République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Echahid Echeikh Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

En : Sciences biologiques

Option : Biologie moléculaire cellulaire

Par :

M^elle^ Zerifi Salma & M^elle^ Bensallem Maria

Intitulé :

Caractérisation physico-chimique et activités biologiques des huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* sur des bactéries isolées de la pathologie

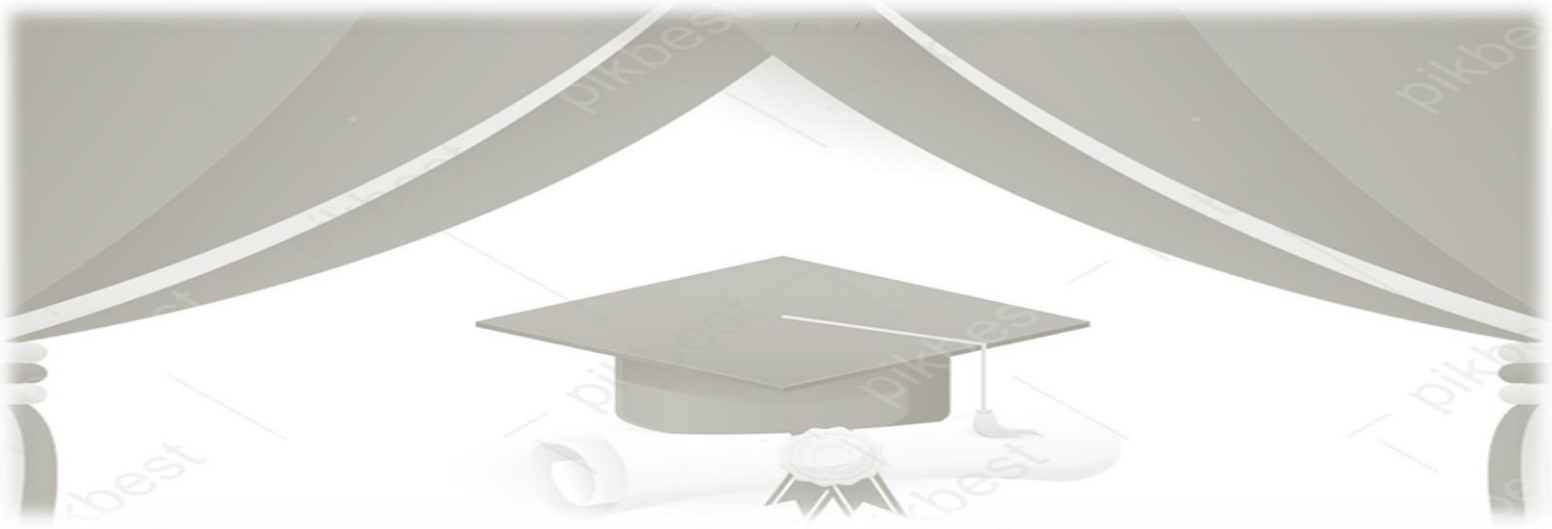
Devant le jury :

Dr. Gasmi Salim	MCA	Université de Tébessa	**Président**
Dr. Nadia Bouguerra	MCB	Université de Tébessa	**Rapporteuse**
Pr. Djabri Belgacem	Pr	Université de Tébessa	**Co-Rapporteur**
Dr. Saoussene Smaali	MCA	Université de Tébessa	**Examinatrice**

Date de soutenance : 12/06/2025


بسم الله الرحمن الرحيم

"Il n'y a pas d'ascenseur pour la réussite, il faut prendre l'escalier"



REMERCIEMEN

Tout d'abord, nous remercions Dieu, qui a affermi nos pas et nous a donné la force et la patience pour achever ce modeste travail.

Ensuite, nous adressons nos sincères remerciements à Madame le **Dr**. **Nadia Bouguerra** d'avoir accepté de nous encadrer et de superviser ce travail, malgré sa fatigue et les circonstances particulières.

Nous exprimons également notre profonde gratitude à **Pr**. **Djabri Belgacem** pour son aide précieuse, qui nous a permis d'achever ce travail dans les meilleures conditions.

Nous remercions chaleureusement les membres de jury, la brillante **Dr**. **Saoussene Semaali** et **Dr**. **Salim Gasmi**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche, en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs remarques et suggestions pertinentes.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), ainsi qu'à tous les membres de l'université Chahid Cheikh Larbi Tébessa, de manière générale.

Enfin, un grand merci à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus, ne serait-ce que par une prière ou une parole bienveillante. Merci du fond du cœur.

اهداء

بسم الله خالقي وميسر أموري وعصمة أمري ، لك اللهم الحمد والإمتنان في تثمين هذه الخطوة في مسيرتي الجامعية بمذكرتي هذه ثمرة الجهد والنجاح بفضله تعالى مهداة إلى:

روح جدتي الطاهرة **مباركية نجمة** إلى من عاشت تتمنى رؤيتي ناجحة إلى من كان دعائها ولزال يرافقني عند كل صعب إلى من كانت يديها أحن من لامس تعبي كل حروفي لا تفيك رحمك الله يا اغلى من روحي

إلى موطن الدفىء والبر والأمان أبي الغالي إلى من شجعني ودعمني واحاط بي من كل صوب صديقي وليس والدي **عبد القادر زريفي**

إلى جنة الله فوق الارض إلى من كافحت وسهرت وتألمت من أجلي إلى من رافقها القلق أكثر مني فرافقتني بالدعاء جهرا وسرا حتى وفقني الله أمي الغالية **صيفاوي سعيدة**

إلى من قال فيه الله "سنشدك عضدك بأخيك " أخي الغالي ورفيق دربي وملاذي عند كل صعب سندي وروح قلبي **إسلام زريفي**

إلى ملاك جميل زين حياتي حتى بشغبهم أحيانا الى ازهار البيت اخواتي الصغار **ايناس، نهال** حفظهم الله

إلى رفيقة دربي منذ الصغر من شاركتني لعب التراب وقهقهة المراهقة وشباب الجامعة من كانت معي في كل تفصيل من حياتي من جبرت قلبي ورممت روحي إلى خليلتي **صوان أسماء**

إلى من تقف الكلمات عاجزة أمام وصفها إلى من كانت أستاذتي وأصبحت أختي ورفيقتي وأمي الثانية من دعمتني وشجعتني من آمنت بكل قدراتي إلى أحن خلق ربي وأعزهم جميلتي وحبيبة قلبي **وفاء العلمي**

إلى صديقتي الغالية وأختي إلى من اهتمت لكل تفصيل في حياتي وشاركتني اياه دون طلب مني بل كرما وحبا منها الى الغالية ابنة الغالي **لمياء بولعراس**

إلى صديقتي التي شاركتني تفاصيل المذكرة وأيام الجامعة الحلوة والمرة بن **سالم ماريا**

إلى كل صديقاتي إلى من خففوا عني مشقة الطريق ولو بدعوة خير وإلى الجميلات : **إكرام وعبير** بارك الله فيهن

إلى من تحملت مني كل تعب بقلب رحب من ساعدتني دون كلل ولا ملل من سهرت معي وشجعتني إلى الجميلة الحنونة **لعجال مارية** جبر الله خاطرها

إلى نفسي التي صبرت وتعبت وقاومت حتى وصلت إلى مرادها رغم كل ألم و بتوفيق من الله عز وجل، إلى كل عثرات الحياة القاسية إلى كل الظروف التي جعلتني أقوى إلى كل من زرع الشوك في طريقي وصعب علي أمري وراهن على فشلي حتى اتحدى أكثر شكرا من أعماق قلبي

وأخيرا إلى وتين القلب وروح الروح إلى من فرقتني عنها الحياة والقدر إلى جرح لن يطيب مهما مر الزمن إلى ابنة قلبي **خالدي سليمة** اعلم أن دعائك لم يفارقني في ظهر الغيب وهذا يكفيني أحبك رغم كل شيء

و سلام ختام، وصلى الله على سيدنا محمد وآله وصحبه ومن تبعه بإحسان إلى يوم الدين

سلمى زريفي

اهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله الذي بنعمته تتمّ الصالحات، وبفضله وتوفيقه أنجز هذا العمل المتواضع.

إليه سبحانه أرفع أسمى آيات الحمد والشكر، فقد كان عوني ورفيقي في كل خطوة، وهو نعم المولى ونعم النصير.

إلى سندي الأول، والدي العزيز **حسين**، الذي لم يبخل عليّ بدعمه وحكمته وتشجيعه، أمدّ له كلمات الشكر امتنانًا ومحبة.

إلى نبع الحنان، والدتي الغالية **سعاد**، التي كانت بدعائها ودعمها نور طريقي، كل التقدير والعرفان.

إلى أخواتي الحبيبتين **تسنيم وجوري**، أنتما البهجة التي ترافقني دومًا، شكرًا لوجودكما في حياتي.

أهدي هذا العمل أيضًا إلى بنات خالاتي **ريان ولينا**، أنتما أكثر من قريبات، أنتما رفيقتا القلب.

وإلى رفيقة دربي في هذا العمل، صديقتي العزيزة **سلمى**، التي كانت دومًا كتفًا أستند إليه.

ولا أنسى صديقاتي المخلصات: **أميرة، آية، إسراء، وريحان**، لقد كنتنّ خير صحبة في هذا المشوار، وبدونكنّ لم يكن الطريق ليحلو.

لكل من ساندني بكلمة، بدعاء، بابتسامة، أو بلحظة صبر...

لكم جميعًا مني كل الحب والشكر

ماريا

Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques conventionnelles constitue un problème de santé publique. Par conséquent, le recours à des stratégies antimicrobiennes alternatives est devenu obligatoire. Dans ce sens, cette présente étude a eu pour but de déterminer les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles extraites à partir *d'Origanum glandulosum* **(ZAATAR),** et d'évaluer leur activité antioxydante et antimicrobienne contre des souches bactériennes isolées de maladies infectieuses.

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation (Clevenger). Certaines caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* ont été mesurés (densité relative, couleur, miscibilité, indice d'acide et indice de peroxyde). L'activité antioxydante de ces huiles a été évaluée par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH. L'activité antibactérienne a été évaluée par deux techniques aromatogramme et atmosphérogramme sur des isolats bactériennes cliniques, incluant trois souches de chaque espèces : *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

Le rendement d'extraction des huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* était de 2,63 %. Les caractéristiques physico-chimiques étaient comme suit : densité relative = 1,54 g/mL, couleur = 38,67. miscibilité = 1 mL, indice d'acide = 1,12, indice de peroxyde = 2 méq O_2/kg. L'étude de l'activité antioxydante a révélé que les huiles essentielles possèdent un potentiel antioxydant modéré comparativement à celui de la vitamine C (IC_{50}=710,58 µg/mL vs IC_{50}= 281,72 µg/mL) respectivement. La méthode de diffusion sur milieu solide ainsi que le test volatile ont montré une excellente activité antibacteriennes des huiles essentielles vis à vis des *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec des diamètres varient entre (38mm et 50mm) et (25mm et 46mm) respectivement, une faible activité a été enregistré avec deux *Pseudomenas aeruginosa* (≤ 6 mm et 10mm). Cette étude suggère que les huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* pourraient être une alternative recommandée dans certains protocoles thérapeutiques contre les infections bactériennes ou les maladies liées au stress oxydatif.

Mots-clés : *Origanum glandulosum,* rendement, propriétés physico-chimiques, activité antioxydante, aromatogramme, atmosphérogramme.

Abstract

The growing resistance of bacteria to conventional antibiotics poses a significant public health problem. Consequently, the adoption of alternative antimicrobial strategies has become imperative. In this context, the aim of this study was to determine the physicochemical characteristics of essential oils extracted from *Origanum glandulosum* **(ZAATAR),** and to evaluate their antioxidant and antimicrobial activity against bacterial strains isolated from infectious diseases.

The essential oils were extracted by hydrodistillation (Clevenger apparatus). Several physicochemical characteristics of *Origanum glandulosum* essential oils were measured, including relative density, color, miscibility, acid value, and peroxide value. The antioxidant activity of these oils was assessed using the DPPH free radical scavenging method. The antibacterial activity was evaluated by two techniques, aromatogramme (solid medium diffusion) and atmospherogramme (volatile test), on clinical bacterial isolates, including three strains of each species: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa,* and *Escherichia coli.*

The extraction yield of *Origanum glandulosum* essential oils was 2.63%. The physicochemical characteristics were as follows: relative density = 1.54 g/mL, color = 38.67, miscibility = 1 mL, acid value = 1.12 and peroxide value = 2 meq O_2/kg. The study of antioxidant activity revealed that the essential oils possess a moderate antioxidant potential compared to that of vitamin C (IC_{50} = 710.58 µg/mL vs IC_{50} = 281.72 µg/mL, respectively). Both the solid medium diffusion method and the volatile test showed excellent antibacterial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, with inhibition diameters ranging between (38 mm and 50 mm) and (25 mm and 46 mm) respectively. A weak activity was recorded with two *Pseudomonas aeruginosa* strains (≤ 6 mm and 10 mm). This study suggests that *Origanum glandulosum* essential oils could be recommended as an alternative in certain therapeutic protocols against bacterial infections or oxidative stress-related diseases.

Keywords: *Origanum glandulosum*, yield, physicochemical properties, antioxidant activity, aromatogramme, atmospherogramme.

التلخيص

تُعد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية التقليدية مشكلة صحية عامة متزايدة. ولذلك، أصبح اللجوء إلى استراتيجيات بديلة لمكافحة الميكروبات أمرًا إلزاميًا. في هذا السياق، هدفت هذه الدراسة إلى تحديد الخصائص الفيزيائية الكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة من (*Origanum glandulosum*) **(زعتر)**،وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات ضد السلالات البكتيرية المعزولة من الأمراض المعدية.

تم استخلاص الزيوت الأساسية بواسطة التقطير المائي (جهاز Clevenger). تم قياس بعض الخصائص الفيزيائية الكيميائية للزيوت الأساسية *Origanum glandulosum* (الكثافة النسبية، اللون، قابلية الامتزاج، الرقم الحمضي، ورقم البيروكسيد). تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه الزيوت باستخدام طريقة اصطياد الجذور الحرة .DPPH تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا بتقنيتين: الاروماتوجرام (طريقة الانتشار على وسط صلب) والغلاف الجوي (اختبار المواد المتطايرة) على عزلات بكتيرية سريرية، بما في ذلك ثلاث سلالات من كل نوع: *(Staphylococcus aureus)*، *(Pseudomonas aeruginosa)*، *(Escherichia* coli).

بلغ عائد استخلاص الزيوت الأساسية من *Origanum glandulosum* 2.63%. كانت الخصائص الفيزيائية الكيميائية على النحو التالي: الكثافة النسبية = 1.54 جم/مل، اللون = 38.67، قابلية الامتزاج = 1 مل، الرقم الحمضي = 1.12، ورقم البيروكسيد = 2 مكافئ أكسجين/كجم. كشفت دراسة النشاط المضاد للأكسدة أن الزيوت الأساسية تمتلك قدرة معتدلة على مضادات الأكسدة مقارنة بفيتامين) C قيمة IC_{50} = 710.58 ميكروجرام/مل مقابل IC_{50} = 281.72 ميكروجرام/مل على التوالي .(أظهرت كل من طريقة الانتشار على وسط صلب واختبار المواد المتطايرة نشاطًا ممتازًا مضادًا للبكتيريا للزيوت الأساسية ضد)، (*Pseudomonas aeruginos*a)، (*Escherichia coli*)، حيث تراوح قطر الهالة المثبطة بين 38 مم و50 مم، و25 مم و46 مم على التوالي. تم تسجيل نشاط ضعيف مع سلالتين من *Staphylococcus aureus* (≥ 6 مم و10 مم).

تشير هذه الدراسة إلى أن الزيوت الأساسية *Origanum glandulosum* يمكن أن تكون بديلاً موصى به في بعض البروتوكولات العلاجية ضد الالتهابات البكتيرية أو الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: *Origanum glandulosum*، العائد، الخصائص الفيزيائية الكيميائية، النشاط المضاد للأكسدة، الأروماتوجرام، الغلاف الجو

LISTE DES FIGURES

Figure N°	Titre	Pages
1	Structure chimique de quelques monoterpènes	**13**
2	Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des huiles essentielles	**13**
3	Structure chimique de quelques composés aromatiques	**14**
4	Montage d'extraction par Hydrodistillation	**18**
5	Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	**18**
6	Extraction par percolation	**19**
7	Extraction par enfleurage	**19**
8	Extraction par micro-ondes	**20**
9	*Origanum glandulosum*	**28**
10	Herbier *d'Origanum vulgare L. subsp. glandulosun*	**29**
11	Aire de distribution du genre *Origanum*	**30**
12	Présentation de la région de Sétif	**31**
13	Broyage de *O. glandulosum*	**38**
14	Hydrodistillation type Clevenger	**39**
15	Matériel utilisé pour l'indice d'acide	**41**
16	Solution HE & éthanolique d'hydroxyde	**41**
17	Solution Rose de potassium	**41**
18	Matériel utilisé pour l'indice de peroxide	**42**
19	Iodure de potassium	**42**
20	Empois d'amidon	**42**
21	L'essai	**42**
22	L'essai à blanc	**42**
23	Spectrophotomètre UV-Visible	**43**
24	L'essai de la densité relative	**44**
25	Solution limpide	**45**
26	Réaction de test DPPH	**46**
27	L'essai de l'activité antioxydante des HEs *d'O. glandulosum*	**47**
28	Activité antibactérienne (Aromatogramme)	**49**
29	Test de l'Atmosphérogramme	**52**
30	Test d'antibiogramme	**53**
31	Huile essentielle extraite à partir *d'O. glandulosum*	**56**
32	Réduction de DPPH par l'acide ascorbique (Vit C)	**58**
33	Réduction de DPPH par les HES de *O. glandulosum*	**58**
34	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations De l'acide ascorbique (vit.C)	**59**
35	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de HEs de *O. glandulosum*	**60**
36	Souches bactériennes testes (S. aureus, E. coli, P. aeruginosa)	**61**
37	Zones d'inhibition des HEs d'O. *glandulosum* enregistrées avec les différentes souches testées A(*E.coli*), B (P. *aeruginosa*), C (S. *aureus*)	**63**
38	Zones d'inhibition des HEs *d'O. glandulosum* enregistrées avec les souches testées.	**64**
39	Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec *E. coli* testées (A, 1, 2, 3, ATB)	**65**

