



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche
Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Appliquée

قسم : البيولوجيا التطبيقية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie et Biothérapie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Recherche de potentialités d'*Ocimum basilicum* :
Étude des propriétés antimicrobiennes et alimentaires de la plante

Présenté par : FARAH Chiraz
LEZZAR Randa Souha
KECHOUDA Minna Wissal

Le : 29/06/2025

Jury d'évaluation :

Présidente :	Dr. KHELILI Kaoutar	(MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).
Encadrant :	Pr. KACEM CHAOUICHE Noredine	(Professeur - U Constantine 1 Frères Mentouri).
Co-encadrante :	Dr. GARES Maroua	(U Constantine 1 Frères Mentouri).
Examinatrice :	Dr. ADOUI Mounira	(MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2024 - 2025**

Remerciements

Louange à Allah, le Tout-Puissant, pour la force, la patience et la persévérance qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous tenons à adresser nos remerciements à notre promoteur, Pr. KACEM CHAOUCHE Noreddine, pour avoir accepté d'encadrer ce projet de fin d'études et pour nous avoir permis de le réaliser au sein de son laboratoire.

Nos remerciements vont également à Mme GARES Maroua, notre co-promotrice pour son accompagnement et ses orientations précieuses.

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres du jury, Dr, KHELILI Kaoutar et Dr, ADOUI Mounira, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour leurs remarques constructives.

Nos remerciements vont aussi à M. Djekoun, directeur du CRSP Constantine, pour son accueil au sein de l'établissement, ainsi qu'au personnel technique du CRSP, en particulier Mme Esmahan, M. Karim, M. Walid et M. Bilal, pour leur aide précieuse, leur disponibilité et leur soutien tout au long de notre stage.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire.

Dédicaces

Au nom d'Allah, Le Tout Miséricordieux, Le Très Miséricordieux,

Le Seul qui m'a soutenue lorsque tout semblait s'effondrer. C'est par Sa grâce infinie que j'ai trouvé la volonté de continuer, la patience face aux épreuves, et la lumière dans les moments les plus sombres. Je remercie Allah pour chaque porte qu'Il a ouverte ou fermée selon Sa sagesse, et pour chaque leçon précieuse apprise à travers ce parcours, et pour chaque réponse silencieuse entendue dans mes prières. Merci pour chaque force qu'Allah a placée en moi. Tout accomplissement provient d'Allah, et toute gratitude revient à Allah — الحمد لله.

À moi-même, Shiraz Missleryam,

Pour chaque larme essuyée dans la solitude, pour chaque pas courageux avancé dans l'incertitude, et pour avoir persévéré là où d'autres auraient abandonné. Pour avoir cru en moi-même, affronté les obstacles avec détermination, et continué à avancer, même lorsque le chemin semblait obscur. Ce travail est une preuve que "إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا".

À mon sol de mi vida,

Pour ton amour, ton soutien, ta patience et tous tes efforts qui me permettent de rester forte. Merci du fond du cœur d'être là à chaque étape. Que Dieu te bénisse, te récompense, et que nos chemins se croisent à nouveau dans la paix éternelle.

Et à quiconque,

Par un geste ou un mot, a offert un brin de soutien, un sourire, une main tendue, ou une prière silencieuse: vos actes, aussi infimes soient-ils, ne sont pas oubliés. Je vous adresse un remerciement sincère.

Shiraz

★° ★9ℓ°°9ℓ★° ★

Dédicaces

*À Dieu l'Éternel, mon roc aux heures désolées,
Qui me prêta Sa force quand le chemin perdait sa clarté.
Ses obstacles, ma sagesse ;
Ses silences, appels à d'autres voies.
Au Guide perçant mes ténèbres,
Quand l'incertitude enveloppait l'horizon.*

*À cette âme qui fut mienne,
Tenant ferme sous l'assaut du doute et de la solitude ;
Puisant aux fontaines cachées
Quand l'avenir se déroba.
Ce mémoire, miroir de cette résilience.*

*À vous, compagnons de route,
Main tendue, oreille ou sourire perçant la brume :
Votre soutien murmure, viatique plus précieux que vous n'imaginez.*

*À mes sphinx familiers,
Leur calme, linceul de soie sur mes tourments.
À toi, Émilie, flamme éteinte après cinq hivers,
« Un ange passa... vers d'autres cieux »
Compagne des nuits sans lune –
Étoile polaire dont le souvenir demeure mon baume quotidien.
« Ceux qu'on aime ne meurent jamais tout à fait... »*

*Aux destins à naître,
Je m'ouvre, l'âme confiante et l'espérance en vigie.*

❧ Randa ❧

Dédicaces

Je dédie ce mémoire, fruit de plusieurs années de travail, de réflexion et de persévérance, du fond du cœur :

À la reine de ma vie, à celle qui ne cesse de m'épauler, à ma source de vie, sans laquelle je n'imagine pas l'existence, à celle qui illumine ma voie par sa tendresse et son amour inconditionnel, à ma chère mère W. Badici.

À mon très cher père,

Mon pilier éternel, dont l'amour, les conseils et la sagesse continuent de guider chacun de mes pas, même dans l'absence....

À mon adorable sœur Loudjeine

À mon frère Abdou, Je prie Le Bon Dieu de remplir vos vies de succès, de bonheur et de vous préserver de tout mal.

À mes chères et fidèles amies, Ceux qui ont toujours été à mes côtés, par leur soutien, leur affection sincère et leur présence réconfortante.

Minna

Table des matières

<i>Liste des figures</i>	9
<i>Liste des tableaux</i>	10
<i>Liste des abréviations</i>	11
Introduction	1
1. Revue bibliographique	5
1.1. Genre <i>Ocimum</i>	5
1.2. <i>Ocimum basilicum</i>	6
1.3. Classification systématique	6
1.4. Morphologie et cycle de vie	6
1.5. Usages traditionnels d' <i>Ocimum basilicum</i> en Algérie	8
1.6. Biotechnologie et valorisation pharmaceutique d' <i>Ocimum basilicum</i>	9
1.7. Composition chimique et bioactive	10
1.7.1. Huiles essentielles et composés volatils	10
1.7.2. Flavonoïdes	11
1.7.3. Terpénoïdes	11
1.7.4. Polyphénols	12
1.8. Effet des facteurs environnementaux sur la composition	13
1.8.1. Type de sol	13
1.8.2. Climat	13
1.8.3. Irrigation	13
1.8.4. Variabilité génétique	13
1.8.5. Conditions d'extraction	13
1.9. Méthodes d'extraction	14
1.9.1. Hydrodistillation	14
1.9.2. Macération	14
1.9.3. Percolation	14

1.9.4.	Soxhlet	14
1.9.5.	Extraction assistée par ultrasons (UAE)	14
1.9.6.	Extraction assistée par micro-ondes (MAE)	15
1.9.7.	Extraction par fluide supercritique (SFE-CO ₂)	15
1.9.8.	Extraction par eau sous-critique (SWE)	15
1.10.	Activité antimicrobienne	15
1.11.	Composés responsables de l'activité antimicrobienne	15
1.12.	Mécanismes d'action	16
1.12.1.	Mécanismes antibactériens	16
1.12.2.	Mécanismes antifongiques	16
1.13.	Activité antioxydante	17
1.13.1.	Le stress oxydatif et les radicaux libres	17
1.13.2.	Rôle et mécanismes des antioxydants	17
1.13.3.	Composés responsables de l'activité antioxydante	18
2.	Matériel et méthodes	20
2.1.	Matériel biologique	20
2.1.1.	Matériel végétal	20
2.1.2.	Préparation des extraits	21
2.2.	Évaluation de l'activité antimicrobienne	23
2.2.1.	Les souches microbiennes	23
2.2.2.	Préparation des inoculums	24
2.2.3.	Diffusion sur gélose	24
2.2.4.	Contrôles positifs et négatifs	25
2.2.5.	Incubation et lecture des résultats	25
2.3.	Dosage des antioxydants	25
2.3.1.	Dosage des Polyphénols Totaux (TPC)	25
2.3.2.	Le dosage des flavonoïdes totaux (TFC)	27

2.4.	Évaluation de l'activité antioxydante	28
3.	Résultats et discussion	32
3.1.	Détermination des rendements	32
3.2.	Activité antimicrobienne	33
3.3.	Dosage des antioxydants	38
3.3.1.	Dosage des Polyphénols Totaux (TPC)	38
3.3.2.	Dosage des Flavonoïdes Totaux (TFC)	39
3.4.	Activité antioxydante	40
4.	Conclusion	45
5.	Références bibliographiques.....	47
	<i>Résumé</i>	<i>59</i>
	<i>Abstract</i>	<i>60</i>
	<i>ملخص</i>	<i>61</i>

Liste des figures

Figure 1 : structures chimique du 1-linalol, 2-l'eugénol et 3-l'estragole	11
Figure 2 : (1) Structure chimique de la quercétine (2) Schéma du squelette général des flavonoïdes.	11
Figure 3 : Structure chimique de (1) géraniol, (2) β -caryophyllène.	12
Figure 4: Structure chimique de (1) acide caféique (2) acide rosmarinique (3) acide férulique.	12
Figure 5 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental suivi dans cette étude	20
Figure 6 : Préparation de la plante <i>Ocimum basilicum</i> (récolte, lavage, séchage).....	21
Figure 7 : Hydrodistillation d' <i>Ocimum basilicum</i> à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Photo prise par les auteurs).	22
Figure 8 : Plante <i>Ocimum basilicum</i> après séchage (Photo prise par les auteurs).	22
Figure 9 : Évaporation de l'extrait hydro-éthanolique à l'aide d'un Rotavap à 40°C (Photo prise par les auteurs).	23
Figure 10 : Dosage des Polyphénols Totaux (Illustration originale conçue par les auteurs). .	26
Figure 11 : Courbe d'étalonnage obtenue pour le dosage des polyphénols totaux avec l'acide gallique comme standard (Courbe fournie par CRSP).	26
Figure 12 : Dosage des Flavonoïdes Totaux (Illustration originale conçue par les auteurs). .	28
Figure 13 : Courbe d'étalonnage obtenue pour le dosage des flavonoïdes totaux avec la quercétine comme standard (Courbe fournie par CRSP).	28
Figure 14 : Réaction de réduction du DPPH en présence d'un antioxydant (Illustration originale conçue par les auteurs).	29
Figure 15 : Test DPPH (Illustration originale conçue par les auteurs).	30
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique utilisée pour le calcul de l'IC ₅₀ du test DPPH (Courbe fournie par CRSP).	30
Figure 17 : Coloration obtenue lors du dosage des composés phénoliques totaux de l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> par la méthode de Folin-Ciocalteu, après 2 heures d'incubation.....	39
Figure 18 : Coloration obtenue lors du dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> par la méthode au chlorure d'aluminium, après 10 minutes d'incubation.....	40
Figure 19 : Décoloration du radical DPPH en présence des différentes concentrations d'extrait d' <i>Ocimum basilicum</i> après 30 minutes d'incubation.	41
Figure 20 : Détermination de l'IC ₅₀ de l'extrait d' <i>O. basilicum</i>	42

Liste des tableaux

Tableau 1 : Rendement des extraits obtenus à partir d' <i>Ocimum basilicum</i>	32
Tableau 2 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'huile essentielle et de l'extrait hydro-éthanolique d' <i>Ocimum basilicum</i> contre différentes souches microbiennes.	34
Tableau 3 : Activité antimicrobienne d' <i>Ocimum basilicum</i> contre les souches testées	37
Tableau 4 : Variation des absorbances et pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait d' <i>O. basilicum</i>	41

Liste des abréviations

HE : Huile essentielle

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

TPC : Teneur en polyphénols totaux

TFC : Teneur en flavonoïdes totaux

EAG : Équivalent acide gallique

EQ : Équivalent quercétine

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : Concentration minimale bactéricide

MHA : Mueller Hinton Agar

PDA : Potato Dextrose Agar

UAE : Extraction assistée par ultrasons

MAE : Extraction assistée par micro-ondes

SFE-CO₂ : Extraction par fluide supercritique au dioxyde de carbone

SWE : Extraction par eau sous-critique

AMX : Amoxicilline

FLZ : Fluconazole

DMSO : Diméthylsulfoxyde

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales constituent un pilier fondamental pour la médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures. L'histoire de leur utilisation thérapeutique remonte à plus de 60 000 ans, avec des traces écrites retrouvées chez les Sumériens il y a environ 5 000 ans (Matole et *al.*, 2021). Elles constituent une source inépuisable de principes actifs naturels tels que les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, saponines, et huiles essentielles, connus pour leurs propriétés pharmacologiques variées. Face à la recrudescence des infections microbiennes et à l'essor préoccupant des résistances aux antibiotiques, les extraits végétaux suscitent un regain d'intérêt en tant qu'alternatives thérapeutiques naturelles prometteuses (Alanazi et *al.*, 2023; Sayed, 2023).

Parmi les plantes aromatiques les plus étudiées figure *Ocimum basilicum* L., communément appelé basilic, une espèce appartenant à la famille des Lamiaceae. Elle est largement utilisée, non seulement en cuisine, mais aussi en médecine traditionnelle pour ses vertus digestives, anti-inflammatoires et antiseptiques (Belhouala et Benarba, 2021; Berechet et *al.*, 2022). Sa richesse en métabolites secondaires, notamment, en huiles essentielles (principalement composées d'eugénol, linalol, méthylchavicol...), en polyphénols et en flavonoïdes, lui confère des activités biologiques reconnues telles que l'activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, et même insecticide (Chenni et *al.*, 2016; Semeniuc et *al.*, 2017).

Cependant, malgré une abondante littérature, plusieurs zones d'ombre subsistent concernant la variabilité de la composition et de l'activité biologique des extraits de basilic, en fonction de facteurs tels que la méthode d'extraction, la nature du solvant, la saison de récolte, ou encore les conditions pédoclimatiques locales. Il est à signaler que les données portant sur le basilic cultivé en Algérie, et en particulier, dans la région de Constantine, restent encore limitées. De même, les études comparatives entre différentes formes d'extraits (huile essentielle vs extrait hydro-éthanolique) sur les plans activité antimicrobienne et antioxydante demeurent assez insuffisantes.

Aussi, ce travail vise à évaluer les propriétés antimicrobiennes d'*Ocimum basilicum* L. récolté localement, en utilisant deux extraits obtenus par des procédés distincts : les huiles essentielles par hydrodistillation et l'extrait hydro-éthanolique par macération à froid. En effet, l'activité antimicrobienne a été testée *in vitro* contre quatre souches microbiennes de référence : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*, à l'aide de la

méthode de diffusion sur gélose. L'activité antioxydante a été évaluée pour l'extrait hydro-éthanolique, à l'aide du test de réduction du radical DPPH. Des dosages des polyphénols totaux et des flavonoïdes ont également été réalisés afin de mieux caractériser le potentiel bioactif de cet extrait.

Pour ce faire, ce mémoire s'articule autour de trois axes principaux : une revue bibliographique sur *Ocimum basilicum* et ses propriétés biologiques, une description détaillée des protocoles expérimentaux, et une analyse critique des résultats obtenus.

En contribuant à la valorisation des ressources végétales locales, ce travail s'inscrit dans une dynamique de recherche appliquée pour la promotion de thérapies alternatives, plus durables, et mieux adaptées aux enjeux de santé publique contemporains, notamment la lutte contre les résistances antimicrobiennes.

Revue bibliographique

1. Revue bibliographique

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle contient, dans une ou plusieurs de ses parties (feuilles, racines, fleurs, graines), des substances actives susceptibles d'être utilisées à des fins thérapeutiques. Ces composés, souvent d'origine secondaire, peuvent agir seuls ou en synergie pour produire des effets biologiques bénéfiques. Ils incluent notamment des flavonoïdes, des polyphénols, des alcaloïdes, des saponines et des huiles essentielles, reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires ou encore anticancéreuses (Bharadvaja, 2017; Saikumari et *al.*, 2021).

Selon l'Organisation mondiale de la santé, environ 80 % de la population des pays en développement dépend encore aujourd'hui de la médecine traditionnelle, dans laquelle les plantes médicinales occupent une place centrale (Das et Islam, 2019). Cette popularité s'explique par leur accessibilité, leur faible coût, ainsi que la relative innocuité de leurs effets secondaires, comparés aux molécules de synthèse. Néanmoins, malgré leur usage ancestral, seule une fraction de ces plantes a fait l'objet d'études scientifiques rigoureuses. Ce manque de validation reste un frein à leur intégration officielle dans les systèmes de santé modernes.

