire de distribution est l’Europe et la Méditerranée. La deuxième espèce, *Origanum floribundum* Munby est localisée dans l’Atlas Tellien et la grande Kabylie où colonisent les pâturages surtout en montagne. La troisième espèce est plus répandue dans toutes les régions et elle est considérée sur le plan phytogéographique comme plante endémique, c'est-à-dire que l’aire de répartition de cette plante est localisée dans deux pays l’Algérie et la Tunisie [8]. Le tableau I indique la localisation des deux espèces : *Origanum floribundum* Mumby et *Origanum vulgare* L.

Tableau I : Répartition géographique des deux espèces d’origan en Algérie [25]

Espèces	Localisation et caractéristiques
<i>Origanum floribundum</i> Mumby	Pousse en pâturage et surtout en montagne. Espèce rare dans le sous-secteur du littoral et le secteur de Kabylie. Endémique d’Algérie
<i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>Glandulosum</i> (Desf.) Ietswaart	Commun dans tout le Tell Endémique Algéro-Tunisien. Pousse dans les garrigues et broussailles

#### I.4.1 Espèce *Origanum floribundum* Mumby

Les caractères morphologiques végétatifs de l'*Origanum floribundum* Mumbyse particularisent par une tige, prostrée à la base, les jeunes sont décombantes [8], quadrangulaires et de courts rameaux ou semi persistantes sont de couleurs verdâtres et pubescentes (figure 05). Les fleurs sont hermaphrodites ; elles s'organisent en épis lâches (inflorescence indéfinie), disjointes après la floraison. Le calice à 5 dents courtes, la corolle est à lèvres sensiblement égales [8]. Le fruit est un tetrakène, ovoïde et lisse de couleur noirâtre [15].



**Figure 05 :***Origanum floribundum* Mumby [26]

#### I.4.2 Espèce *Origanum vulgare* L.

C'est une plante aromatique odorante, qui appartient à la famille des Lamiacées, elle pousse en particulier dans les montagnes, a une altitude de 300 à 1600 m, surtout dans les endroits rocheux [27]. Très commune dans les endroits secs et ensoleillés telles que le Tell, elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires [18]. Cette plante forme de touffes de quelques centimètres de diamètre et une hauteur comprise entre 30 à 60cm.

Les principaux caractères qui permettent de reconnaître cette plante sont : les tiges toutes dressées, rameuses, arrondies, rougeâtres épis denses, à fleurs restant contiguës après floraison [8].



Leurs feuilles sont ovales, entières. Les inflorescences terminales comportent des bractées rouges ou violacées entourant les fleurs pourpres ou blanches. La corolle a une lèvre inférieure qui est bien plus longue que la lèvre supérieure [27]. À un calice tubuleux à 5 dents égales. Il y a 4 étamines saillantes dont les anthères sont pourpres [28], le fruit est un tétrakène, lisse, brun, de 1 mm de long [29].



**Figure 06 :** Présentation *Origanum vulgare* [30]

**PARTIE II : Métabolite secondaire chez l'*Origanum vulgare* L.****II.1. Propriétés biologiques de l'*Origanum vulgare***

En Algérie, communément appelé « zaitera », l'origan est une plante essentiellement médicinale qui jouit d'une grande ferveur populaire [22]. Elle est utilisée comme tisane par la population locale pour guérir plusieurs maladies telles que : les rhumatismes, la toux, le rhume et les troubles digestifs [31]. Cette plante possède plusieurs activités [19- 32- 33] :

- Activité antibactérienne et antifongique
- Activité anti-oxydante
- Activité antispasmodique et urolithique
- Activité anti-glycémique
- Activité anti-inflammatoire
- Activité antiparasitaire
- Activité nimaticide

L'origan est utilisé par voie interne, il est antalgique en calmant les douleurs musculaires et articulaires ainsi que les règles douloureuses, c'est aussi un tranquillisant du système nerveux, très indiqué pour les personnes nerveuses, dépressives, anxieuses ou sujettes aux migraines fréquentes. Cette plante médicinale peut aussi soulager les personnes souffrant de troubles digestifs et de spasmes intestinaux, stimuler l'appétit et réguler la tension artérielle. En inhalation, cette médication naturelle nettoie les voies respiratoires. Par usage externe, l'origan est un antiseptique efficace contre les aphtes, la gingivite et autre infection touchant la bouche. Son huile essentielle s'utilise en massage ou en application locale pour apaiser les foulures et les douleurs articulaires ainsi que pour soigner les plaies superficielles [34]

L'usage de l'Origan dans la zone d'investigation est bien connu aux propriétés médicinales très intéressantes. Il calme la toux en favorisant l'expectoration, bon stimulant de l'appareil digestif ; l'Origan, condiment classique des pizzas [35]. En usage externe, sous forme de lotions (infusion concentrée) ou de pommade, s'emploie sur l'eczéma. Remède populaire du torticolis des douleurs rhumatismales [35].

En outre, les espèces d'Origan sont utilisées également comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums [36]. Il ne faut pas utiliser l'Origan pure car le carvacrol et le thymol sont (comme tous les phénols) irritants pour la peau et les muqueuses. Un surdosage pourrait entraîner des convulsions [37].

## II.2. Constituants chimiques

Les principaux constituants sont l'Huile essentielle, les sucres amers, la caféine, les tanins (8%), les acides phénoléniques et les flavonoïdes. 4 substances anti-asthmatiques, 6 substances expectorantes, 6 substances hypotensives, 19 substances bactéricides (jusqu'à 8,8 % du poids sec) [11].

## II.3. Généralités sur les Huiles essentielles (HEs)

Les huiles essentielles (HEs) ont à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. Beaucoup de travaux ont montré l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économiques, comme par exemple, l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et Fongicides [38].

### II.3.1 Définition

Le terme "essentiel" dérive de "l'essence", qui signifie l'odeur ou le goût. La flaveur et l'odeur spécifique de beaucoup de plantes sont reliées aux propriétés de ces substances [33]. Les huiles essentielles sont des composés complexes, naturels et volatiles, caractérisés par une odeur forte et qui sont synthétisés par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires [38], et qu'on obtient par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques [18], sont des substances de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides [39].

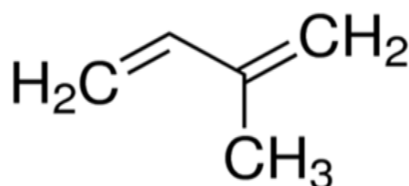
Pour la 8<sup>ème</sup> édition de la pharmacopée française (1965) « les huiles essentielles (essences= huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » [40].

### II.3.2 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs) sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques, dissous l'un dans l'autre, formant des solutions homogènes. Les HEs pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes [38].

La composition peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les HEs sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : terpéniques, aromatiques et variés [41].

❖ Les terpènes sont des hydro-carbones naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte; formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthyl buta-1,3-diène (molécule de base) ou appelé encore l'isoprène [41].



**Figure 07** : Structure chimique de l'isoprène [18]

❖ Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C6-C3. Sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles [43]. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres [41].

❖ Les Composés d'origine variée : Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro-distillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés [43].

### II.3.3. Composition chimique des huiles essentielles de l'*Origanum vulgare*

Les propriétés des huiles essentielles dépendent de leurs composants biochimiques. La complexité de chaque huile essentielle naturelle et pure (qui peut contenir de 10 à 250 composants) explique la polyvalence d'action de la plupart d'entre elles. Néanmoins, un grand nombre de composants reste inconnu.

Or, ce sont souvent ces molécules non identifiées, contenues à doses infinitésimales, qui font la différence entre les vraies huiles essentielles (les seules acceptables pour la santé humaine car elles contiennent le totum de la partie aromatique de la plante) et les essences (produits extraits des huiles essentielles dénaturées ou reconstituées).

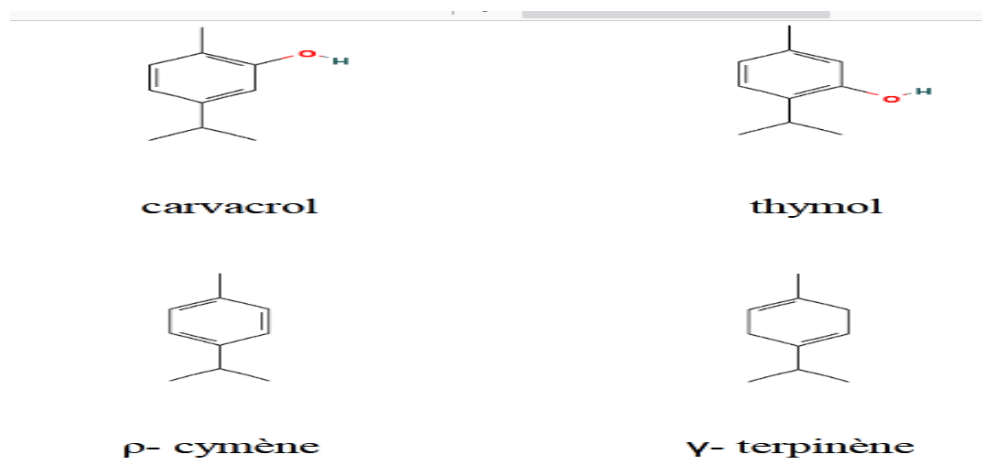
Le tableau II résume les résultats de l'étude de la composition chimique de plusieurs espèces d'origan et l'identification des composés majoritaires pour chaque échantillon analysé.

**Tableau II** : Principaux composés de certaines espèces d'origan [38]

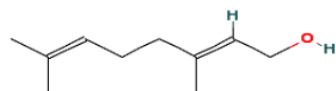
Principaux composés	Espèces
Linalol, terpinen 4-ol binene hydrate.	<i>Origanum majorana</i>
Carvacrol et/ou thymol	<i>Origanum hirtum</i> <i>Origanum onites</i>
thymol Carvacrol $\gamma$ - terpinène p-cymène	<i>Origanum vulgare</i>
Carvacrol et thymol	<i>Origanum floridundum</i>
Carvacrol et thymol	<i>Origanum virens</i>
Carvacrol, terpinen 4-ol, $\alpha$ - terpinéol, $\gamma$ -terpinène, p- cymène et thymol.	<i>Origanum compactum</i>

### II.3.4. Huiles essentielles de l'*Origanum vulgare*

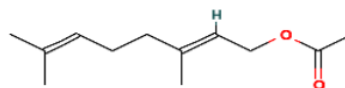
L'Origan est connu largement dans le monde des herbes et des épices pour ses huiles volatiles [44], riches en mono-terpènes phénoliques principalement le carvacrol (Figure 7), de temps en temps thymol, et d'autres composés présent dans l'Origan sont habituellement de moins d'importance quantitativement tels que des mono-terpènes (Figure 8) acycliques et des composés bornanes (Figure 9).



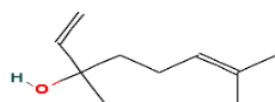
**Figure 8:** Quelques structures de substances majeures rencontrées dans les HEs d'Origan [45].