40	Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec S. *aureu*s testés (C,1,2,3,4 ATB)	**66**
41	Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Pseudomonas* testées (B,1,2,3 ATB)	**66**
42	Résultats de validation des tests	**67**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°	Titre	Page
01	Classification botanique *d'origanum glandulosum*	**29**
02	Composition chimique de l'huile essentielle extraite de *Origanum vulgare L. ssp. glandulosum* par CPG-SM	**33**
03	Appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction	**39**
04	Appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH	**47**
05	Isolats des bactéries collectés à partir des différentes localisations infectieuses.	**48**
06	Interprétation des diamètres de l'aromatogramme	**59**
07	Tableau d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistré avec différents antibiotiques	**53**
08	Propriétés organoleptiques des huiles essentielles du *O. glandulosum*	**50**
09	Indices des paramètres physiques	**50**
10	Indices des paramètres chimiques	**52**
11	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par le vit C et les HEs de *O. glandulosum*	**53**
12	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs d*'O. glandulosum* enregistre²es avec les différentes souches testees	**54**
13	Détermination des diamètres de la zone d'inhibition (mm) des HEs *d'O. glandulosum* vis à vis les différentes souches testées	**54**
14	Sensibilité des souches *E. coli* aux antibiotiques	**57**
15	Sensibilité des souches *S. aureus* aux antibiotiques	**56**
16	Sensibilité des souches de *Pseudomonas* aux antibiotiques	**57**
17	Sensibilité des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Escherichia coli*	**58**
18	Sensibilité des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Staphylococcus aureus*	**59**
19	Sensibilité des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Pseudomonas aeruginosa*	**59**

LISTE DES ABRÉVIATIONS

PAM	Plantes aromatiques médicinales
HE	Huiles essentielles
O. glandulosum	*Origanum vulgare* subsp. *Glandulosum*
O. vulgare	*Origanum vulgare*
L.	Linnaeus (abréviation botanique de Carl von Linné)
ssp.	Sous-espèce
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
UV-Vis	Spectroscopie ultraviolet-visible
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
MIC	Minimum inhibitory concentration
VMHD	Hydrodistillation sous vide par micro-ondes
RHE	Rendement en huile essentielle
MHE	Masse de l'huile essentielle
MV	Masse de la matière végétale
ROS	Reactive Oxygen Species
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse
%	Pourcentage
M	Mètre
cm²	Centimètre carré
Min	Minute
°C	Degré Celsius
µL	Microlitre
Mg	Milligramme
w/w	Poids sur poids (weight/weight)
p/p	Poids pour poids (synonyme de w/w)
Et al.	Et alii (et les autres)
API	Apigénine
TLC	Chromatographie sur couche mince
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
N° J.C.	Nombre d'années avant Jésus-Christ
(-)	Résistante
(+)	Sensibilité limitée
(++)	Sensibilité moyenne
(+++)	Très sensible
Ab	Absorbance du témoin
As	Absorbance du composé testé
CI50	Concentration inhibitrice 50%
D	Densité
E. coli	*Escherichia coli*
G	Gramme
H	Heure
I%	Pourcentage d'inhibition
Min	Minute
Ml	Millilitre
Mm	Millimètre
Na_2SO_4	Sulfate de sodium

PA	Poids de matière sèche
PB	Poids de l'huile essentielle
R	Rendement
RI	Indice de réfraction
UV	Ultra-violet
Vit C	Acide ascorbique
Ml	Microlitre
1,8-cinéole	Composé terpénique présent dans certaines HE
AFNOR	Association Française de Normalisation
C_5H_8	Formule chimique générale des terpènes

.

SOMMAIRE

Remerciement	**i**
Dédicace	**ii**
Dédicace	**ii**
Résumé	**iii**
Abstract	**iv**
ملخص	**v**
liste de figures	**vi**
liste de tableaux	**vii**
liste d'abréviations	**viii**
INTRODUCTION	**1**
Chapitre I : Molécules bioactifs d'origine végétales	**4**
I.1. Huiles essentielles	**5**
I.1.1. Historique	**5**
I.1.2. Généralités sur les huiles essentielle	**5**
I.1.3. Localisation des huiles essentielles	**5**
I.1.4. Rôle des huiles essentielles	**5**
I.1.5. Composition des huiles essentielles	**6**
I.1.5.1. Les terpénoïdes	**6**
I.1.5.2. Les composés aromatiques	**6**
I.1.5.3. Les composés d'origines diverses	**6**
I.1.5.4. Les chémotypes	**7**
I.1.6. Caractérisation et rôle physiologique des huiles essentielles	**8**
I.1.7. Méthodes d'extraction	**8**
I.1.7.1. L'entraînement à la vapeur d'eau	**9**
I.1.7.2. L'hydrodistillation	**10**
I.1.7.3. Distillation à vapeur saturée (Méthode de Parnas-Wagner)	**11**
I.1.7.4. Percolation	**12**
I.1.7.5. Enfleurage	**13**
I.1.7.6. Extraction par micro-ondes	**14**
I.1.8. Rendement en huile essentielle	**15**
I.1.9. Activités biologiques des huiles essentielles	**16**
I.1.9.1. Activité antibactérienne	**17**
I.1.9.2. Activité antifongique	**17**
I.1.9.3. Activité antioxydante	**18**
I.1.10. Principaux domaines d'application	**18**
I.1.10.2. Industrie alimentaire	**18**
I.1.10.3. Cosmétologie et parfumerie	**19**
I.1.10.4. Pharmacie	**19**
I.1.11. Toxicité des huiles essentielles	**20**
I.1.11.1. Toxicité aiguë	**20**
I.1.11.2. Toxicité sur le développement	**23**
I.1.11.3. Composition chimique et toxicité	**23**
I.1.12. Commercialisation des huiles essentielles en Algéri	**23**
Chapitre II : Huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* et activités biologiques	**25**
II.2. Généralités sur *Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum*	**25**
II.2.1. Description botanique et morphologique	**26**
II.2.3. Classification botanique	**27**
II.2.4. Répartition géographique	**27**
II.2.5. Nomenclature d'*O. glandulosum*	**30**

II.2.5.1. Classification et caractéristiques	**31**
II.2.6. Caractéristiques physicochimiques d'huile *Origanum glandulosum*	**32**
II.2.7. Principes actifs d'*O. glandulosum*	**32**
II.2.8. Composition chimique des huiles essentielles d'O. *glandulosum*	**32**
II.2.9. Activités biologiques des huiles essentielles	**34**
II.2.9.1. Activités antioxydantes	**34**
II.2.9.2. Activité antimicrobienne	**35**
I.2.9.3. Activité antifongique	**35**
I.2.9.3. Activité antifongique	**36**
II.2.9.4. Activité antidiabétique	**36**
II.2.9.5. Autres activités biologiques	**36**
II.2.10. Toxicité	
Matériel et méthodes	**37**
III.Méthode d'analyse	**38**
III.1. Extraction des huiles essentielles	**38**
III.1.1. Matériel végétal	**38**
III.1.2. Matériel d'extraction	**39**
III.1.3. Procédé d'extraction	**39**
III.1.4. Calcul du rendement des huiles essentielles d'*O. glandulosum*	**40**
III.2. Évaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles	**40**
III.2.1. Mesures des indices chimiques	**40**
III.2.1.1. Indice d'acide	**40**
III.2.1.2. Indice de peroxyde	**41**
III.2.2. Mesure des indices physiques	**43**
III.2.2.1. Couleur	**43**
III.2.2.2. Densité relative	**44**
III.2.2.3. Miscibilité dans l'éthanol	**44**
III.3. Évaluation de l'activité biologique	**45**
III.3.1. Évaluation de l'activité antioxydante	**45**
III.3.2. Évaluation de l'activité antibactérienne	**48**
III.3.2.1. Test de l'activité antibactérienne	**48**
III.3.2.1.1. Isolats bactériens	**48**
III.3.2.1.2. Milieu de culture.	**49**
III.3.2.1.3. Étude de l'activité antibactérienne des huiles d'*O. glandulosum* (Aromatogramme)	**49**
III.3.2.1.4. Lecture des résultats de l'aromatogramme	**50**
III.3.2.1.5. Étude de l'activité antibactérienne des huiles d'*O. glandulosum* Atmosphérogramme	**50**
III.3.2.1.6. Lecture des résultats	**52**
III.3.2.1.7. Étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques (Antibiogramme)	**52**
III.3.2.1.8. Lecture et interprétation des résultats de l'antibiogramme des différentes souches testées	**53**
IV. Résultats	**54**
IV.1. Propriétés organoleptiques et rendement des huiles essentielles d'*O. glandulosum*	**56**
IV.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles d'*O. glandulosum*	**56**
IV.2.1. Caractères physiques	**57**
IV.2.2. Caractères chimiques	**57**
IV.3. Activité antioxydante des huiles essentielles d'*O. glandulosum*	**57**
IV.3.1. Etude cinétique de la rédaction par le test DPPH	**57**

IV.3.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH **58**
IV.3.3. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice50%) **59**
IV.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles d'*O. glandulosum* **60**
VI.4.1. Récupération des souches bactériennes **60**
IV.4.2. Aromatogramme des huiles essentielles d'*O. glandulosum* **61**
IV.4.3. Atmosphérogramme des huiles essentielles d'*O. glandulosum* **62**
IV.4.4- Antibiogramme des isolats bactériens **63**
IV.5. Résultats de la détermination de profils de sensibilité aux antibiotiques **66**
IV.5.1. Étude comparative de l'activité des huiles essentielles d'O. *glandulosum et des* antibiotiques **67**
IV.5. Validation des tests **67**
V. Discussion générale **62**
Conclusion **67**
Références bibliographiques **69**

Introduction

Les plantes représentent une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans l'industrie agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles ; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines **(Özcan et Chalchat, 2007)**. Ce sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et des composés aromatiques **(Saad *et al.*, 1995 ; Mojab et Nickavar, 2003 ; Howes *et al.*, 2004 ; Geiger, 2005 ; Jham *et al.*, 2005 ; Glisic *et al.*, 2007)**

L'Algérie, avec son climat très varié et sa situation géographique particulière bénéficie d'une flore très riche et diversifiée répartie sur tout le territoire algérien. En effet, le Nord algérien présente une large gamme d'espèces endémiques adaptées au climat de la zone et appartiennent aux différentes familles : *Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae,* etc. **(Quézel et Santa, 1962 ; 1963)**. Ces plantes endémiques constituent un important réservoir de substances actives ce qui peut conduire à la découverte de nouvelles molécules d'intérêts scientifiques **(Zenasni, 2014).**

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) dans différents domaines est due à leurs propriétés thérapeutiques et organoleptiques **(Paolini, 2005)**. Ainsi, ces plantes renferment un nombre très élevé de composés chimiques de propriétés physico-chimiques très variées et qui ont des activités biologiques différentes : antimicrobienne **(Basli *et al.*, 2012 ; Rodrigues *et al.*, 2017)** ; antifongique **(Belhattab *et al.*, 2004),** antioxydante **(Kouri *et al.*, 2007 ; Mechergui *et al.*, 2010)**, et insecticide **(Khalfi *et al.*, 2008)**.

La famille des *Lamiacées* comprend de nombreuses espèces riches en HEs, reconnues pour leurs propriétés antioxydantes **(Silva *et al.*, 2021)** et antimicrobiennes **(Fidan *et al.*, 2019)**, ce qui les rend intéressantes pour le développement de médicaments, arômes et conservateurs **(Moshari *et al.*, 2023).** Le genre *Origanum*, appartenant à la famille des *Lamiacées*, riche en huiles essentielles et substances amères **(Baytop, 1999)**, il comporte 38 espèces qui sont largement répandues dans la région Euro-sibériennes et Irano-sibérienne **(Kokkini, 1996).** Cependant, la plupart des espèces, environ 75%, sont concentrées dans le pourtour méditerranéen, en particulier dans les régions de l'Est **(Ietswaart, 1980).** Le ZAATAR ayant le non scientifique *Origanum vulgare,* est très répandu en Algérie **(Ruberto *et al.*, 2002)**.

Cette espèce contient six sous-espèces ; *O. vulgare L.* subsp. *glandulosum, O. vulgare L*. subsp. *hirtum, O. vulgare L.* subsp. *gracile, O. vulgare L*. subsp. *virens, O. vulgare L.* subsp. *vulgare L*. et *O. vulgare L.* subsp. *viride* **(Ietswaart, 1980).** Toutes les espèces d'Origan renferment en

quantité variable une huile essentielle fortement aromatique **(Garland, 1980)**, les composants principaux des huiles essentielles d'*O. vulgare* sont les composés phénoliques : Carvacrol et Thymol **(Ruberto *et al*., 2002).**

Ce travail a eu pour objectifs de déterminer quelques effets biologiques des huiles essentielles de l'*Origanum* et caractères physico-chimiques des HEs extraites à partir de la plante qui lui confèrent les propriétés thérapeutiques. Pour cela, le travail a été scindé à deux parties :

- La première partie sur la recherche bibliographique sur les molécules biologiquement actifs d'origine végétale et différentes activités biologiques des huiles essentielles extraites à partir d'O. *glandulosum.*
- La deuxième partie consiste à présenter matériel et méthodes, résultat et discussion et en fin conclusion.

Chapitre I :
Molécules bioactifs d'origine végétale

I.1. Huiles essentielles

I.1.1. Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte à plusieurs millénaires. Depuis toujours, les plantes aromatiques ont été valorisées par les thérapeutes du monde entier pour leurs propriétés médicinales et leur rôle dans la parfumerie et la cuisine. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales **(P.A.M.)** est étroitement liée à l'évolution des civilisations, témoignant de leur importance à travers les âges **(Baser et Buchbauer, 2015)**. Les premières traces de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles remontent à environ 3000 ans avant J.C. Depuis les origines de l'humanité, ces substances ont accompagné le développement des civilisations. Les principaux berceaux de la civilisation aromatique sont l'Inde, la Chine et le bassin méditerranéen, régions où les connaissances sur les huiles essentielles ont été développées et restent toujours d'actualité **(Baser et Buchbauer, 2015)**.

En 1931, dans son ouvrage *Aromathérapie,* René-Maurice Gattefossé a décrit ses expériences et découvertes sur les huiles essentielles. Il fut le premier à établir un lien entre la structure des molécules aromatiques et leurs propriétés biologiques, mettant en évidence leurs effets antiseptiques, antitoxiques, stimulants, calmants et tonifiants **(Bardeau *et al.,* 1976).** À l'époque, il avait prédit que les huiles essentielles joueraient un rôle majeur dans les thérapies futures, une hypothèse aujourd'hui confirmée. Selon **(Ntezurubanza, 2000)** l'histoire de l'aromathérapie, qui est directement liée à celle des huiles essentielles, peut être divisée en quatre grandes périodes :

- L'utilisation des plantes aromatiques sous leur forme naturelle, par infusion ou décoction.
- L'extraction des principes odorants par combustion, macération ou infusion dans une huile végétale, amorçant ainsi la compréhension de leur activité thérapeutique.
- L'apparition du concept d'huile essentielle, avec le développement de la distillation permettant d'extraire la substance odorante pure.
- L'ère moderne, caractérisée par une compréhension approfondie des composants des huiles essentielles et de leurs effets physiques, chimiques, biochimiques et physiologiques.

Ces dernières décennies, l'intérêt pour les plantes médicinales a considérablement augmenté, notamment en Amérique du Nord, pour plusieurs raisons :

- Elles sont plus économiques que les médicaments de synthèse.

- La médecine moderne ne parvient pas toujours à traiter certaines pathologies, poussant ainsi le public à rechercher des alternatives naturelles.
- De nombreuses études scientifiques ont confirmé les bienfaits thérapeutiques des plantes, renforçant leur légitimité dans la médecine contemporaine.

En 1990, **(Franchomme et Penoel, 1990)** introduit le concept de « médecine aromatique », fondée sur l'étude des chémotypes et des indications thérapeutiques basées sur des preuves scientifiques. Aujourd'hui, l'industrie des plantes médicinales connaît une croissance rapide, devenant l'un des secteurs les plus dynamiques de l'industrie pharmaceutique, avec une augmentation annuelle estimée entre 15 et 20 % **(Small et Catling, 2000).**

I.1.2. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être définies de différentes manières, mais toutes convergent sur le fait qu'il s'agit de substances obtenues à partir de matières végétales, après séparation de la phase aqueuse à l'aide de procédés physiques **(Afssaps, 2008)**.

Selon la Pharmacopée européenne, une huile essentielle est un produit odorant, généralement complexe, extrait d'une matière végétale botaniquement définie. Son obtention se fait par entraînement à la vapeur d'eau, distillation sèche ou par un procédé mécanique adapté sans recourir à la chaleur. La séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse doit se faire par un procédé physique garantissant la préservation de sa composition initiale **(Afssaps, 2008)**.

D'après l'AFNOR (Association Française de Normalisation) les huiles essentielles sont des substances aromatiques extraites soit par entraînement à la vapeur d'eau à partir de plantes ou de parties de plantes, soit par expression mécanique du péricarpe frais de certains agrumes. Cette définition exclut les essences obtenues par d'autres méthodes d'extraction **(Paris et Hurabielle, 1981)**.

Les huiles essentielles sont constituées de divers composés chimiques simples tels que les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters et les cétones **(Isman, 2002)**.

Elles sont largement utilisées en médecine, notamment pour leurs propriétés olfactives, leur capacité à soulager la douleur ou encore leurs effets physiologiques bénéfiques (**Valnet, 2003)**.

I.1.3. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont présentes dans l'ensemble du règne végétal. Toutefois, elles sont particulièrement abondantes dans certaines familles botaniques **(Mann, 1987)**, notamment : les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées et les

Poacées. Elles peuvent être contenues dans divers organes des plantes, bien que leur concentration soit plus élevée dans les sommités fleuries (ex. : lavande, menthe). On les retrouve également dans d'autres parties végétales, telles que :

- **Les racines et rhizomes** : vétiver, gingembre.
- **Les écorces** : cannelle.
- **Le bois** : camphrier.
- **Les fruits** : poivre.
- **Les graines** : muscade.

Cette diversité d'emplacement des huiles essentielles dans les plantes influence leur extraction et leur utilisation.