L'étude des plantes aromatiques et médicinales comme *Ocimum basilicum* s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources naturelles à visée thérapeutique, en cherchant à mieux comprendre leur composition bioactive et leurs applications potentielles.

1.1. Genre *Ocimum*

Le genre *Ocimum* est un groupe de plantes aromatiques appartenant à la famille des Lamiacées, comprenant environ 150 espèces d'herbes et d'arbustes reconnues pour leurs usages culinaires et médicinaux grâce à leurs feuilles parfumées et leurs huiles essentielles (Dhama et *al.*, 2023, Balakrishnan et *al.*, 2018). Le nom *Ocimum* provient du grec ancien qui signifie "être parfumé", en raison de l'odeur caractéristique de ces plantes (Zahran et *al.*, 2020). Le genre *Ocimum* est principalement présent dans les régions tropicales et subtropicales d'Amérique, d'Afrique et d'Asie, où il est largement exploité en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques (Azizah et *al.*, 2023, Balakrishnan et *al.*, 2018). Parmi les espèces les plus importantes, on retrouve *Ocimum americanum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum sanctum* L. et *Ocimum gratissimum* L. (Shahrajabian et *al.*, 2020).

1.2. *Ocimum basilicum*

Ocimum basilicum, également connu sous le nom de basilic doux (Shahrajabian et *al.*, 2020), est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lamiacées (Bensaid et *al.*, 2022), et l'une des espèces les plus cultivées du genre *Ocimum* (Balakrishnan et *al.*, 2018). Cette plante herbacée vivace ou annuelle est utilisée dans diverses traditions culinaires, notamment, en Italie et en Asie du Sud-Est, en raison de ses feuilles aromatiques et de ses bienfaits médicaux (Dhama et *al.*, 2023).

À travers le monde, *O. basilicum* est connu sous différents noms, tels que **Basilic**, **Basil**, **Badrooj**, **Hebak** ou **Rihan** (Dhama et *al.*, 2023). Dans certaines traditions, il est considéré comme le "roi des herbes" ou encore le "Dieu des épices", mettant en avant son importance culinaire et médicinale (Bensaid et *al.*, 2022; Dhama et *al.*, 2023).

En plus de ses usages culinaires, où il est souvent ajouté en fin de cuisson pour préserver son arôme, le basilic peut être conservé sous différentes formes : frais au réfrigérateur, blanchi puis congelé, ou séché, bien que cette dernière méthode altère fortement sa saveur. De plus, les graines de basilic, une fois trempées dans l'eau, deviennent gélatineuses, ce qui leur confère un usage particulier dans certaines préparations alimentaires et médicinales (Miraj et Kiani, 2016).

1.3. Classification systématique

La classification scientifique du basilic est la suivante selon le Catalogue of Life, 2025:

- Règne : Plantae
- Phylum : Tracheophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Ocimum*
- Espèce : *Ocimum basilicum*

1.4. Morphologie et cycle de vie

Ocimum basilicum est une plante herbacée qui peut être cultivée comme annuelle ou vivace en fonction des conditions climatiques (Dhama et *al.*, 2023). Elle peut atteindre une hauteur comprise entre 20 et 60 cm et présente un port buissonnant (Shahrajabian et *al.*, 2020). La morphologie de la plante est décrite comme suit :

- **Tige** : De forme quadrangulaire, une caractéristique typique des Lamiacées. Elle varie de la couleur verte à une teinte pourprée (Bensaid et *al.*, 2022). Elle peut être glabre : lisse et sans poils, ou pubescente : recouverte de poils fins et courts, particulièrement sur deux faces opposées (Azizah et *al.*, 2023).
- **Feuilles** : Simples et disposées de manière opposée, elles ont une forme allant de l'ovale à l'elliptique, mesurant environ 15 à 50 mm de long, avec une marge qui peut être entière ou légèrement dentée (Azizah et *al.*, 2023). Elles présentent une texture lisse et brillante, et sont dotées d'un parfum aromatique distinct lorsqu'elles sont écrasées (Balakrishnan et *al.*, 2018). La couleur des feuilles peut varier du vert vif au violet, selon la variété (Dhama et *al.*, 2023).
- **Fleurs** : Réunies en inflorescences terminales, les fleurs de *O. basilicum* sont petites, tubulaires et mesurent entre 2 et 4 mm de long (Balakrishnan et *al.*, 2018). Elles sont disposées en verticilles sur des épis, ce qui attire divers pollinisateurs pendant la période de floraison, généralement en été (Dhama et *al.*, 2023). Leur couleur varie du blanc au violet, en passant par le rouge, selon le cultivar (Shahrajabian et *al.*, 2020). La corolle est de forme tubulaire, blanche ou rose, mesurant environ 7 à 8 mm de long (Azizah et *al.*, 2023).
- **Fruits et graines** : Le fruit de *O. basilicum* est un petit akène brun foncé à noir, contenant des graines minuscules qui sont utilisées pour la reproduction (Dhama et *al.*, 2023, Shahrajabian et *al.*, 2020). Ces nutlets, de forme elliptique, produisent du mucilage au contact de l'eau, ce qui leur confère des propriétés intéressantes pour certaines applications alimentaires et médicinales (Azizah et *al.*, 2023).
- **Racines** : Le système racinaire de *O. basilicum* est fibreux, ce qui permet une absorption efficace des nutriments du sol (Balakrishnan et *al.*, 2018).

Le cycle de vie du basilic comprend trois phases principales : la germination, la croissance végétative et la floraison. Dans des conditions optimales, la germination se produit généralement entre 14 et 21 jours après la plantation, et la floraison survient entre 40 et 90 jours. Son cycle de croissance dure entre 170 et 180 jours, en fonction des conditions climatiques. La plante peut être récoltée deux à trois fois au cours de la saison de croissance (Shahrajabian et *al.*, 2020).

1.5. Usages traditionnels d'*Ocimum basilicum* en Algérie

En Algérie, *Ocimum basilicum* est une plante médicinale largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter divers troubles internes et externes. Grâce à ses propriétés thérapeutiques reconnues, elle est consommée sous différentes formes, notamment en infusion, décoction, macération ou application topique, selon l'affection à traiter.

Sur le plan interne, le basilic est couramment employé pour soulager les douleurs et la fièvre. Il est utilisé en tisane ou en décoction pour traiter les infections respiratoires telles que la grippe, le rhume et la bronchite. Ses effets bénéfiques sur le système digestif en font un remède naturel contre le syndrome du côlon irritable, la diarrhée et les nausées. Il est également pris pour stimuler l'appétit et faciliter la digestion. En outre, il est traditionnellement utilisé pour soigner les infections urinaires et les maladies de la vessie. Son effet sur la pression artérielle est également reconnu, le rendant utile dans le traitement de l'hypertension (Fedoul et *al.*, 2022).

Dans le domaine de la santé féminine, *O. basilicum* est employé pour traiter certains troubles utérins et favoriser la fertilité. Il est administré sous forme de décoction ou d'application locale en fonction des besoins. Son rôle dans le renforcement du système immunitaire est aussi souligné, notamment lorsqu'il est pris régulièrement sous forme de tisane. Par ailleurs, il est connu pour ses propriétés relaxantes et apaisantes, aidant à combattre l'insomnie, le stress et la fatigue (Ale et *al.*, 2023; Fedoul et *al.*, 2022).

L'usage externe du basilic est tout aussi répandu. Il est appliqué sous forme d'huile, de cataplasme ou de macération pour soulager les douleurs musculaires et rhumatismales. Il est également utilisé pour traiter diverses affections cutanées, accélérer la cicatrisation des plaies et lutter contre certaines infections de la peau. Son application directe sur le corps est parfois conseillée pour faire baisser la fièvre (Fedoul et *al.*, 2022; Purushothaman et *al.*, 2018b).

Enfin, le basilic est réputé pour ses bienfaits sur la santé capillaire. Il est utilisé en soins capillaires pour lutter contre la chute des cheveux et les pellicules. De plus, l'inhalation des vapeurs d'une infusion de basilic est un remède traditionnel efficace pour dégager les voies respiratoires, soulager les maux de tête, les étourdissements et la sinusite (Fedoul et *al.*, 2022; Sahu et *al.*, 2024).

1.6. Biotechnologie et valorisation pharmaceutique d'*Ocimum basilicum*

Les composés bioactifs d'*Ocimum basilicum* ont démontré des activités antibactériennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses, offrant ainsi un large potentiel de valorisation pharmaceutique et cosmétique (Azizah et al., 2023; Nazir et al., 2021). Ces extraits sont actifs contre des souches multirésistantes, y compris des *E. coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu et des *Klebsiella pneumoniae* (Sienkiewicz et al., 2013; Cadet et al., 2024), et peuvent agir en synergie avec des antibiotiques pour réduire leur dose et limiter les effets secondaires (Cadet et al., 2024). Pour optimiser leur stabilité et leur biodisponibilité, diverses formes galéniques ont été développées : des nanoémulsions stables à libération prolongée, améliorant l'activité antimicrobienne et anticancéreuse contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis* (Ahmad et al., 2024) ; des crèmes, pommades et hydrogels à visée anti-inflammatoire et cicatrisante, efficaces, notamment, dans l'eczéma dyshidrotique et le psoriasis (Antonescu et al., 2022); des dispositifs transdermiques non invasifs assurant une diffusion contrôlée des principes actifs, adaptés à la gestion locale de la douleur et de l'inflammation (Akshaya et al., 2024) ; enfin, des formes orales telles que sirops antitussifs et gels pédiatriques tirant parti des propriétés mucolytiques et antispasmodiques du basilic (Vassilina et al., 2024; Purushothaman et al., 2018).

1.7. Composition chimique et bioactive d'*Ocimum basilicum*

Ocimum basilicum est une plante largement valorisée pour sa richesse en composés bioactifs. Elle renferme notamment des huiles essentielles, des flavonoïdes, des polyphénols, des terpènes, et d'autres substances naturelles qui suscitent un intérêt croissant dans les domaines de la recherche scientifique et de la biotechnologie.

1.7.1. Huiles essentielles et composés volatils

Les huiles essentielles (HE) d'*Ocimum basilicum* sont des mélanges complexes de composés volatils synthétisés principalement dans les glandes trichomatiques des feuilles et des fleurs (Avetisyan et al., 2017). Riches en composés bioactifs, elles sont à l'origine des propriétés aromatiques et pharmacologiques de la plante. Trois molécules majeures se distinguent par leur abondance et leurs applications : le linalool, l'eugénol et le méthylchavicol (estragole) (Fedoul et al., 2022).

➤ Linalool :

Le linalool, majoritaire dans l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* (jusqu'à 41,3 %), est un alcool monoterpénique aux propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et neuroprotectrices (Zhakipbekov et al., 2024).

Il contribue également à l'arôme floral et épicé du basilic, justifiant son intérêt en industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Fedoul et al., 2022).

➤ Eugénol :

Présent à environ 0,3 %, l'eugénol est un composé bioactif essentiel de l'huile essentielle de basilic. Il est reconnu pour ses actions antimicrobiennes, antioxydantes, analgésiques et antifongiques (Ahmed et al., 2019). Son usage est particulièrement répandu en odontologie, où il sert d'agent antiseptique et anesthésiant (Romano et al., 2022).

➤ L'estragole :

L'estragole, également appelé méthylchavicol, est un composé aromatique présent dans certaines variétés de basilic (Figure 1). Bien qu'il ne soit pas dominant dans cette étude, il est souvent associé à des effets antimicrobiens et insecticides (Fedoul et al., 2022).

Cependant, sa toxicité potentielle à fortes doses impose une vigilance particulière quant à son utilisation, notamment dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique (Romano et al., 2022).

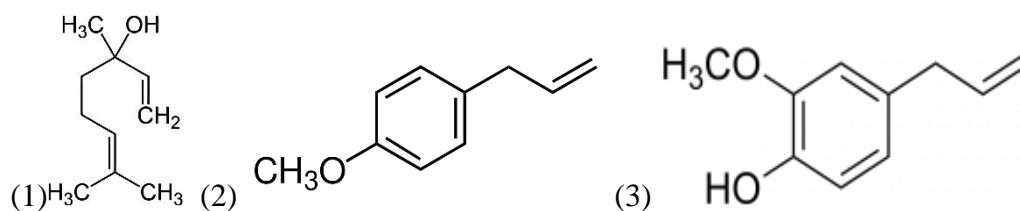


Figure 1 : structures chimique du 1-linalol, 2-l'eugénol et 3-l'estragole

1.7.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des polyphénols hydrosolubles à squelette C6-C3-C6. Ils sont largement représentés dans le basilic, notamment sous forme de quercétine, apigénine, orientine et vicénine (Figure 2). Ces composés présentent des effets antioxydants, antimicrobiens et anti-inflammatoires (Nguyen et *al.*, 2021).

Le dosage des flavonoïdes est le plus souvent réalisé par complexation avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3), selon une méthode colorimétrique simple mais peu spécifique. Pour une quantification plus précise, des techniques chromatographiques comme la HPLC ou la LC-MS sont couramment utilisées (Purushothaman et *al.*, 2018).

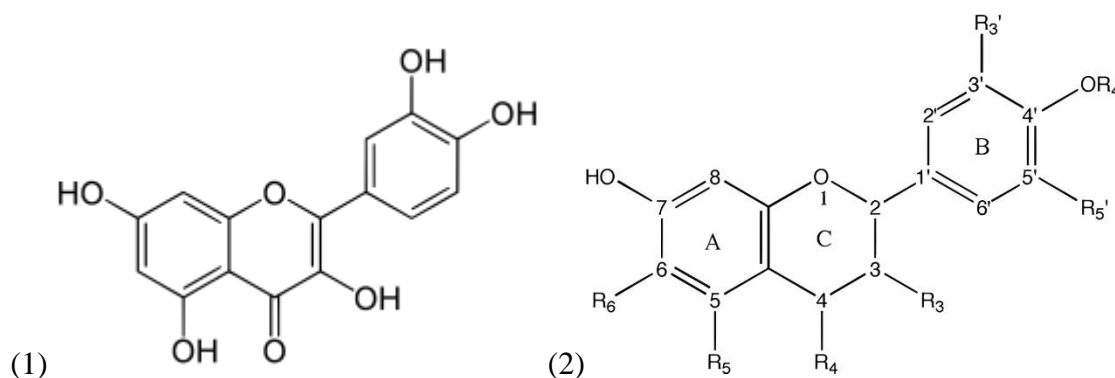


Figure 2 : (1) Structure chimique de la quercétine (2) Schéma du squelette général des flavonoïdes.

1.7.3. Terpénoïdes

Les terpènes et terpénoïdes représentent une fraction majeure de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum*, avec une prédominance de monoterpènes, tels que le géraniol, et de sesquiterpènes, comme le β -caryophyllène (Figure 3). Ces composés volatils contribuent largement au profil aromatique et à l'activité biologique de l'huile essentielle (Avetisyan et *al.*, 2017).

Leur composition qualitative et quantitative varie selon la variété botanique, les conditions pédoclimatiques, ainsi que les facteurs physiologiques et génétiques (Purushothaman et *al.*, 2018).

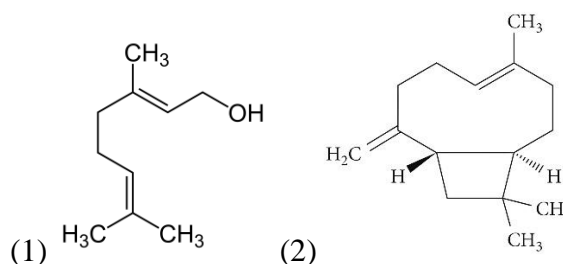


Figure 3 : Structure chimique de (1) géraniol, (2) β-caryophyllène.

1.7.4. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés bioactifs majeurs dans *Ocimum basilicum*, où l'acide rosmarinique domine largement, pouvant représenter jusqu'à 70 % des polyphénols totaux, on retrouve également d'autres acides phénoliques tels que l'acide caféique et l'acide férulique (Figure 4). Leur teneur peut varier selon les facteurs agronomiques et environnementaux (Elansary et *al.*, 2020).

Leur dosage est généralement effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, basée sur une réaction d'oxydoréduction mesurée à 765 nm (Singleton et Rossi, 1965). Cette méthode, bien que non spécifique, reste la plus utilisée pour évaluer la teneur totale en polyphénols.