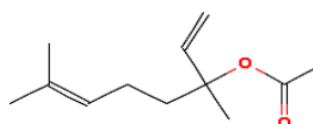
géranol



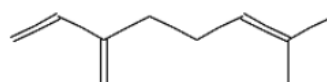
acétate géranlyque



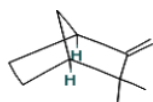
linalool



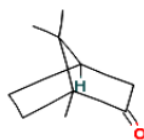
acétate linalylique

 $\beta$ -myrcène

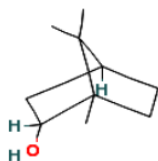
**Figure 9** : Quelques structures de mono-terpènes acycliques rencontrés dans les HE d'Origan [45].



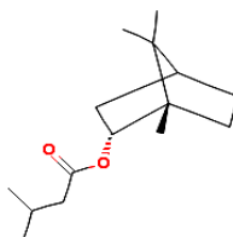
camphène



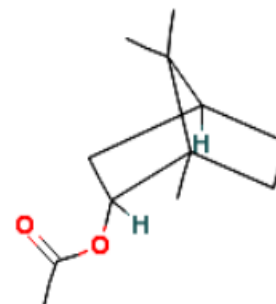
camphre



bornéol



bornyle



acétate d'isobornyle

**Figure 10** : Quelques structures de substances bornanes rencontrées dans les HE d'Origan [45].

## II.4. Activités biologiques de l'Huile essentielle d'*Origanum vulgare*

### II.4.1. Activité anti-oxydante

Les espèces réactives sont générées en permanence dans l'organisme. Ainsi, les ROS générées par le métabolisme normal de l'oxygène, peuvent agir comme des modulateurs des voies de transduction du signal et de l'expression des gènes qui participent à l'homéostasie et à la production des antioxydants, et jouent le rôle de messenger pour la cellule, dans l'apoptose et dans la défense contre les infections [46].

Quand il y'a une surproduction des ROS, suite à une exposition à des substances oxydantes externes ou un déséquilibre dans les mécanismes de défense, les dommages aux biomolécules majeures (ADN, acides aminés, lipides, protéines) peuvent survenir, ce qui donne lieu au stress oxydatif qui est impliqué dans de très nombreux mécanismes pathologiques, notamment ceux dus au vieillissement, tels que l'athérosclérose, le cancer, le diabète, les maladies auto-immunes ou encore les maladies de Parkinson et d'Alzheimer [47-48].



#### II.4.1.1. Définition du stress oxydatif

Un état de stress oxydatif ou stress oxydant est traduit par la peroxydation et l'oxydation de beaucoup de molécules cellulaires de différents types, des lipides, des protéines, et même des acides nucléiques. Le stress oxydatif en n'importe quel tissu résulte d'un déséquilibre entre la production des ROS, et le pouvoir de la neutralisation de ces dernières par le système antioxydant disponible au niveau tissulaire [49].

#### II.4.1.2 Antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques [50], ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres en formant, soit, des produits finis non radicaux, soit, interrompent la réaction en chaîne de peroxydation rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur [51].

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités anti-oxydantes des extraits volatils des plantes, pour évaluer l'activité anti-radicalaire ou anti-oxydante [52-53]. Un grand nombre de rapports concernés par l'activité anti-oxydante ou anti-radicalaire de l'huile essentielle d'Origan par rapport à sa composition chimique ont été examinés [54-55-56].

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les poly-phénols qui sont responsables de ce pouvoir [57].

#### II.4.2. Activité antibactérienne

Depuis leur découverte au début du XXème siècle, les antibiotiques ont permis de grandes avancées en thérapeutique et contribué à l'essor de la médecine moderne. L'introduction et l'utilisation en clinique des premières classes d'antibiotiques ont considérablement réduit la mortalité imputable à des maladies autrefois incurables. L'efficacité de l'antibiothérapie dans le contrôle et la limitation de la dissémination des agents pathogènes a

ainsi fait naître l'espoir de pouvoir éradiquer l'ensemble des maladies infectieuses. Malheureusement, l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques a mis un terme à cette vague d'optimisme [14].

La montée des résistances contre les principales classes d'antibiotiques, combinée au nombre limité d'agents en cours de développement, a conduit à l'avènement de l'ère post-antibiotique. Actuellement, l'accent est mis sur l'exploration de nouveaux réservoirs naturels, comme les peptides antimicrobiens, qui montrent déjà des résultats prometteurs. Les ressources plus anciennes, comme les bactériophages ou les plantes, suscitent également un regain d'intérêt [14].

Les effets antimicrobiens des huiles essentielles sont bien établis, mais le mécanisme d'action de tels composés est mal compris [58]. Il semble probable que les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes agissent au niveau de la membrane cellulaire des bactéries en provoquant sa dislocation [2- 59]. L'activité est due à la nature hydrophobe des hydrocarbures cycliques, qui leur permet d'agir avec la membrane cellulaire en s'accumulant dans la bicouche lipidique. Cette interaction engendre des changements conformationnels de la structure membranaire, en provoquant sa fluidification et sa dilatation.

La déstabilisation de la membrane a pour conséquence la fuite des ions à travers la membrane cellulaire qui diminue ainsi le gradient ionique. Dans la plupart des cas, les bactéries peuvent équilibrer le gradient et cela, en employant des pompes ioniques et la mort cellulaire ne se produit pas, mais les énergies détournées pour faire fonctionner celles-ci ralentissent la croissance cellulaire.

En général, l'activité antimicrobienne est due aux hydrocarbures cycliques et aux phénols telles le thymol et le carvacrol dont lesquels les groupements hydroxyle et les électrons forment des interactions avec de l'eau en établissant des ponts hydrogène comme site actif qui les rend actifs contre les micro-organismes. Un autre mécanisme alternatif a été proposé et qui admet que le groupement hydroxyle des phénols réagit en tant que porteur transmembranaire des cations monovalents et protons [59].

Le mode d'actions des HEs dépend du type de microorganisme [60]. En général bactérie GRAM- sont plus résistantes que les GRAM + grâce à la structure de leur membrane interne [61].

#### **II.4.3. Activité insecticide**

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques [62]. Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes [63].

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide [64]. Certaines observations ont montré que les HEs extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis des ravageurs de stocks [65].

Les HEs ont des effets anti-appétent, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes [66]. Ce dernier est également freiné par la toxicité inhalatrice des huiles sur les adultes [67].

#### **II.4.4. Activité antifongiques**

Les infections fongiques ont augmenté durant ces dernières années en raison du nombre croissant de patients à haut risque, particulièrement les hôtes immunodéprimés (personne avec système immunitaire déficient). L'augmentation de la résistance fongique vis-à-vis les médicaments classiques, les frais de traitement et le fait que les antifongiques les plus disponibles n'ont que l'activité fongistatique, justifient la recherche de nouvelles stratégies [68] Les huiles essentielles de nombreuses plantes sont reconnues qu'elles possèdent une activité antifongique [69] Les huiles essentielles de Cannelle, de Clou de girofle ou de Niaouli sont des antifongiques, Insecticides (Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides

comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme le citronellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou la citronnelle) [70].

# **CHAPITRE II**

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

**1. Expérimentation 1 :** Analyse chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare*. Cette expérimentation est réalisée par [71].

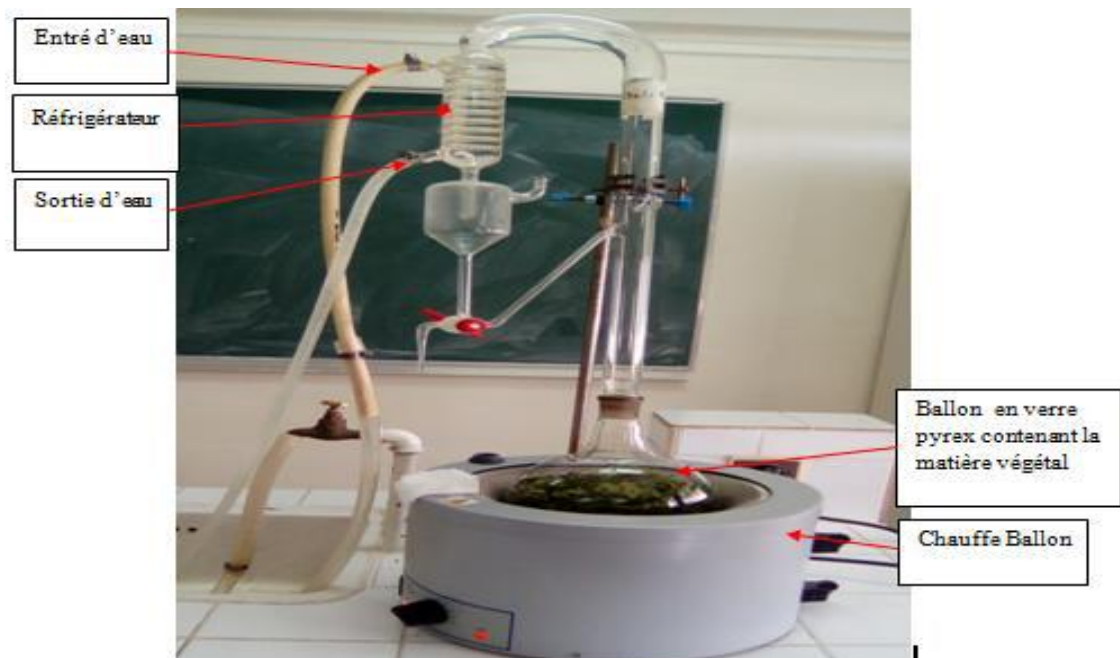
### 1.1.Extraction de L'Huile essentielle d'*Origanum vulgare*

L'étude porte sur des feuilles récoltées fraîches dans la région de Jijel (Figure 11). Elles ont été mises à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant 5 jours avant l'étape d'extraction.



**Figure 11 :** Les feuilles fraîches d'*Origanum vulgare* [71]

L'huile essentielle des feuilles d'*Origanum vulgare* est extraite par le procédé d'hydro-distillation grâce à un appareil du type Clevenger (Figure 12)[71].



**Figure 12.** Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger [71]

L'huile est extraite est conservée dans des tubes en verre stériles fermés hermétiquement, couverte avec du papier d'aluminium pour la préserver de la lumière, et conserver à 4°C.

L'analyse de la composition chimique des HEs est effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (Figure 13).



**Figure 13** : Photo d'appareil de la chromatographie en phase gazeuse [71]

Ce couplage permet de déterminer simultanément le nombre de constituants de l'essence, leurs pourcentages respectifs, leurs ordres de sorties, ainsi que leurs masses moléculaires et leurs structures (à la limite de ce qui est disponible dans la bibliothèque de l'appareil) [72].