I.1.4. Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles jouent un rôle fondamental dans la protection des plantes contre les agressions extérieures. Elles agissent comme un bouclier naturel contre les virus, les parasites et les microbes, ce qui a conduit certains chercheurs à les considérer comme des hormones végétales. D'autres études suggèrent qu'elles fonctionnent comme des messagers chimiques, régulant les interactions entre les plantes et leur environnement **(Willem, 2009)**. Des recherches ont démontré que certaines molécules, notamment les monoterpènes et les sesquiterpènes, interviennent dans ces mécanismes de défense. Par exemple, des composés comme le 1,8-cinéole et le camphre peuvent inhiber la germination des organes infectés ou ralentir la croissance des agents pathogènes qui les attaquent **(Holley, 1999 ; Nicholas, 1973).**

I.1.5. Composition des huiles essentielles

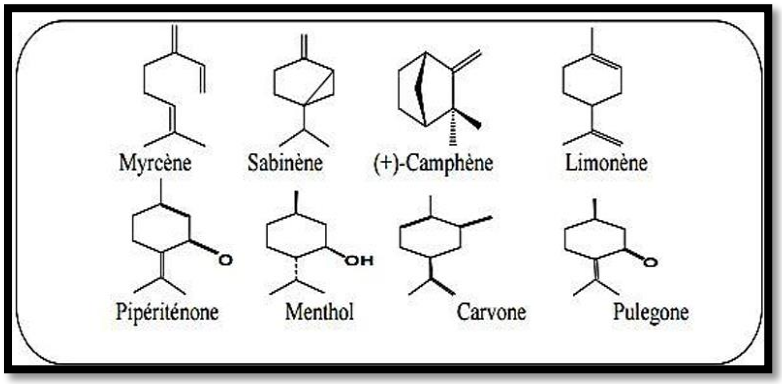
L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles révèle qu'elles sont constituées de mélanges complexes et variables. Ces composants appartiennent principalement à deux grandes familles caractérisées par leur origine biogénétique : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane **(Teisseire, 1991).**

I.1.5.1. Les terpénoïdes

Le terme terpène provient de la première extraction de ce type de composé à partir de l'essence de térébenthine. Dans les huiles essentielles, les terpénoïdes sont des molécules de faible masse moléculaire, ce qui les rend particulièrement volatils. Ils suivent généralement la formule générale $(C_5H_8)_n$. En fonction de la valeur de n, ils se classent en plusieurs catégories :

- **Hémi terpènes** (n = 1)
- **Monoterpènes** (n = 2)
- **Sesquiterpènes** (n = 3)
- **Triterpènes** (n = 6)
- **Tétraterpènes** (n = 8)
- **Polyterpènes** (n > 8)

Les huiles essentielles contiennent une grande diversité de constituants, allant au-delà des terpènes **(Figure 01 et 02)**. On y retrouve également des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et bien d'autres composés **(Teisseire, 1991).**



.

Figure 01. Structure chimique de quelques monoterpènes **(Gueffal et Zengui, 2021)**

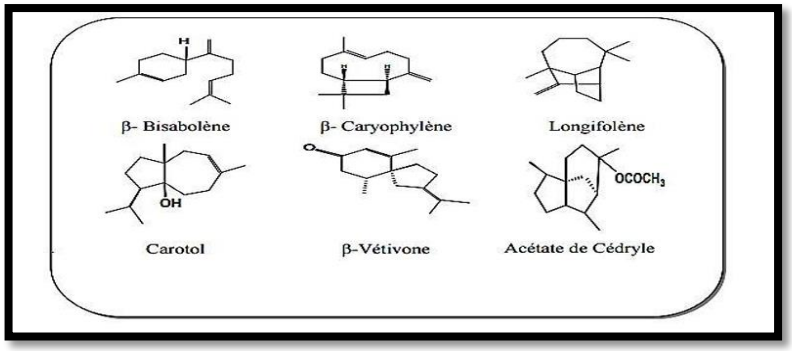


Figure 02. Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des huiles essentielles **(Gueffal et Zengui, 2021)**

I.1.5.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins présents dans les huiles essentielles. Toutefois, ils jouent un rôle essentiel, car ils sont principalement responsables des caractéristiques organoleptiques de ces huiles. Ces composés appartiennent généralement aux familles des allylphénols et des propénylphénols **(Figure 03)**. Parmi eux,

on peut citer l'eugénol, un composé clé qui confère au clou de girofle son odeur caractéristique **(Teisseire, 1991).**

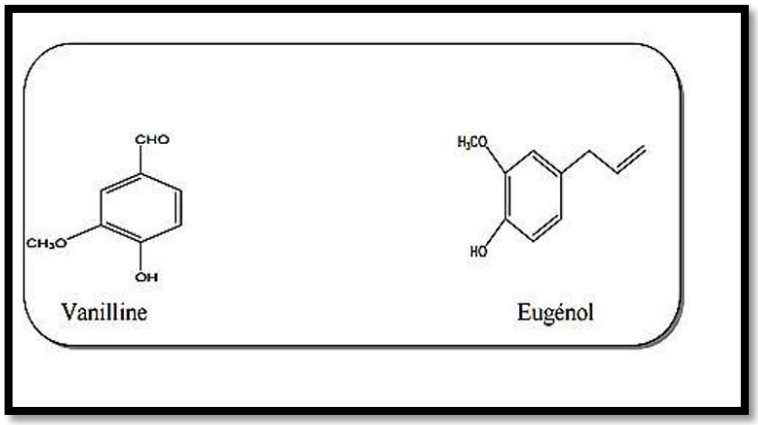


Figure 03. Structure chimique de quelques composés aromatiques **(Gueffal et Zengui, 2021)**

I.1.5.3. Les composés d'origines diverses

En raison de leur mode d'extraction, notamment par hydrodistillation, les huiles essentielles peuvent contenir divers composés aliphatiques de faible masse moléculaire. Ces composés volatils comprennent des substances azotées, soufrées, des caroténoïdes et des acides gras **(Teisseire, 1991)**.

Voici les principales classes de composés retrouvées dans les huiles essentielles :

- ✓ Alcools : Menthol, Géraniol, Linalol...
- ✓ Aldéhydes : Géranial, Citronellal...
- ✓ Cétones : Camphre, Pipéritone...
- ✓ Phénols : Thymol, Carvacrol...
- ✓ Esters : Acétate de Géranyle...
- ✓ Acides : Acide Géranique...
- ✓ Oxydes : 1,8-Cinéole...
- ✓ Phénylpropanoïdes : Eugénol...
- ✓ Terpènes : Limonène, Para-cymène...
- ✓ Autres : Éthers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpènes...

I.1.5.4. Les chémotypes

La connaissance des chémotypes d'une huile essentielle et de leur comportement est essentielle, car elle permet d'anticiper son activité pharmacologique, ainsi que sa pharmacocinétique et sa biodisponibilité. La composition chimique d'une huile essentielle issue d'une même espèce botanique n'est pas fixe. En effet, ces huiles sont produites par les plantes aromatiques au sein de leurs cellules sécrétrices, et leur composition dépend fortement

des conditions environnementales **(Franchomme et Penoel, 1990)**. Le rayonnement solaire, par exemple, joue un rôle clé dans leur élaboration. Son absence peut réduire le rendement et modifier la nature des composés aromatiques, tandis que sa présence, selon son intensité et son spectre, peut induire des variations significatives des composants au sein d'une même espèce **(Franchomme et Penoel, 1990)**. À titre d'exemple, le basilic cultivé en plein soleil à Madagascar présente un taux de chavicol de 57%, tandis que le même basilic cultivé à l'ombre atteint 74% de ce composé **(Franchomme et Penoel, 1990)**. Cette variabilité chimique peut également être influencée par d'autres facteurs environnementaux et génétiques. La composition du sol et la position géographique influencent également la variabilité chimique des huiles essentielles. Par exemple, l'analyse du *Lippia multiflora* récolté au *Togo* a révélé plusieurs chémotypes**,** notamment ceux riches en *citral, thymol (acétate de thymyle)***,** *para-cymène* et *1,8-cinéole* **(Azalenko, 1995)**. Ces variations démontrent l'impact des conditions environnementales sur la composition et les propriétés des huiles essentielles.

I.1.6. Caractérisation et rôle physiologique des huiles essentielles

La majorité des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et peuvent être entraînées par la vapeur d'eau. Cependant, certaines exceptions, comme les huiles essentielles de Sassafras, Girofle et Cannelle, possèdent une densité plus élevée. Elles se caractérisent par un indice de réfraction élevé et présentent un pouvoir rotatoire **(Amiour, 2017).**

Les huiles essentielles sont volatiles et s'évaporent à température ambiante. Elles sont peu solubles dans l'eau, mais lui transmettent leur odeur, donnant naissance à ce que l'on appelle l'eau distillée florale. En revanche, elles sont solubles dans les alcools, les huiles fixes et la plupart des solvants organiques **(Amiour, 2017).**

Le point d'ébullition des huiles essentielles est toujours supérieur à 100°C, et varie en fonction de leur poids moléculaire. Par exemple, les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α-pinène sont respectivement de 260°C, 230°C, 228°C et 156°C **(Amiour, 2017).** Toutefois, selon **(Valnet, 1984)**, ces huiles s'oxydent facilement à la lumière, ce qui peut entraîner leur résinification, une modification de leur odeur, une augmentation de leur point d'ébullition et une réduction de leur solubilité. De plus, elles

absorbent certains éléments comme le chlore, le brome et l'iode, en dégageant de la chaleur **(Duraffourd *et al.*, 1990 ; Tia & Adima, 2023).**

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, très réfringentes et hydrophobes. Elles sont solubles dans plusieurs solvants organiques, comme l'éther éthylique, le chloroforme, le sulfure de carbone, l'éther de pétrole et l'alcool absolu. Leur couleur varie généralement entre incolore et jaunâtre, et elles sont inflammables. Leur point d'ébullition se situe entre 60°C et 240°C **(Padrini et Lucheroni, 2003).**

Le rôle exact des huiles essentielles dans le cycle de vie des plantes reste encore mal compris. Cependant, selon **Bakkali *et al.*, (2008)**, elles peuvent remplir plusieurs fonctions bénéfiques, telles que :

- **Repousser** ou au contraire attirer certains insectes pour favoriser la pollinisation.
- **Servir de source d'énergie** pour la plante.
- **Faciliter certaines réactions chimiques** au sein des cellules végétales.
- **Aider à conserver l'humidité**, en particulier chez les plantes désertiques.
- **Limiter la compétition interspécifique**, en inhibant la germination des graines d'autres plantes.
- **Protéger contre les infections microbiennes**.
- **Repousser les prédateurs**, grâce à leur goût ou à leurs effets défavorables

I.1.7. Méthodes d'extraction

Parmi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles, la distillation demeure la plus ancienne et la plus couramment employée. Cependant, des méthodes plus récentes ont été développées afin d'optimiser le rendement, d'améliorer la qualité des huiles extraites, de réduire le temps d'extraction, ainsi que de minimiser l'utilisation des solvants tout en accélérant la cinétique d'extraction **(Besombes, 2008).**

I.1.7.1. L'entraînement à la vapeur d'eau

L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau est une méthode largement utilisée pour récupérer les composés volatils présents dans les végétaux. Elle repose sur le faible point d'ébullition et le caractère hydrophobe de ces substances. Sous l'effet de la vapeur d'eau, introduite ou générée directement dans l'extracteur, l'essence se détache des tissus végétaux et est transportée avec la vapeur **(Bruneton, 1993).** Le mélange de vapeurs ainsi formé est

ensuite refroidi à l'aide d'un condenseur, où il se liquéfie. L'huile essentielle est alors séparée de l'eau par simple décantation.

Selon sa densité, l'huile essentielle peut être recueillie à deux niveaux :

- À la surface du distillat, lorsqu'elle est plus légère que l'eau.
- Au fond du récipient, lorsqu'elle est plus dense que l'eau.

Les principales techniques d'extraction utilisant l'entraînement à la vapeur d'eau comprennent l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion **(Bruneton, 1993).**

I.1.7.2. L'hydrodistillation

C'est la technique la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger la matière première directement dans l'eau, puis à porter le tout à ébullition. L'opération est généralement réalisée à pression atmosphérique. Les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération à circulation d'eau. Lors de la distillation des HE, plusieurs phénomènes sont à la base des échanges de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de la production de ces essences végétales (**Sakkas et Papadopoulou, 2017).**

C'est la méthode normée pour l'extraction des huiles essentielles à partir des épices sèches, ainsi que pour le contrôle de qualités des huiles essentielles au laboratoire. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique **(Figure 04)**. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale à 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou

sans cohoba gé des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation **(Crouzet, 1996 ; Peyron, 1992).**

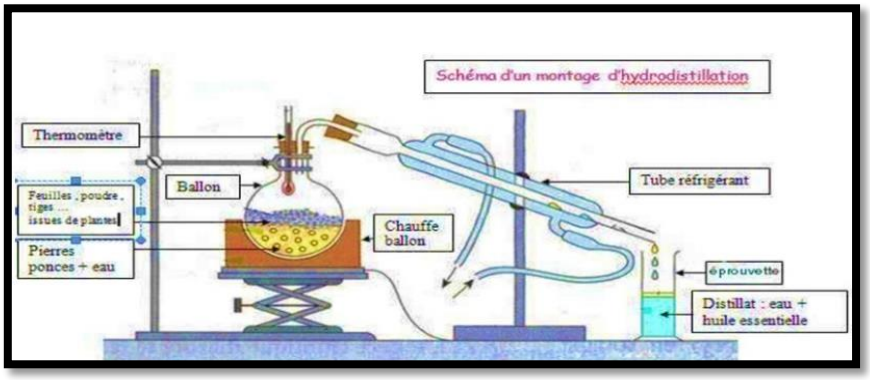


Figure 04. Montage d'extraction par Hydrodistillation **(Gueffal et Zengui, 2021)**

I.1.7.3. Distillation à vapeur saturée (Méthode de Parnas-Wagner)

Actuellement, la distillation à vapeur saturée est la technique la plus couramment utilisée dans l'industrie pour extraire les huiles essentielles à partir de plantes aromatiques et médicinales **(Figure 05)**. Contrairement à l'hydrodistillation, cette méthode ne met pas la matière végétale en contact direct avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée à travers la biomasse, disposée sur des plaques perforées, ce qui permet d'extraire les composés volatils sans les altérer. Généralement réalisée à pression atmosphérique ou légèrement supérieure, elle s'effectue à 100°C, température d'ébullition de l'eau. Les principes actifs volatils sont entraînés par la vapeur d'eau, puis refroidis dans un condenseur avant d'être séparés par décantation pour récupérer l'huile essentielle **(Bruneton, 1993 ; Fabrocini, 2007)**.

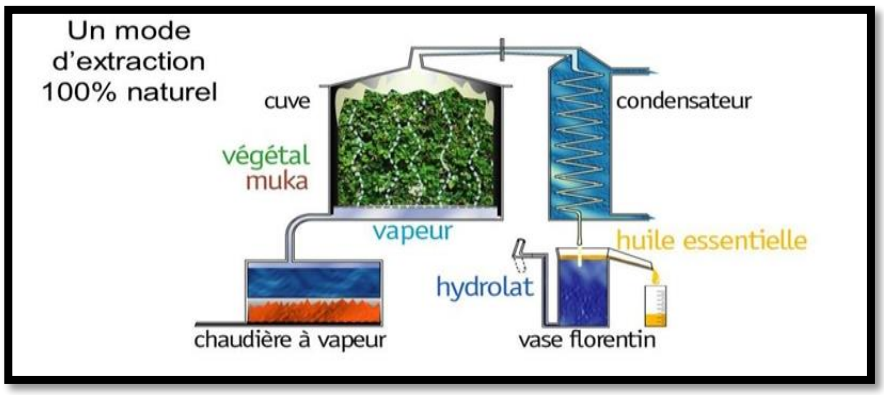


Figure 05. Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau **(Gueffal et Zengui, 2021)**

I.1.7.4. Percolation

La percolation est une technique d'extraction qui consiste à faire circuler en continu un solvant à travers un lit fixe de matériau végétal afin d'extraire efficacement les composants actifs solubles **(Figure 06)**. Elle est réalisée à l'aide d'un percolateur, un récipient en forme de cône, et implique des étapes de macération, de pressage et de filtration pour obtenir l'extrait final **(Mukherjee, 2019)**.

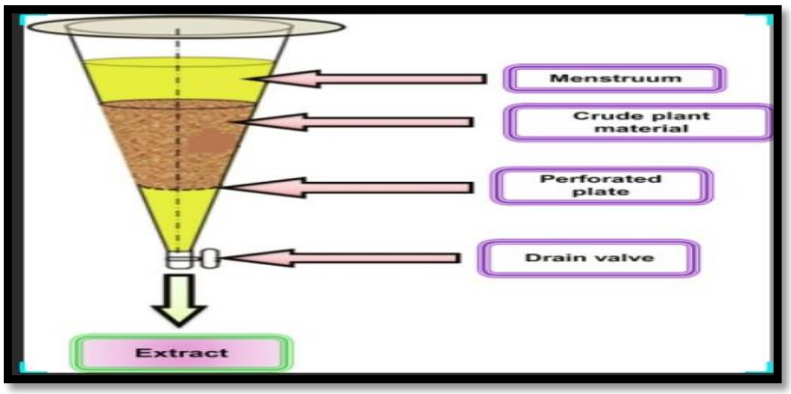


Figure 06. Extraction par percolation **(Mukherjee, 2019)**

I.1.7.5. Enfleurage

L'enfleurage est une technique assez difficile. Datant de l'Égypte ancienne, il repose sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses. Il est principalement réservé aux organes fragiles que sont les fleurs (violette, tubéreuse, jasmin, …) **(Figure 07)**. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques de verre enduites d'une fine couche de graisse, puis superposées sur des cadres en bois. Les substances volatiles se diffusent et sont absorbées par la couche de graisse. Ces substances sont ensuite appauvries en alcool. Ce procédé tend à disparaître car il nécessite une main-d'œuvre importante **(Kanlayavattanakul *et al.*, 2013).**

Cette technique, bien qu'ancienne, a été progressivement remplacée par des méthodes plus modernes comme l'extraction par solvants volatils ou le CO_2 supercritique, qui permettent d'obtenir des extraits plus purs et en plus grande quantité **(Bruneton, 2009).**



Figure 07. Extraction par enfleurage **(Bruneton, 2009)**

I.1.7.6. Extraction par micro-ondes

L'extraction par micro-ondes, connue sous le nom de Vacuum Microwave Hydrodistillation ***(VMHD),*** est une technique innovante permettant d'extraire les huiles essentielles en combinant un rayonnement micro-ondes à énergie constante avec une mise sous vide séquentielle. Contrairement aux méthodes classiques, cette technique exploite uniquement l'eau contenue naturellement dans la matière végétale pour faciliter l'extraction des essences **(Figure 08)**. Sous l'effet combiné du chauffage sélectif par micro-ondes et de la réduction progressive de la pression dans la chambre d'extraction, l'eau contenue dans les cellules végétales fraîches atteint rapidement son point d'ébullition. Cette brusque vaporisation favorise le transfert des composés aromatiques vers l'extérieur des tissus biologiques. L'huile essentielle est ensuite récupérée par un processus de condensation des vapeurs, refroidissement et décantation des condensats. Cette méthode présente plusieurs avantages, notamment une extraction plus rapide, une réduction significative de la consommation d'énergie et d'eau, ainsi qu'un extrait exempt de tout résidu de solvant, garantissant une meilleure qualité du produit final **(Brian, 1995 ; Mompon, 1994)**.