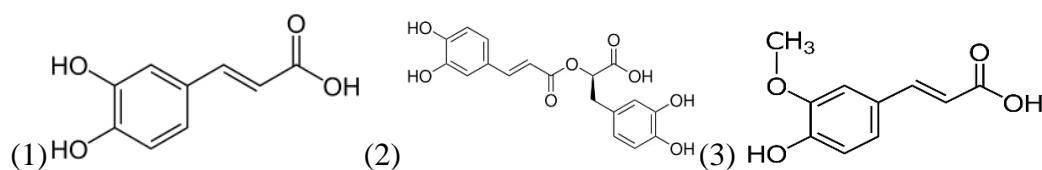


Figure 4: Structure chimique de (1) acide caféique (2) acide rosmarinique (3) acide férulique.

1.8. Effet des facteurs environnementaux sur la composition chimique d'*O. basilicum*

La teneur en composés bioactifs d'*Ocimum basilicum* est influencée par plusieurs facteurs environnementaux et biologiques, qui modifient leur qualité, leur quantité et donc leur activité biologique (Nadeem et *al.*, 2022; Prinsi et *al.*, 2019).

1.8.1. Type de sol

Le pH, la texture et la fertilité influencent la biosynthèse des métabolites secondaires. Des sols riches en phosphore, humus ou inoculés par des champignons mycorhiziens (AMF) peuvent augmenter les teneurs en phénols et flavonoïdes jusqu'à 20 %, notamment en acides rosmarinique et chicorique (Nadeem et *al.*, 2022; Prinsi et *al.*, 2019).

1.8.2. Climat

L'ensoleillement et le stress hydrique modéré stimulent la production de polyphénols, flavonoïdes et tanins, augmentant jusqu'à 25 % l'activité antioxydante (Al-huqail et *al.*, 2020).

1.8.3. Irrigation

La quantité et la fréquence d'eau influencent la dilution ou la concentration des métabolites : une irrigation contrôlée (goutte-à-goutte) optimise la croissance et maintient une teneur stable en antioxydants et en composés antimicrobiens. Un excès d'eau peut diluer les huiles essentielles et réduire la concentration en polyphénols, alors qu'un léger déficit hydrique concentre ces composés (Al-huqail et *al.*, 2020).

1.8.4. Variabilité génétique

Différentes variétés (chemotypes) d'*O. basilicum* présentent des profils chimiques distincts : certains sont riches en linalol, d'autres en méthyl eugénol ou en camphre. Cette variabilité génétique explique des écarts de rendement en huiles essentielles de 0,1 à 0,5 % (v/p) et des différences de concentration en flavonoïdes et tanins jusqu'à 30 % entre cultivars (Srivastava et *al.*, 2018).

1.8.5. Conditions d'extraction

La technique d'extraction utilisée, comme l'hydrodistillation, influence également la composition de l'huile essentielle. Le moment de la récolte (par exemple, au début de la floraison) et les conditions de séchage des plantes avant extraction jouent un rôle crucial. Dans

une étude, l'hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement de 1,36%, bien que d'autres études rapportent des rendements plus élevés (jusqu'à 2,32%) en fonction des méthodes et des conditions d'extraction (Goudoum et *al.*, 2017).

1.9. Méthodes d'extraction

Les méthodes d'extraction et d'analyse des composés bioactifs sont essentielles pour déterminer la composition chimique et les propriétés biologiques des huiles essentielles et des extraits.

1.9.1. Hydrodistillation

Méthode traditionnelle recommandée par les pharmacopées pour l'extraction des huiles essentielles. Elle offre un bon rendement et une récupération efficace des composés volatils, bien que le processus soit relativement long et nécessite une surveillance attentive de la température (El mokhtari et *al.*, 2019).

1.9.2. Macération

Technique simple consistant à immerger les feuilles de basilic dans un solvant à température ambiante ou modérée. Elle est peu coûteuse mais nécessite un temps d'extraction prolongé et peut être moins sélective dans l'extraction des composés (Abed et *al.*, 2018).

1.9.3. Percolation

Procédé où le solvant circule continuellement à travers la matière végétale, améliorant ainsi la cinétique d'extraction. Cependant, il requiert une quantité plus importante de solvant et un contrôle précis du débit (El mokhtari et *al.*, 2019).

1.9.4. Soxhlet

Méthode d'extraction par reflux répétitif du solvant, offrant un rendement élevé pour les composés lipophiles. Elle est cependant gourmande en énergie et en solvant (Abed et *al.*, 2018).

1.9.5. Extraction assistée par ultrasons (UAE)

Utilise des ondes sonores pour créer une cavitation qui accélère la rupture cellulaire, augmentant le rendement en composés bioactifs tout en réduisant le temps d'extraction (Avetisyan et *al.*, 2017).

1.9.6. Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

Chauffe rapide et uniforme de la matière végétale, facilitant la libération des composés volatils de manière plus efficace que l'hydrodistillation classique (Akshaya et *al.*, 2024).

1.9.7. Extraction par fluide supercritique (SFE-CO₂)

Utilise du CO₂ à l'état supercritique pour extraire les molécules thermosensibles sans résidu de solvant, offrant une pureté élevée des extraits. Cependant, cette méthode nécessite des équipements coûteux (Akshaya et *al.*, 2024).

1.9.8. Extraction par eau sous-critique (SWE)

L'eau à haute température et pression agit comme un solvant organique, permettant d'extraire à la fois des composés polaires et apolaires sans utiliser de solvants organiques (Akshaya et *al.*, 2024).

Le choix de la méthode d'extraction dépend des objectifs spécifiques, qu'il s'agisse d'obtenir un profil complet des composés bioactifs ou de maximiser le rendement d'un composé particulier.

1.10. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne d'*Ocimum basilicum* a été largement étudiée en raison de sa richesse en composés bioactifs tels que les phénols, terpènes et acides gras. Ces composés agissent par divers mécanismes biologiques, conférant à l'huile essentielle et aux extraits de basilic un fort potentiel antimicrobien contre un large spectre de micro-organismes pathogènes, y compris des souches résistantes aux antibiotiques (Zhakipbekov et *al.*, 2024).

Les bactéries Gram-positives, sont généralement plus sensibles que les Gram-négatives, ce qui est attribué à l'absence de membrane externe protectrice chez les Gram-positives (Azizah et *al.*, 2023).

1.11. Composés responsables de l'activité antimicrobienne

Les principaux composés bioactifs identifiés dans *Ocimum basilicum* sont :

- **Linalool** : Agit en dégradant les membranes cellulaires (Azizah et *al.*, 2023).
- **Eugénol** : Inhibe la respiration et les enzymes bactériennes (Wirtu et *al.*, 2024).
- **Méthyl chavicol (estragole)** : Perturbe la synthèse des protéines (Zhakipbekov et *al.*, 2024).

- **Polyphénols et flavonoïdes** : Chélatent le fer et inhibent les enzymes microbiennes (Azizah et al., 2023).

Une synergie entre ces composés a été observée, notamment entre le linalool et l'eugénol, renforçant la destruction des membranes bactériennes (Zhakipbekov et al., 2024, Fedoul et al., 2022).

1.12. Mécanismes d'action

Les extraits d'*Ocimum basilicum* agissent selon plusieurs mécanismes qui expliquent leur efficacité antimicrobienne. Parmi ceux-ci, on retrouve l'inhibition des enzymes essentielles, affectant la respiration cellulaire et la synthèse des protéines (Fedoul et al., 2022), ainsi que l'inhibition de la sporulation, réduisant ainsi la propagation des champignons (Zhakipbekov et al., 2024). De plus, certains composés actifs induisent l'apoptose, notamment chez certaines levures et bactéries résistantes (Wirtu et al., 2024). Ces mécanismes contribuent à l'inhibition des biofilms bactériens, avec des taux atteignant 87,45 % contre *Vibrio cholerae* (Azizah et al., 2023).

1.12.1. Mécanismes antibactériens

L'action antibactérienne des huiles essentielles d'*O. basilicum* repose sur plusieurs étapes successives. Tout d'abord, les terpènes lipophiles tels que le linalol, le 1,8-cinéole et l' α -bergamotène interagissent avec les phospholipides de la membrane bactérienne, perturbant sa structure et augmentant ainsi sa perméabilité (Li et al., 2022). Cette modification entraîne une fuite des ions essentiels (K^+ , Ca^{2+}), des protéines et d'autres molécules intracellulaires, altérant ainsi l'homéostasie bactérienne et le potentiel membranaire (Li et al., 2022).

Par ailleurs, l'huile essentielle inhibe des enzymes clés du métabolisme énergétique, notamment la phosphofructokinase et la pyruvate kinase, limitant ainsi la production d'ATP et compromettant la viabilité bactérienne (Li et al., 2022). En parallèle, elle favorise la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui dégradent les lipides membranaires, les protéines et l'ADN, accélérant ainsi la destruction cellulaire (Li et al., 2022). L'accumulation de ces perturbations métaboliques et structurales conduit finalement à la lyse cellulaire et à la mort bactérienne.

1.12.2. Mécanismes antifongiques

L'activité antifongique de l'*O. basilicum* suit un mode d'action similaire mais avec des cibles spécifiques aux champignons. Les principaux composés actifs, tels que le linalol et le

1,8-cinéole, interagissent avec la membrane plasmique fongique, qui est particulièrement riche en ergostérol, un composant essentiel de son intégrité structurale (Pandey et *al.*, 2014). Cette interaction augmente la perméabilité membranaire et provoque une fuite des métabolites intracellulaires, perturbant ainsi les fonctions vitales des cellules fongiques (Pandey et *al.*, 2014).

En plus de l'altération membranaire, les huiles essentielles ciblent la β -(1,3)-glucane synthase, une enzyme impliquée dans la formation de la paroi cellulaire fongique, ce qui fragilise davantage la structure de la cellule (Pandey et *al.*, 2014). Enfin, comme dans le cas des bactéries, l'induction d'un stress oxydatif par la production de ROS entraîne des dommages irréversibles aux lipides, protéines et acides nucléiques, accélérant ainsi la mort fongique (Pandey et *al.*, 2014).

Ainsi, l'efficacité des extraits d'*O. basilicum* repose sur une action combinée affectant les membranes cellulaires, le métabolisme énergétique et l'intégrité génétique des micro-organismes, expliquant leur potentiel antimicrobien élevé.

1.13. Activité antioxydante

1.13.1. Le stress oxydatif et les radicaux libres

Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les défenses antioxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Barouki, 2006). Il est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses maladies chroniques telles que les cancers, les affections cardiovasculaires, le vieillissement prématuré, les maladies neurodégénératives ou encore les troubles métaboliques (Wójciak et *al.*, 2024).

Les radicaux libres sont des molécules ou fragments moléculaires possédant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui les rend particulièrement réactifs (Pastre, 2005). Parmi eux, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées lors du métabolisme cellulaire normal notamment au niveau mitochondrial. Leur accumulation excessive peut déclencher des réactions de peroxydation lipidique, d'oxydation des protéines ou de l'ADN, aggravant ainsi le stress oxydatif (Sen et *al.*, 2010).

1.13.2. Rôle et mécanismes des antioxydants

Les antioxydants sont des composés, naturels ou synthétiques, capables de freiner ou d'inhiber les processus d'oxydation en neutralisant les radicaux libres ou en interrompant les

chaînes de réactions oxydatives (Maurent, 2019). Ils peuvent intervenir à différents niveaux : piégeage direct des espèces radicalaires, chélation des ions métalliques pro-oxydants, inhibition des enzymes pro-oxydantes ou encore activation des enzymes antioxydantes (Maurent, 2019). Leurs effets protecteurs incluent la réduction des dommages oxydatifs à l'ADN, la limitation des mutations, et la prévention de la prolifération cellulaire anormale (Senesse et *al.*, 2012).

1.13.3. Composés responsables de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'*Ocimum basilicum* est principalement attribuée à sa richesse en polyphénols, et plus particulièrement à la présence de dérivés de l'acide caféique tels que l'acide rosmarinique et l'acide chicorique. Ces composés ont la capacité de neutraliser les radicaux libres et à renforcer les défenses cellulaires contre le stress oxydatif (Wójciak et *al.*, 2024). Selon la période de récolte, les valeurs de l'IC50 des composés phénoliques fluctuent entre 4,8 et 6,7 µg/mL (Fedoul et *al.*, 2022).

D'autres composés bioactifs participent également à l'activité antioxydante du basilic, notamment l'acide férulique, le linalol et l'eugénol. Leur action synergique permet d'améliorer le potentiel antioxydant de la plante (Desta et *al.*, 2024).

Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

Ce travail pratique a été réalisé conjointement au sein du laboratoire de LaMyBAM (UC1FM) et dans différents laboratoires du Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques (CRSP) de Constantine.

Afin de mieux illustrer l'approche expérimentale adoptée dans ce travail, un schéma récapitulatif des différentes étapes réalisées, depuis la récolte de la plante jusqu'à l'évaluation des activités biologiques (Figure 5), est présenté ci-dessous:

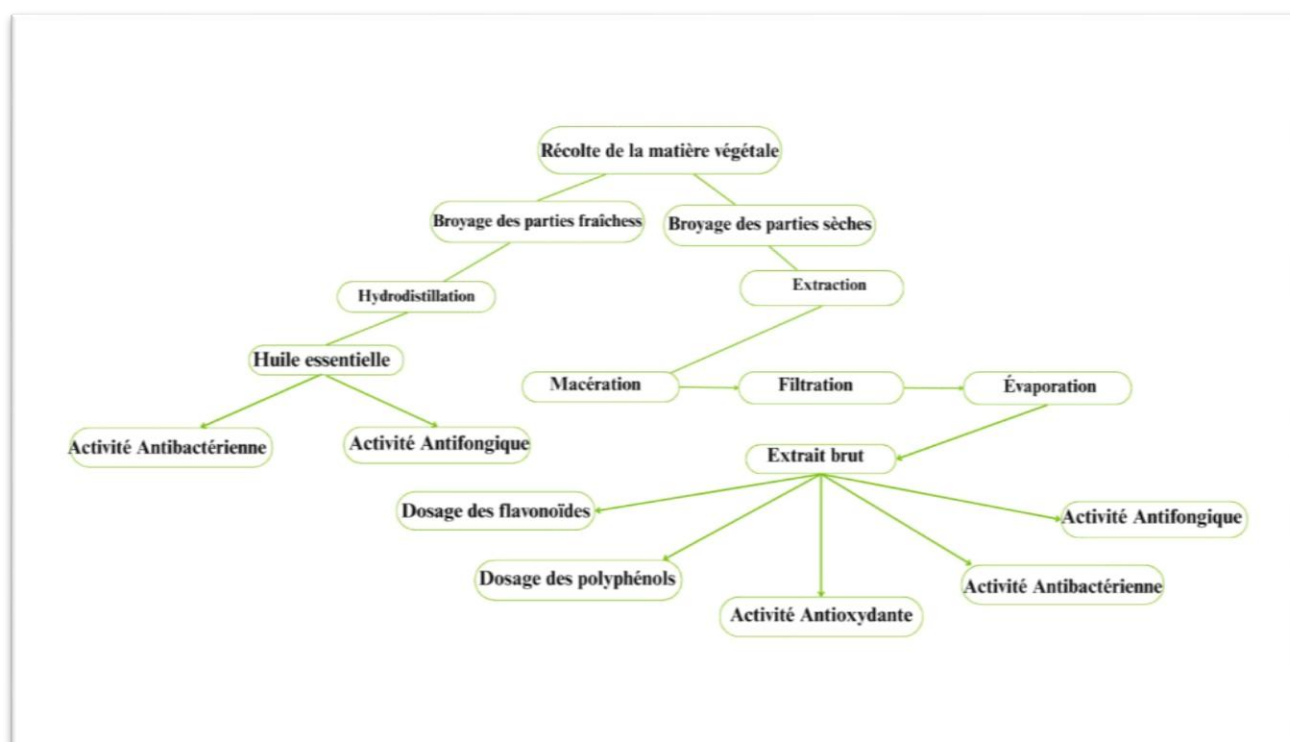


Figure 5 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental suivi dans cette étude

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétal

Le présent travail porte sur l'étude des propriétés antimicrobiennes de la plante *Ocimum basilicum* L., communément appelée basilic. Le matériel végétal a été collecté durant les mois de mars et avril 2025 dans la région de Constantine, en Algérie. La partie aérienne de la plante, comprenant les tiges et les feuilles, a été récoltée au stade végétatif. Après la collecte, les échantillons ont été triés et lavés afin d'éliminer les impuretés visibles, puis séchés délicatement et conservés dans des sacs propres, à l'abri de la lumière (Figure 6).