Le chromatographe en phase gazeuse, couplé à un spectromètre de masse quadripôle est muni d'une colonne (OV1701 [25m]). La température de l'injecteur split est de 250 °C, celle de l'injecteur est programmée de 40°C (10 min) à 220°C, à raison de 5°C/min est maintenu à 220°C pendant 5 min. La ligne de transfert étant maintenue à 250 °C. Le débit du gaz vecteur (He) est de 2.0 ml/min. La vitesse linéaire moyenne est de 35 cm/sec. Les températures de la source et de l'interface sont fixées à 200°C et 250°C respectivement.

Les constituants sont identifiés par NIST05 et les indices de Kovats sont déterminés par la banque de données informatisées ESO 2000. Les pourcentages relatifs des composés identifiés dans la composition chimique des huiles essentielles sont calculés à partir des aires de pics obtenus en chromatographie en phase gazeuse CPG/SM sans aucun facteur de correction.

Ces étapes sont suivies par l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d'*Origanum vulgare* sur une espèce de champignon *Mucor sp.*

## 1.2. Activité antifongique

### 1.2.1. Isolement des souches

L'isolement du champignon a été effectué à partir d'un fruit de courgette malade. La zone du symptôme a été coupée en petits fragments, ces derniers ont été désinfectés par l'eau de Javel, ensuite rincés et séchés avant l'ensemencement dans un milieu de culture Sabouraud [73]. L'incubation est à 25°C pendant 6 jours.

### 1.2.2. Purification des souches

Avant d'entamer l'identification, les souches sont purifiées et isolées à l'aide d'une série de repiquage qui consiste à transférer aseptiquement un microorganisme dans un milieu neuf et stérile pour le maintenir en culture pure [74]. Cette opération a pour but de faciliter l'identification des champignons. Une fois que les colonies sont bien différenciées [75]. Le repiquage des champignons se fait comme suit :

Un fragment du mycélium au bord de la colonie est prélevé à l'aide d'une anse de platine stérile et déposé au centre de la nouvelle boîte de pétrie contenant le même milieu de culture. Les cultures sont incubées comme précédemment en maintenant les mêmes conditions.

### 1.2.3. Identification des colonies fongiques

**Identification macroscopique** : Pour l'observation macroscopique du champignon isolé, il est nécessaire d'enregistrer l'aspect des colonies qui représente un critère clef d'identification, la couleur des colonies est un élément aussi très important pour d'identification [74].

**Identification microscopique** : L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle. L'observation du thalle, et des spores sont nécessaires à l'identification [76].

### 1.2.4. Méthode suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HE d'*Origanum vulgare* sur le champignon *Mucor sp.*

Des boîtes de Pétri contenant du milieu de culture Sabouraud, sont perforées par deux trous dans leurs gélose, les cavités formées sont remplies par 0.1 ml d'huile essentielle de



l'espèce *Origanum vulgare*. L'ensemencement est fait par un disque mycélien coupé d'une culture de champignon *Mucor* sp. Les boîtes sont mises en incubation à température 25°C pendant 3 jours. L'action inhibitrice s'est manifestée par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'est effectuée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition [77].

Pour la méthode de diffusion par disque en papier est identique à celle de diffusion par trous, seulement les trous sont remplacés par des disques en papier de Watman N° 01. Pour la méthode du contact direct, 0.1 ml d'HE d'*Origanum vulgare* est incorporée avec le milieu de culture Sabouraud, ensuite un disque mycélien est ensemencé dans le centre de la boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à température 25°C. La lecture des résultats s'est effectuée par la mesure des zones d'inhibition [77].

**2. Expérimentation 2 :** L'étude est portée sur l'activité anti-oxydante, antimicrobienne et insecticide des HEs de deux plantes aromatiques *Origanum vulgare* L. réalisée par [25].

### 2.1. Matériel végétal

L'étude porte sur des feuilles d'*Origanum vulgare* récoltées au stade floraison en mi-juin.

L'extrait d'Origan est réalisé à partir de 100 g de feuilles préalablement séchées à l'ombre émiettées puis mises dans un ballon avec une quantité d'eau distillée, le ballon est par la suite porté à ébullition sur un chauffe ballon.

### 2.2. Extraction de l'Huile Essentielle (HE) par hydro distillation

Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat [62]. Les parties insolubles sont séparées de l'eau par décantation pour donner l'HE [78-62].

L'Huile Essentielle(HE) est extraite par l'entraînement à la vapeur pendant 3 heures (Figure 14).



**Figure 14** : Montage d'extraction de type Clevenger [25].

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la quantité d'HE récupérée et la quantité de la matière végétale sèche traitée [79]. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R = P_b / P_a \times 100$$

Sachant que :

- R : rendement de l'huile essentielle
- $P_b$  : poids de l'huile essentielle récupérée en gramme
- $P_a$  : poids de la matière végétale sèche en gramme

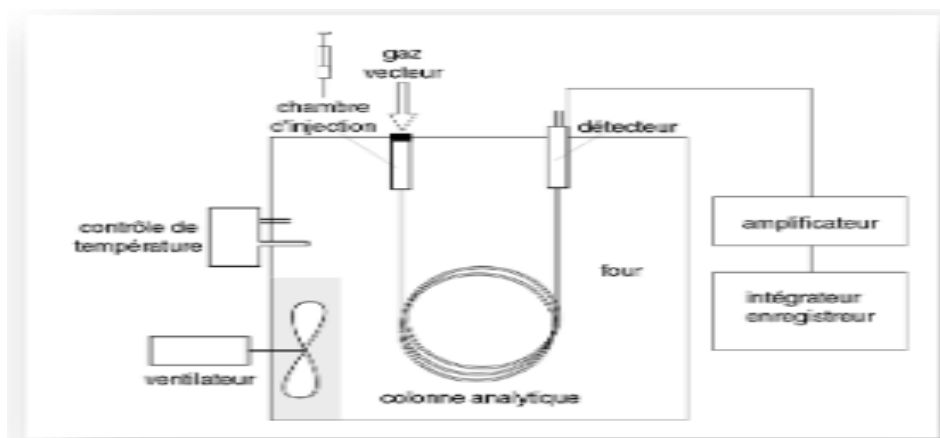
### **2.3. Analyse des constituants chimiques de l'HE par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS.**

#### **✓ La Chromatographie en phase gazeuse**

##### **• Principe**

La CPG est l'une des techniques les plus utilisées en analyse quantitative et qualitative. Elle s'est répandue de par son coût relativement modéré ou encore ses possibilités d'automatisation. Son principe est basé sur la séparation de composés gazeux selon leur affinité pour la phase stationnaire (colonne). L'appareil est un assemblage de plusieurs éléments (Figure 15) :

- le gaz vecteur ;
- le four ;
- l'injecteur ;
- la colonne ;
- le détecteur.



**Figure 15** : Les différents modules de la chromatographie en phase gazeuse [80].

#### ✓ Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS

Le couplage CPG/MS permet une approche plus précise de nombreuses applications de secteur de l'agro-alimentation et la technique de référence dans le domaine des HEs. Il permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse de différents constituants d'un mélange complexe.

L'analyse quantitative de l'HE d'*Origanum vulgare* est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett Packard Agilent 6890N, piloté par Chemstation (NIST002), d'une Colonne capillaire HP5MS, de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25  $\mu$ m d'épaisseur de film (Figure 16). La température de la colonne est programmée de 60 °C pendant 2min ; à raison de 4 °C/min jusqu'à 100 °C pendant 0min puis à raison de 6 °C/min jusqu'à 220 °C pendant 10 min. La température de l'injecteur est de 250°C.

Le chromatographe en phase gazeuse est couplé à un spectromètre de masse Agilent 5973. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1 ml/min. L'HE est injectée automatiquement à un volume de 0.5  $\mu$ l géré en mode Split 1/100. Le débit du gaz vecteur est fixé à 1 ml/min. Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Températures : interface (280°C), source (230°C), quadripôle (150°C).
- L'énergie d'ionisation est de 70 eV



**Figure 16** : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [25].

#### 2.4. Activité anti-oxydante de l'Huile essentiel

La mise en évidence de l'activité anti-oxydante in vitro de l'HE d'O vulgare est réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH

La méthode de piégeage du radical libre DPPH a d'abord été décrite par [81], et a ensuite été largement modifiée par de nombreux chercheurs [82]. Le DPPH (1,1-diphényl -2-picrylhydrazyle) ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$  ;  $M = 394,33 \text{ g/mole}$ ) est un radical libre stable, de couleur violette qui réagit avec des composés qui peuvent donner un atome d'hydrogène, mais il est sensible à la lumière, à l'oxygène, au pH et à la nature du solvant utilisé [83].

A température ambiante, le radical DPPH présent, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm [84].

L'activité anti-radicalaire exprime la capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre, elle a été estimée en pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol. L'absorbance lue est ensuite transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin [85]. Le pourcentage d'activité anti-oxydante est calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [Abs \text{ contrôle} - Abs \text{ échantillon} / Abs \text{ contrôle}] \times 100$$

*Sachant que Abs contrôle représente l'absorbance du blanc (DPPH/méthanol).*

L'IC50 (inhibitory concentration 50% ; concentration inhibitrice à 50 %) permet de calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux DPPH. Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées [86].

## **2.5. Activité antibactérienne de l'HE**

### **2.5.1. Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne (aromatogramme)**

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. L'aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disques est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HEs à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton). Le protocole de base des aromatogrammes adopté est celui proposé par [87], avec des quelques modifications.

- **Réactivation des souches bactériennes**

Pour préparer des suspensions bactériennes selon les normes du CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) les souches bactériennes sont réactivées par repiquage à partir du milieu de conservation sur milieu de culture solide, (gélose nutritive) préalablement fondu, coulé dans des boîtes de Pétri sur 4 mm d'épaisseur (les boîtes sont refroidies et séchées avant d'êtreensemencés). Après 24 h d'incubation à l'étuve (37°C), les boîtes sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes.

- **Préparation des suspensions bactériennes**

La méthode de préparation de l'inoculation est celle préconisée par la CLSI qui consiste à préparer, à partir d'une culture de 18 à 24h de la bactérie étudiée sur le milieu gélosé, une suspension en solution saline (0.9%NaCl) équivalente au standard McFarland 0.5 (10<sup>6</sup>CFU/ml). Cette suspension peut être obtenue par la mesure de la densité optique (DO) allant de 0.08 à 0.1 lue à 625nm.

- **Ensemencement**

Les souches bactériennes choisies sont ensemencées en milieux de culture gélosée Muller-Hinton dans les boîtes de Petri à une épaisseur de 4mm. Les boîtes séchées sont ensemencées à partir des suspensions bactériennes à l'aide des écouvillons stériles.

L'écouvillon est imbibé de la suspension bactérienne, essoré contre la paroi interne du tube à essai.

L'ensemencement se fait par des stries serrées, de haut en bas. L'opération est répétée deux à trois fois, en tournant la boîte 60 ° à chaque fois. L'écouvillon doit être passé sur la périphérie de la gélose.