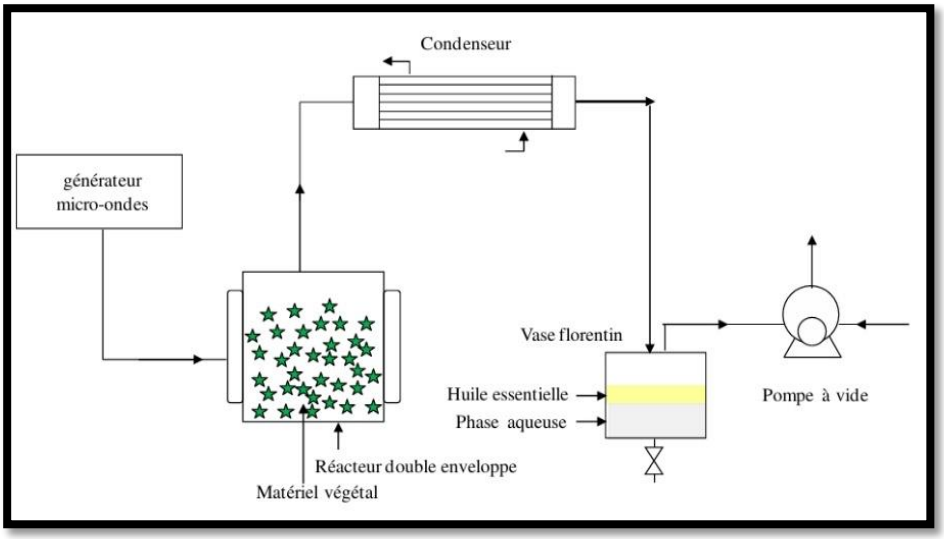


Figure 08. Extraction par micro-ondes **(Farhat, 2010)**

I.1.8. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle dépend de divers facteurs, notamment l'espèce végétale, la méthode d'extraction employée, ainsi que les conditions de culture et de récolte. Il est généralement exprimé en pourcentage, indiquant la proportion d'huile obtenue par rapport à la masse initiale de la matière végétale traitée. Ces variations sont influencées par les paramètres environnementaux et les techniques de transformation appliquées **(Boudjit *et al.*, 2022).** Le rendement de l'huile essentielle RHE% est le rapport entre la masse d'huile essentielle MHE extraite et la masse de la matière végétale à traiter MV.

R HE% = (MHE / MV) × 100 …….. (Boudjit *et al.*, 2022)

RHE : Rendement par rapport à la matière végétale humide.

MHE : masse de l'huile essentielle.

I.1.9. Activités biologiques des huiles essentielles

À l'origine, l'utilisation des huiles essentielles reposait sur des pratiques empiriques issues de la médecine traditionnelle. Toutefois, leur emploi actuel s'appuie sur des fondements scientifiques et des approches rationnelles.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés bioactifs appartenant à différentes classes chimiques. Cette diversité moléculaire confère à ces substances une large gamme d'effets biologiques, expliquant ainsi leur polyvalence pharmacologique **(Mayer, 2012).** Des recherches approfondies ont établi que l'activité biologique d'une huile essentielle est étroitement liée à sa composition chimique, notamment à la nature des groupes fonctionnels des composés majoritaires, ainsi qu'aux interactions synergiques entre les différents constituants **(Lahlou, 2004 ; Pibiri, 2006).**

I.1.9.1. Activité antibactérienne

Les huiles essentielles possèdent des mécanismes d'action antibactériens complexes, encore mal compris en raison de la diversité de leur composition chimique. Il est probable que leur efficacité ne repose pas sur un seul mécanisme, mais sur plusieurs cibles cellulaires simultanément **(Dorman et Deans, 2000).**

Certains composés, tels que les terpènes et les flavonoïdes, peuvent provoquer une altération de la paroi et de la membrane bactérienne, entraînant une fuite du contenu cellulaire et conduisant ainsi à la mort de la cellule **(Tsuchiya *et al.*, 1996 ; Bouguerra, 2019).** Par ailleurs, les HEs sont capables d'inhiber la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides, perturbant ainsi le métabolisme bactérien **(Johansen *et al.*, 1997).**

L'effet synergique entre plusieurs composants des huiles essentielles joue un rôle clé dans leur activité biologique, notamment dans leur pouvoir antibactérien. Cette synergie peut également contribuer à limiter le développement de résistances chez les micro-organismes pathogènes **(Elshafie *et al.*, 2016).** Par exemple, des composés tels que le *carvacrol*, le *terpinène* et le *p-cymène* montrent une efficacité accrue lorsqu'ils sont associés, le *p-cymène* facilitant le transport du carvacrol à travers la paroi et la membrane bactérienne **(Elshafie *et al.*, 2016 ; Bouguerra, 2019)**.

Des études ont démontré que les huiles essentielles issues d'agrumes comme le citron et l'orange possèdent une forte activité antimicrobienne et pourraient constituer une alternative aux antibiotiques face aux bactéries résistantes **(Hoshi *et al.*, 2010).** Parmi les composés les plus puissants, les *phénols* tels que le *carvacrol* et le *thymol* se révèlent particulièrement efficaces contre les bactéries à Gram négatif **(Hoshi *et al.*, 2010).**

I.1.9.2. Activité antifongique

Les infections fongiques sont devenues un problème de santé publique majeur, notamment en raison de l'utilisation excessive et parfois inappropriée des antibiotiques, qui favorise leur propagation. Certains groupes moléculaires, connus pour leur activité antibactérienne, possèdent également des propriétés antifongiques. Cependant, les traitements antifongiques nécessitent généralement une durée d'application plus longue que les traitements antibactériens **(Bencheikh, 2017).**

Plusieurs huiles essentielles, telles que la cannelle, palmarosa, clou de girofle et de Niaouli sont reconnues pour leurs puissantes propriétés antifongiques. Ce pouvoir est en grande partie attribué à la présence de certains groupements fonctionnels dans leur composition chimique.

Des études ont montré que l'effet inhibiteur des huiles essentielles est principalement dû à la réactivité des fonctions aldéhydes avec les groupements thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire **(Kurita *et al.*, 1979).** D'autres recherches suggèrent qu'un complexe formé entre un donneur d'électrons et un aldéhyde pourrait altérer l'état ionique de la membrane cellulaire, entraînant un déséquilibre des échanges avec le milieu extérieur et en fin, la destruction de la cellule fongique **(Baser et Buchbauer, 2015).** Par ailleurs, il a été démontré que les phénols, tels que l'eugénol, le chavicol et le 4-allyl-2,6-diméthoxyphénol, possèdent une activité antifongique encore plus marquée que les aldéhydes testés **(Laib, 2010).**

I.1.9.3. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances qui protègent l'organisme contre les effets du stress oxydatif **(Beirão et Bernardo, 2006).** Ils se classent en trois catégories : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation et les antioxydants non enzymatiques. Les huiles essentielles, en raison de leur origine naturelle, sont considérées comme des antioxydants non enzymatiques. L'activité antioxydante peut être de deux types :

- **Primaire ou directe**, où l'antioxydant interagit directement avec les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en leur cédant des électrons, ce qui neutralise leur effet destructeur sur les structures biologiques. Ces antioxydants agissent comme des agents réducteurs en éliminant les ROS **(Kohen et Nyska, 2002).**
- **Secondaire ou préventive**, qui agit indirectement en retardant l'oxydation par des mécanismes tels que la réduction de l'oxygène **(Madhavi *et al.*, 1996).**

Certaines études ont montré que certaines huiles essentielles présentent une efficacité antioxydante supérieure à celle des antioxydants synthétiques **(Hussain *et al.*, 2010).** Cette activité est principalement attribuée à la présence de groupes hydroxyle dans leur structure chimique **(Hussain, 2009).**

La composition chimique des huiles essentielles joue un rôle clé dans leurs activités biologiques. Parmi les molécules aux propriétés antibactériennes les plus puissantes, on retrouve :

- **Le Carvacrol, le Thymol et l'Eugénol**
- **Le Géraniol, le Linalol, le Terpinéol et le Menthol**

Certaines huiles essentielles se distinguent également par d'autres propriétés biologiques :

- **Activité antivirale** : présente surtout dans les huiles contenant des cétones, des monoterpénols ou certains aldéhydes.
- **Effets calmants et antispasmodiques** : attribués aux aldéhydes (ex. : citral de la verveine) et aux esters (ex. : salicylate de méthyle).
- **Effets antiparasitaires** : principalement liés à la présence de phénols.
- **Effets anti-inflammatoires** : varient selon le type de douleur et sont associés aux esters, aux alcools (ex. : menthol) ou aux aldéhydes (ex. : cuminal).

Les huiles essentielles sont également utilisées pour le traitement des aphtes, des gingivites et des maux de gorge via des bains de bouche ou des gargarismes. Le massage aux huiles essentielles constitue un traitement naturel efficace aux effets stimulants et relaxants. Elles sont aussi incorporées dans diverses formulations cosmétiques telles que des crèmes lotions, gels et shampooings **(Bencheikh, 2017).**

Par ailleurs, certaines huiles essentielles possèdent des propriétés insecticides et insectifuges. Par exemple, l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* est un biopesticide efficace contre *Callosobruchus maculatus*, un ravageur du niébé **(Koumaglo *et al.*, 1999).** De plus, l'huile essentielle de *Betula lenta* (*Betula alleghaniensis*)**,** riche à 98,5 % en salicylate de méthyle naturel, est particulièrement recherchée pour son excellente activité antirhumatismale **(Viaed, 1993).**

I.1.10. Principaux domaines d'application

Grâce à leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière première d'une importance économique considérable, avec un marché en constante croissance. Elles sont en effet commercialisées et suscitent un vif intérêt dans divers secteurs industriels tels que l'industrie pharmaceutique pour ses propriétés antiseptiques, analgésiques, antispasmodiques, apéritives, antidiabétiques…, l'industrie alimentaire pour son activité antioxydante et son effet aromatisant, ainsi que la parfumerie et la cosmétique pour ses propriétés odorantes **(Dhifi *et al.*, 2016).**

I.1.10.1. Aromathérapie

L'aromathérapie est une forme de médecine alternative où les huiles essentielles jouent un rôle essentiel car elles induisent de nombreux effets curatifs. Elles sont ainsi de plus en plus utilisées dans diverses spécialités médicales telles que la podologie, l'acupuncture, la

massothérapie-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie ainsi qu'en esthétique **(Dhifi *et al.*, 2016).**

I.1.10.2. Industrie alimentaire

Grâce à leurs propriétés antiseptiques et aromatisantes, les HEs sont utilisés quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym, etc.). Elles sont également très appréciées dans la réglisse (boissons anisées, kümmel) et en confiserie (bonbons, chocolat, etc.). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, notamment avec le thym et le romarin **(Han *et al.*, 2014)**.

I.1.10.3. Cosmétologie et parfumerie

Les HEs sont recherchées dans l'industrie de la parfumerie et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odorantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60 %), notamment celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine, etc. Les HEs sont également consommés en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : dentifrices, shampoings, crèmes solaires, rouges à lèvres, savons **(Cavanagh et Wilkinson, 2002).** Les produits d'hygiènes, les détergents et les lessives, par exemple, consomment également beaucoup d'HE pour masquer les odeurs (souvent désagréables) des produits purs.

I.1.10.4. Pharmacie

Les essences de plantes sont largement utilisées en infusion (menthe, verveine, thym, etc.) et sous forme de préparations galéniques. Plus de 40 % des médicaments sont à base de principes actifs végétaux. Par exemple, la gastralgie est un antiacide digestif composé d'HE de carvi. De même, grâce à leurs propriétés aromatisants, elles contribuent à masquer l'odeur désagréable des médicaments pris par voie orale. De plus, de nombreux médicaments vendus en pharmacie sont à base d'HE, comme les collyres, les crèmes et les élixirs **(Silva *et al.*, 2017).**

I.1.11. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances puissantes et très efficaces. Ils représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Il est cependant important de souligner que l'automédication fréquente et abusive, notamment en ce qui concerne la posologie et la méthode d'application interne ou externe des essences est nocive. Provoque des effets secondaires, des dommages plus ou moins importants sur l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc.). Principalement à la population sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou sensibilité) **(Silva, 2010).**

I.1.11.1. Toxicité aiguë

Des études ont révélé que les huiles essentielles extraites de *Croton pulegiodorus* et *Croton argyrophyllus* présentaient une toxicité orale aiguë chez les souris. *C. pulegiodorus* a montré une toxicité significative à des doses supérieures à 500 mg/kg **(Santos *et al.*, 2024 ; Oliveira *et al.*, 2024).** En revanche**,** *C. argyrophyllus* n'a pas induit de toxicité aiguë à une dose de 2000 mg/kg, bien qu'il ait présenté des effets cytotoxiques sur des lignées cellulaires humaines **(Oliveira *et al.*, 2024).**

I.1.11.2. Toxicité sur le développement

Des études menées sur des embryons de poissons-zèbres ont mis en évidence des effets délétères de certaines huiles essentielles, notamment celles de citronnelle, de thym et d'origan. Ces huiles ont entraîné des anomalies du développement, telles qu'une réduction de l'épibolie et des malformations morphologiques, avec des valeurs spécifiques de CL50 indiquant leur niveau de toxicité **(Silva *et al.*, 2023).**

I.1.11.3. Composition chimique et toxicité

La toxicité des huiles essentielles est étroitement liée à leur composition chimique. Par exemple, les huiles riches en camphre et en α-terpinéol ont montré différents degrés de toxicité **(Santos *et al.*, 2024).** Bien que les huiles essentielles soient largement reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, leur toxicité potentielle justifie une évaluation approfondie de leur innocuité, notamment chez les populations sensibles, telles que les femmes enceintes **(Santos *et al.*, 2024).**

I.1.12. Commercialisation des huiles essentielles en Algérie

En Algérie, la commercialisation des plantes aromatiques et médicinales se fait principalement sous deux formes : à l'état brut ou conditionné en huiles essentielles, oléorésines et résinoïdes. Les données présentées reposent sur les statistiques du commerce extérieur des produits agricoles ainsi que sur celles du Centre National de l'Informatique et des Statistiques (CNIS) de la Direction Générale des Douanes, qui sont basées sur les déclarations en douane et les échanges extérieurs. Les statistiques du commerce extérieur agricole regroupent les huiles essentielles, oléorésines et résinoïdes en un seul chapitre. En revanche, les données des douanes algériennes, qui se trouvent dans le chapitre 33 du code des douanes, incluent les huiles essentielles et résinoïdes, ainsi que les produits de parfumerie ou de toilette préparés et les préparations cosmétiques. Cela explique les différences observées entre les valeurs commerciales des deux sources de données **(Bessah et Benyoussef, 2015)**.

Pour l'analyse des résultats, il est pertinent de se concentrer sur les données du commerce extérieur agricole. Selon ces statistiques, l'Algérie est restée en marge de l'évolution mondiale du secteur des huiles essentielles, oléorésines et résinoïdes. Les échanges commerciaux, tant les exportations que les importations, sont largement dominés par les importations **(Bessah et Benyoussef, 2015)**.

Chapitre II :

Huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* et activités biologiques

II.2. Généralités sur *Origanum vulgare L. ssp. glandulosum*

Le terme origan provient du latin *origanum*, lui-même issu de grec origanon. Le terme français apparait au XIIIème siècle. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plait sur la montagne » **(Dubois *et al*., 2005).** En effet, l'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté **(Dubois *et al*., 2005).**

Le genre *origanum* comprend environ 70 espèces, sous-espèces, variétés et hybrides, caractérisés par une extrême variabilité dans leurs caractères morphologiques (longueur de la tige, arrangement, nombre et longueur des branches, formes des feuilles, …) **(Kintzios, 2002)**. Les membres du genre sont principalement distribués le long de la région de la Méditerranée. Tandis que 75 % d'entre eux sont limités à la Méditerranée orientale, seulement quelques espèces existent dans la partie occidentale de la Méditerranée **(Skoula *et al*., 1999)**. *Origanum vulgare L*. (origan) étant l'espèce la plus répandue et la plus connue de la famille des Lamiacées l'une de ses sous espèces *Origanum vulgare ssp. glandulosum* **(Figure 09) (Spada et Perrino, 1996).**



Figure 9. *Origanum glandulosum* **(Photo personnelle, 2025)**

II.2.1. Description botanique et morphologique

L'*Origanum vulgare ssp. glandulosum* est une herbacée vivace de la classe des dicotylédones qui mesure de 30 à 80 cm de haut, au feuillage et aux fleurs odorantes quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude **(Dubois *et al.*, 2006)**. Elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires. Elle fleurit de mai à octobre. C'est une plante hémicryptophyte. Les plantes hémicryptophytes sont des plantes vivaces dont les bourgeons de renouvellement sont situés au niveau du sol. En effet, les parties aériennes meurent pendant la mauvaise saison, et la plante peut donc repartir à partir des bourgeons de renouvellement **(Caillaud, 2013)**. C'est une plante souvent peu rougeâtre violacée et qui est couverte de poils. Faisant partie de la famille des *Lamiaceae*, elle possède donc de nombreuses tiges dressées à la section carrée et ramifiées. Ces tiges peuvent persister l'hiver à

l'état sec. L'origan est une plante à tiges dressées, généralement poilues, quelques fois glabres. Elles portent les feuilles à bord entier ou denté (jusqu'à 30 paires par tige), généralement ovales et à pointe émoussée, elles sont poilues ou glabres et portent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes (jusqu'à 800 par cm^2) **(Caillaud, 2013).**

Les fleurs sont groupées en inflorescences ou épis. Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, légèrement membraneuse glabre ou quelques fois pubescente, de couleur rouge-violacé ou parfois glauque. La bractée est plus longue que le calice de la fleur **(Figure10).**

À l'intérieur du calice de 2 à 4 mm de longueur, se trouve la corolle (4 à 10 mm de longueur) de couleur rose ou violette **(Caillaud, 2013 ; Dubois *et al*., 2006)**.