Figure 6 : Préparation de la plante *Ocimum basilicum* (récolte, lavage, séchage)
(Photos prises par les auteurs).

2.1.2. Préparation des extraits

L'extraction des composés d'*Ocimum basilicum* a été réalisée dans les laboratoires du Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques (CRSP) de Constantine. Deux types d'extraits ont été préparés : une huile essentielle obtenue par hydrodistillation, et un extrait hydro-éthanolique obtenu par macération.

➤ Huile essentielle

L'huile essentielle a été extraite à partir de 400 g de matière végétale fraîche (feuilles et tiges), préalablement lavée à l'eau distillée, puis découpée en petits morceaux. L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger pendant environ 3 heures, jusqu'à ce qu'aucune trace d'huile ne soit visible dans la colonne de récupération (Figure 7). L'huile recueillie a ensuite été séparée de la phase aqueuse et conservée dans un tube hermétiquement fermé, recouvert de papier aluminium, à 4 °C jusqu'à utilisation (Qasem et *al.*, 2023). Le rendement en huile est calculé selon la formule proposée par Okpo et Edeh (2022).

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Volume d'huile essentielle (mL)}}{\text{Masse de la matière végétale initiale (g)}} \times 100$$

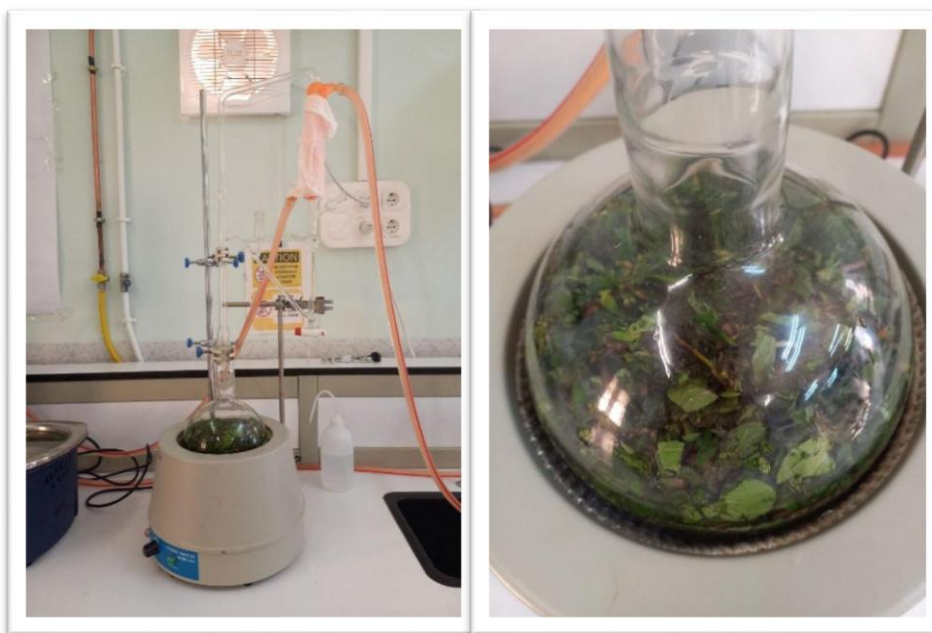


Figure 7 : Hydrodistillation d'*Ocimum basilicum* à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Photo prise par les auteurs).

➤ **Extrait hydro-éthanolique**

L'extrait hydro-éthanolique a été préparé à partir de 40 g de matière végétale sèche (Figure 8), broyée en une poudre fine à l'aide d'un moulin électrique.



Figure 8 : Plante *Ocimum basilicum* après séchage (Photo prise par les auteurs).

La poudre a été mise en macération dans 400 mL d'éthanol à 70 % (v/v), selon un ratio plante/solvant de 1:10 (m/m). Le mélange a été agité régulièrement et maintenu à température ambiante pendant 72 heures, à l'abri de la lumière. Après filtration, le solvant a été évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à température contrôlée (Figure 9). Le

résidu concentré a ensuite été lyophilisé, puis récupéré dans des microtubes Eppendorf stériles et conservé à 4 °C jusqu'à utilisation (Fedoul et *al.*, 2022).

Le rendement de l'extrait a été déterminé selon la formule proposé par Lestari et *al.* (2023) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sec (g)}}{\text{Masse de la poudre utilisée (g)}} \times 100$$



Figure 9 : Évaporation de l'extrait hydro-éthanolique à l'aide d'un Rotavap à 40°C (Photo prise par les auteurs).

2.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose, conformément au protocole décrit par Hussain et *al.* (2008), avec quelques modifications. Les tests ont été réalisés au sein du laboratoire de recherche LaMyBAM (Laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et Activation Microbienne) à Constantine.

2.2.1. Les souches microbiennes

Quatre souches microbiennes de référence ont été utilisées pour l'évaluation :

- *Escherichia coli* (ATCC 8739), bactérie à Gram négatif
- *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* (ATCC 6633), bactérie à Gram positif
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), bactérie à Gram positif

- *Candida albicans* (ATCC 10231), levure pathogène

Les souches ont été fournies par le laboratoire de recherche LaMyBAM (Laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et Activation Microbienne)

2.2.2. Préparation des inoculums

Chaque souche a été réactivée par repiquage sur son milieu de culture spécifique approprié, et incubée dans des conditions optimales (37°C pendant 24 heures pour les bactéries, 30°C pendant 48 heures pour *Candida albicans*), ce qui permet d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Après incubation, des suspensions microbiennes standardisées ont été préparées en prélevant quelques colonies fraîches à l'aide d'une anse stérile, puis en les transférant dans une solution saline stérile (NaCl à 0,9 %). Les suspensions ont été homogénéisées à l'aide d'un vortex afin d'obtenir une turbidité proche de celle du standard de McFarland 0,5. Ces suspensions ont été utilisées immédiatement pour les tests (Bubonja-Šonje et al., 2020).

2.2.3. Diffusion sur gélose

Chaque suspension microbienne a été uniformément étalée à l'aide d'un écouvillon stérile sur des boîtes de Pétri contenant environ 20 mL de milieu de culture : Mueller-Hinton Agar (MHA) pour les bactéries, et Potato Dextrose Agar (PDA) pour la levure (Qasem et al., 2023). Après ensemencement, les activités antimicrobiennes des échantillons testés ont été évaluées selon deux méthodes distinctes, en fonction de la nature de l'extrait.

➤ Huile essentielle :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode des disques. Après séchage de la surface, des disques de papier Whatman n°1 stériles (6 mm de diamètre) ont été imprégnés avec 15 µL d'huile essentielle pure, puis déposés sur la surface du milieu ensemencé (Hussain et al., 2008).

➤ Extrait hydro-éthanolique :

La méthode des puits a été envisagée pour tester l'extrait hydro-éthanolique. Des puits d'environ 6 mm de diamètre ont été creusés à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Un volume de 80 µL d'extrait, aux concentrations de 100, 75 et 50 mg/mL (dilué dans du DMSO), a été introduit dans chaque puits (Ababutain, 2019).

2.2.4. Contrôles positifs et négatifs

Afin de valider l'efficacité des tests, des contrôles ont été effectués :

- **Témoin négatif** : DMSO uniquement.
- **Témoins positifs** : Amoxicilline (AMX) (1 mg/mL) pour les bactéries, et Fluconazole (FLZ) (5 mg/mL) pour la levure.

2.2.5. Incubation et lecture des résultats

Après le dépôt des extraits et des disques, les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 30 minutes afin de favoriser la diffusion des composés actifs, puis incubées : à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 30 °C pendant 48 heures pour la levure. L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition (en mm), incluant le diamètre du disque ou du puits (6 mm). Chaque test a été réalisé en duplicata, et les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type (Anwar et *al.*, 2021).

2.3. Dosage de l'effet antioxydant

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée au laboratoire d'évaluation de la bioactivité du Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques (CRSP).

2.3.1. Dosage des Polyphénols Totaux (TPC)

➤ Principe :

La teneur totale en polyphénols de l'extrait hydroéthanolique a été déterminée à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette technique repose sur la mesure de la concentration globale des groupes hydroxyles présents dans l'extrait. En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les composés phénoliques en ions phénolates, tout en réduisant partiellement ses hétéropolyacides, ce qui conduit à la formation d'un complexe de couleur bleue (Saber, 2022).

➤ Mode opératoire :

Le dosage des composés phénoliques totaux (TPC) a été effectué selon la méthode de Singleton et Rossi (1965) en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu adaptée à une lecture en microplaque de 96 puits par Müller et *al.* (2011). Une série de dilutions de l'extrait a été réalisée à l'aide de l'éthanol afin d'obtenir différentes concentrations. Un volume de 20 μ L de l'extrait hydro-éthanolique a été mélangé à 100 μ L de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1 :10), puis 75 μ L d'une solution de carbonate de sodium à (7.5%) ont été ajoutés. Après incubation à

l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm (Figure 10). Un blanc a été préparé avec de l'éthanol à la place de l'extrait. L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence (Figure 11) pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, permettant l'expression des résultats en mg équivalents acide gallique par gramme d'échantillon sec (mg EAG/g ES).

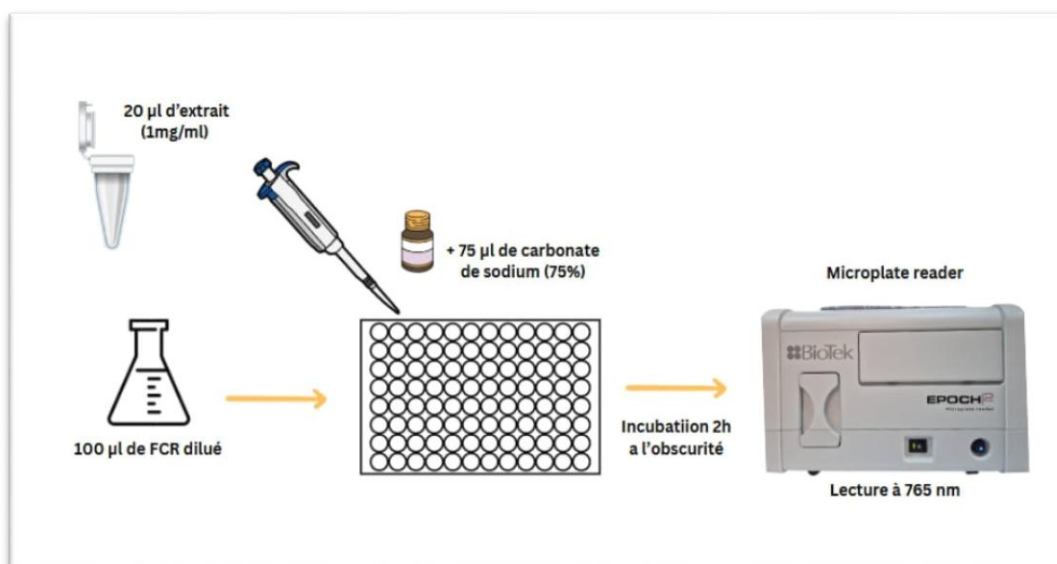


Figure 10 : Dosage des Polyphénols Totaux (Illustration originale conçue par les auteurs).

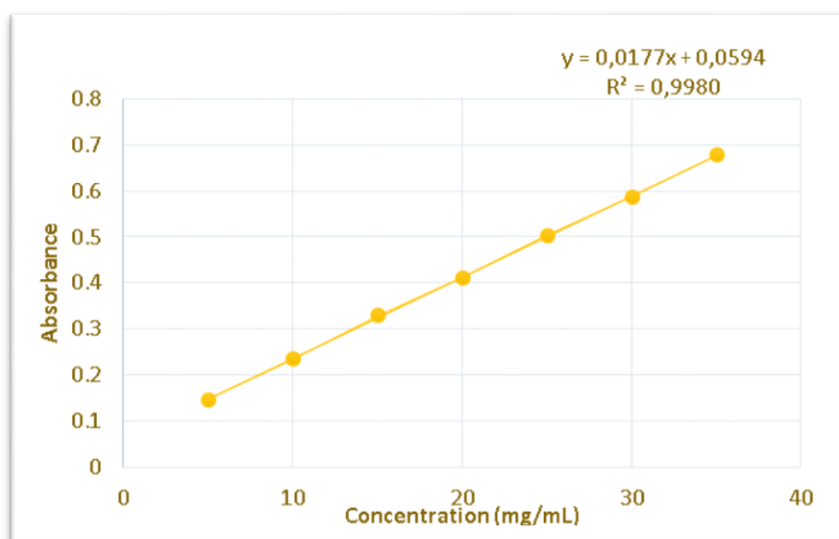


Figure 11 : Courbe d'étalonnage obtenue pour le dosage des polyphénols totaux avec l'acide gallique comme standard (Courbe fournie par CRSP).

2.3.2. Le dosage des flavonoïdes totaux (TFC)

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes repose sur leur capacité à former des complexes avec les ions aluminium. En présence de chlorure d'aluminium, un complexe flavonoïdes-aluminium se forme par chélation entre les ions Al^{3+} et les atomes d'oxygène portés par les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Cette réaction induit l'apparition d'une coloration jaune, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes dans l'extrait (Shraim et *al.*, 2021), avec une absorbance maximale observée à 455 nm (Kukhtenko et *al.*, 2024).

➤ Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes totaux (TFC) a été réalisé selon la méthode décrite par (Sari et *al.*, 2023), adaptée à une lecture en microplaque de 96 puits. Un volume 100 μ L de l'extrait a été mélangé à un volume équivalent de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Après une incubation de 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 455 nm (Figure 12). Un blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par l'éthanol.

La quercétine a été utilisée comme composé standard (Figure 13) pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, donnant l'équation suivante :

$$y = 0,3433x + 0,0354 \quad (R^2 = 0,9995)$$

Les absorbances brutes ont été corrigées par soustraction de l'absorbance du blanc. Les concentrations équivalentes en quercétine (μ g/mL) ont ensuite été calculées selon la formule :

$$C = \frac{A \text{ corrigée} - 0,0354}{0,3433}$$

Les résultats ont été exprimés en mg équivalents quercétine par gramme d'échantillon sec (mg EQ/g ES).

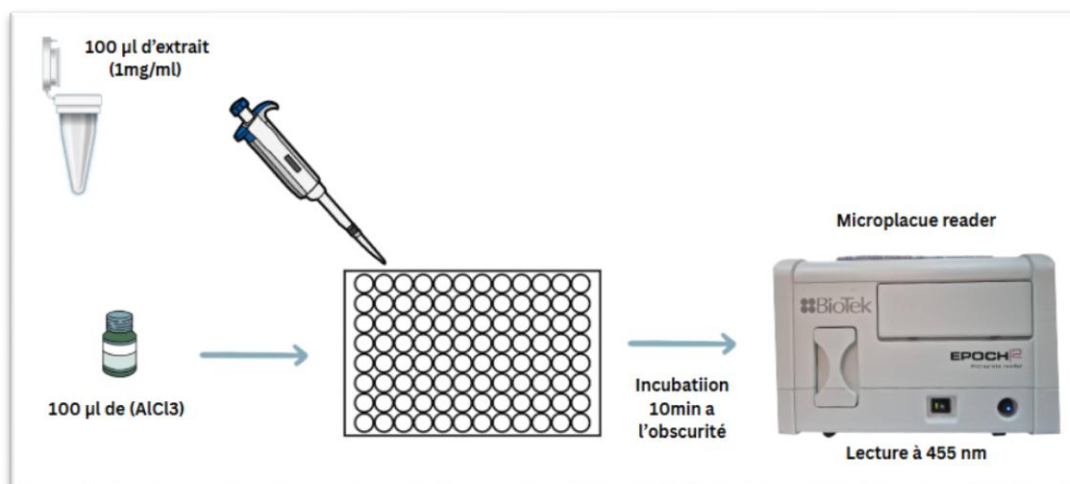


Figure 12 : Dosage des Flavonoïdes Totaux (Illustration originale conçue par les auteurs).