- **Distribution des disques**

Les disques stériles de papier buvard de 6 millimètres de diamètre, sont saisis à la pince stérile et imprégnés de 10 µl d'huile essentielle. Les disques sont appliqués à la surface des milieux de cultures précédemment ensemencés. L'incubation est réalisée dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation de 24 h, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur que la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (exprimé en mm). Il est important de noter que la quantité d'HE déposée sur le disque varie selon les auteurs, excluant toute comparaison des valeurs des diamètres mesurés [88].

### **2.5.2. Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne (calcul des CMI)**

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en extrait pour laquelle, aucune croissance visible à l'œil nu n'est observée [89], elle est déterminée par la méthode de dilution en milieu solide décrite par [90], et rapportée par [91], et qui consiste à disperser l'extrait à des concentrations variables dans le milieu gélosé avant sa solidification. Donc une gamme de concentration de l'HE diluée dans le DMSO est préparée, chaque dilution d'HE (500µl) est incorporée à 19,5ml de MH maintenu en surfusion. Aussitôt, le mélange est réparti dans des boîtes de Pétri.

Après solidification du milieu, l'ensemencement est exécuté par des spots à l'aide d'une pipette Pasteur. L'ensemble est incubé pendant 24h à 37°C avec un témoin de croissance.

### **2.6. Activité insecticide de l'HE**

Le test de l'activité insecticide de l'HE d'origan, est réalisé sur un insecte la Pyrale de la farine *Ephesiakuehniella*. C'est une mite des denrées stockées, les larves de cette pyrale s'attaquent essentiellement à la farine ou à la semoule, aux grains de céréale (blé, maïs et riz), et plus surtout aux fruits desséchés (raisins, figues, abricots) [92].

Le test de l'activité insecticide de l'HE est basé sur un test de répulsivité qui consiste à étudier l'effet répulsif de l'HE d'origan, sur *Ephestiakuehniella*. Pour réaliser ce test le protocole suivant est adopté :

- Découpage de deux parties égales d'un papier consone avec une longueur équivalente à la longueur de la boîte.
- Pulvériser une partie du papier avec la dose d'HE choisie (500 µl) et garder l'autre partie du papier sans traitement.
- Après évaporation du solvant, les deux parties du papier sont rassemblées par un ruban adhésif.
- 10 larves et adultes du même âge (dès leur exuviation) seront déposés au milieu de la boîte
- Au bout d'une demi-heure, dénombre les insectes retrouvés sont dénombrés sur chaque côté du papier.

Le pourcentage de répulsion (PR) est calculé comme suit :

$$PR = [(NC-NT) / (NC+NT)] * 100$$

NC : le nombre d'insectes présents sur la partie du papier non traitée

NT : le nombre d'insectes présents sur la partie du papier traitée avec une dose d'HE brute.

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque dose est calculé et l'huile sera attribuée à l'une des différentes classes répulsives selon le classement de [93]. (Tableau 3).

**Tableau III.** Pourcentage de répulsion selon [93].

Classe	Intervalle de répulsion	Propriété de la substance testée
0	PR<0,1%	Non répulsive
1	10-20 %	Très faiblement répulsive
2	20-40 %	Faiblement répulsive
3	40-60 %	Modérément répulsive
4	60-80 %	Répulsive
5	80-100%	Très répulsive

# **CHAPITRE III**

## **RESULTATS ET DISCUSSION**



Au terme de cette étude d'investigation théorique, différents résultats apparaissent à travers les deux expérimentations relatives à l'évaluation des propriétés chimiques des huiles essentielles de l'*Origanum vulgare* et de ses activités antifongiques.

Les résultats de la première expérimentation réalisée par [25] montrent que le rendement d'extraction de l'HE de l'*Origanum vulgare* sur la matière végétale fraîche est de 0.23 %. Résultat confirmé par Iteipmai [94] qui stipule que le rendement d'HE est en moyenne entre 0,07 et 0,3 % chez la partie aérienne fraîche et de 0,5 à 5,0% sur la partie aérienne sèche des feuilles d'Origan. [95] le rendement moyen est plus élevé, il est de l'ordre de 2,7% ±0,06. Cette différence est due à diverses conditions telles que les facteurs écologiques, climatiques, l'origine géographique, le génotype, et d'autres facteurs [96- 97- 98].

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle montrent qu'elle est de couleur jaune très claire avec un aspect limpide et une odeur aromatique.

L'analyse chromatographique par CPG/SM de l'HE d'*Origanum vulgare*, présentée par un chromatogramme (Annexe 01), a permis d'identifier une large gamme de composés chimiques. Après traitement de données, les principaux composants dits majoritaires sont : □-Terpinene nommée aussi 1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-(1-methyl)-(46.85%), o-Cymene(11.57%), (+)-4-carene (6.91 %) et .beta.-Myrcene (4.42 %) (Tableau 4).

**Tableau IV.** Les composés chimiques majoritaires de l'HE d'*Origanum vulgare* et leurs Pourcentages. [71]

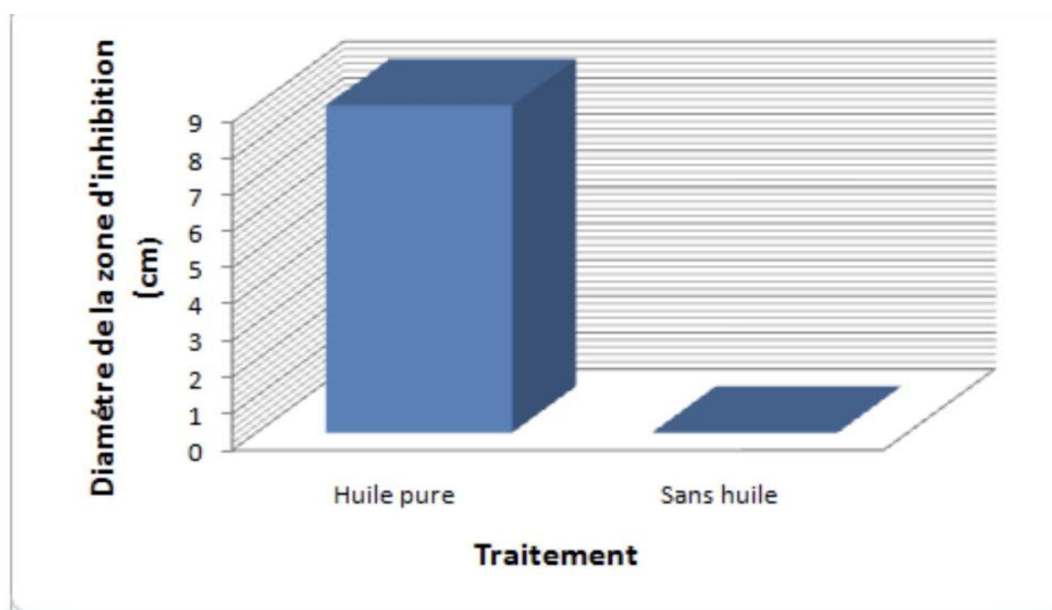
Peak	R.t	Name	area%
12	9.606	<u>γ-Terpinene</u> nommée aussi : 1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-(1-methyl)-	46.85
13	8.787	<u>o-Cymene</u>	11.57
9	7.723	<u>(+)-4-carene</u>	6.91
7	6.882	<u>.beta.-Myrcene</u>	4.42
36	24.855	<u>Carvophyllene</u>	3.46
39	27.751	<u>Phenol,2-methyl-5-(1-methylethyl)-</u>	3.11
1	4.575	<u>Origanene</u>	2.83
41	29.685	<u>Cyclohexane,1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-,(S)-</u>	2.82
18	13.957	<u>1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-</u>	1.72
2	4.694	<u>1R-alpha.pinene</u>	1.29
37	27.308	<u>Thymol</u>	1.22

R.t: Retention time (as minutes)

Selon [18] l'analyse CPG/SM a fait ressortir 43 composés, dont les principaux constituants de l'huile sont le para-cymène (25.615%), le thymol (23.129 %), le Carvacrol (20.321%), le Gamma-terpinène (16.612%) et l'alpha-terpinène (1.787%). Alors que [99] ont rapporté une composition différente pour cette huile essentielle qui présente 33.85% de Carvacrol, 23.64% de thymol, 20.85% de para-cymène et 12.03% de  $\alpha$ -terpinène.

Les résultats de la CPG/MS ont montré que l'HE contient plusieurs composés des alcools, des lactones et ses qui terpéniques ; ce qui conduit à penser que le principe actif serait probablement un ou plusieurs constituants qui sont contenus dans cette huile essentielle.

Les résultats obtenus sur le test d'activité antifongique de l'HE de l'*Origanum vulgare* sur le champignon *Mucor* sp, ont montrés une forte inhibition de la croissance radiale du champignon (100%), diamètre d'inhibition 9 cm (Figure 17). [99] les huiles essentielles dont le thymol et  $\alpha$ -Terpinene constituant un des composants majoritaires, sont efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne, la production des spores et la réduction des mycotoxines.



**Figure 17** : La mesure des zones d'inhibition de l'activité antifongique [71]

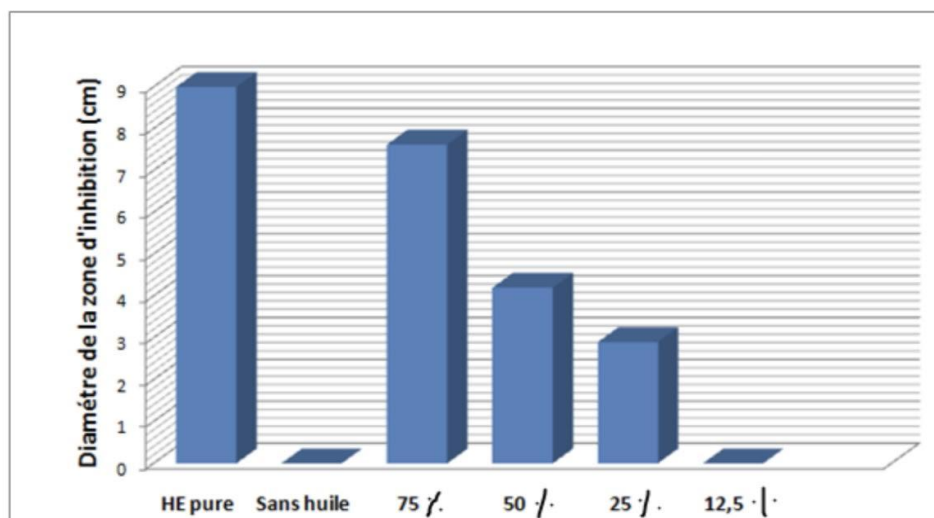
De nombreuses études ont démontré que le pouvoir antifongique exprimé par l'huile essentielle peut être associé à son composant majoritaire [100].

Des études fondamentales ont montré que les aldéhydes et les cétones mono-terpéniques (le thymol, linalool, l'eucalyptol, Camphre, carvacrol) ont une activité antifongique et

antibactérienne [101]. Ce qui conduit à penser que l'huile essentielle HE de l'*Origanum vulgare* a une activité antifongique parce qu'elle comprend le thymol, le  $\alpha$ -Terpinene, le o-Cymene et (+)-4-carene.