Figure 10. Herbier *d'Origanum vulgare L. subsp. glandulosun* **(Mahfouf, 2018)**

II.2.3. Classification botanique

Plus de 300 noms scientifiques ont été donnés au cours des 150 dernières années à plus de 70 espèces d'origan suite à sa grande diversité morphologique et chimique **(Kintzios, 2002 ; Thompson *et al*. 2013)**. La position systématique d'*origanum vulgare* d'après **(Guignard, 1996)**, dont la classification actuelle est dans le tableau suivant :

Tableau 01. Classification botanique *d'origanum glandulosum*

Régne	Plantae
Sou_régne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophytes
Sou_embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sou_classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	*Lamiaceae*
Genre	*Origanum*
Espèce	*Origanum vulgare* (Deysson 1967)
Sous espèce	*Origanum glandulosum*

II.2.4. Répartition géographique

Le genre *Origanum* comprend 42 espèces ou 49 taxa (espèces, sous espèce et variétés) divisés en 10 sections. La majorité d'entre eux présente une distribution locale autour de la méditerranée soit 46 taxa parmi 49. Trois taxa sont réservés au Maroc et le sud d'Espagne, deux en Algérie et en Tunisie, trois sont endémiques à la Cyrenaica, neuf sont limités à la Grèce, le sud des Balkans et l'Asie mineure (six sont des plantes endémiques locales de la Grèce), 21 sont trouvés en Turquie, Chypre, Syrie et Liban (21 sont endémiques à la Turquie), et enfin huit sont distribués localement en Palestine, Jordanie et à la péninsule du Sinaï **(Figure 11) (Kouache, 2019).**

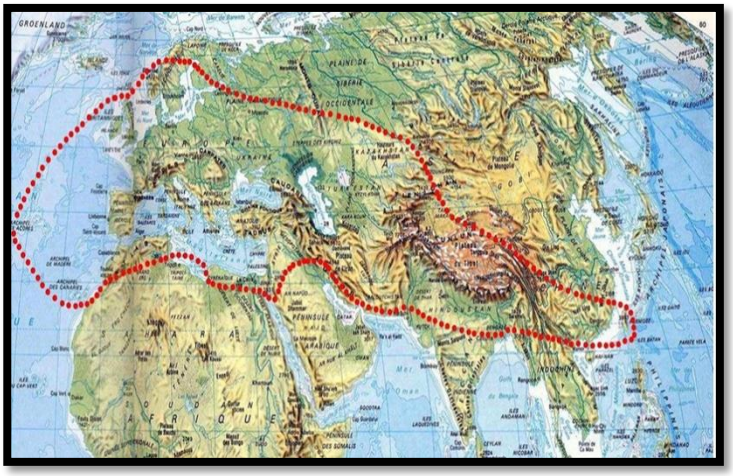


Figure 11. Aire de distribution du genre *Origanum* **(Ietswaart, 1980)**

La plante utilisée dans notre étude provient de la région de Sétif qui est située à 300 km à l'est d'Alger, à 65 km de Bordj Bou Arreridj et à 123 km de Constantine. Elle est située à 1100 m d'altitude dans les plateaux du sud de la région **(Figure 12).**



Figure 12. Présentation de la région de Sétif **(MapInfo, 2025)**

II.2.5. Nomenclature d'*O. glandulosum*

La nomenclature *d'O. glandulosum* est étroitement liée à sa classification et à ses caractéristiques, car elle reflète à la fois l'identité taxonomique et les traits distinctifs de l'espèce. Le terme « *glandulosum* » indique la présence de structures glandulaires, une caractéristique essentielle de la classification de diverses espèces végétales. Cette nomenclature est non seulement descriptive, mais permet également de distinguer les espèces au sein d'un même genre ou d'une même famille en mettant en évidence des caractéristiques morphologiques ou chimiques uniques **(Ferreira *et al*., 2023).**

II.2.5.1. Classification et caractéristiques

- ***Oreocharis glandulosa*** *:* Cette espèce appartient à la famille des *Gesneriaceae* et se caractérise par la pubescence glandulaire dense de sa corolle, un élément important pour son identification et sa classification. La structure à deux lèvres de la corolle et ses motifs de lobes spécifiques la distinguent également d'espèces étroitement apparentées comme *O. bodinieri* **(Tan *et al*., 2013).**
- ***Origanum glandulosum*** : Endémique d'Afrique du Nord, cette espèce est classée dans la famille des *Lamiacées* et est réputée pour ses propriétés médicinales, attribuées à ses composés bioactifs. Les structures glandulaires sont probablement liées à la production d'huiles essentielles et d'autres composés phytochimiques qui contribuent à ses activités antimicrobiennes et antioxydantes **(Mechergui *et al*., 2016).**
- ***Andryala glandulosa*** : Cette espèce, appartenant à la famille des *Astéracées,* a fait l'objet de révisions taxinomiques, ses sous-espèces ayant été reclassées en fonction de structures végétatives et reproductives distinctes. Les caractéristiques glandulaires jouent un rôle dans sa classification, car elles font partie des caractères diagnostiques utilisés pour la différencier des autres sous-espèces **(Ferreira *et al*., 2023).**
- ***Clerodendrum glandulosum*** : Connue pour ses utilisations ethno pharmacologiques, cette espèce est classée dans la famille des *Lamiacées*. Ses structures glandulaires sont associées à la production de métabolites secondaires, dotés d'un potentiel pharmacologique important, notamment d'effets antihypertenseurs et anti-inflammatoires **(Khound et Devi, 2024).**

II.2.6. Caractéristiques physicochimiques d'huile *Origanum glandulosum*

Cette huile essentielle se présente comme un liquide jaune pâle, au parfum aromatique fort, avec une densité relative de 0,930 à 0,940 à 20°C, un indice de réfraction de 1,495 à 1,505, et

un pouvoir rotatoire voisin de zéro. Ces paramètres indiquent une bonne pureté et stabilité de l'huile extraite **(Bounatirou *et al*., 2007)**,

II.2.7. Principes actifs d'*O. glandulosum*

L'huile essentielle d*'origanum glandulosum* est principalement riche en carvacrol, thymol et d'autres composés dont la nature et les proportions varient considérablement selon les conditions de culture **(Mechergui *et al*., 2010 ; Bendahou *et al*., 2008)**. La présence de ces phénols explique l'usage de la plante comme antispasmodique dans le traitement des toux quinteuses **(Bézange *et al*., 1980)**. Par ailleurs, la plante contient également des acides phénoliques tels que l'acide caféique, chlorogénique et rosmarinique, ainsi que des flavonoïdes dérivés de l'apigénine, lutéoline, kaempférol et diosmétol **(Bézange *et al*., 1980).**

II.2.8. Composition chimique des huiles essentielles d'O. *glandulosum*

Deux chémotypes ont été signalés pour l'huile *d'origanum glandulosum* de la région de Sétif (Algérie) : chémotype à thymol et l'autre à carvacrol **(Ruberto *et al*., 2002 et 2006 ; Sari *et al*., 2006, Bouguerra, 2019)**. Une autre étude réalisée sur la même plante **(Houmani *et al*., 2002)** récoltée dans la région d'Alger, a permis d'obtenir des teneurs élevées en thymol (55,6%) suivi de p-cyméne (12,5%), de -terpinène (11,20%) et de carvacrol (2,70%). Par ailleurs **(Belhattab *et al*., 2005)**, ont trouvé que l'huile essentielle d'*O.glandulosum* de la région de Sétif (Algérie), présente une forte teneur en carvacrol (47%), suivi de γ -terpinène (13,4%), p-cymène (11,2%) et de thymol (6,6%). **(Sari *et al*., 2006),** Ont identifiés 30 composés dans l'huile essentielle d *'Origanum glandulosum* récolté de l'Est de l'Algérie représentant un pourcentage variant entre (97,7% et 99,6%) par contre **(Bendahou *et al*., 2007)**, ont montré l'existence du thymol comme composé majoritaire avec un pourcentage de.55,6%.

Tableau 2. Composition chimique des huiles essentielles extraitent a partir d'*Origanum vulgare L. ssp. glandulosum* par CPG-SM **(Bouguerra, 2019)**.

N◦	Composés chimiques	Temps de rétention	Indice de rétention	Pourcentages (%)
Monoterpènes				**97,85**
Monoterpènes Oxygénés				**82,16**
1	Trans-sabinène hydrate	17,950	10,94	0,05
2	Linalool L	20,552	1100	1,94
3	Bornéol	25,001	1168	0,18
4	Terpène-4-ol	25,757	11,77	0,16

5	Carvacrol Méthyl Ether	30,403	1245	0,16
6	Thymol	34,929	12,85	2,04
7	Carvacrol	36,495	1300	77,93
Monoterpènes Hydrocarbonés				**15,69**
8	α-thujène	8,778	920	0,20
9	α-pinène	9,164	927	1,87
10	Camphène	9,954	943	0,06
11	β-myrcène	12,653	993	0,63
12	β-pinène	11,612	970	0,08
13	α -phellandrène	13,434	10,05	0,08
14	γ-terpinène	17,371	10,58	6,79
15	p-Cymène	14,966	10,23	5,41
16	α -terpinolène	19,227	10,88	0,13
17	(+)- Sylvestrène	15,121	10,28	0,44
Sesquiterpènes				**1,20**
Sesquiterpènes Oxygénés				**0,25**
18	Spathulénol	51,512	15,79	0,25
Sesquiterpènes Hydrocarbonés				**0,95**
19	α -Gurjunène	41,126	1407	0,10
20	(+) -Aromadendrène	42,987	14,37	0,17
21	Viridiflorène	46,462	14,93	0,14
22	Δ-Cadinène	48,216	15,23	0,07
23	Trans-Caryophyllène	41,801	1418	0,47
Alcool Secondaire				**0,82**
25	1octen-3ol	12,166	977	0,07
25	α -terpinène	14,272	1017	0,75
Total				**99,87**

II.2.9. Activités biologiques des huiles essentielles

L'efficacité biologique d'une huile essentielle est étroitement liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels présents dans ses principaux constituants, ainsi qu'aux interactions synergiques entre ces composés **(Dorman et Deans, 2000 ; Ultee *et al.*, 2002**). Les substances les plus actives sont généralement les phénols (comme le *thymol*, le *carvacrol* et l'eugénol), les alcools (tels que le ³-terpinéol, le terpinène-4-ol et le linalool), les aldéhydes, les cétones, et dans une moindre mesure, les terpènes **(Cosentino *et al.*, 1999 ; Dorman et Deans, 2000).** Les alcools exercent leur action principalement en dénaturant les protéines, en jouant le rôle de soants ou d'agents de déshydratation. Les aldéhydes, de leur côté, peuvent provoquer des transferts d'électrons et interagir avec des composés essentiels au fonctionnement cellulaire des bactéries, tels que les protéines et les acides nucléiques **(Dorman et Deans, 2000).**

II.2.9.1. Activités antioxydante

Les huiles essentielles *d'Origanum vulgare subsp. glandulosum* ont été analysées par le test DPPH, révélant une activité antioxydante en corrélation avec leur teneur en *thymol* et en *carvacrol* **(Mechergui *et al.*, 2010).** L'administration de l'huile essentielle d'origan dans l'alimentation a également été associée à une augmentation des niveaux d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase (GSH-Px) et la superoxyde dismutase (SOD), accompagnée d'une diminution des concentrations de malondialdéhyde (MDA), un marqueur reconnu du stress oxydatif **(Yao *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2020).** L'ajout d'huile essentielle *d'Origanum vulgare* à des huiles comestibles a permis de limiter l'oxydation des lipides et de maintenir leur stabilité, confirmant ainsi son efficacité en tant qu'agent antioxydant naturel **(Spiridon *et al.*, 2016).** *Origanum glandulosum* a démontré des propriétés antioxydantes puissantes, comparables à celles des antioxydants synthétiques comme le Trolox, principalement en raison de sa forte teneur en carvacrol et en acide caféique. Cette capacité antioxydante a été confirmée par des essais tels que le piégeage du DPPH et le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer, où les huiles essentielles et les extraits méthanoliques ont révélé une activité remarquable **(Béjaoui *et al.*, 2013 ; Béjaoui *et al.*, 2017 ; Aouadi et Labiod, 2016).**

II.2.9.2. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles d'*O. glandulosum* ont démontré une forte activité antibactérienne, notamment contre les souches d'*E. coli* uropathogènes multirésistantes. Les principaux composants contribuant à cette activité sont le thymol et le carvacrol, ce dernier présentant la plus grande efficacité antibactérienne **(Nabti *et al.*, 2020).** L'activité antibactérienne a été confirmée par des méthodes de diffusion sur disque et de microdilution en bouillon, avec des zones d'inhibition significatives observées **(Aouadi et Labiod, 2016) (Nabti *et al.*, 2020).** En effet, l'origan *glandulosum* est réputé pour ses vertus bactéricides, son action sédative, son effet antispasmodique, son pouvoir antiseptique sur les voies respiratoires **(Allane, 2009).**

II.2.9.3. Activité antifongique

L'activité antifongique de l'huile essentielle *d'Origanum vulgare ssp O.glndulosum* est influencée de manière significative par les concentrations utilisées ainsi que par les méthodes d'extraction. Les extraits et l'huile essentielle de cette plante ont montré une efficacité notable contre plusieurs espèces fongiques, une efficacité qui dépend principalement de la concentration de l'huile et de la technique d'extraction appliquée. Des procédés tels que

l'extraction au dioxyde de carbone supercritique, la distillation à la vapeur d'eau ou la préparation d'extraits polaires permettent d'obtenir des huiles de compositions chimiques variables, présentant ainsi des propriétés antifongiques différentes. La concentration en composés actifs tels que le thymol et le carvacrol joue un rôle déterminant dans l'intensité de l'activité antifongique observée **(Santin *et al*., 2014 ; Miguel et Pachamango, 2018 ; Fonseca, 2011).**

L'activité antifongique des huiles essentielles (HEs) est étroitement liée à la complexité de leur composition chimique. Selon plusieurs études, les composés phénoliques présentent une efficacité antifongique supérieure à celle des aldéhydes, et cette activité varie selon la nature des groupes fonctionnels présents dans les molécules (**Rasooli et Abyaneh, 2004 ; Teixeira *et al*., 2005).**

Les terpènes, en particulier les phénols et les aldéhydes, interagissent avec les enzymes membranaires fongiques, provoquant une altération de la perméabilité de la membrane plasmique, ce qui entraîne une désintégration cellulaire **(Giordani et Kaloustian, 2006)**. De plus, certaines molécules telles que les alcools et les lactones sesquiterpéniques se sont également révélées actives contre divers champignons pathogènes. Par ailleurs, il est important de souligner que certains constituants minoritaires, bien que présents en faibles concentrations, peuvent contribuer à l'activité antifongique globale des huiles essentielles. Ces effets peuvent s'expliquer par des interactions synergiques entre les différents composants de l'huile **(Tantaoui *et al*., 1993*).*** *O. glandulosum* présente également des activités antifongiques, antithrombiniques, antimutagènes, angiogéniques, antiparasitaires et antihyperglycémiantes, soulignant son potentiel thérapeutique diversifié **(Mechergui *et al*., 2016).**

II.2.9.4. Activité antidiabétique

Les extraits de la plante de *O. glandulosum* ont montré des effets inhibiteurs significatifs de l'α-amylase, suggérant une utilisation potentielle dans la prise en charge du diabète de type II. L'inhibition est concentration-dépendante et comparable à celle des antidiabétiques classiques comme l'acarbose **(Béjaoui *et al*., 2013 ; Béjaoui *et al*., 2017).**

II.2.9.5. Autres activités biologiques

O. glandulosum présente également des activités antithrombiniques, antimutagènes, angiogéniques, antiparasitaires et antihyperglycémiantes, soulignant son potentiel thérapeutique diversifié **(Mechergui *et al*., 2016).**

II.2.10. Toxicité

L'huile essentielle d*'origan* ne doit pas être utilisée à l'état pur, car ses constituants principaux, le carvacrol et le thymol, appartenant à la classe des phénols, présentent des propriétés irritantes pour la peau et les muqueuses. Un dosage excessif peut provoquer des convulsions **(Labre, 2012).** Pour un usage chez l'humain, il est conseillé de ne pas dépasser une concentration de 1 % dans les mélanges **(Hammer *et al*., 1999).** Chez la souris, une dose orale de 650 mg/kg de poids corporel s'est révélée mortelle. En revanche, des doses plus faibles, comprises entre 100 et 200 mg/kg, administrées quotidiennement avec de l'huile d'olive, sont bien tolérées **(Manohar *et al*., 2001).**

Matériel et méthodes

- **Cadre et objectifs d'étude**

Cette étude, menée au laboratoire pédagogique du département de biologie appliquée de l'université Echahid Echikh Larabi Tebessi (Faculté des Sciences Exactes et de la Nature et de la Vie), a exploré les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles extraites de la plante médicinale *O. glandulosum.*

Les travaux ont également porté sur l'évaluation des activités antimicrobiennes et antioxydantes de ces huiles essentielles, testées contre des souches isolées de maladies infectieuses.

III. Méthode d'analyse

III.1. Extraction des huiles essentielles

III.1.1. Matériel végétal

Notre matériel biologique végétal utilisé est l'*O. glandulosum* appartenant à la famille des *Lamiacae* est connue sous le nom **" ZAATAR".** Il a été présenté dans le chapitre précédent. La récolte a été effectuée dans la région de Sétif au mois de décembre **2025**. Pour faciliter l'extraction des huiles essentielles à partir de l'*O. glandulosum* deux opérations de prétraitement de ces matériels ont été effectuées : séchage et broyage.

Séchage : Le séchage d'*O. glandulosum* est effectué à l'ombre, à l'abri de l'humidité durant deux semaines (15 jours) et à une température ambiante.

Broyage : *O. glandulosum* ensuite broyées à l'aide d'un mortier en très petits morceaux. Ce dernier a été conservé dans des bouteilles en verre scellées et exclues de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation **(figure13).**



Figure13. Broyage de *O. glandulosum* **(photo personnelle, 2025)**

III.1.2. Matériel d'extraction

Le Tableau ci-dessous représente les différents matériel et instruments utilisés pour la procédure d'extraction.