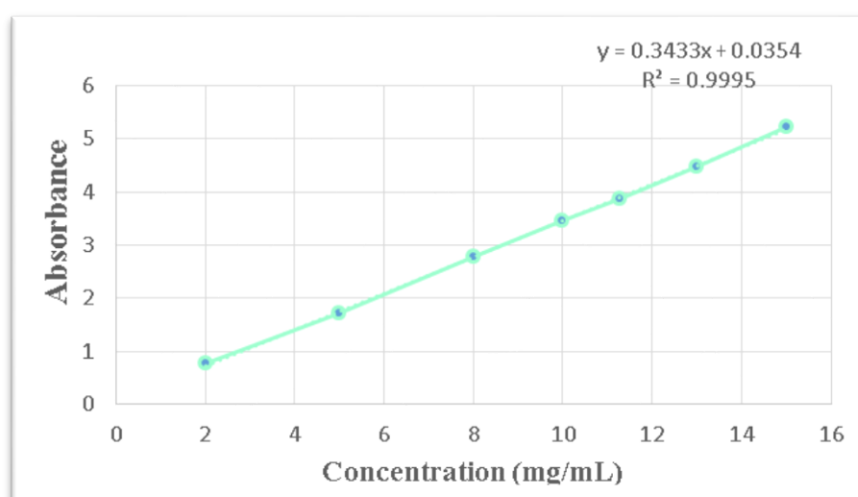


Figure 13 : Courbe d'étalonnage obtenue pour le dosage des flavonoïdes totaux avec la quercétine comme standard (Courbe fournie par CRSP).

2.4. Évaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de cette activité a été réalisée au laboratoire d'évaluation de la bioactivité du CRSP. Dans le cadre de cette étude, l'activité antioxydante *in vitro* de l'extrait a été évaluée à l'aide du test de piégeage du radical DPPH, une méthode largement utilisée et reconnue pour mesurer le pouvoir antioxydant des extraits végétaux (Lu et *al.*, 2023).

➤ Principe

Dans ce test, les antioxydants présents dans l'échantillon réduisent le radical stable DPPH, de couleur violette, en une forme réduite jaune (Figure 14). La diminution de l'intensité

colorimétrique est inversement proportionnelle à la capacité des composés antioxydants à céder des protons (Jeenoo et *al.*, 2023).

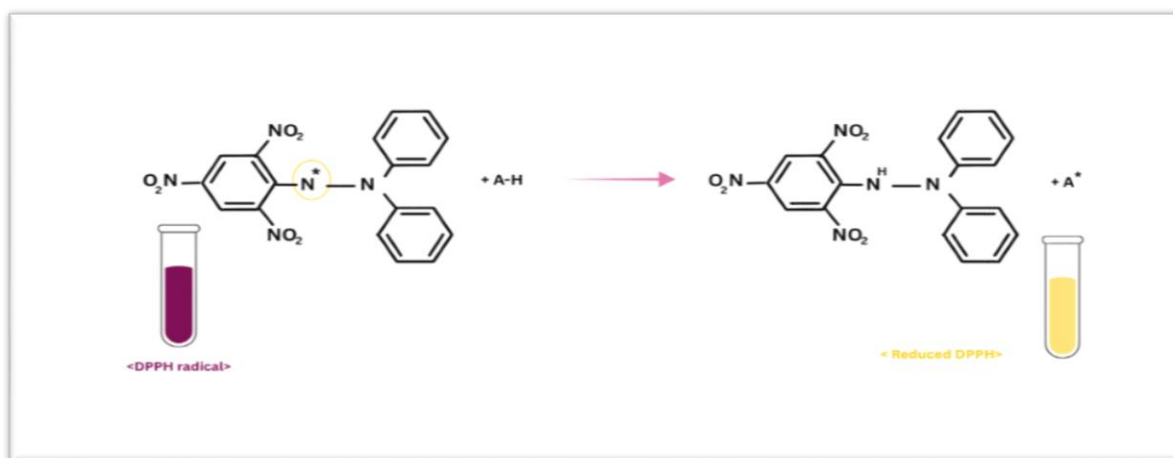


Figure 14 : Réaction de réduction du DPPH en présence d'un antioxydant (Illustration originale conçue par les auteurs).

➤ Mode opératoire

Le test d'activité antioxydante par piégeage du radical DPPH a été réalisé selon la méthode décrite par (Blois, 1958), adaptée au format microplaque de 96 puits (Ali et *al.*, 2020). Une solution de DPPH (160 µL) a été mélangée à 40 µL de l'extrait à différentes concentrations. Le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm (Figure 15). Un blanc a été préparé en remplaçant l'extrait par l'éthanol 70%.

L'acide ascorbique a été utilisé comme standards de référence. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\%I = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs E}}{\text{Abs C}} \times 100$$

- Abs C : Absorbance du contrôle négatif
- Abs E : Absorbance de l'extrait

Les résultats sont exprimés par la moyenne de deux mesures.

Le paramètre IC₅₀, défini comme la concentration d'extrait induisant une inhibition de 50 % de l'activité du radical DPPH, a été déterminé par analyse de régression à partir de la courbe

représentant le pourcentage (%) d'inhibition en fonction des concentrations. Le traitement des données a été réalisé à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2016 (Xie and Schaich, 2014).

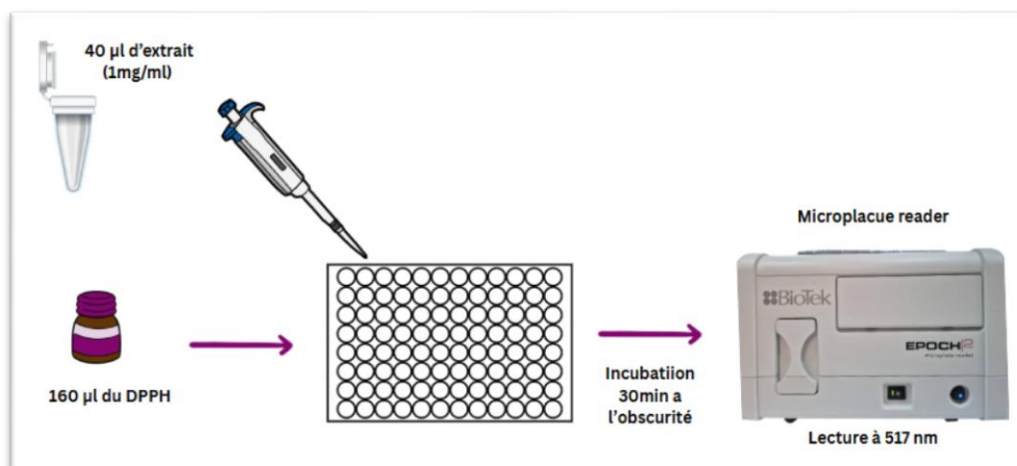


Figure 15 : Test DPPH (Illustration originale conçue par les auteurs).

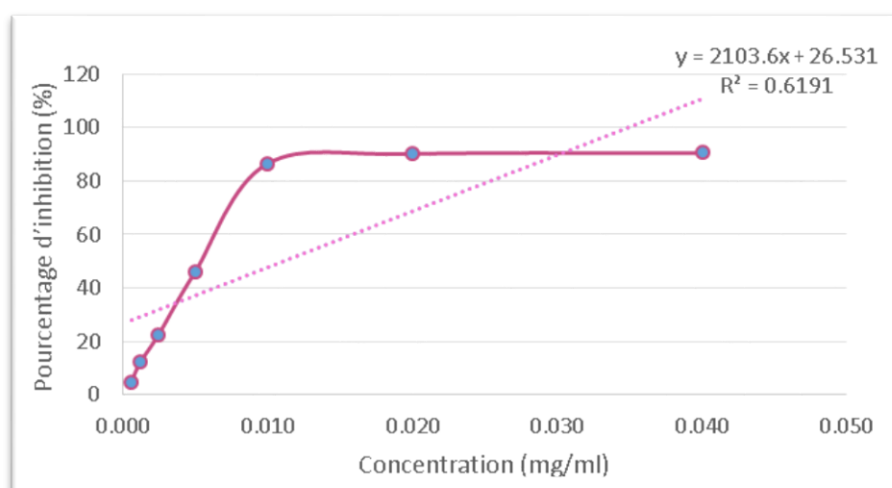


Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique utilisée pour le calcul de l'IC₅₀ du test DPPH (Courbe fournie par CRSP).

Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1. Détermination des rendements

L'huile essentielle, extraite par hydrodistillation à partir de 400 g de matière végétale fraîche d'*O. basilicum*, s'est présentée sous forme d'un liquide jaune clair à forte odeur aromatique caractéristique. Le volume recueilli était de 0,5 mL, correspondant à un rendement de **0,125% (v/w)** (Tableau 1).

Quant à l'extrait hydro-éthanolique, obtenu à partir de 40 g de poudre sèche, il a permis la récupération d'une masse d'extrait sec de 2,93 g, soit un rendement de **7,32% (w/w)**, sous forme d'une pâte visqueuse, de couleur vert foncé à brun.

Tableau 1 : Rendement des extraits obtenus à partir d'*Ocimum basilicum*.

Type d'extrait	Extrait obtenu	Rendement (%)
Huile essentielle	0,5 mL	0,125 %
Extrait hydro-éthanolique	2,93 g	7,32 %

Le rendement en huile essentielle obtenu dans notre étude (0,125 %) est relativement faible, ce qui est inférieur à plusieurs valeurs rapportées dans la littérature, mais il demeure toutefois, cohérent avec certains résultats observés dans des conditions expérimentales comparables. Aussi, Desta et *al.* (2024) ont rapporté un rendement de 0,14 %, tandis qu'Al-Maskri et *al.* (2011) ont observé des rendements variant entre 0,1 % et 0,3 % selon la saison, soulignant l'influence des facteurs climatiques.

Par ailleurs, Mkaddem et *al.* (2022) ont montré que le stade phénologique de la plante influence significativement le rendement. Leurs résultats montrent des taux plus élevés au stade de floraison (jusqu'à 0,9 %) qu'au stade végétatif (0,7 %), ce qui pourrait expliquer en partie la faible teneur observée dans notre étude, dont la récolte a été effectuée en phase végétative précoce. Ceci pourrait être lié à une activité enzymatique plus faible et à une biosynthèse limitée des métabolites volatils (Zaouali et *al.*, 2013).

D'autres études confirment cette variabilité des rendements, avec des valeurs rapportées de 0,2 % en Tunisie, 0,1–0,74 % en Inde et 0,17 % à Oman (Sellami et *al.*, 2009), ce qui situe notre résultat dans l'intervalle admis pour des conditions pédoclimatiques similaires.

Cette variabilité est attribuée à plusieurs facteurs : origine géographique, génotype, partie de la plante utilisée, méthode d'extraction, et conditions environnementales (Pirbalouti et *al.*, 2017).

Concernant l'extrait hydro-éthanolique, le rendement obtenu (7,32 %) est nettement inférieur à certaines données de la littérature, qui rapportent des taux allant de 15 % à plus de 30 % selon les protocoles utilisés (Rezzoug et *al.*, 2019; Fedoul et *al.*, 2022; Valdi et *al.*, 2023). Cette différence peut s'expliquer par plusieurs paramètres techniques et expérimentaux. En particulier, l'extrait obtenu s'est révélé particulièrement collant, ce qui a considérablement compliqué sa récupération, entraînant ainsi des pertes non négligeables. Ce type de difficulté a déjà été observé lors de l'utilisation de solvants hydro-alcooliques sur des matrices végétales riches en composés polyphénoliques, mucilagineux ou résineux. D'après Dai et Mumper (2010), les solvants hydro-alcooliques favorisent l'extraction de composés hydrophiles complexes (polyphénols, sucres, mucilages), dont certains peuvent conférer aux extraits une texture visqueuse et difficile à manipuler, ce qui doit être pris en compte dans l'optimisation des conditions d'extraction et d'évaporation.

3.2. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits d'*Ocimum basilicum* a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose, contre quatre souches microbiennes de référence : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, et *Candida albicans*, en comparaison avec un témoin positif (antibiotique et antifongique de référence) et un témoin négatif (DMSO). Les résultats sont exprimés en diamètre moyen des zones d'inhibition (mm), y compris le diamètre du disque ou du puits (6 mm), et présentés sous forme de moyenne \pm écart-type (Tableaux 2,3).

La méthode des puits a été utilisée pour l'extrait hydro-éthanolique, en raison de la complexité de sa composition riche en composés de haut poids moléculaire, tels que les polyphénols, dont la diffusion est souvent limitée à travers la gélose. En revanche, l'huile essentielle, composée majoritairement de molécules volatiles à faible poids moléculaire, a été testée par la méthode des disques, assurant ainsi une meilleure diffusion dans le milieu (Bubonja-Šonje et *al.*, 2020).

L'extrait hydro-éthanolique a montré une activité antibactérienne variable selon la souche et la concentration testée. La plus grande zone d'inhibition a été observée contre *S. aureus* ($22,0 \pm 1,41$ mm à 100 mg/mL), suivie de *E. coli* ($15,5 \pm 0,71$ mm à 75 mg/mL). L'activité contre *B.*

subtilis était plus modérée (≤ 12 mm). Une activité antifongique modérée a également été observée contre *C. albicans*, avec une zone d'inhibition de $12,0 \pm 0,00$ mm à la concentration maximale.

L'huile essentielle testée pure a présenté une activité significative contre *C. albicans* ($16,0 \pm 0,00$ mm) et *S. aureus* ($20,0 \pm 0,00$ mm), mais une inhibition plus faible contre *B. subtilis* ($10,0 \pm 0,00$ mm) et *E. coli* ($7,0 \pm 0,00$ mm).

Le DMSO n'a montré aucune activité inhibitrice contre les bactéries testées, mais une inhibition modérée a été observée contre *C. albicans* ($11,0 \pm 0,00$ mm), suggérant une certaine sensibilité de cette levure au solvant.

Les antibiotiques de référence ont permis de valider la méthodologie. L'amoxicilline a montré une forte efficacité contre les souches bactériennes, en particulier *S. aureus* (45 mm), tandis que le fluconazole a exercé une activité modérée contre *C. albicans* (15 mm).

Tableau 2 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) de l'huile essentielle et de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ocimum basilicum* contre différentes souches microbiennes.

Souche microbienne	Huile essentielle	Extrait hydro-éthanolique			Témoin positif	Témoin négatif (DMSO)
	(pure)	100 %	75 %	50 %		
<i>S. aureus</i>	$20,0 \pm 0,00$	$22,0 \pm 1,41$	$21,0 \pm 1,41$	$15,5 \pm 0,71$	AMX (1 mg/mL): 45,0	$6,0 \pm 0,00$
<i>E. coli</i>	$10,0 \pm 0,00$	$13,0 \pm 0,00$	$15,5 \pm 0,71$	$12,5 \pm 2,12$	AMX (1 mg/mL) : 25,0	$6,0 \pm 0,00$
<i>B. subtilis</i>	$10,0 \pm 0,00$	$12,0 \pm 0,00$	$10,5 \pm 0,71$	$10,0 \pm 0,00$	AMX (1 mg/mL) : 30,0	$6,0 \pm 0,00$
<i>C. albicans</i>	$16,0 \pm 0,00$	$12,0 \pm 0,00$	$14,5 \pm 0,71$	$13,0 \pm 0,00$	FLZ (5 mg/mL) : 15,0	$11,0 \pm 0,00$

Les extraits d'*Ocimum basilicum* L. ont présenté une activité antimicrobienne variable mais globalement prometteuse. Les résultats suggèrent une efficacité différente selon la souche microbienne, la nature de l'extrait et la concentration testée.

L'augmentation progressive des zones d'inhibition avec la concentration de l'extrait hydro-éthanolique (de 15,5 mm à 50 mg/mL à 22 mm à 100 mg/mL) indique un effet antimicrobien clairement dose-dépendant. Ce comportement est en accord avec les résultats de Garcia et al. (2023), qui ont observé une augmentation significative de l'inhibition à des

concentrations croissantes (20,48 mm à 100 % vs 17,67 mm à 50 %). Une tendance similaire a également été rapportée par (Yahya, 2012). De nombreuses études ont confirmé la sensibilité de *S. aureus* à l'huile essentielle de basilic, laquelle présente parmi les plus faibles concentrations minimales inhibitrices (CMI) rapportées pour cette souche (Semeniuc et *al.*, 2017). Cette sensibilité élevée pourrait être liée à la structure cellulaire des bactéries à Gram positif, caractérisée par une paroi épaisse en peptidoglycane mais dépourvue de membrane externe. Cette configuration favorise la pénétration des composés bioactifs hydrophobes (Hossain et *al.*, 2010), tels que les phénols et les terpénoïdes. Nos résultats corroborent également ceux de Amin et *al.* (2023), qui ont montré une sensibilité accrue de *S. aureus* aux extraits et huiles essentielles de *O. basilicum*.