Le mécanisme d'action des huiles essentielles à l'égard des micro-organismes est complexe, il est admis que l'action antimicrobienne des HEs dépend de leur nature hydrophile ou lipophile [69]. Les HEs ont la capacité de pénétrer et perturber la paroi cellulaire fongique, perméabilise les membranes cytoplasmiques et enfin endommager les membranes mitochondriales [102 - 103].

Selon les résultats du test de dilutions d'HE, l'inhibition de la croissance mycélienne radiale du *Mucor* sp. accroît avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* (Figure 18) :  $7,625 \pm 0,75$  cm pour 75% ;  $4,2 \pm 0,85$  cm pour 50% ;  $2,9 \pm 0,53$  cm pour 25% ;  $0 \pm 0$  cm pour 12,5. Il y a des différences significatives entre les moyennes de diamètre de différentes concentrations dans les probabilités inférieure à 95 et 99%. La concentration minimale d'inhibition (CMI) est révélée avec la dilution 25%.



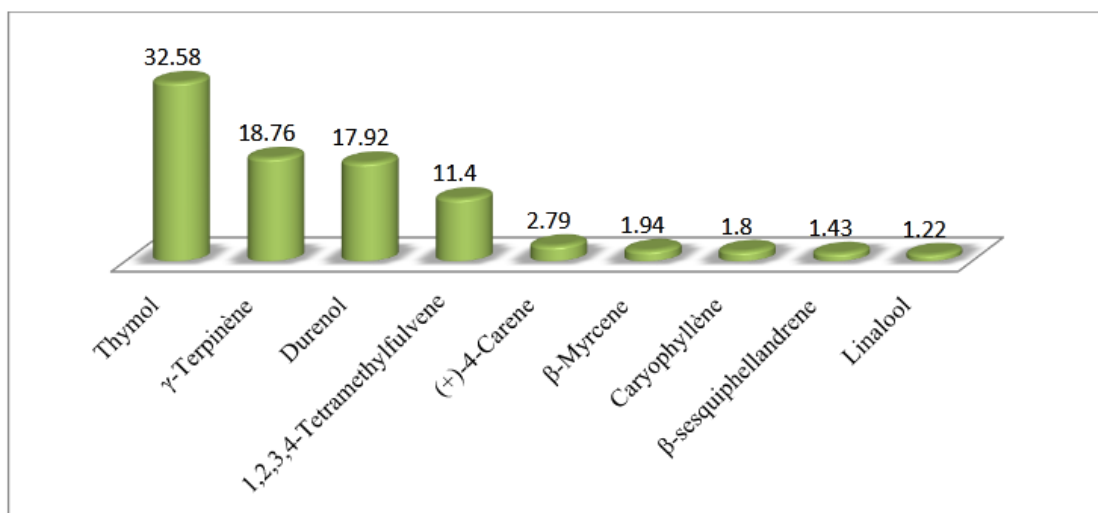
**Figure 18 :** Les mesures des Zones d'inhibition du champignon *Mucor* sp. sous l'effet des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* [71]

L'augmentation du contenu en carvacrol et thymol de l'huile essentielle permet ainsi d'augmenter le potentiel antifongique de l'huile essentielle [104].

Les résultats de la seconde expérimentation réalisée par [25] montrent que l'HE obtenue par hydro-distillation est de couleur jaune, avec une saveur fortement piquante et une forte odeur tymolée caractéristique des plantes aromatiques.

L'*Origanum vulgare* enregistre un rendement relativement moyen de (1,15%) égal à celui du Maroc [105] et plus élevé que celui de Tunisie qui révèle les plus faibles rendements (0,1-0,7%) [106]. Le rendement le plus élevé a été obtenu par [18] qui a travaillé sur la même sous espèce (*Origanum vulgare glandulosum*) avec une valeur de 2,52%. La différence existante entre les rendements d'extraction obtenus est probablement liée au temps de l'hydro-distillation, la durée de séchage ; le rapport Eau/Matière végétale ou la température de chauffage [107] Elle peut être liée, également aux facteurs climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), facteurs géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétiques (croisements naturels) [108]

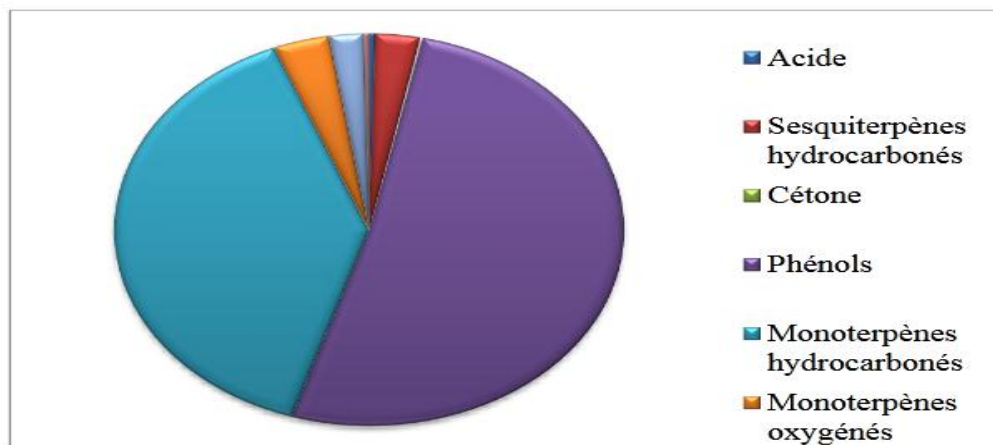
L'analyse des constituants chimiques de l'HE d'*Origanum vulgare* par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse a révélé que cinquante-huit (58) constituants volatils sont identifiés dans cette HE, représentant 98,8% de la composition totale. Le composant le plus abondant étant le Thymol (32,58%) reporté sur la figure 15. D'autres composants sont également identifiés tel que :  $\square$ -Terpinène (18,76%), Durenol (17,92 %), 1,2,3,4-Tetramethylfulvene (11,40%), (+)-4-Carene (2,79%),  $\square$ -Myrcene (1,94%), Caryophyllène (1,80%),  $\square$ -Sesquiphellandre (1,43%) et Linalool (1,22%).



**Figure 19** : Principaux composés (en %) de l'HE d'*Origanum vulgare* [25]

Selon [25] les composants chimiques de l'HE de l'espèce *Origanum vulgare* se répartissent sur sept classes biochimiques fondamentales. Les phénols (50, 91%), les mono-terpènes hydrocarbonés (38,54%), les mono-terpènes oxygénés (3, 51%), les sesquiterpènes

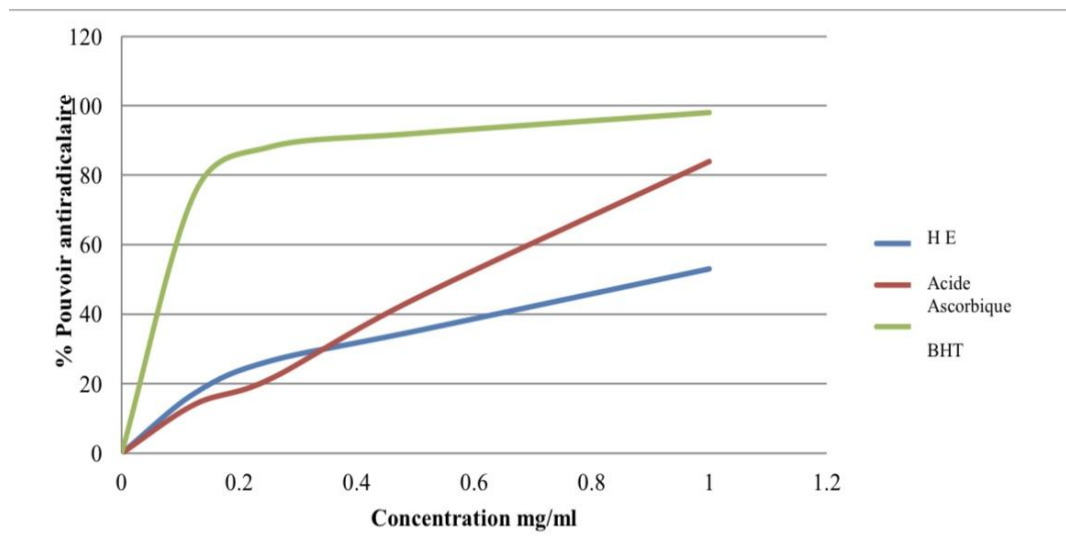
hydrocarbonés (2,82%), les sesquiterpènes oxygénés (2,16%), les acides (0,36 %) et les cétones (0,17%) (Figure 20).



**Figure 20** : Répartition des principales familles de composés de l'HE d'*Origanum vulgare* [25]

Les phénols constituent la classe chimique majeure (Figure 16). Il s'agit du thymol (32,58%), constituant majoritaire, le durenol (17,92%), p-thymol, 3-tert-butylphenol, 2,5-diethylphenol, 3,5-di-t-butylcatechol et le biosol minoritaire (0,04%).

L'activité anti-oxydante de l'HE d'*Origanum vulgare* évaluée par le test de piégeage du radical DPPH a donné des valeurs qui a permis de tracer des courbes du pourcentage d'activité anti-radicalaire pour l'HE d'*Origanum vulgare* l'acide ascorbique et le BHT. D'après les résultats représentés dans la figure 21, il semble que l'activité anti-radicalaire est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. La cinétique du pourcentage d'activité anti radicalaire a permis de déterminer l'IC50, qui correspond à la concentration d'HE, d'acide ascorbique ou du BHT nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notons que plus l'IC50 est faible plus l'activité anti-oxydante du composé est importante. Les résultats sont exprimés sous la forme de valeurs d'IC50 (Figure 21).



**Figure 21** : Activité anti-radicalaire de l'HE d'*Origanum vulgare*, d'acide ascorbique et du BHT (Chaque valeur représente la moyenne de trois essais) [25]

L'activité anti-radicalaire de l'HE ( $1.28 \pm 0.07$  mg/ml) est inférieure à celle du BHT ( $0.17 \pm 0.02$  mg/ml) et de l'acide ascorbique ( $0.361 \pm 0.040$  mg/ml). Ce résultat témoigne d'une capacité réductrice modeste comparée à celle de la littérature. Une étude menée par [35] sur différentes populations d'origan de différentes zones algériennes (Sétif, Bejaia, Biskra, M'sila et Bordj Bou Arreridj) a révélé la bonne capacité anti-radicalaire des HEs qui ont donné des IC50 variant de 16.2 à 26.7  $\mu$ g/ml. Le travail publié par [109] montre que l'HE d'origan de deux régions tunisiennes possède une bonne activité anti-oxydante avec des IC50 de 105.29 mg/L et 142.86 mg/L. Cependant une autre étude faite aussi sur l'HE de la même espèce poussant en Tunisie a enregistré un IC50 de 625  $\mu$ g/ml [110]. L'HE extraite d'*Origanum vulgare* L. du Maroc a montré une forte activité anti-radicalaire (IC50  $60.1 \pm 3.3$  mg/L) avec la méthode de DPPH [111]. Il est établi dans plusieurs études que l'activité d'une HE est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants [112-113-69]. Ainsi les travaux de [114] ont démontré une grande activité anti-oxydante des HEs contenant des mono-terpènes et / ou des sesquiterpènes oxygénés. [115] ont prouvé qu'une corrélation existe entre l'activité anti-oxydante d'une HE et la teneur en mono-terpènes oxygénés. En contradiction avec les travaux de [116] où ils ont démontré que les huiles avec une prédominance mono-terpénique ont une activité assez modeste.