Tableau 03. Appareils, verreries et produits utilisés pour l'extraction

Appareil	Verreries et autres	Solvant et soluté
Balance (Scout Pro)	Éprouvette de 500 ml	Eau distillée
Hydro-distillateur de type Clevenger	Bécher de 50 ml	Acétone
Chauffe-ballon	Flacon en verre du 5 ml	
Ballon en verre pyrex 2000 ml	Pissette	
Une colonne	Entonnoir	
Un réfrigérant	Papier aluminium	
Un collecteur		

III.1.3. Procédé d'extraction

Cent grammes (100g) des feuilles d'*O. glandulosum* séchés ont été introduits dans un ballon à fond rond de 2000 ml, auxquels 1000 ml d'eau distillée a été ajoutée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 03 heures **(Bouguerra *et al.*, 2018)**. Le chauffe-ballon permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon. La vapeur d'eau provenant de l'échauffement du ballon est condensée dans un réfrigérant. L'huile essentielle étant de densité faible est séparée de l'eau dans un collecteur en verre. L'huile essentielle a été récupérée dans un flacon ambré et stocké à une température de réfrigération jusqu'à son utilisation **(Figure 14).**





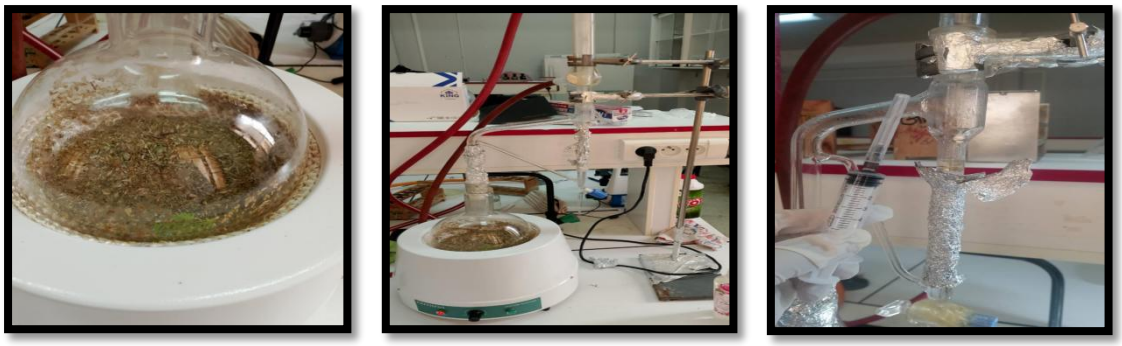


Figure 14. Hydrodistillation type Clevenger **(Photos personnelles, 2025)**

III.1.4. Calcul du rendement des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

Le rendement des huiles essentielles d'*O. glandulosum* a été déterminé par le rapport entre la masse des huiles essentielles obtenues et celle de la matière sèche utilisée selon la formule suivante :

$$R = [\Sigma PB / \Sigma PA] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

ΣPA : Poids de la matière sèche de la plante en g (somme des trois répétitions)

ΣPB : Poids de l'huile en g (somme des trois répétitions)

III.2. Évaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles caractérisées par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, d'ester réfraction). En outre, les huiles essentielles peuvent être caractérisées par des propriétés organoleptiques qui comprennent l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile.

III.2.1. Mesures des indices chimiques

III.2.1.1. Indice d'acide

L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage. Il se définit comme le nombre de milligrammes (mg) d'hydroxyde de potassium KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle **(Nfiso, 1999) (Lion, 1995).**

- **Principe :** Le test consiste en la neutralisation de la solution d'huile essentielle dissoute dans l'éthanol, à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, en utilisant la phénolphtaléine comme indicateur coloré.
- **Mode opératoire :** 0,25g d'huile essentielle est introduit dans une erlenmeyer de 25ml, on ajoute 1,25 ml d'éthanol à 96% et environ 2 gouttes de l'indicateur coloré phénolphtaléine. Puis on neutralise la solution obtenue avec

l'hydroxyde de potassium KOH à 0,1N jusqu'à ce jour de la solution rose. A la fin, on prend le volume exact de KOH consommé pour le calcul de l'indice d'acide par la relation suivante :

$$Ia = V.C\ (56.11/m)$$

- **V :** volume en ml de la solution de KOH utilisé pour le titrage
- **C :** concentration en mol/l de la solution de KOH
- **m :** masse en g d'huile



Figure 15. Matériel utilisé pour l'indice d'acide **(Photo personnelle, 2025)**



Figure 16. Solution HE & éthanolique d'hydroxyde **(Photo personnelle, 2025)**



Figure 17. Solution Rose de potassium **(Photo personnelle, 2025)**

III.2.1.2. Indice de pyroxide

1g d'HE sont mis dans un flacon de 100ml, puis on ajoute 5ml de chloroforme et on agite. On ajoute ensuite au mélange 7.5ml d'acide acétique pur et 1ml d'une solution d'iodure de potassium saturée. On laisse reposer pendant 5 mn à l'obscurité et on ajoute 37.5 ml d'eau distillée et quelque goutte d'empois d'amidon (1%). L'iode libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium 0,01N. Un essai à blanc est parallèlement réalisé dans les mêmes conditions. L'indice de peroxyde (Ip) est calculé selon la formule suivante :

$$Ip=[(V0–V)\ /P]x10(méq.\ O2\ /Kgd'HE)$$

- V : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai.
- V0 : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.
- P : prise d'essai en gramme

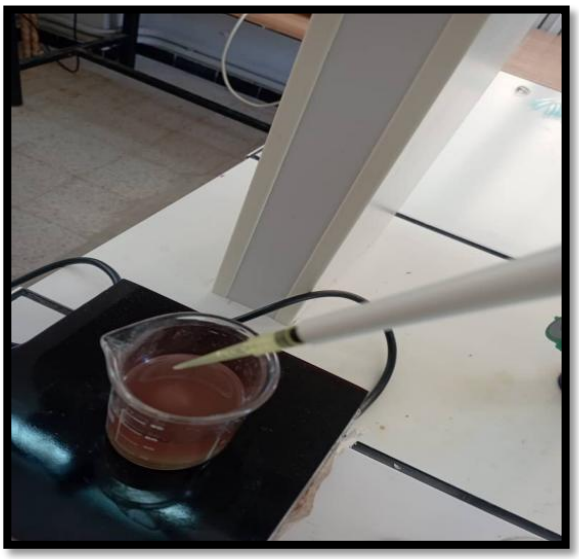


Figure 19. Iodure de potassium (**photo personnelle, 2025)**



Figure 20. Emploie d'amidon **(Photo personnelle, 2025)**

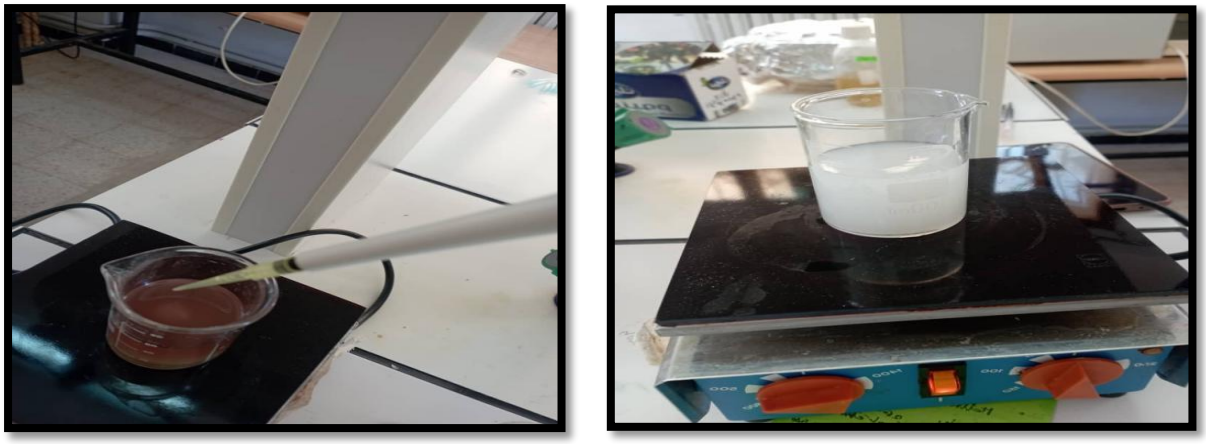


Figure 21. L'essai (**Photo personnelle, 2025)**

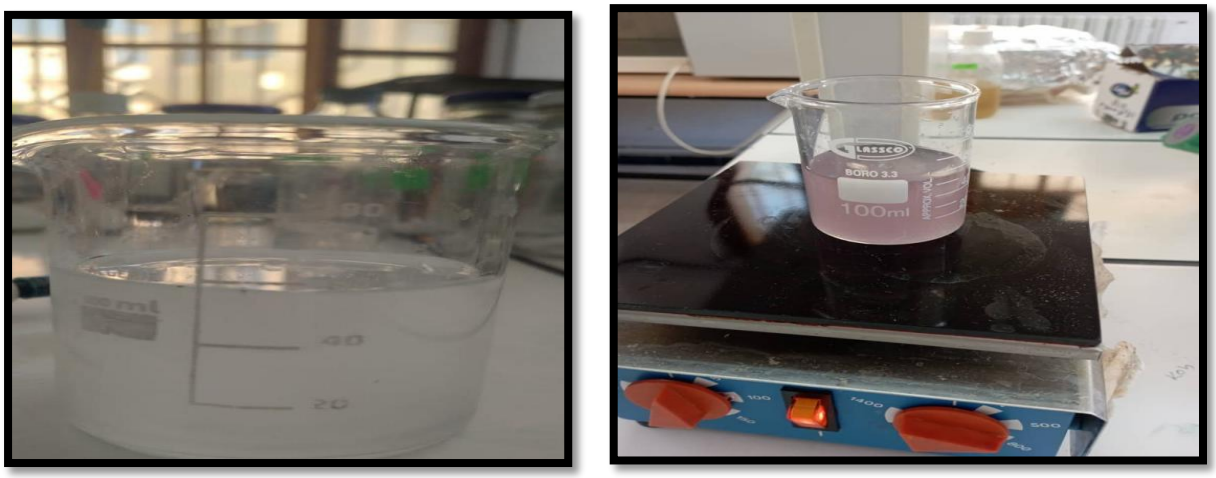


Figure 22. L'essai à blanc **(Photos personnelles, 2025)**

III.2.2. Mesure des indices physiques

III.2.2.1. Couleur

- **Mode opératoire**

La mesure de la couleur d'une huile essentielle est basée sur la détermination de l'absorbance (A) de celle-ci à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à des longueurs d'onde : 460 mm, 550 mm, 620 mm et 670 mm. La valeur de la couleur se calcule par la formule proposée par American *Oil Chemists* Society AOCS (**Karteskind, 1992).**

Couleur (A.O.C.S) = 0.710 A460+0.282 A550 +0.164 A620 +0.191 A67



Figure 23. Spectrophotomètre UV-Visible **(Photo personnelle, 2025)**

III.2.2.2. Densité relative

La densité de l'huile essentielle est estimée à l'aide d'une seringue par manque du pycnomètre. Le volume prélevé est de 0,5 ml pour chaque répétition ainsi que pour l'eau. La densité a été calculée selon la formule suivante :

D = (m1-m0) / (m - m0)

m1 : masse en g de la seringue contenant 0,5 ml d'HE.

m0 : masse en g de la seringue vide.

m : masse en g de la seringue contenant 0,5 ml d'eau distillée.

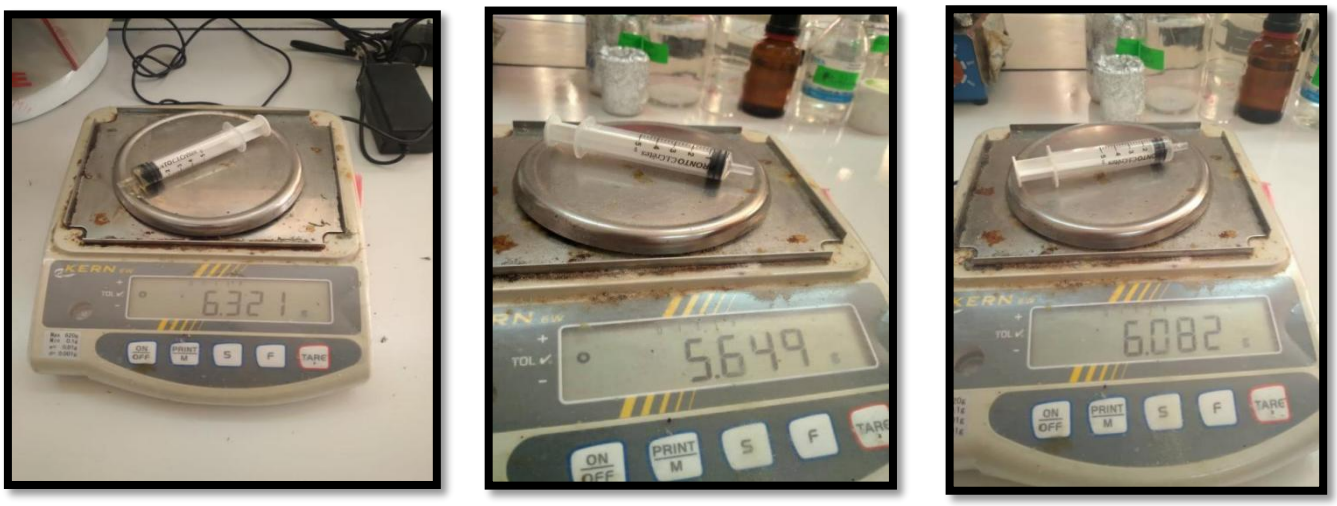


Figure 24. L'essai de la densité relative **(Photos personnelles, 2025)**

III.2.2.3. Miscibilité dans l'éthanol

- **Mode opératoire**

La miscibilité de l'HE a été déterminée dans l'éthanol à 70%. Dans un Erlen contenant 1ml d'huile essentielle, on verse de l'éthanol à 70% par fraction de 0,2ml à l'aide d'une burette en agitant après chaque ajout. Lorsqu'une solution limpide est obtenue, on note le volume d'alcool ajouté.

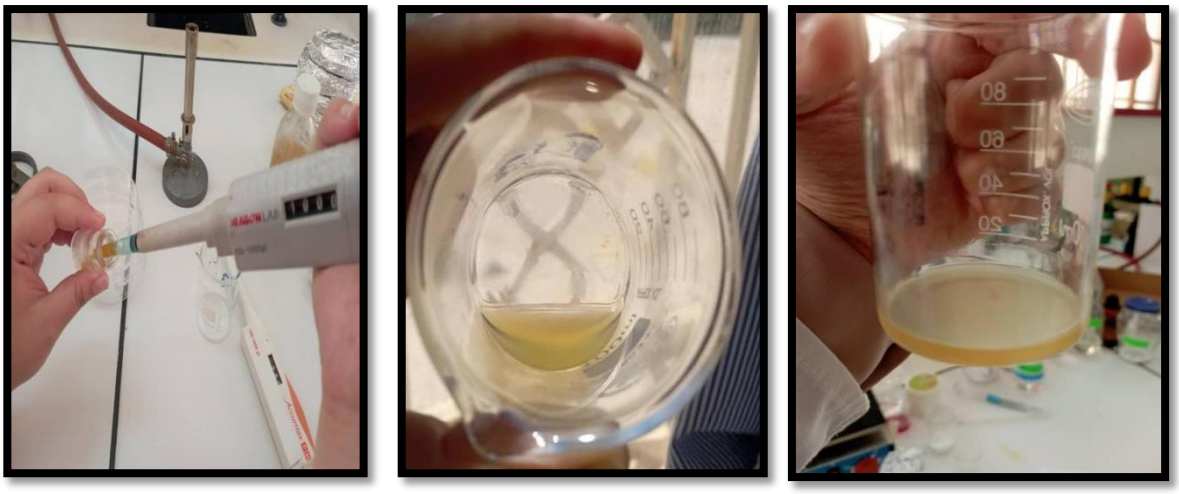


Figure 25. Solution limpide **(Photo personnelle, 2025)**

III.3. Évaluation de l'activité biologique

III.3.1. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles d'*O. glandulosum* a été évaluée dans ce travail en adoptant deux types de tests in vitro. Il s'agit de la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle).