Les deux extraits testés ont induit une inhibition modérée, avec des diamètres compris entre 10 et 12 mm, sans tendance dose-dépendante claire. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par Ababutain (2019), qui a observé une inhibition de 10,7 mm avec un extrait éthanolique de *O. basilicum*. Bien que *B. subtilis* soit une bactérie à Gram positif, sa relative résistance pourrait être liée à sa capacité de former des spores, structures très résistantes aux stress environnementaux et aux agents antimicrobiens (Li et *al.*, 2024). Une évaluation complémentaire incluant la phase de sporulation et l'utilisation de méthodes quantitatives (CMI) serait nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

L'extrait hydro-éthanolique d'*Ocimum basilicum* a montré une activité modérée contre *E. coli*, avec une zone d'inhibition maximale de 15,5 mm à 75 mg/mL. Ce résultat est intéressant dans la mesure où l'huile essentielle testée pure a induit une inhibition nettement plus faible (10,0 mm), suggérant que les composés hydrophiles ou amphiphiles présents dans l'extrait (flavonoïdes, acides phénoliques, etc.) seraient plus efficaces contre cette bactérie à Gram négatif. Malgré la complexité structurale de la paroi d'*E. coli*, dotée d'une membrane externe lipopolysaccharidique qui limite la pénétration des composés hydrophobes (Eid et *al.*, 2023), certains constituants de l'extrait hydro-éthanolique semblent capables d'atteindre leur cible intracellulaire. Ces observations rejoignent celles de Fedoul et *al.* (2022), qui ont rapporté une zone d'inhibition de $15,16 \pm 1,15$ mm avec un extrait éthanolique de basilic contre *E. coli*, soit une valeur très proche de la nôtre à 75 mg/mL.

Concernant *Candida albicans*, l'huile essentielle pure a révélé une activité antifongique notable (16,0 mm), dépassant celle de l'extrait hydro-éthanolique et celle obtenue avec le fluconazole (15,0 mm). Cela s'explique probablement par la présence de composés lipophiles comme l'eugénol ou le méthylchavicol dans l'huile essentielle, connus pour leur forte affinité

avec les membranes cellulaires fongiques. Ces composés favorisent une perturbation de l'intégrité membranaire et entraînent une fuite d'ions intracellulaires, menant à la mort cellulaire (Eid et *al.*, 2023). À titre de comparaison, Fedoul et *al.* (2022) ont également observé une inhibition de 15 mm avec l'huile essentielle contre *C. albicans*, ce qui est en accord avec nos résultats.

Contrairement aux attentes, les plus grandes zones d'inhibition ont été observées à des concentrations intermédiaires 75 mg/mL, avec 13 mm pour *E. coli* et 12 mm *C. albicans* à la concentration maximale 100 mg/mL. Ce comportement atypique pourrait refléter un effet paradoxal, où des concentrations élevées d'agents antimicrobiens entraînent une réduction de l'effet inhibiteur. Bien que le mécanisme exact reste à élucider, ce phénomène a été signalé dans la littérature pour certains extraits végétaux et antifongiques. Ce paradoxe peut conduire à des conclusions trompeuses quant à l'efficacité des extraits de plantes, nécessitant l'utilisation de méthodes plus fiables telles que la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou concentration minimale bactéricide (CMB) (Eloff, 2019). La raison de cet effet est encore inconnue et ce phénomène mérite d'être plus profondément étudié dans l'avenir (Wiederhold, 2009).

Il est à noter que le DMSO utilisé comme témoin négatif a montré une inhibition contre *C. albicans* (11 mm), soulignant une certaine sensibilité intrinsèque de cette levure à ce solvant (Hazen, 2013), ce qui nécessite de prendre en compte cet effet de fond lors de l'analyse des résultats.

Tableau 3 : Activité antimicrobienne d'*Ocimum basilicum* contre les souches testées

Souche	Boîte 1 : Huile essentielle	Boîte 2 : Extrait hydro-éthanolique (100 %, 75 %, 50 %) + DMSO	Boîte 3 : Témoin positif (AMX (1 mg/mL))
<i>S. aureus</i>			
<i>E. coli</i>			
<i>B. subtilis</i>			
<i>C. albicans</i>			

3.3. Dosage des antioxydants

3.3.1. Dosage des Polyphénols Totaux (TPC)

La teneur en composés phénoliques totaux a été déterminée par extrapolation à partir de la courbe d'étalonnage construite avec l'acide gallique, utilisé comme standard.

L'équation de régression linéaire obtenue est $y = 0,0171x + 0,0689$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9914$, indiquant une excellente linéarité.

Les résultats sont exprimés en mg équivalents acide gallique (EAG) par mg d'extrait sec (mg EAG/g ES). Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé à l'aide d'une microplaque à 96 puits, sur l'extrait hydro-éthanolique d'*Ocimum basilicum* analysé en triplicat.

La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ocimum basilicum*, estimée à 216 mg EAG/g ES, témoigne d'une richesse notable en antioxydants d'origine végétale (Figure 17)

. Cette valeur est considérablement élevée et suggère une concentration importante de métabolites secondaires phénoliques, réputés pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

Notre résultat est supérieur à celui de (Faur et *al.*, 2020), qui ont rapporté un TPC de 177,36 mg EAG/g ES dans un extrait similaire préparé à partir des parties aériennes. Il reste inférieur au TPC de 231,62 mg EAG/g ES obtenu à partir des feuilles seules dans la même étude, ce qui souligne l'influence de la partie végétale utilisée.

Par ailleurs, l'étude de (Rehan et *al.*, 2022) a révélé une teneur de 191,2 mg EAG/g ES pour l'extrait éthanolique de feuilles de basilic cultivées au Pendjab (Pakistan), ce qui reste également inférieur à notre valeur. Cette différence peut être liée aux conditions climatiques, au type de sol, à la variété végétale ou à la méthode d'extraction.

En comparaison, d'autres solvants comme l'hexane, l'eau ou le dichlorométhane ont donné des teneurs bien plus faibles dans l'étude de (Rehan et *al.*, 2022), avec respectivement 29,7, 70,7 et 86,6 mg EAG/g ES. Cela souligne la supériorité de l'éthanol comme solvant pour l'extraction des composés phénoliques.

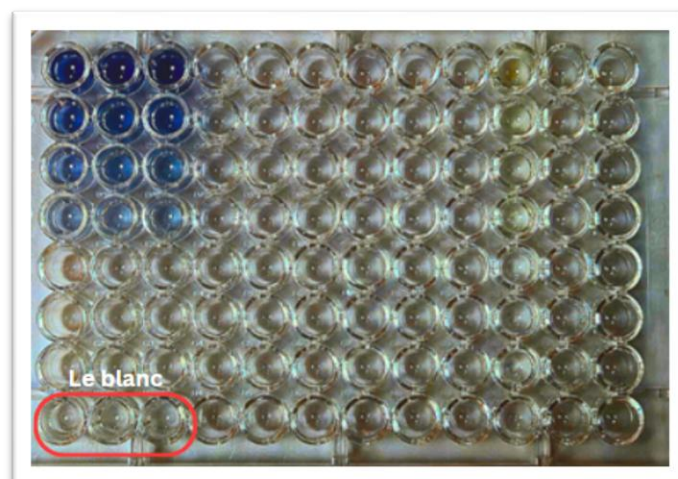


Figure 17 : Coloration obtenue lors du dosage des composés phénoliques totaux de l'extrait d'*Ocimum basilicum* par la méthode de Folin-Ciocalteu, après 2 heures d'incubation.

Les puits de gauche présentent les concentrations de l'extrait ; l'intensité bleue indique une teneur plus élevée en polyphénols. Le puits témoin (le blanc) contient le réactif sans extrait.

3.3.2. Dosage des Flavonoïdes Totaux (TFC)

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage construite avec la quercétine comme standard.

L'équation de régression obtenue est : $y = 0,3446x + 0,0165$, avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9905$, démontrant une excellente linéarité de la courbe dans la plage étudiée.

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents quercétine (EQ) par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES). Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé à l'aide d'une microplaque à 96 puits, sur l'extrait hydro-éthanolique d'*Ocimum basilicum*, analysé en triplicat.

La teneur en flavonoïdes totaux de notre extrait hydro-éthanolique de basilic a été estimée à 77,68 mg EQ/g d'extrait sec (Figure 18) . Cette valeur témoigne d'une présence significative de flavonoïdes, qui contribuent à l'activité antioxydante globale de l'extrait.

Dans l'étude de Faur et *al.* (2020), le TFC était de 48,22 mg EQ/g pour les feuilles seules et de 26,58 mg EQ/g pour les parties aériennes complètes, ce qui reste inférieur à notre valeur.

De plus, Rehan et *al.* (2022) ont rapporté une teneur en flavonoïdes totaux de 13,3 mg EQ/g dans l'extrait éthanolique, ce qui est près de six fois inférieur à notre résultat. Cette

différence pourrait être expliquée par des variations dans la méthode d'extraction, la nature du solvant, ou encore la richesse naturelle du matériel végétal utilisé.

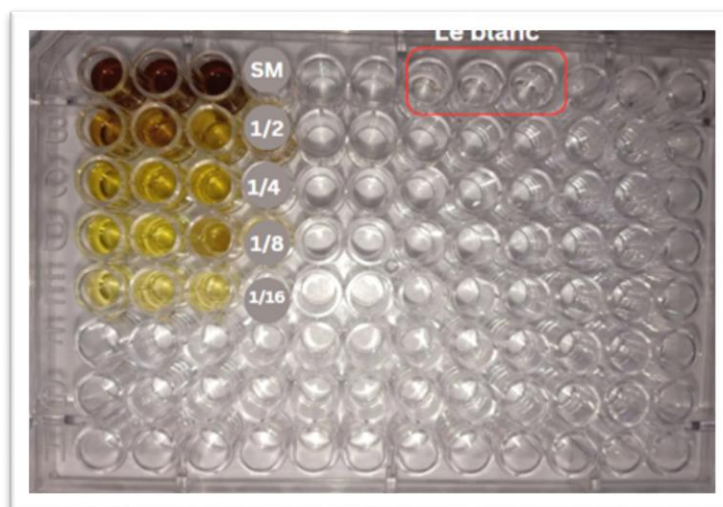


Figure 18 : Coloration obtenue lors du dosage des flavonoïdes totaux de l'extrait d'*Ocimum basilicum* par la méthode au chlorure d'aluminium, après 10 minutes d'incubation.

Les dilutions successives (SM, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16) montrent une diminution progressive de l'intensité jaune. Le blanc (témoin) contient le réactif sans extrait.

3.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide du test DPPH, qui repose sur la capacité de l'extrait à neutraliser le radical libre DPPH•, entraînant une décoloration mesurée à une longueur d'onde de 517 nm.

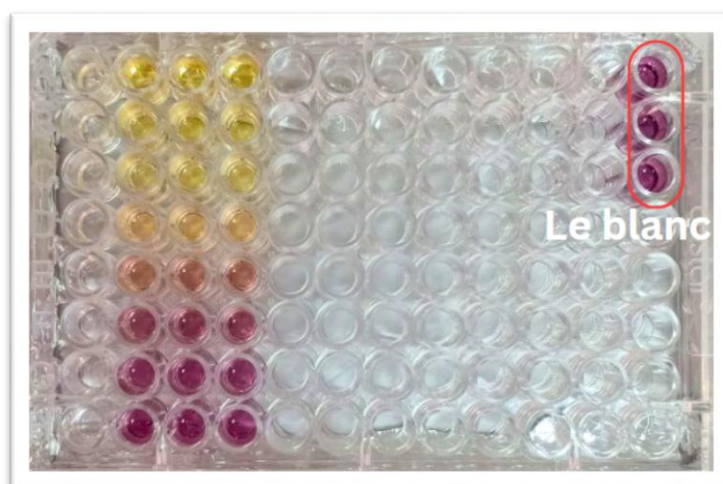


Figure 19 : Décoloration du radical DPPH en présence des différentes concentrations d'extrait d'*Ocimum basilicum* après 30 minutes d'incubation.

Cette diminution d'absorbance traduit la capacité de l'extrait à réduire le radical DPPH•, attestant ainsi de son activité antioxydante.

Les valeurs d'absorbance mesurées par le spectrophotomètre des différentes concentrations (Tableau 4) ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition du radical selon la formule Suivante :

$$\% I = [Abs C - Abs E / Abs C] \times 100$$

Tableau 4 : Variation des absorbances et pourcentage de réduction du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait d'*O. basilicum*.

Concentration (mg/mL)	Absorbance (moyenne)	% d'inhibition
0 (Contrôle)	0,891	0,00
6,25	0,1283	85,60
3,125	0,1163	86,94
1,5625	0,1237	86,12
0,78125	0,1967	77,93
0,390625	0,4297	51,78
0,1953125	0,6777	23,94
0,09765625	0,7960	10,66
0,048828125	0,8527	4,30

La diminution du pourcentage d'inhibition observée à la concentration de 6,25 mg/mL pourrait s'expliquer par un effet pro-oxydant à forte dose ou par une saturation du système DPPH•, limitant la capacité de piégeage du radical. Par ailleurs, l'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence (témoin positif) afin de comparer l'efficacité relative de l'extrait d'*Ocimum basilicum*.

L'IC₅₀, définie comme la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres DPPH•, a été estimée par une analyse graphique, à partir de la courbe de régression linéaire établissant la relation entre les concentrations testées et les pourcentages d'inhibition observés (Figure 20).

Le calcul graphique de l'IC₅₀ a permis d'estimer une valeur d'environ 0,077 mg/mL, traduisant une forte activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique d'*Ocimum basilicum*. Toutefois, cette efficacité reste inférieure à celle de l'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence, dont l'IC₅₀ est estimée à environ 0,020 mg/mL.

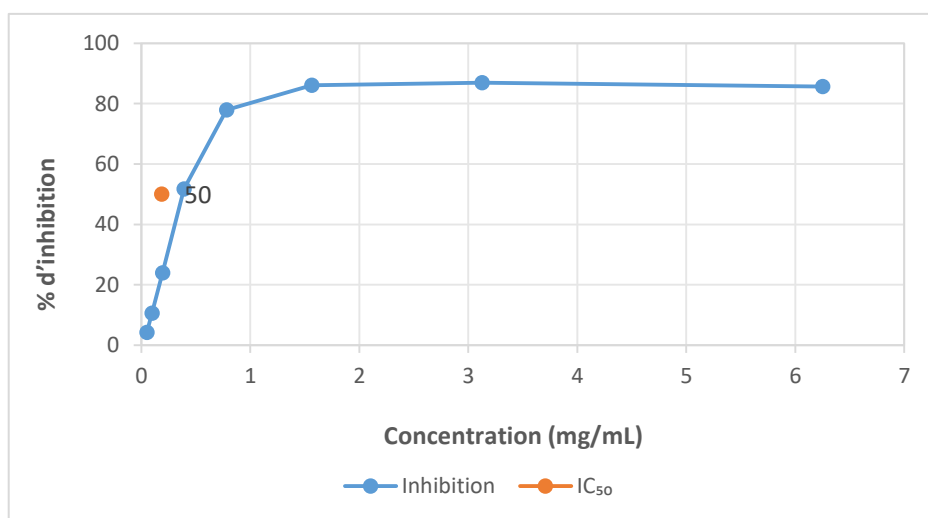


Figure 20 : Détermination de l'IC₅₀ de l'extrait d'*O. basilicum*.

L'IC₅₀ mesurée dans notre étude (0,077 mg/mL) est nettement inférieure à celles rapportées par (Ahmed et *al.*, 2019), qui ont obtenu des valeurs comprises entre 1,29 mg/mL (Minia) et 2,98 mg/mL (BeniSuef), deux régions d'Égypte, à partir d'extraits hydro-éthanoliques de basilic. Elle est également légèrement inférieure à celle rapportée par (Nadeem et *al.*, 2022), dont les extraits éthanoliques de basilic ont présenté des IC₅₀ variant entre 0,10 et 0,15 mg/mL selon le stade de développement de la plante.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces différences entre les études. Le type de solvant utilisé influence directement l'efficacité de l'extraction des composés antioxydants. Par ailleurs, l'origine géographique des plantes, les conditions climatiques, la nature du sol, ainsi que le mode de culture peuvent affecter la production naturelle de molécules bioactives.

D'autres paramètres comme le stade de développement de la plante au moment de la récolte, les méthodes de séchage, ou encore les différences génétiques entre variétés locales d'*Ocimum basilicum* peuvent également contribuer à la variabilité de l'activité antioxydante observée.

Ainsi, l'extrait analysé dans cette étude se distingue par une activité notable, probablement liée à des conditions optimales d'extraction et à une composition chimique favorable.