L'activité antibactérienne de l'HE est évaluée sur des souches bactériennes à Gram négatif et Gram positifs en déterminant les diamètres des zones d'inhibition et la détermination des CMI. Selon l'échelle d'interprétation de [87] une souche bactérienne est considérée comme résistante (-) à un extrait végétal si son diamètre d'inhibition est égal à 6 mm ou inférieur à 8 mm. Elle serait de sensibilité limitée (+) si son diamètre d'inhibition est compris entre 8 et 14 mm, de sensibilité moyenne (++) si son diamètre d'inhibition est compris entre 14 mm et 20 mm et enfin très sensible (+++) si son diamètre d'inhibition est supérieur à 20 mm. Selon l'échelle de classification de [117], un extrait posséderait une forte inhibition si sa CMI est inférieure à 0,5 mg/ml, elle serait modérée si elle est comprise entre 0,6 et 1,5 mg/ml et enfin faible si elle est supérieure à 1,6 mg/ml

L'HE d'*Origanum vulgare* a montré une excellente activité sur la majorité des souches bactériennes à Gram négatif testées avec des diamètres des zones d'inhibitions allant de 20,6 à 32,6 mm pour *E.coli*, 24- 26,7 mm pour les Salmonelles, 23.5-31,2 mm pour les Citrobacter et enfin 37,7 mm pour *Shigella*. Les valeurs des CMI moyennes des souches d'*E.coli* se situent dans un large intervalle de 0,314 à 5,025 mg/ml. Par ailleurs, les espèces du genre Citrobacter, *Salmonella* et *Shigella* sont sensibles à l'huile essentielle testée avec des CMI moyennes comprises entre 0,68 et 1,25 mg/ml. Les souches de *Klebsiella terrigena*, se montraient sensibles vis-à-vis de l'HE d'*Origanum vulgare* avec une CMI moyenne de 0,628 mg/ml par ailleurs, les souches de *Klebsiella sp*, *Enterobacter intermedius*, *Serratia marcescens* et *Hafnia alvei* se sont montrées peu sensibles vis-à-vis de l'HE avec une CMI beaucoup plus élevée (1,25 mg/ml) [25].

Selon [28] le pouvoir antimicrobien de l'HE d'*Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* de la région de Tlemcen est riche en Thymol (51,3 %), sur plusieurs souches notamment *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Citobacter frundii*, *Enterobacter cloacae* et *Salmonella thyphi*.

Les bactéries à Gram positifs sont totalement sensibles à l'HE d'*Origanum vulgare* *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sphaericus* avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 9.8 mm à 31.9 mm respectivement [25].

[118] rapportent que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'effet des HEs que les bactéries à Gram négatif. La membrane externe des bactéries à Gram négatif est une membrane très riche en lipo-polysaccharides et est hydrophile (impermeable), ce qui empêche

les terpènes hydrophobes d'y adhérer [119] Les HEs riches en composés phénoliques, sont largement rapportés à posséder des niveaux élevés d'activité antimicrobienne [117-120-121]

L'évaluation de l'activité insecticide de l'HE d'*Origanum vulgare* sur un insecte ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* a révélé que L'HE perturbe la reproduction des insectes en prolongeant leur développement nymphal et la période de pré-oviposition et en réduisant la période d'oviposition et la fécondité des femelles [25].

L'HE a montré un effet significatif sur la longévité des adultes d'*Ephestia kuehniella* et un effet répulsif sur les larves et les adultes d'*Ephestia kuehniella*

Les effets toxiques et répulsifs de cette HE pourraient dépendre de sa composition chimique et du niveau de sensibilité des insectes [122]. L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* montre la présence des composants connus pour leurs propriétés insecticides, c'est le cas de thymol, p-cymène,  $\alpha$ -Terpinène,  $\alpha$ -pinène, linalol et carvacrol.

Plusieurs travaux ont démontré la toxicité du thymol sur plusieurs insectes. Ce composant phénolique est toxique pour Varroa à tous les stades de son développement : les œufs, les larves les nymphes et les adultes [123]. [124]. ont aussi noté une toxicité chez l'anophèle : que ce soit au stade œuf, larve ou adulte. Le thymol exerce une action sur la contraction musculaire, ce qui a conduit à une baisse de fréquence des battements d'ailes (effets sublétaux) chez *Phaenicia sericata* adulte [125]. L'activité insecticide du thymol a été aussi étudiée sur les abeilles. Une mortalité des jeunes larves est observée avec dans le même temps un changement de comportement des adultes [126-127]. L'activité insecticide de plusieurs composants des HEs a été testée. Selon les travaux de [128]. et aussi d' [129]. le  $\alpha$ -terpinéol, le cinéole, le limonène et l'  $\alpha$ -pinène possèdent un effet toxique sur le charançon brun de la farine *Tribolium confusum*.

Cependant, il serait difficile de penser que l'activité insecticide de cette huile se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires ; elle pourrait aussi être due à certains constituants minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants.



# CONCLUSION

## CONCLUSION

Les plantes médicinales sont plus utilisées depuis longtemps puisqu'elles contiennent des composants chimiques possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture

Cette étude d'investigation théorique est consacrée d'une part à analyser des huiles essentielles d'Origan *Origanum vulgare* L. par chromatographie en phase gazeuse et d'autre part à estimer les activités anti-oxydantes, antimicrobiennes, antifongiques et insecticides de ses huiles essentielles.

Lors de la première étude l'analyse de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/SMa fait ressortir 43 composés chimiques, dont les principaux constituants de l'huile sont le paracymène, le thymol, le Carvacrol, le Gamma-terpinène et l'alpha-terpinène. Egalement le test d'activité antifongique de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* sur le champignon *Mucor* sp, a décelé une forte inhibition de la croissance radiale du champignon (100%). Il semblerait que les huiles essentielles dont le thymol et  $\alpha$ -Terpinene composants majoritaires, sont efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne, la production des spores et la réduction des mycotoxines.

La seconde étude a démontré que l'analyse des constituants chimiques de l'HE d'*Origanum vulgare* par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse a révélé que cinquante-huit (58) constituants volatils identifiés dans cette HE, représentant 98,8% de la composition totale. Le composant le plus abondant étant le Thymol.

Les résultats de l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* L. évaluée par le test de piégeage du radical DPPH est inférieure à celle du BHT et de l'acide ascorbique. Ce résultat témoigne d'une capacité réductrice modeste comparée à celle de la littérature. Cependant l'activité antibactérienne de cette HE est très efficiente sur la majorité des souches bactériennes. L'HE d'*Origanum vulgare* a montré une excellente activité sur la majorité des souches bactériennes à Gram négatif testées avec des diamètres des zones d'inhibitions observés pour *E.coli*, les Salmonelles, les Citrobacter et enfin pour *Shigella*. Les souches d'*E.coli* sont peu sensibles à l'huile essentielle testée avec des CMI. Par ailleurs, les espèces du genre *Citrobacter*, *Selmonella* et *Shigella* sont sensibles à l'huile essentielle testée avec des CMI

## CONCLUSION

---

Les bactéries à Gram positifs *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sphaericus* sont totalement sensibles à l'HE d'*Origanum vulgare*. Ainsi il semblerait que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'effet des HEs que les bactéries à Gram négatif. La membrane externe des bactéries à Gram négatif est une membrane très riche en lipo-polysaccharides et est hydrophile (imperméable), ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer.

L'évaluation de l'activité insecticide de l'HE d'*Origanum vulgare* sur un insecte ravageur *Ephestia kuehniella* a révélé que L'HE perturbe la reproduction des insectes en prolongeant leur développement nymphal ainsi que la période de pré-oviposition en réduisant la période d'oviposition et la fécondité des femelles.

# Références bibliographique

## Références bibliographique

- [1]-**Hazzit M., Benchabane A., Baaliouamer A., Alloun K., Kaci M. (2015)**. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles essentielles de la rue des montagnes (*Rutamontana*L.) *Recherche agronomique*, **27** :118-129.
- [2]-**Cowan M.M. (1999)**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*,**12** (4): 564–582.
- [3]-**Pline L'ancien (1951)**. Histoire naturelle. Vol. 20, 183 p.,
- [4]-**Guerin F. E. (1835)**. Dictionnaire pittoresque d'histoire naturelle et des phénomènes de la nature. Tome 2, 639 p, Paris, imprimerie de COSSON.
- [5]-**Sens-Olive J. (1979)**: Les huiles essentielles - généralités et définitions, dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, 141-142.
- [6]-**Boullard B. (2001)**. Plantes médicinales du monde - croyances et réalités-, Paris, Ed. ESTEM, 660 p.
- [7]-**Lemhadri A. &Zeggwagh N.(2004)**.Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region.*J.Ethnopharmacol*,**92**: 251-256.
- [8]-**Quezel P.& Santa S. (1963)**. Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (Ed.), Paris. Tome 2.
- [9]-**Ietswaart, J.H.A. (1980)**.Taxonomic Revision of the genus *Origanum* (Labiatae), Leiden Botanical Series, Vol 4, Leiden University Press, The Hague, Netherlands.
- [10]-**Dauzat A., Dubois J.&EtmittérandH.(1971)**. Nouveau dictionnaire étymologique et historique. N° 442.03 DAUn. Librairie Larousse, France. 805 p.
- [11]-**Dubois J., Mitterrand H.&Dauzat A. (2006)**. *Dictionnaire étymologique et historique du français*, Éditions Larousse.
- [12]-**Hans W. K. (2007)**. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. 223- 336 p.
- [13]-**Deysson, G. (1965)**. Eléments d'anatomie des plantes vasculaires. Société d'Édition d'Enseignement Supérieur (SEDES), Paris, 266p.
- [14]-**Djahra A. B.(2014)**-Etude phytochimique et activité antimicrobienne ,anti-oxydante ,anti-hépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L., thèse doctorat.Université Badji Mokhtar - Annaba.
- [15]-**Nieto G.(2017)**. Biological activities of three essential oils of the lamiaceae family., *medicines*, **4**: 63-210.
- [16]-**Moyse, H. (1971)**. Matière médicale, Tome III, Ed. Masson et Cie, pp. 255-256.