- **Principe**

Le DPPDH fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure- activité antioxydant des composes phénoliques **(Blois, 1958 ; Brand *et al*., 1995).** Il possède un électron non apparie sur un atome du pont d'azote **(Popovici *et al*., 2009).** La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants **(Molyneux, 2004).** En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en *2.2 Diphenyl- 1- picryl hydrazine* de couleur jaune selon la réaction suivante : **(Maataoui *et al*., 2006).**

DPPH*+(A ▬▬▬▬ DPPH-H+ (A*)n

DPPH* : 2.2 diphényle- 1- picryl-hydrazyl

AH : un composé capable de céder un H au radical DPPH

A* : le composé oxydé après la réduction de DPPH

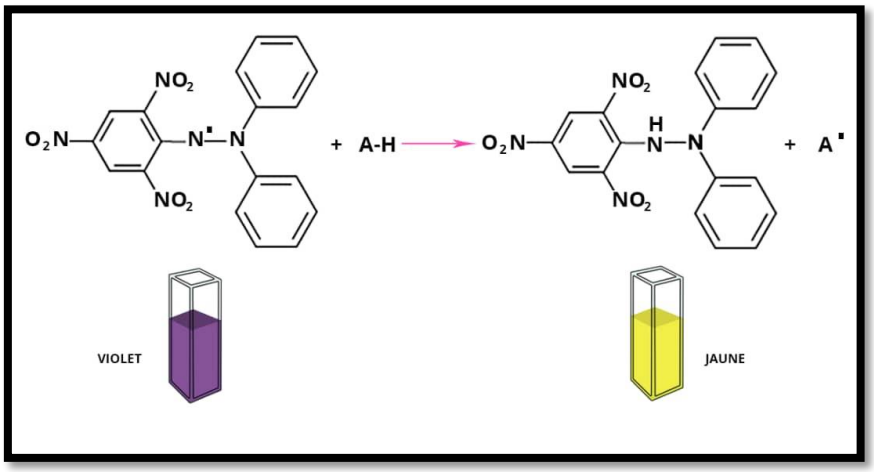


Figure 26. Réaction de test DPPH *(2.2 Diphenyl 1 picrylydrazyl)*

- **Matériel et réactif**

Matériel et les différents réactifs utilisés sont résumés dans les photos suivantes :

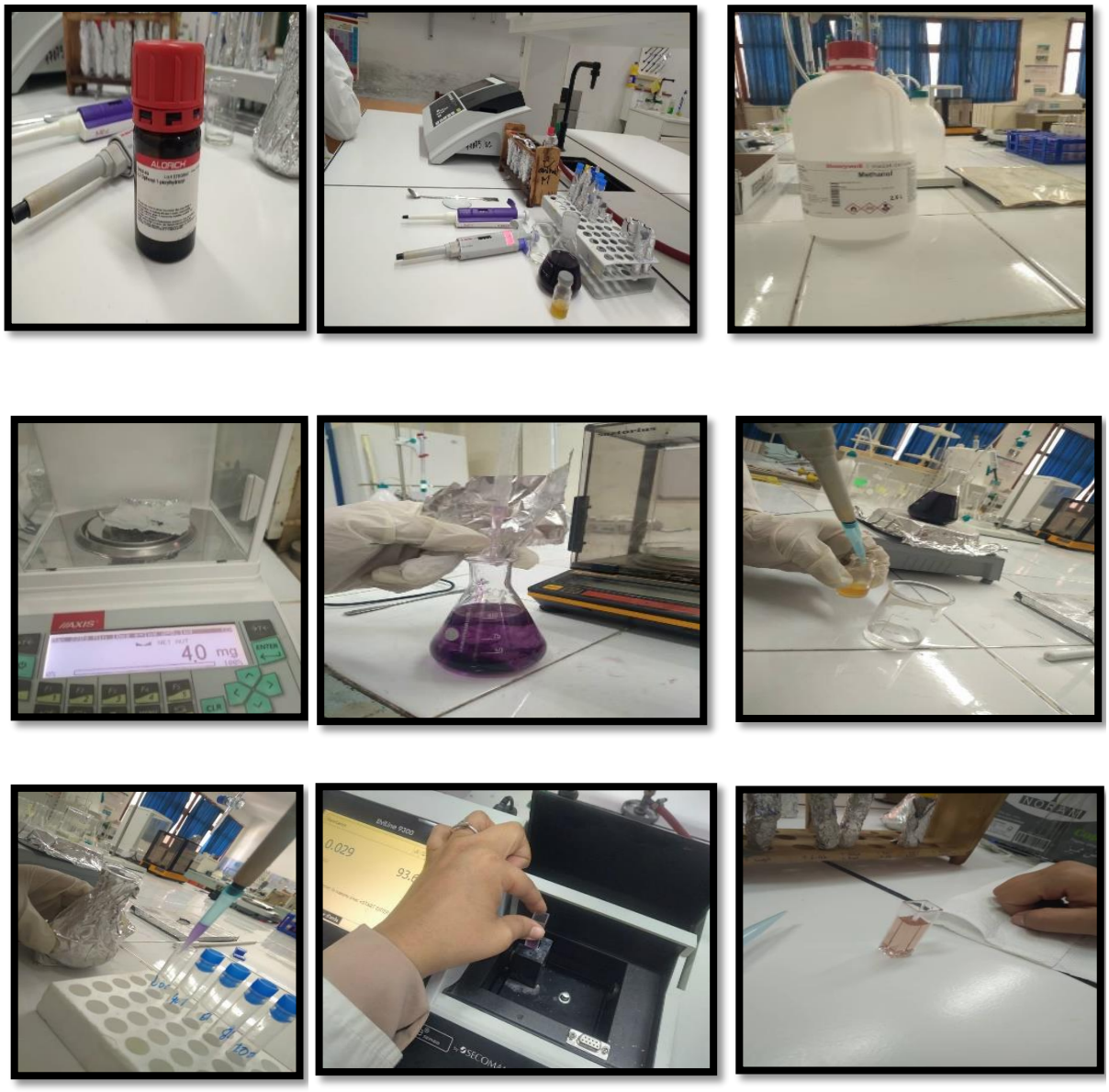


Figure 27. L'essai de l'activité antioxydante des HEs d'*O. glandulosum*
(Photos personnelles, 2025)

Tableau04. Appareils et réactifs utilisés pour l'activité anti-DPPH

Appareil	Verreries et Autres	Réactifs et Autres	Solvant et Soluté
Spectrophotométrie UV-VISIBLE1700 (Pharma-S-pec SHIMADZU)	Verre de montre	Le DPPH (2.2 diphényle-1- picryl hydrazyl)	Eau distillée
Micropipettes : 100ul-1000ul 10ul-100ul	Fiole jaugée :100ml et 50ml	Acide ascorbique	Méthanol

Balance analytique (ALS286 4N)	Tube à hémolysée verre de 05 ml avec un portoir	H.E de *O. glandulosum*	
	Bécher de 50 ml		
	Éprouvettes graduées de 25 ml		
	Entonnoir		
	Les embouts jaunes et Bleus		
	Spatule		
	Papier aluminium		

- **Mode opératoire**

Selon la méthode décrite par **(Burits et Bucar, 2000),** 25µl de chacune des solutions méthanoliques d'huile essentielle testée à différentes concentrations (200µg/ml, 400µg/ml,600µg/ml, 800 µg/ml et 1000µg/ml) sont mélangées avec 2,5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%) qui est préparée par la solubilisation de 0,004g de DPPH poudre dans 100ml de Méthanol. Pour déterminer la cinétique de la réaction, l'absorbance a été lue à 517 nm à différents temps (0, 5, 10, 15, 20, 25, et 30 min). Pour des fins de comparaison, l'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée avec les mêmes concentrations et dans les mêmes conditions. Tous les essais ont été effectués en triple.

- **Détermination de pourcentage d'inhibition**

Selon **(Sharififar *et al.*, 2007),** l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) a été calculée de la manière suivante :

$$\%DPPH = \frac{Abs\ T - Abso\ E}{Abs\ T} * 100$$ **(wang *et al.*, 2002)**

Abs blanc : absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai)

Abs HE : absorbance d'huile essentielle.

- **Détermination de l'IC50**

La cinétique des réactions des H.Es et de l'acide ascorbique avec le DPPH a été inscrite à chaque concentration examinée. A la fin des réactions, les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations en H.E et en acide ascorbique ont été tracés pour obtenir à l'index IC50. Ce paramètre est défini comme

la concentration d'antioxydant requise pour réduire 50% de la concentration initiale de DPPH **(Khoudali *et al.*, 2014).**

III.3.2. Évaluation de l'activité antibactérienne

III.3.2.1. Test de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles (HEs), nous avons eu recours à la méthode de l'aromatogramme. Il s'agit d'une technique de diffusion sur milieu gélosé, utilisant des disques stériles en papier WATTMAN. Cette méthode repose sur la diffusion des composés antibactériens dans l'agar, à une concentration standardisée, pendant un temps de contact déterminé entre les huiles essentielles et les bactéries cibles. L'efficacité de l'activité antibactérienne est déterminée par la mesure de la zone d'inhibition formée autour du disque, exprimée en diamètre. Selon la taille de cette zone, l'activité antibactérienne est qualifiée de faible, bonne, très bonne ou excellente, ou bien considérée comme absente **(Meddour *et al.*, 2013).**

III.3.2.1.1. Isolats bactériens

Pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites à partir d'*O. glandulosum* des isolats bactériens de *Pseudomonas aerugenosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont été utilisés pour tester nos huiles essentielles ainsi que nos antibiotiques.

Tableau05. Isolats des bactéries collectés à partir des différentes localisations infectieuses.

Ordre	Souche	Origine
01	*Escherichia coli*	**Infection urinaire**
02	*Escherichia coli*	**Infection urinaire**
03	*Escherichia coli*	**Infection urinaire**
01	*Pseudomonas aeruginosa*	**Infection urinaire**
02	*Pseudomonas aeruginosa*	**Infection urinaire**
03	*Pseudomonas aeruginosa*	**Infection urinaire**
01	*Staphylococcus aureus*	**Infection cutanée**
02	*Staphylococcus aureus*	**Infection cutanée**
03	*Staphylococcus aureus*	**Infection cutanée**

III.3.2.1.2. Milieu de culture

Pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes aux huiles essentielles extraites à partir de d'*O. glandulosum* nous avons utilisé le milieu MH qui est le plus employé pour l'aromatogramme. La préparation de ce dernier se fait comme suit :

- Peser avec précision une quantité de poudre déshydratée du MH équivalente 15,2g dans un Erlenmeyer, en y ajoutant 400 ml d'eau distillée.
- Le mélange de poudre-eau distillée est chauffé sur plaque chauffante avec agitation à l'aide d'un barreau magnétique pendant 20 min afin d'assurer une bonne dissolution des cristaux.
- Le milieu préparé est ensuite réparti dans deux flacons stériles avant d'être autoclave pendant 20 min à120°C.

III.3.2.1.3. Étude de l'activité antibactérienne des huiles d'*O. glandulosum* (Aromatogramme)

Une quantité suffisante des souches bactériennes pures a été récupérée à l'aide d'une anse de platine. La réactivation des souches se fait dans des tubes à vis contenant 5ml de l'eau physiologique stérile puis homogénéisation par une faible agitation manuelle. Ensuite, un ensemencement d'une suspension bactérienne a été réalisé sur des boites pétris, contenant le milieu MH avec une épaisseur de 4mm à l'aide des écouvillons. Les boites ont été ensuite incubées pendant 24 h dans une étuve réglée à une température de 37 ˚C.

Un disque stérile de papier wattman de 06 mm de diamètre contenant 10µl des huiles essentielles d'*O. glandulosum* a été déposé sur le disque, puis déposés sur la culture de chaque bactérie étalée sur le milieu MH.







Figure 28. Activité antibactérienne (Aromatogramme) **(Photos personnelles, 2025)**

III.3.2.1.4. Lecture des résultats de l'aromatogramme

La lecture se fait par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions qui sont apparues autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse, les résultats expérimentaux sont représentés dans le **(Tableau 06).**

Tableau 06. Interprétation des diamètres de l'aromatogramme **(Hamidi, 2013)**

Diamètre du halo d'inhibition (X)	Activité	Résultats
X ≤ 6 mm	Absence	-
6 mm < X < 10 mm	Faible	+
10 mm < X <15 mm	Bonne	++
15 mm < X<20 mm	Très bonne	+++
X ≥ 20 mm	Excellente	++++

III.3.2.1.5. Étude de l'activité antibactérienne des huiles d'*O. glandulosum* (Atmosphérogramme)

L'atmosphérogramme, une technique utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles en phase gazeuse, c'est-à-dire par exposition à leurs vapeurs. Ce test est particulièrement adapté aux huiles essentielles très volatiles, comme celle d'*O. glandulosum* **(Djenadi, 2013).**

- **Protocole de l'atmosphérogramme**

Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles par voie atmosphérique

- **Objectif**

Évaluer l'effet inhibiteur des molécules volatiles des huiles essentielles sur la croissance bactérienne.

- **Matériel nécessaire**

- Boîtes de Pétri avec gélose nutritive (ex. gélose Mueller-Hinton)
- Souches bactériennes (ex. S*taphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa,* etc.)
- Suspension bactérienne normalisée (≈ 10^6 UFC/mL)

  Huile essentielle (ex. : *O. glandulosum*)
- Disques de papier stériles (Whatman)
- Pipettes, micropipettes
- Parafilm
- Incubateur (37°C)

- **Étapes du protocole**

- Ensemencement
- Application de l'huile essentielle
- Déposer un volume déterminé (10 µL) d'huile essentielle sur un disque de
- papier filtre stérile.

- **Placement**

Coller le disque imbibé sur la face interne du couvercle de la boîte de Pétri (sans contact avec la gélose).

- **Fermeture hermétique**

Fermer la boîte de Pétri avec du parafilm pour éviter l'échappement des vapeurs.

- **Incubation**

Incuber les boîtes à l'envers (couvercle en bas) à 37°C pendant 24 heures.

III.3.2.1.6. Lecture des résultats

Observer la croissance bactérienne. Une absence ou une réduction de croissance indique une activité inhibitrice.

- Inhibition totale : aucune croissance bactérienne visible.
- Inhibition partielle : croissance réduite par rapport au témoin.
- Pas d'inhibition : croissance identique au témoin.

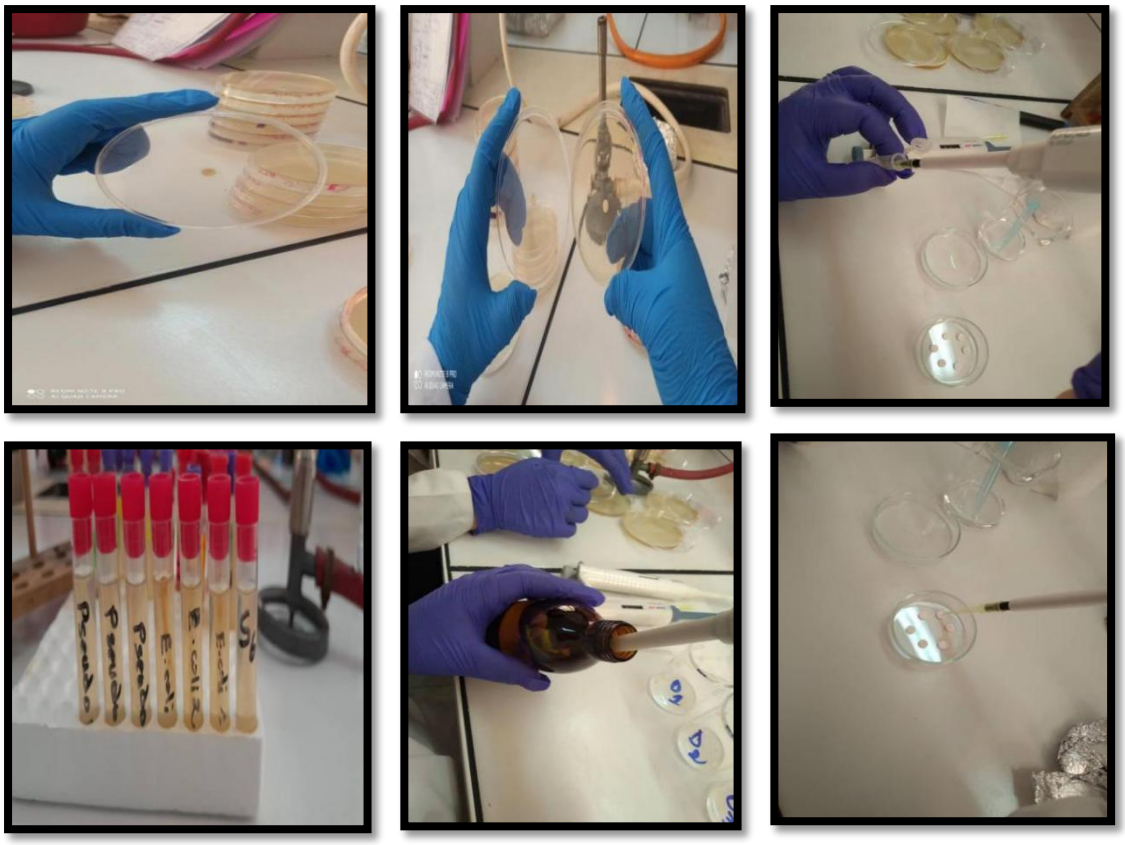


Figure 29. Test de l'Atmosphérogramme **(Photos personnelles, 2025)**

III.3.2.1.7. Étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques (Antibiogramme)

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes était étudié par la méthode de diffusion de disque selon le comité de standardisation de l'antibiogramme **(Clsi, 2018),** en utilisant une gamme de disques chargés d'antibiotiques commercialisée pour évaluer leur action antibactérienne par rapport aux huiles essentielles. La préparation de ce dernier se fait comme suit :

Des suspensions bactériennes ont été préparées et ajustées à une densité optique de 0,5 McFarlan qui correspond à 1 à 2x10^8 UFC/ml. La répartition de la suspension bactérienne sur la surface de la glose *Mueller-Hinton* par écouvillonnage de haut en bas en stries serrées. Opération répétée deux fois en tournant la boite de pétri à 60° de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Les disques d'antibiotiques sont déposés sur cette surface ensemencée ; les boites sont incubes à l'étuve à 37 pendant 24 h.

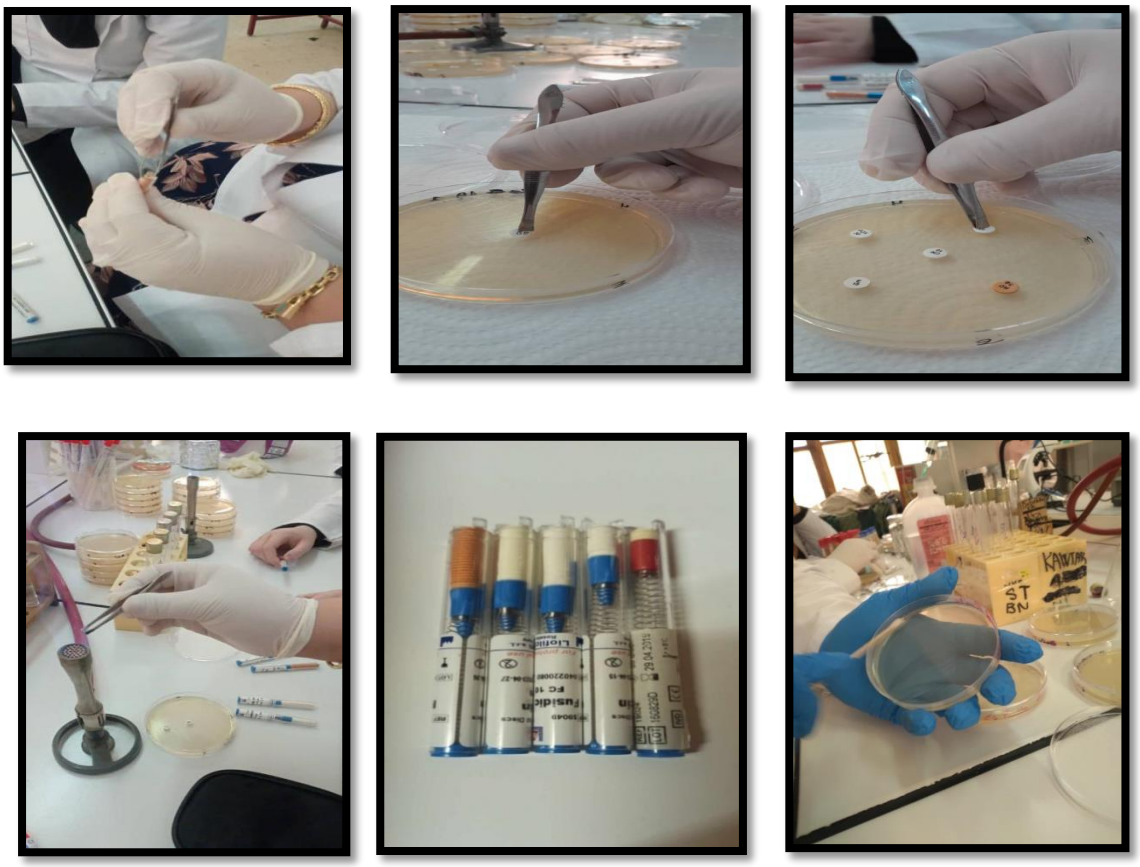


Figure 30. Test d'antibiogramme **(Photos personnelles, 2025)**

III.3.2.1.8. Lecture et interprétation des résultats de l'antibiogramme des différentes souches testées

Après la mesure des diamètres des zones d'inhibition, nos résultats ont été interprétés en utilisant la table réalisée par le comité **(Clsi, 2018) (Tableau 07).**

Tableau 07. Tableau d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistré avec différents antibiotiques

ATBs	Diamètres des zones d'inhibition		
	S	I	R
Rifampicine	≥15	13-14	≤12
Erythromycine	≥23	14-22	≤13
Acide Fusidique	≥21	16-20	≤15
Spiramycine	≥21	15-20	≤14
Cefoxitine	≥22	17-20	≤21
AMX+Ac clavunalique	≥18	14-17	≤13
Gentamycine	≥15	13-14	≤12
Cefotaxime	≥26	23-25	≤22
Ciprofloxacine	≥31	21-30	≤20
Colistine	≥15	/	≤14
Aztréonam	≥ 22	20-21	≤ 19
Ticarciline	≥20	15-19	≤23

Résultats

IV. Résultats

IV.1. Propriétés organoleptiques et rendement des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

L'extraction par hydrodistillation de la matière sèche issue de la partie aérienne de la plante *O. glandulosum* a permis d'obtenir des huiles essentielles de couleur jaune fonce **(Figure 31)**, caractérisées par une odeur forte et persistante avec un rendement de **2,63% (Tableau 08)**.