Conclusion

4. Conclusion

Cette étude s'est attachée à évaluer les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes de deux extraits d'*Ocimum basilicum* L., une huile essentielle obtenue par hydrodistillation et un extrait hydro-éthanolique obtenu par macération, issus de plantes récoltées dans la région de Constantine. Malgré un faible rendement en huile essentielle (0,125 %) comparé à l'extrait hydro-éthanolique (7,32 %), l'activité antimicrobienne la plus marquée a été observée avec ce dernier, notamment contre *Staphylococcus aureus*, une bactérie pathogène majeure. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour une valorisation de ce basilic en tant qu'agent antimicrobien naturel, en particulier dans un contexte de résistance croissante aux antibiotiques.

Par ailleurs, l'extrait hydro-éthanolique s'est révélé riche en polyphénols et flavonoïdes, avec un pouvoir antioxydant notable ($IC_{50} = 0,077$ mg/mL), ce qui confirme son intérêt en tant qu'agent antioxydant d'origine végétale.

Au-delà de leurs effets biologiques, ces extraits présentent également un potentiel d'utilisation dans le domaine agroalimentaire : grâce à leurs composés volatils et antioxydants, ils pourraient être intégrés comme conservateurs naturels, mais aussi comme améliorants sensoriels (arôme, goût) dans certaines formulations alimentaires.

Les deux méthodes d'extraction employées, bien que classiques, se sont montrées efficaces pour obtenir des extraits bioactifs exploitables. Toutefois, leur rendement et leur efficacité peuvent varier selon la nature de l'extrait recherché (volatil ou hydrosoluble), ce qui justifie un choix adapté selon l'usage ciblé (pharmaceutique, alimentaire, cosmétique...).

En conclusion, le basilic local représente une ressource naturelle prometteuse pour le développement de produits antimicrobiens, antioxydants ou alimentaires fonctionnels. Des analyses plus poussées de composition (HPLC, GC-MS) et des validations *in vivo* seraient nécessaires pour confirmer son innocuité et son efficacité dans des applications concrètes.

*Références
bibliographiques*

5. Références bibliographiques

- Ababutain, I., 2019. Antimicrobial Activity and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis of Saudi Arabian *Ocimum basilicum* Leaves Extracts. *J. Pure Appl. Microbiol.* 13, 823–833. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.2.17>
- Abed, K.M., Kurji, B., Abdulmajeed, B., 2018. Extraction of *Ocimum basilicum* Oil by Solvents Methods. *Asian J. Chem.* 30. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2018.21032>
- Ahmad, I., Al-dolaimy, F., Kzar, M.H., Kareem, A.T., Mizal, T.L., Omran, A.A., Alazbjee, A.A.A., Obaidur Rab, S., Eskandar, M., Alawadi, A.H., Alsalamy, A., 2024. Microfluidic-based nanoemulsion of *Ocimum basilicum* extract: Constituents, stability, characterization, and potential biomedical applications for improved antimicrobial and anticancer properties. *Microsc. Res. Tech.* 87, 411–423. <https://doi.org/10.1002/jemt.24444>
- Ahmed, A.F., Attia, F.A.K., Liu, Z., Li, C., Wei, J., Kang, W., 2019. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Food Sci. Hum. Wellness* 8, 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.004>
- Akshaya, A., Sivapriya, S., Praneesh, S., 2024. Extraction of *Ocimum Basilicum* and Its Application in Synthesis of Transdermal Patches for Medical Applications. *Int. J. Pharm. Res. Appl.* 09, 116–121. <https://doi.org/10.35629/4494-0906116121>
- Alanazi, H.H., Elasbali, A.M., Alanazi, M.K., El Azab, E.F., 2023. Medicinal Herbs: Promising Immunomodulators for the Treatment of Infectious Diseases. *Molecules* 28, 8045. <https://doi.org/10.3390/molecules28248045>
- Ale, Y., Rawat, S., Nidhi, N., Jakhmola, V., n.d. Pharmacological Aspects of *Ocimum Basilicum* Essential Oil [WWW Document]. ResearchGate. URL https://www.researchgate.net/publication/374854269_Pharmacological_Aspects_of_Ocimum_Basilicum_Essential_Oil (accessed 2.9.25).
- Al-huqail, A., El-Dakak, R., Sanad, M., Badr, R., Ibrahim, M., Soliman, D., Khan, F., 2020. Effects of Climate Temperature and Water Stress on Plant Growth and Accumulation of Antioxidant Compounds in Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leafy Vegetable. *Scientifica* 2020, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/3808909>

- Ali, M., Latif, A., Rehman, N.U., Zaman, K., Mehsud, S., Akbar, N., Ahmad, M., Arfan, M., 2020. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities on various extracts of Himalayan medicinal plants. *Pak. J. Pharm. Sci.* 33, 695–703.
- Al-Maskri, A.Y., Hanif, M.A., Al-Maskari, M.Y., Abraham, A.S., Al-sabahi, J.N., Al-Mantheri, O., 2011. Essential Oil from *Ocimum basilicum* (Omani Basil): A Desert Crop. *Nat. Prod. Commun.* 6, 1934578X1100601020. <https://doi.org/10.1177/1934578X1100601020>
- Amin, M., Akrami, S., Haghparasty, F., Hakimi, A., 2023. In vitro antibacterial activities of essential oils and extracts of six herbals against gram-positive and gram-negative bacteria. *Toxicol. Environ. Health Sci.* 15, 53–60. <https://doi.org/10.1007/s13530-022-00160-7>
- Antonescu, A.-I.M., Antonescu, A., Miere, F.G., Fritea, L., Teodorescu, A.G., Vicas, L., Brihan, I., Domuta, M., Zdrinca, Mihaela, Zdrinca, Marcel, Dobjanschi, L., Ganea, M., Cavalu, S., 2022. Novel Topical Formulations Based on *O. Basilicum* and *T. Pratense* : Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Inflammatory Effect. *Pharmacophore* 13, 80–90. <https://doi.org/10.51847/c9XdRSVT7W>
- Anwar, F., Alkharfy, K.M., Mehmood, T., Bakht, M.A., Najeeb-ur-Rehman, 2021. Variation in Chemical Composition and Effective Antibacterial Potential of *Ocimum basilicum* L. Essential Oil Harvested from Different Regions of Saudi Arabia. *Pharm. Chem. J.* 55, 187–193. <https://doi.org/10.1007/s11094-021-02384-2>
- Avetisyan, A., Markosian, A., Petrosyan, M., Sahakyan, N., Babayan, A., Aloyan, S., Trchounian, A., 2017. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC Complement. Altern. Med.* 17, 60. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1587-5>
- Azizah, N.S., Irawan, B., Kusmoro, J., Safriansyah, W., Farabi, K., Oktavia, D., Doni, F., Miranti, M., 2023. Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.)—A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacological Activities, and Biotechnological Development. *Plants* 12, 4148. <https://doi.org/10.3390/plants12244148>
- Balakrishnan, P., Ramalingam, P.S., Nagarasan, S., Ranganathan, B., Gimbun, J., Shanmugam, K., 2018. A Comprehensive Review on *Ocimum basilicum*. *J. Nat. Remedies* 18, 71–85. <https://doi.org/10.18311/jnr/2018/21324>
- Barouki, R., 2006. Stress oxydant et vieillissement 22.

- Belhouala, K., Benarba, B., 2021. Medicinal Plants Used by Traditional Healers in Algeria: A Multiregional Ethnobotanical Study. *Front. Pharmacol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.760492>
- Bensaid, A., Boudard, F., Servent, A., Morel, S., Portet, K., Guzman, C., Vitou, M., Bichon, F., Poucheret, P., 2022. Differential Nutrition-Health Properties of *Ocimum basilicum* Leaf and Stem Extracts. *Foods* 11, 1699. <https://doi.org/10.3390/foods11121699>
- Berechet, M.D., Simion, D., Constantinescu, R.R., Stanca, M., Alexe, C.A., 2022. Active Principles in Basil Essential Oil – *Ocimum basilicum* L. Cotton Linings with Antibacterial Properties, in: Proceedings of the 9th International Conference on Advanced Materials and Systems. Presented at the The 9th International Conference on Advanced Materials and Systems, INCDTP - Leather and Footwear Research Institute (ICPI), Bucharest, Romania, pp. 103–108. <https://doi.org/10.24264/icams-2022.II.3>
- Bharadvaja, N., 2017. *Centella Asiatica*: A Pharmaceutically Important Medicinal Plant. *Curr. Trends Biomed. Eng. Biosci.* 5. <https://doi.org/10.19080/CTBEB.2017.05.555661>
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* 181, 1199–1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bubonja-Šonje, M., Knežević, S., Abram, M., 2020. Challenges to Antimicrobial Susceptibility Testing of Plant-derived Polyphenolic Compounds. *Arch. Ind. Hyg. Toxicol.* 71, 300–311. <https://doi.org/10.2478/aiht-2020-71-3396>
- Cadet, E., Assonfack, D.J., Yendze, A.W.B., Mpude, L., Matieta, V.Y., Kuete, J.R.N., Megaptche, J.F., Bonsou, I.N., Kuete, V., Mbaveng, A.T., 2024. Antibacterial activity and antibiotic-potentiating effects of methanol extracts from *Ocimum basilicum* and *Sarcocephalus latifolius* against multidrug-resistant Gram-negative bacteria overexpressing efflux pumps. *Investig. Med. Chem. Pharmacol.* 7, 1–9. <https://doi.org/10.31183/imcp.2024.00097>
- Chenni, M., El Abed, D., Rakotomanomana, N., Fernandez, X., Chemat, F., 2016. Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L.) Using Hydro-Distillation and Solvent-Free Microwave Extraction. *Mol. Basel Switz.* 21, E113. <https://doi.org/10.3390/molecules21010113>
- COL | *Ocimum basilicum* L. [WWW Document], n.d. . Cat. Life. URL <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/48GBK> (accessed 6.7.25).

- Dai, J., Mumper, R.J., 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules* 15, 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Das, U., Islam, M.S., 2019. A Review Study on Different Plants in Malvaceae Family and Their Medicinal Uses. *Am. J. Biomed. Sci. Res.* 3, 94–97.
- Desta, A., K, K.C., A.d, N.K., Cheekurumelli, P., Palleti, J.D., Hagos, S.R.Z., 2024. Physicochemical Characteristics, Chemical composition and In vitro Antioxidant activities of Essential oil from *Ocimum basilicum* L. Leaves. *Res. J. Pharm. Technol.* 17, 2352–2358. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2024.00368>
- Dhama, K., Sharun, K., Gugjoo, M.B., Tiwari, R., Alagawany, M., Iqbal Yattoo, Mohd., Thakur, P., Iqbal, H.M.N., Chaicumpa, W., Michalak, I., Elnesr, S.S., Farag, M.R., 2023. A Comprehensive Review on Chemical Profile and Pharmacological Activities of *Ocimum basilicum*. *Food Rev. Int.* 39, 119–147. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1900230>
- Eid, A.M., Jaradat, N., Shraim, N., Hawash, M., Issa, L., Shakhsher, M., Nawahda, N., Hanbali, A., Barahmeh, N., Taha, B., Mousa, A., 2023. Assessment of anticancer, antimicrobial, antidiabetic, anti-obesity and antioxidant activity of *Ocimum Basilicum* seeds essential oil from Palestine. *BMC Complement. Med. Ther.* 23, 221. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-04058-w>
- EL MOKHTARI, K., EL BROUZI, A., EL KOUALI, M., TALBI, M., 2019. Extraction and composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* collected in Morocco. *J. Anal. Sci. Appl. Biotechnol.* Vol 1, *J. Anal. Sci. Appl. Biotechnol.*, Vol 1(2), 2020, pp. 45-48 Pages. <https://doi.org/10.48402/IMIST.PRSM/JASAB-V1I2.18974>
- Elansary, H.O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., El-Ansary, D.O., Al-Mana, F.A., Mahmoud, E.A., 2020. Saudi *Rosmarinus officinalis* and *Ocimum basilicum* L. Polyphenols and Biological Activities. *Processes* 8, 446. <https://doi.org/10.3390/pr8040446>
- Eloff, J.N., 2019. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC Complement. Altern. Med.* 19, 106. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2519-3>
- Faiza Fedoul, F., Meddah, B., Larouci, M., Tir Touil, A., Merazi, Y., Bekhti, N., Piras, A., Falconieri, D., Cakmak, Y., 2022. Medicinal Applications Chemical Compositions and Biological Effects of Algerian *Ocimum basilicum* L.var Genovese with the Conversion of

Experimental Doses to Humans. J. Appl. Biotechnol. Rep. 9.
<https://doi.org/10.30491/jabr.2021.290237.1401>

Faur, A., Watz, C., Moacă, E.-A., Avram, Ș., Borcan, F., Pinzaru, I., Iftode, A., Nicolov, M., Popovici, R.A., Raica, M., Szuhane, C.A., Dehelean, C., 2020. Correlations on Phenolic Screening Related to In Vitro and In Ovo Assessment of *Ocimum basilicum* L. Hydro-Alcoholic Extracts Used as Skin Active Ingredient. *Molecules* 25, 5442.
<https://doi.org/10.3390/molecules25225442>

Fedoul, F.F., Meddah, B., Larouci, M., Tir Touil, A., Merazi, Y., Bekhti, N., Piras, A., Falconieri, D., Cakmak, Y.S., 2022. Medicinal Applications, Chemical Compositions, and Biological Effects of Algerian *Ocimum basilicum* L. var *Genovese* with the Conversion of Experimental Doses to Humans. *J. Appl. Biotechnol. Rep.* 9, 671–683.
<https://doi.org/10.30491/jabr.2021.290237.1401>

Garcia, N.G.G., Daigdigian, V.D.R., Landingin, E.J.P., Garcia, G.G., Natividad, L.R., 2023. Antibacterial Effect of Basil (*Ocimum basilicum*) and Table Salt as Alternative Disinfectants against *Staphylococcus aureus*. *Mindanao J. Sci. Technol.* 21.
<https://doi.org/10.61310/mjst.v21i2.1716>

Goudoum, A., Makambeu, N.A., Bouba, A.A., Ngassoum, M.B., Mbofung, C.M., 2017. Antioxidant Potential of *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) Essential Oil as Preservation of the Physicochemical Properties of Palm Oil During One Month. *Int. J. Nutr. Food Sci.* 6, 181–186.
<https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20170604.16>

Hafiz Rehan, N., Akhtar, S., Sestili, P., Ismail, T., Neugart, S., Qamar, M., Esatbeyoglu, T., 2022. Toxicity, Antioxidant Activity, and Phytochemicals of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves Cultivated in Southern Punjab, Pakistan. *Foods* 11, 1239.
<https://doi.org/10.3390/foods11091239>

Hazen, K.C., 2013. Influence of DMSO on antifungal activity during susceptibility testing in vitro. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 75, 60–63.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.002>

Hossain, M.A., Kabir, M. J., Salehuddin, S. M., Rahman, S. M. Mizanur, Das, A. K., Singha, Sandip Kumar, Alam, Md. Khorshed, and Rahman, A., 2010. Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in Bangladesh. *Pharm. Biol.* 48, 504–511. <https://doi.org/10.3109/13880200903190977>

- Hussain, A.I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S.T., Przybylski, R., 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chem. 108, 986–995. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- Jeeno, P., Yadoung, S., Yana, P., Hongsibsong, S., 2023. Phytochemical Profiling and Antioxidant Capacity of Traditional Plants, Northern Thailand. Plants Basel Switz. 12, 3956. <https://doi.org/10.3390/plants12233956>
- Kukhtenko, H., Bevz, N., Konechnyi, Y., Kukhtenko, O., Jasicka-Misiak, I., 2024. Spectrophotometric and Chromatographic Assessment of Total Polyphenol and Flavonoid Content in Rhododendron tomentosum Extracts and Their Antioxidant and Antimicrobial Activity. Molecules 29, 1095. <https://doi.org/10.3390/molecules29051095>
- Lestari, I.C., Lindarto, D., Ilyas, S., Widyawati, T., Mustika, S.E., 2023. Yield Analysis and Phytochemical Screening of Ethanol Extract of Phaleria macrocarpa Leaves. Bul. Farmatera 8, 28–35. <https://doi.org/10.30596/bf.v8i1.11724>
- Li, C., Liu, Z., Zhao, J., Zhao, Z.-M., 2024. Mechanisms and strategies for regulating sporulation and germination of *Bacillus subtilis* to enhance probiotic effects. Ind. Crops Prod. 220, 119178. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119178>
- Lu, T., Wang, Q., Cao, Q., Xia, Y., Xun, L., Liu, H., 2023. The Pleiotropic Regulator AdpA Regulates the Removal of Excessive Sulfane Sulfur in Streptomyces coelicolor. Antioxidants 12, 312. <https://doi.org/10.3390/antiox12020312>
- Matole, V., Thorat, Y., Ghurghure, S., Ingle, S., Birajdar, A., Nangare, G., Safwan, M., Madur, S., Patil, S., Bagalkote, Z., Sakhare, A., 2021. A Brief Review on Herbal Medicines. Res. J. Pharmacogn. Phytochem. 13, 101–102. <https://doi.org/10.52711/0975-4385.2021.00016>
- Maurent, K., n.d. Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde: évaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.
- Miraj, S., Kiani, S., 2016. Study of pharmacological effect of *Ocimum basilicum*: A review.
- Mkaddem Mounira, G., Ahlem, Z., Abdallah Mariem, B., Romdhane, M., K. Okla, M., Al-Hashimi, A., Alwase, Y.A., Madnay, M.M., Abdelgayed, G., Asard, H., Beemster, G.T.S., Abdelgawad, H., 2022. Essential Oil Composition and Antioxidant and Antifungal Activities

of Two Varieties of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) at Two Phenological Stages. *Agronomy* 12, 825. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040825>

Müller, L., Fröhlich, K., Böhm, V., 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chem.* 129, 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.045>

Nadeem, H.R., Akhtar, S., Sestili, P., Ismail, T., Neugart, S., Qamar, M., Esatbeyoglu, T., 2022. Toxicity, Antioxidant Activity, and Phytochemicals of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves Cultivated in Southern Punjab, Pakistan. *Foods* 11, 1239. <https://doi.org/10.3390/foods11091239>

Nazir, U., 2021. Biochemical potential and screening of bioactive components of *Ocimum basilicum*. *Pure Appl. Biol.* 10. <https://doi.org/10.19045/bspab.2021.100105>

Nguyen, V.T., Nguyen, N.Q., Thi, N.Q.N., Thi, C.Q.N., Truc, T.T., Nghi, P.T.B., 2021. Studies on chemical, polyphenol content, flavonoid content, and antioxidant activity of sweet basil leaves (*Ocimum basilicum* L.). *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 1092, 012083. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1092/1/012083>

Okpo, S.O., Edeh, I., 2022. Parametric Study on the Extraction of Essential Oil from Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*). *Int. J. Food Sci. Agric.* 6. <https://doi.org/10.26855/ijfsa.2022.09.007>

Pastre, J., n.d. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques.