- [17]-**Chadefaud M. &Emberger L. (1960)**. Traité de botanique systématique, Les végétaux vasculaires, Tome II, Ed. Masson et Cie pp. 832-833.
- [18]-**Bouhaddouda N.(2016)**. Activités anti-oxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Menthapulegium*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar –Annaba, 205p.
- [19]-**Kintzios S.E. (2002)**.Profile of the multifaceted prince of the herbs. In: Kintzios S.E. Oregano – The Genera *Origanum* and *Lippia*. Ed. Taylor & Francis, London.: 3–8.
- [20]-**Spada P. &Perrino P.(1996)**. Conservation of Oregano species in national and international collections: an assessment. In: Oregano: proceedings of the IPGRI International workshop on Oregano, 8–12 May. Valenzano, Italy. pp: 14–23.
- [21]-**Arvy M.P. &Gallouin F.(2003)**. Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. 412 p.
- Association Française de Normalisation, 1986. “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris. NF T 75-006.
- [22]-**Baba Aissa F.(1991)**. Les plantes médicinales d’Algérie: identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. Ed. Bouchène et Ad. Diwan, Alger, 121p.
- [23]-**Figueredo G. (2007)**. Etude chimique et statistique de la composition d’huiles essentielles d’origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d’origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France.
- [24]-**Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D.M. &Ruberto, G. (1998)**. Chemical composition, antimicrobial and anti-oxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils.*J. Essent. OilRes.*,**10** : 618-627.
- [25]-**NORA MAHFOUF .(2018)** . Étude de l’espèce *Origanum vulgare L.* thèse doctorat . éco-toxicologie . environnement et sante . tarif :62 – 102 p
- [26]-**Daoudi-Merbah F. &Dahmani-Megrerouche M. (2013)**. Contribution à la caractérisation de la niche écologique d’espèce menacée : Elément pour sa conservation et sa valorisation. USTHB-FBS-4th International Congress of the Populations & Animal Communities “Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems”"CIPCA4"TAGHIT (Bechar) – ALGERIA.
- [27]-**Bouchikhi T.(2011)**-Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelidesobtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineolabisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles., thèse doctorat .,Université Aboubakr Belkaïd – Tlemcen

- [28]-**Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Abdelouahid D. (2008)**-composition et Activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'algerie .,Springer.6 : 153–159 .
- [29]-**Goetz P.(2012)** .*Origanum vulgare L. (Lamiaceae) :Origan commun* .,Phytothérapie anti-infectieuse .,Springer-Verlag France, Paris, 328p .,
- [30]-**Aroui H. &Hallil T.(2017)**.Inhibition de la dénaturation de la sérum albumine bovine essentielles d'Inule visqueuse d'origan et de verveine, Mémoire de master. Université A.MIRA de Bejaia.
- [31]-**Erdogan O.I.&Belhattab R.(2010)**.Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of Artemisia absinthium, A. herba-alba, A. fragrans, Marrubium vulgare, M. astranicum, Origanum vulgare subsp. glandulosum and essential oil analysis of two Artemisia species.*Ind. Crop.Prod* , **32**: 566–71.
- [32]-**Ocaña-Fuentes A.,Arranz-Gutiérrez E., Señorans F.J. &Reglero G. (2010)**. Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essentials oils: Anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food Chem. Toxicol*, **48**: 1568–1575.
- [33]-**Oka Y., Nacar S., Putievsky E.,Ravid U., Yaniv Z. & Spiegel Y. (2000)**. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode . *Phytopathology* ;**90**:710–715.
- [34]-**cardinas.(2017)**
- [35]-**SARI, M. (1999)**. Etude ethnobotanique et pharmacopée traditionnelle dans le Tell Sétifien (Algérie). *Mémoire de Magister, Université Ferhat ABBAS de Sétif*. 90 p.
- [36]-**Chiej R, (1984)**.Macdonald encyclopedia of medicinal plants .Ed. Macdonald, London, 212-217.
- [37]-**Labre, P. (2012)**. Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval – Tome 2., éd. Femenv et Thônes, 352 p.
- [38]-**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D &Idaomar M. (2008)**.Biological effects of essential oils-a review.*Food and chemical toxicology*.**46(2)**: 446-475 .
- [39]-**Jouault S. (2012)**. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité .Thèse doctorat ., Université de Lorraine .
- [40]-**Zensani L.(2014)**. Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne .Thèse doctorat ,Université Mohammed V – Agdal .
- [41]- **Guignard J. L. (2000)**. «Biochimie végétale». Masson. Paris. 166p

- [42]-**Couic-marinier F & Lobstein A. (2013)**. Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, **52(525)** : 22-25 .
- [43]-**Teisseire P.J. (1991)**. Chimie des substances odorantes , Technique et documentation-Lavoisier ,Paris, France. 480 p.
- [44]-**National Institute Of Standards And Technology (NIST), (1996)**. PC version 1.5a of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, *Perkin Elmer Corporation*.598 p .
- [45]- (**NIST, 2001 et NCBI, 2008**)
- [46]-**Human, D.,&Aging L. (2002)**. A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Sci. Aging Knowl . Environ* , 37-39.
- [47]-**Aruoma, IO. (1998)**. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease.*J. Am. Oil. Chem. Soc.* **75**: 199–212.
- [48]-**Salvi S., Tuberosa R., Chiapparino E., Maccaferri M., Veillet S., Van Beuningen L., Isaac P., Edwards K.&Phillips R.L. (2002)**. Toward positional cloning of *Vgt1*, a QTL controlling the transition from the vegetative to the reproductive phase in maize. *Plant Molecular Biology*,**48**: 601–61.
- [49]-**Turner T.T. &Lysiak J.J. (2008)**. Oxidative Stress: A Common Factor in Testicular Dysfunction. *Journal of Andrology* ,**29**: 488-98.
- [50]-**Boyd B., Ford, C., Koepke Michael C., Gary, K., Horn E., Mcanalley S. &Mcanalley B., (2003)**. Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambiotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *Glyco Science and Nutrition*. **4 (6)** : 7-12.
- [51]-**Vansant, G. (2004)**. Radicaux libres et antioxydants - principes de base. *Symposium - Antioxydants et alimentation-*. Institut. Danone. 85 p.
- [52]-**Donald S.M., Pregler P.D., Autolovich M. &Robards K. (2001)**: *Food Chemistry***70**: 70-73.
- [53]-**Capecka E., Mareczek A. &Leja M. (2005)**: Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry*, **93**: 223-226.
- [54]-**KulisicT., Radonic A., Katalinic V. & Milos V. (2004)**: Use of different methods for testing anti-oxidative activity of oregano. *Essential Oil Food Chemistry*, **85**: 633-640.
- [55]-**Molyneux P., (2004)**: The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxydant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, **26 (2)**: 211-219.
- [56]-**Politeo O., Jukic M. And Milos M., (2006)**.Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants.*Croatica Chemica Acta*, **79 (4)**: 545-552.
- [57]-**Laibi .&BarkatM .(2011)** . Composition chimique et activité anti-oxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Agriculture*, **2** : 89-101 .



- [58]-**Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J. & Nychas G.J.E. (2001)**. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. **91**: 453-462.
- [59]-**Calsamiglia, S. Busquet, M. Cardozo, P. W. Castillejos, L. & Ferret. A. (2007)**. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, **90 (6)**: 2580–2595.
- [60]-**Saimi A. (2014)**. Contribution à l'évaluation de la sensibilité d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires aux quinolones et au extrait d'*Origanum glandulosum* et *cynoglossum cheirifolium*. Mémoire de magister .Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen.
- [61]-**OUIS N. (2015)**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre , de fenouil et de persil ., Thèse de Doctorat, Université Oran1.
- [62]-**Belaiche P. (1979)**. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine Tome 1 pp 123p.
- [63]-**Capon M., Courilleau-Haverlant V. & Valette C. (1990)**. Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques, Nantes. 204 p.
- [64]-**Isman, M.B. (2005)**. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.*, **51** : 45-66.
- [65]-**Gakuru S. & Foua-Bi K., (1996)**. Effet d'extraits de plantes sur la bruche du niébé *Coltosobructius maculatus* Fab. et le charançon du riz *Sitophilus oryzae* L. *Cahiers Agriculture*; **5(1)** : 39-42.
- [66]-**Keane, S. & Ryan, M.F. (1999)**. Purification , characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth *Galleria mellonella* (L.). *Insect biochemistry and molecular biology*, **129(12)**: 10-22
- [67]-**Sékou Moussa K., Sidibe L., Figueredo G. & Chalchat J.C. (2001)**. Chemical composition of the essential oil of *Xylopiiaethiopica* (Dunal) A. Ch. From Mali. *Journal of Essential Oil Research*, **15 (4)**: 10-21.
- [68]-**Rapp R. P. (2004)**. Changing strategies for the management of invasive fungal infections. *Pharmacotherapy*. **24**. 4S-28S P
- [69]-**Kalemba D et Kunicka A. (2003)**. Antibacterial and antifungal properties of essential oils . *Current Medicinal Chemistry* . **10 (10)** . 813-829 p .
- [70]-**Dung N T., Kim J M., Kang S C., (2008)**. Chemical composition. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, **46(12)**. 3632-3639p

- [71]-**BENCHARIF A. (2018)** .Analyse chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de l'espèce *Origanum vulgare* . thème master . science agronomique .jijel . 22 – 35 p
- [72]-**Bouchonnet S. (2009)**. La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie• en phase gazeuse. Tec & Doc. 194p
- [73]-**Davet P et Rouxel F. (1997)**. Detection et isolement des champignons du sol. INRA Edition. 23-132p
- [74]-**Botton b., breton a., fevre m ., ganthier s., gux ph., larpent• j.p., reymond p., sanglier j.j., vayssier y. et veau p., (1990)** . Moisissure utiles et nuisibles importances industrielles.2 Ed.3 Ed. Milan Barcelone mexico. Paris. 120p
- [75]-**Bourgeois, C. M., et Leveau, J. Y. (1980)**. Le contrôle micro biologique. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, 3. 3 p
- [76]-**Chabasse D.(2002)**. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale. 25-27 P
- [77]-**Ela M A., El-Shaer N S et Ghanem N B. (1996)**. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixedolls. Pharmazie; 51. 993- 995 p
- [78]-**Garnero, J. (1991)**. Phytothérapie-aromathérapie.1991. Encycl. Méd. Nat 1991, p : 20
- [79]-**Akrout, A., Chemli, R., Chreif, I., Hammami, M. (2001)**. Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris L.* Flavour and Fragrance Journal 16: 337-339.
- [80]-**FERNANDEZ & CHEMAT ,( 2012 )** *vulgare L.*, and *O.vulgare ssp.Hitus (Link)* Ietswaart. Chromatographia. 57 (12), 95-98.
- [81]- **Blois, M.S. (1958)**. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181: 1199- 1200.
- [82]-**Pereira, N X., Souza, F., Alneida, J.R.G. et al. (2012)**. Biological Oxidations and Antioxidant Activity of Natural Products. Chapter1. In “phytochemicals as Nutraceuticals Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health”. 1ère edition Venketeshwer Rao. Pp 1-20
- [83]-**Scherver, R., Godoy, H.T. (2009)**. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picryl hydrazyl method. Food Chemistry 112: 654-658.
- [84]-**Moon, J. K. and Shibamoto, T. (2009)**. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. Journal of Agricultural Food Chemistry. 57: 1655–1666.

- [85]-**Connan, S. (2004)**. Etude de la diversité spécifique des macroalgues de la pointe de Bretagne et analyse des composés phénoliques des Phéophycées dominantes. Thèse de Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale, Spécialité Océanologie Biologique, Brest.
- [86]-**Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K. (2014)**. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie* .Springer-Verlag .France 2014. DOI 10.1007/s10298-014-0834-x
- [87]-**Duraffourd, C., D'Hervicourt, L., Lapraz, JC. (1990)**. Cahier de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique. *Eléments Thérapeutiques Synergiques*. 2ème édition, Ed., Masson (Paris), 87 p.
- [88]-**Pibiri, M.C. (2006)**. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, p.161.
- [89]-**Skandamis, P.N. and Nychas, G.J.E. (2001)**. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Applied Microbiol.* 91: 1011-1022.
- [90]-**Benjlali, B., Tantaoui-Elarki, A., Ismaili-Alaoui, M. (1986)**. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélose. *Plant MédPhytothér.* 20: 155-167.
- [91]-**Billerbeck, VG., Roques, C., Vanière, P., Marquier, P. (2002)**. Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes X* . 3:248-251.
- [92]-**Doumandji-Mitiche, B. (1997)**. Etude d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. *Am El Hrrache* .p.15.
- [93]-**Mc Donald, L.L., Gyr, H. and Speire, R.D. (1970)**. Preliminary evaluation of new condiolate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product in sects. Marketing Research Report nO 882. Washington: Agricultural Research Service United State Department of Agriculture, Washington, 183 p.2-42-45.
- [94]-**Iteipmai (Instit Techni Plant MedicAromInstit ).(2009)**. *Origan: Origanum vulgare L. spp.* 24-65p.
- [95]-**Amrouni S., Touati M., HadeF Y et Djahoudi A. (2014)**. Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénèmase. *Phytothérapie*. 12(5). 309-313p.

- [96]-**Zygodlo J A ET Juliani H R. (2003)**. Recent progress in medicinal plants. In: Majundar D.K., Govil J.N., Singh V.K., Shailaja M.S. et Gangal S.V. *Phytochemistry and Pharmacology II*. Studium Press. Houston. Texas. 8. 273-281 p.
- [97]-**Burt S. (2004)**. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology* . 94(3).223-253p.
- [98]-**Fellah S., Abderraba M et Romdhane M. (2006)**. Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis L.* cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *Journal-Societe Algerienne De Chimie*. 16(2). 193-202 p
- [99]-**Jing L., Lei Z., Li L., Xie R., Xi W., Guan Y., Sumner L W et Zhou Z. (2014)**. Antifungal of citrus essential oil . *Journal of Agricultural and Food Chemistry* . 62(14) . 3011-3033p
- [100]-**Sharma N et Tripathi A. (2008)** .Effects of *Citrus sinensis (L)* Obseckepecarp essential oil one growth and morphogenesis of *Aspergillus Niger (L)* Van Tieghem . *Microbiological Research*, 163( 3). 337-344p
- [101]-**Bruneton J. (2009)**. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales 4eme édition. Lavoisier. Paris. France. 1269p.
- [102]-**Fisher K. et Phillips C. (2008)**. Potential antimicrobial use of essential oils in foods: is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology*, 19(3) . 156–164 p.
- [103]-**Akthar M S., Degaga B et Azam T. (2014)**. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research* . 2(1). 001-007 p
- [104]-**vale-silva . (2011)**
- [105]-**Derwich, E., Benzyane, Z., Mnar, A., Boukir, A., Taouil, R. (2010)**. Phytochemical analysis and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* from Morocco. *American Eurasian Journal of Scientific Research* .5(2), 120-129
- [106]-**Mechergui, K., Coelho, JA., Serra, MC., Lamine, SB., Boukhchina, S., Khouja, ML. (2010)**. Essential oils of *Origanum vulgare L.* subsp. *Glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 90:1745-1749
- [107]-**Fadil, M., Farah A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S. (2014)**. *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 8 (2014) 372.
- [108]-**Veres, K., Varga, E., Dobos, A., Hajdu, Zs., Mathe, I., Nemeth, E., Szabo. (2003)**. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare ssp.*,

- [109]-**Mechergui, K., Coelho, JA., Serra, MC., Lamine, SB., Boukhchina, S., Khouja, ML. (2010).** Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *Glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 90:1745-1749.
- [110]-**Béjaoui, A., Boulila, A. and Boussaid, M. (2013).** Chemical composition and biological activities of essential oils and solvent extracts of *Origanum vulgare* sub sp. *glandulosum* Desf. from Tunisia. *J. Med. Plants Res.* 7: 2429-2435.
- [111]-**El Babili, F., Bouajila, J., Souchard, J P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., Moulis, M. and Valentin, A. (2011).** Oregano: Chemical Analysis and Evaluation of Its Antimalarial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities. *Journal of Food Science.* 2011 Apr;76(3):C512-8.
- [112]-**Oussou, K.R., Youlou, S., Kanko, C., Tue, Bi. B., Kanko C., Boti, J.B., Ahibo C. and Casanova, J. (2010).** Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum gratissimum* (*Lamiaceae*). *European Journal of Scientific Reaserch.* 1: 50-59.
- [113]-**Saint Laumer, D.J.Y., Frérot, E. and Herrmann, A. (2003).** Controlled release of perfumery alcohols by neighboring-group participation. Comparison of the rate constants for the alkaline hydrolysis of 2-acyl-, 2-(hydroxymethyl)-, and 2- carbamoylbenzoates; *Helvetica Chimica Acta.* 86: 2871-2899.
- [114]-**Tepe, B. et al. (2004).** The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and various extracts of *Origanum syriacum* L varbevanii. *J. Sci. Food Agric.*, 84(11), pp. 1389-1396.
- [115]-**Miladi, H., Ben Slama, R., Mili D., Zouari, S., Bakhrouf, A., Ammar, E. (2013).** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L.: Gas chromatography mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science.* 5(6): 729-739.
- [116]-**Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, MB., Taghizadeh, M., Astaneh, SA., Rasooli, I. (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry.* 102: 898-904
- [117]-**Aligiannis, N., Kalpotzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I.B. (2001).** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 40: 4168-4170.
- [118]-**Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (2001).** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol.*18(4): 463–70

- [119]-**Cristiani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M.G. et Micieli, D. (2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55: 6300-6308.
- [120]-**Baydar, H., Osman, S., Ozkan, G. and Karadoan, T. (2004).** Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum,Thymbra* and *Satureja species* with commercial importance in Turkey.*Food Control*. 15:169-172.
- [121]-**Botelho, M.N.A., Nogueira, G.M., Bastos, S.G., Fonseca, T.L., Lemos and Matos F.J. (2007).** Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides,carvacrol* and *thymol against* oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* ,40 (3):349-356.p.44.
- [122]-**Casida, J.H. (1990).** Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets. In: *Casida J.E. (ed.). Pesticides and alternatives. Innovative chemical and Biological Approaches to Pest Control*. Amsterdam: Elsevier, pp. 11-22.
- [123]-**Daemon, E., De Oliveira Monteiro, C.M., Dos Santos Rosa, L., Aparecido Clemente, M., Arcoverde, A. (2009).** Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). *Parasitology research* 105, 495–7.
- [124]-**Pandey, S.K., Upadhyay, S., Tripathi, A.K. (2009).** Insecticidal and repellent activities of thymol from the essential oil of *Trachyspermum ammi* (Linn) Sprague seeds against *Anopheles stephensi*. *Parasitology research* 105, 507–12.
- [125]-**Waliwitiya, R., Belton, P., Nicholson, R.A., Lowenberger, C.A. (2010).** Effects of the essential oil constituent thymol and other neuroactive chemicals on flight motor activity and wing beat frequency in the blowfly *Phaenicia sericata*. *Pest management science* 66, 277–89.
- [126]-**Imdorf, A., Bogdanov, S., Kilchenmann, V., Maquelin, C. (1995).** Apilife Var: A new Varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee World* 76, 77–83.
- [127]-**Mattila, H.R., Otis, G.W., Daley, J., Schulz, T. (2000).** Trials of apiguard, a thymolbased miticide part 2. Non-target effects on honey bees. *American Bee Journal* 140, 68– 70.
- [128]-**Prates, H. T., Santos, J. P., Waquil, J. M., Fabris, J. D., Oliveira, A. B. and Foster, J. (1998).** Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F) and *Tribolium castaneum* (H). *The Journal of Stored Products Research*, 34: 243-249.

[129]-**Ojimekwe, P. C. and Adler, C. (1999).** Potential of Zimadehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of confused Flour Beetle (*Tribolium confusum* J. D. V.) (Col: Tenebrionidae). *Journal of Pest Science*, 72: 81-86.

## RÉSUMÉ

Année: universitaire 2021-2022

Présenté par : **HAMEL Amina**  
**KHENICH Fatima**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en  
Biologie et Physiologie de la Reproduction**

***Intitulé: Investigation sur les activités anti oxydantes,  
antimicrobiennes, antifongiques et insecticides des huiles  
essentielles de l'*Origanum vulgare* L.***

### ***Résumé***

Les huiles essentielles d'*Origanum vulgare* L. sont extraites par hydrodistillation à partir des parties aériennes. Les échantillons d'Origan sont analysés par la CPG/SM. Entre 43 à 56 composants sont identifiés la prédominance de quatre composants dits majeurs, le thymol (7.7 – 73.1%), le carvacrol (7.6 – 72.6%), le p-cymène (1.7 – 25.8 %) et  $\gamma$ - terpinène (1.1 – 18.7%).

Les résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* L. témoignent d'une capacité réductrice modeste, cependant l'activité antibactérienne de cette HE est très efficace sur la majorité des souches bactériennes. L'HE a montré une excellente activité sur la majorité des souches bactériennes à Gram négatif testées à savoir : *E.coli*, les Salmonelles, les Citrobacter et *Shigella*, et celles à Gram positifs *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sphaericus*.

Les résultats du test d'activité antifongique de l'huile essentielle sur le champignon *Mucor* sp, ont décelé une forte inhibition de la croissance radiale du champignon (100%) et ceux de l'activité insecticide sur l'insecte *Ephesiakuehniella* ont révélé que cette HE perturbe la reproduction des insectes et la fécondité des femelles.

**Mots clés :** L'origan, *Origanum vulgare* L., l'huile essentielle, activités antioxydantes, activités antimicrobiennes, activités antifongique, activités insecticides.

**Encadreur : KARA Karima MCA Université Constantine 1**

**Examineur : HAMMOUDA Dounia Prof Université Constantine 1**

**Examineur : BOUZID Salha MCB Université Constantine 1**