Pirbalouti, A.G., Malekpoor, F., Salimi, A., 2017. Chemical composition and yield of essential oil from two Iranian species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*). *Trends Phytochem. Res.* 1, 3–8.

Prinsi, B., Morgutti, S., Negrini, N., Faoro, F., Espen, L., 2019. Insight into Composition of Bioactive Phenolic Compounds in Leaves and Flowers of Green and Purple Basil. *Plants* 9, 22. <https://doi.org/10.3390/plants9010022>

Purushothaman, B., Department of Biotechnology, Periyar Maniammai Institute of Science & Technology, Thanjavur – 613403, Tamilnadu, India, TANBIO R&D Solution, Periyar Technology Business Incubator, Thanjavur – 613403, Tamilnadu, India, Srinivasan, R.P.,

- TANBIO R&D Solution, Periyar Technology Business Incubator, Thanjavur – 613403, Tamilnadu, India, Suganthi, P., TANBIO R&D Solution, Periyar Technology Business Incubator, Thanjavur – 613403, Tamilnadu, India, Ranganathan, B., Palms Connect Sdn Bhd, Shah Alam 40460, Selangor Darul Ehsan, Malaysia, Palms Connect LLC, Showcase Lane, Sandy, UT 84094, USA, Gimbun, J., Centre of Excellence for Advanced Research in Fluid Flow (CARIFF), Universiti Malaysia Pahang, Gambang 26300, Pahang Malaysia, Shanmugam1, K., Department of Biotechnology, Periyar Maniammai Institute of Science & Technology, Thanjavur – 613403, Tamilnadu, India, 2018a. A Comprehensive Review on *Ocimum basilicum*. J. Nat. Remedies 18, 71–85. <https://doi.org/10.18311/jnr/2018/21324>
- Purushothaman, B., PrasannaSrinivasan, R., Suganthi, P., Ranganathan, B., Gimbun, J., Shanmugam, K., 2018b. A Comprehensive Review on *Ocimum basilicum*. J. Nat. Remedies 71–85. <https://doi.org/10.18311/jnr/2018/21324>
- Qasem, A., Assaggaf, H., Mrabti, H.N., Minshaw, F., Rajab, B.S., Attar, A.A., Alyamani, R.A., Hamed, M., Mrabti, N.N., Baaboua, A.E., Omari, N.E., Alshahrani, M.M., Awadh, A.A.A., Sheikh, R.A., Ming, L.C., Goh, K.W., Bouyahya, A., 2023. Determination of Chemical Composition and Investigation of Biological Activities of *Ocimum basilicum* L. Molecules 28, 614. <https://doi.org/10.3390/molecules28020614>
- Rezzoug, M., Bakchiche, B., Gherib, A., Roberta, A., FlaminiGuido, Kilinçarslan, Ö., Mammadov, R., Bardaweel, S.K., 2019. Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. BMC Complement. Altern. Med. 19, 146. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2556-y>
- Romano, R., De Luca, L., Aiello, A., Pagano, R., Di Pierro, P., Pizzolongo, F., Masi, P., 2022. Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves as a Source of Bioactive Compounds. Foods 11, 3212. <https://doi.org/10.3390/foods11203212>
- Saber, M., n.d. Etude phytochimique et contribution à la valorisation de *Tetradlea articulata* Masters et de ses sous-produits.
- Sahu, A., Nayak, G., Bhuyan, S.K., Bhuyan, R., Kar, D., Kuanar, A., 2024. Antioxidant and antimicrobial activities of *Ocimum basilicum* var. *thyrsiflora* against some oral microbes. Multidiscip. Sci. J. 6, 2024026–2024026. <https://doi.org/10.31893/multiscience.2024026>

- Saikumari, D., K Shiva Rani, S., Saxena, N., 2021. A Review: Role of Medicinal Plants in Traditional Medicine. Int. J. Sci. Res. IJSR 10, 251–255. <https://doi.org/10.21275/SR211101022010>
- Sari, K.R.P., Ikawati, Z., Danarti, R., Hertiani, T., 2023. Micro-titer plate assay for measurement of total phenolic and total flavonoid contents in medicinal plant extracts. Arab. J. Chem. 16, 105003. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105003>
- Sayed, S.F., 2023. Chapter 19 - Herbal drugs as antibiotics, in: Dhara, A.K., Nayak, A.K., Chattopadhyay, D. (Eds.), Antibiotics - Therapeutic Spectrum and Limitations, Developments in Microbiology. Academic Press, pp. 479–532. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95388-7.00011-5>
- Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W.A., Kchouk, M.E., Marzouk, B., 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). Ind. Crops Prod. 30, 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.010>
- Semeniuc, C.A., Pop, C.R., Rotar, A.M., 2017. Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. J. Food Drug Anal. 25, 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.06.002>
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., De, B., n.d. FREE RADICALS, ANTIOXIDANTS, DISEASES AND PHYTOMEDICINES: CURRENT STATUS AND FUTURE PROSPECT 3.
- Senesse, P., Bachmann, P., Bensadoun, R.J., Besnard, I., Bourdel-Marchasson, I., Bouteloup, C., Crenn, P., Goldwasser, F., Guérin, O., Latino-Martel, P., Meuric, J., Michallet, M., Vasson, M.P., Hébuterne, X., 2012. Nutrition chez le patient adulte atteint de cancer : textes courts. Nutr. Clin. Métabolisme 26, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2012.10.002>
- Shahrajabian, M.H., Sun, W., Cheng, Q., 2020. Chemical components and pharmacological benefits of Basil (*Ocimum basilicum*): a review. Int. J. Food Prop. 23, 1961–1970. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1828456>
- Shraim, A.M., Ahmed, T.A., Rahman, M.M., Hijji, Y.M., 2021. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. LWT 150, 111932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>

- Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., Kowalczyk, E., 2013. The Potential of Use Basil and Rosemary Essential Oils as Effective Antibacterial Agents. *Molecules* 18, 9334–9351. <https://doi.org/10.3390/molecules18089334>
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Srivastava, A., Gupta, A., Sarkar, S., Lal, R.K., Yadav, A., Gupta, P., Chanotiya Frsc, C.S., 2018. Genetic and chemotypic variability in basil (*Ocimum basilicum* L.) germplasm towards future exploitation. *Ind. Crops Prod.* 112. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.009>
- Valdi, D.S., Florentine, N.F., Arlette, D.Z., Landry, K.G., Rosette, N., Dimitri, N.T., Ascension, N.M., 2023. INVESTIGATING THE ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT, AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF AQUEOUS AND HYDROETHANOLIC EXTRACTS OF OCIMUM BASILICUM AND OCIMUM GRATISSIMUM ON SOME GERMS RESPONSIBLE FOR AEROBIC VAGINITIS. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 15, 21–28. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2023v15i3.47116>
- Vassilina, G., Sabitova, A., Idrisheva, Z., Zhumabekova, A., Kanapiyeva, F., Orynassar, R., Zhamanbayeva, M., Kamalova, M., Assilbayeva, J., Turgumbayeva, A., Abilkassymova, A., n.d. Bio-active compounds and major biomedical properties of basil (*Ocimum basilicum*, lamiaceae). *Nat. Prod. Res.* 0, 1–19. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2357662>
- Wiederhold, N.P., 2009. Paradoxical echinocandin activity: a limited in vitro phenomenon? *Med. Mycol.* 47, S369–S375. <https://doi.org/10.1080/13693780802428542>
- Xie, J., Schaich, K.M., 2014. Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) Assay for Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* 62, 4251–4260. <https://doi.org/10.1021/jf500180u>
- Yahya, N.Z., 2012. In –vitro and in-vivo evaluation of antimicrobial effect of leaves *Ocimum basilicum* of ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* 4.
- Zahran, E.M., Abdelmohsen, U.R., Khalil, H.E., Desoukey, S.Y., Fouad, M.A., Kamel, M.S., 2020. Diversity, phytochemical and medicinal potential of the genus *Ocimum* L. (Lamiaceae). *Phytochem. Rev.* 19, 907–953. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09690-9>

Zaouali, Y., Chograni, H., Trimech, R., Boussaid, M., 2013. Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. *typicus* Batt. organs during growth and incidence on the antioxidant activity. Ind. Crops Prod. 43, 412–419. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.044>

Zhakupbekov, K., Turgumbayeva, A., Akhelova, S., Bekmuratova, K., Blinova, O., Utegenova, G., Shertaeva, K., Sadykov, N., Tastambek, K., Saginbazarova, A., Urazgaliyev, K., Tulegenova, G., Zhalimova, Z., Karasova, Z., 2024. Antimicrobial and Other Pharmacological Properties of *Ocimum basilicum*, Lamiaceae. Molecules 29, 388. <https://doi.org/10.3390/molecules29020388>

Résumé

Résumé

Ce travail a porté sur l'évaluation des propriétés biologiques de deux extraits d'*Ocimum basilicum* L. : l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et l'extrait hydro-éthanolique préparé par macération. Les deux extraits ont été testés *in vitro* par diffusion sur gélose contre quatre souches microbiennes de référence : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. Les résultats ont révélé une activité antimicrobienne particulièrement marquée contre *S. aureus* (22,0 mm) et *C. albicans* (16,0 mm). L'extrait hydro-éthanolique a également fait l'objet d'une évaluation antioxydante, mettant en évidence une teneur élevée en composés phénoliques (216 mg EAG/g ES) et flavonoïdiques (77,68 mg EQ/g ES), ainsi qu'un pouvoir antioxydant notable ($IC_{50} = 0,077$ mg/mL) mesuré par le test DPPH. Ces résultats soulignent la richesse bioactive du basilic local et son intérêt potentiel en tant que source naturelle d'agents antimicrobiens et antioxydants.

Mots-clefs : *Ocimum basilicum*, activité antimicrobienne, activité antioxydante, huile essentielle, extrait hydro-éthanolique.

Abstract

This study focused on evaluating the biological properties of two extracts from *Ocimum basilicum* L.: an essential oil obtained by hydrodistillation and a hydroethanolic extract prepared by maceration. Both extracts were tested *in vitro* using the agar diffusion method against four reference microbial strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Candida albicans*. The results revealed a particularly strong antimicrobial activity against *S. aureus* (22.0 mm) and *C. albicans* (16.0 mm). The hydroethanolic extract was also subjected to antioxidant analysis, showing a high content of phenolic compounds (216 mg GAE/g dry extract) and flavonoids (77.68 mg QE/g dry extract), along with a notable antioxidant capacity ($IC_{50} = 0.077$ mg/mL) as measured by the DPPH assay. These findings highlight the rich bioactive potential of local basil and its promise as a natural source of antimicrobial and antioxidant agents.

Keywords : *Ocimum basilicum*, antimicrobial activity, antioxidant activity, essential oil, hydro-ethanolic extract.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم الخصائص البيولوجية لنوعين من المستخلصات المستخلصة من *Ocimum basilicum* L. (الريحان): الزيت العطري المستخرج بالتقطير المائي، والمستخلص المائي-الإيثانولي المحضر بالنقع. تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات لكلا المستخلصين في المختبر باستخدام طريقة النشر على الوسط الصلب، ضد أربع سلالات ميكروبية مرجعية: *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Bacillus subtilis*، و *Candida albicans*. كشفت النتائج عن نشاط مضاد للميكروبات ملحوظ خصوصاً ضد *S. aureus* (22.0 ملم) و *C. albicans* (16.0 ملم). كما خضع المستخلص المائي-الإيثانولي لتقييم النشاط المضاد للأكسدة، حيث أظهر محتوى مرتفعاً من المركبات الفينولية (216 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غ من المستخلص الجاف) والفلافونويدات (77.68 ملغ مكافئ كيرسيتين/غ من المستخلص الجاف)، إلى جانب قدرة مضادة للأكسدة معتبرة ($IC_{50} = 0.077$ ملغ/مل) حسب اختبار DPPH. تبرز هذه النتائج الغنى البيولوجي للريحان المحلي، وتؤكد إمكانيته كمصدر طبيعي واعد لعوامل مضادة للميكروبات ومضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الريحان، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للأكسدة، الزيت العطري، المستخلص الهيدرو-إيثانولي.

<p>5</p> <p>Année universitaire : 2024-2025</p>	<p>Présenté par : FARAH Chiraz LEZZAR Randa Souha KECHOUDA Minna Wissal</p>
<p align="center">Recherche de potentialités d'<i>Ocimum basilicum</i> : Étude des propriétés antimicrobiennes et alimentaires de la plante</p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et Biothérapie</p>	
<p>Ce travail a porté sur l'évaluation des propriétés biologiques de deux extraits d'<i>Ocimum basilicum</i> L. : l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation et l'extrait hydro-éthanolique préparé par macération. Les deux extraits ont été testés <i>in vitro</i> par diffusion sur gélose contre quatre souches microbiennes de référence : <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Candida albicans</i>. Les résultats ont révélé une activité antimicrobienne particulièrement marquée contre <i>S. aureus</i> (22,0 mm) et <i>C. albicans</i> (16,0 mm). L'extrait hydro-éthanolique a également fait l'objet d'une évaluation antioxydante, mettant en évidence une teneur élevée en composés phénoliques (216 mg EAG/g ES) et flavonoïdiques (77,68 mg EQ/g ES), ainsi qu'un pouvoir antioxydant notable ($IC_{50} = 0,077$ mg/mL) mesuré par le test DPPH. Ces résultats soulignent la richesse bioactive du basilic local et son intérêt potentiel en tant que source naturelle d'agents antimicrobiens et antioxydants.</p>	
<p>Mots-clefs : <i>Ocimum basilicum</i>, activité antimicrobienne, activité antioxydante, huile essentielle, extrait hydro-éthanolique.</p>	
<p>Laboratoire de recherche : laboratoire de LaMyBAM (U Constantine 1 Frères Mentouri).</p>	
<p>Présidente : Dr. KHELILI Kaoutar (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p> <p>Encadrant : Pr. KACEM CHAOUICHE Norednine (Professeur - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p> <p>Co-encadrante : Dr. GARES Maroua (U Constantine 1 Frères Mentouri).</p> <p>Examinatrice : Dr. ADOUI Mounira (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p>	