Figure31. Huile essentielle extraite a partir d'*O. glandulosum* **(Photo personnelle, 2025)**

Tableau 08. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

Caractéristiques	*O. glandulosum*
Aspect	Liquide
Couleur	jaune foncé
Odeur	Une forte odeur agréable
Rendement	2,63%

IV.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

Les propriétés physiques et chimiques telles que : rotation optique, densité relative, L'indicateur d'acide, l'indicateur de peroxyde, etc., constituent un moyen de vérification et de contrôle. De la qualité de l'huile essentielle. Ces tests sont déterminés selon un protocole précis et Conforme aux normes fixées par la Pharmacopée Européenne. Nous l'avons donc reporté. Les tableaux **(08,09)** montrent les résultats des propriétés physiques et chimiques de l'huile extraite. Ceci est confirmé par la (**Bouhaddouda, 2016)**

IV.2.1. Caractères physiques

Les résultats de l'évaluation des propriétés physiques, à savoir la couleur, la densité relative et la miscibilité dans l'éthanol, sont présentés dans le **tableau 09**.

Tableau 09. Indices des paramètres physiques

Paramètres	Résultats
Couleur	38,67
Densité relative	1,54
Miscibilité dans l'éthanol	1ml

VI.2.2. Caractères chimiques

Les résultats de la mesure des propriétés chimiques, à savoir l'indice acide, l'acidité et l'indice peroxyde de l'huile essentielle d'*O. glandulosum*, sont présentés dans le **tableau 10.**

Tableau 10. Indices des paramètres chimiques

Paramètres	Résultats
Indice d'acide	1,12
Acidité	0.0224 %
Indice de pyroxide	2 méq. O2 /Kg

IV.3. Activité antioxydante des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

IV.3.1. La rédaction de DPPH par l'acide ascorbique et les huiles essentielles d'*O. glandulosum*

Les valeurs obtenues de nos HEs et de la Vitamine C ont permis de tracer des courbes présentées dans les **figures 32 et 33**. D'une manière générale, les absorbances enregistrées pour les HEs et la Vitamine C diminuent positivement avec l'augmentation de la concentration. Quelle que soit la concentration utilisée, la réaction entre le DPPH et l'acide ascorbique (donneurs d'électrons) atteint l'équilibre rapidement après la concentration 400µg/m. Ensuite, l'évolution présente un comportement stationnaire jusqu'à la concentration 1000µg/m. En ce qui concerne les HEs d'*O. glandulosum* l'équilibre est atteint un peu plus tard, après environ la concentration 600µg/m. On observe également que l'intensité de la réaction est dépendante de la dose, aussi bien pour la Vitamine C que pour les HEs. En effet, les valeurs d'absorbance diminuent avec l'augmentation de la dose utilisée.

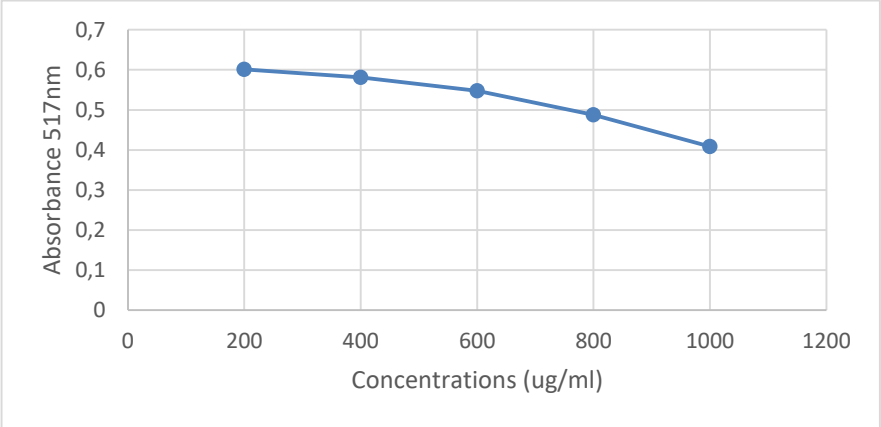


Figure 32. Réduction de DPPH par l'acide ascorbique (Vit C)

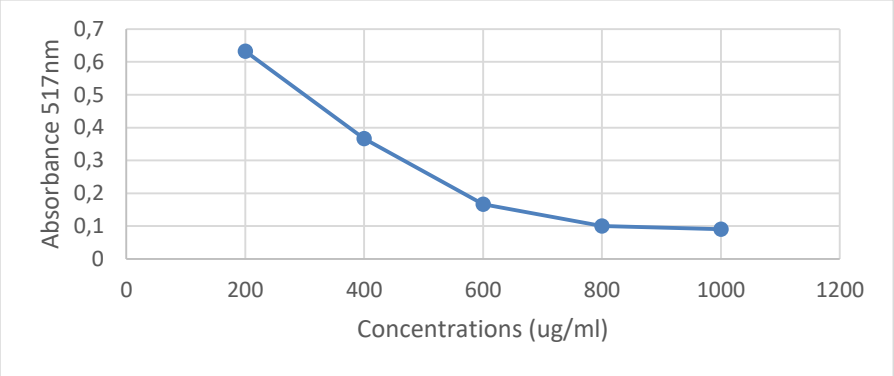


Figure 33. Réduction de DPPH par les HES de *O. glandulosum*

IV.3.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été évalué pour chaque concentration des huiles essentielles d'*O. glandulosum* ainsi que pour la vitamine C. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous. Ces données indiquent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'élévation des concentrations, tant pour la vitamine C que pour les huiles essentielles d'*O. glandulosum*. Pour la concentration 1000 µg/ml, le pourcentage d'inhibition du radical libre des HEs est largement inférieur à celui de la vitamine C (59.053% vs 90.68%) et pour la dose de 200 µg/ml le pourcentage d'inhibition des HEs est faible (15.71%) alors qu'il est de (34,97%) pour l'acide ascorbique. Nos résultats montrent que les pourcentages d'inhibition enregistrés pour la vitamine C sont globalement plus élevés que ceux obtenus avec les huiles essentielles d'*O. glandulosum.*

Tableau 11. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par le vit C et les HEs d'*O. glandulosum*

Concentration (µg/ml)	200	400	600	800	1000
Pourcentage D'inhibition Vit C %	34,979	62,294	82,818	89,711	90,689
Pourcentage D'inhibition HEs %	15,718	23,772	45,078	51,086	59,053

IV.3.3. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)

À des fins comparatives, nous avons évalué l'IC_{50} des deux composés (huiles essentielles et vitamine C). Cet indicateur représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire décroitre la concentration initiale du DPPH• à la moitié (50 %). L'IC_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, ce qui signifie que plus la valeur de l'IC_{50} est faible, plus la capacité antioxydante est élevée. Les valeurs de l'IC_{50} ont été déterminées graphiquement par régression linéaire, comme illustré dans la **Figure 34.**

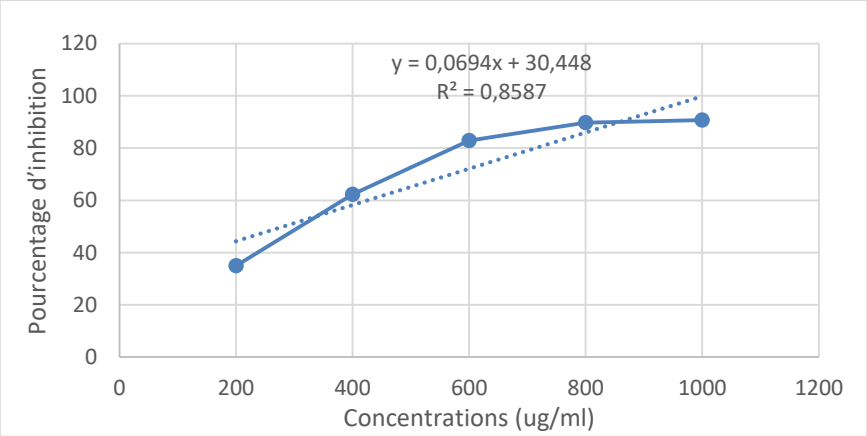


Figure 34. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (vit.C)

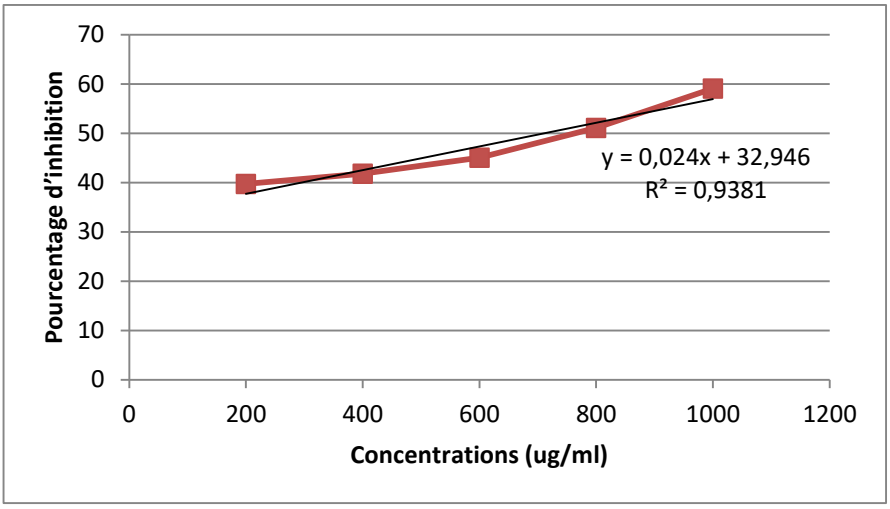


Figure 35. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations des HEs d'*O. glandulosum*

Concernant la vit.C, l'IC_{50} est de 281,73 µg/ml qui montrent un pouvoir antioxydant très largement supérieur à celui de l'HE d'*O. glandulosum* qui marque une valeur d'IC_{50} de 710,58 µg/ml. Ces résultats montrent que nos HEs possèdent un effet anti-oxydant modere par rapport à l'acide ascorbique qui reste toujours le plus efficace.

IV.4. Activité antibactérienne des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

VI.4.1. Récupération des souches bactériennes

Après incubation de notre souche bactérienne à 37 °C pendant 24 heures, des colonies isolées ont été obtenues **(Figure 36)**, à partir desquelles des suspensions mères de différentes souches ont été préparées en vue de la réalisation des antibiogrammes et des aromatogrammes.

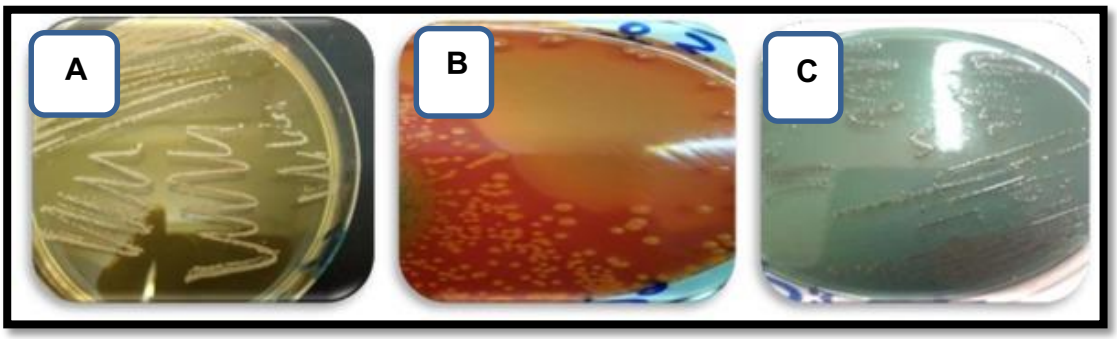


Figure 36. Souches bactériennes testees (**A :** *Staphylococcus aureus*, **B :** *Escherichia coli*, ***C :*** *Pseudomonas aeruginosa*) **(Photo personnels, 2025)**

IV.4.2. Aromatogramme des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

Les résultats de l'activité antibactérienne des HEs d'*O. glandulosum* sont illustrés dans le **tableau 12**. Nos résultats montrent que les HEs d'*O. glandulosum* exercent un effet antibactérien sur les souches de *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli.* La mesure de la zone d'inhibition des huiles essentielles a permis de conclure que l'activité antibactérienne des HEs d'*O. glandulosum* a été excellente avec toutes les souches testées avec des diamètres varient entre 38 et 50 mm. Contrairement aux *Pseudomonas aeruginosa* 2 et 3 avec lesquelles on a enregistré une faible activité avec des diamètres (8mm-9mm) respectivement.

Tableau 12. Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs d'*O. glandulosum* enregistrees avec les différentes souches testees

Huile essentielle d'*O. glandulosum*					
Souche	**Diametres des zones d'inhibition (mm)**				
Pseudo 01	38	***E. coli 01***	25	***Staph 01***	44
Pseudo 02	8	***E. coli 01***	39	***Staph 02***	50
Pseudo 03	9	***E. coli 03***	40	***Staph 03***	43

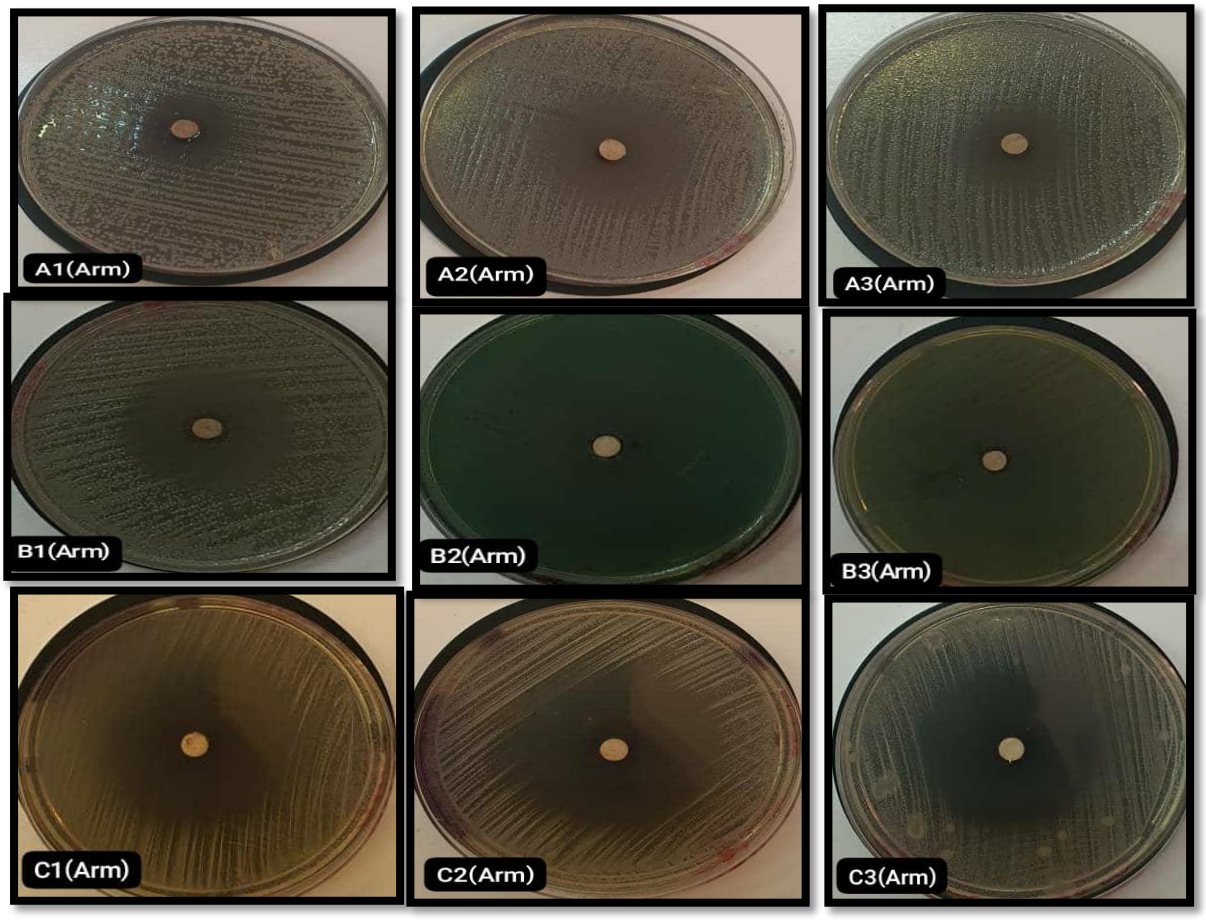


Figure 37. Zones d'inhibition des HEs d'*O. glandulosum* enregistrées avec les différentes souches testées **A** (*Escherichia coli),* **B** *(Pseudomonas aeruginosa),* **C** (*Staphylococcus aureus)* (**Photos personnelles, 2025)**

IV.4.3. Atmosphérogramme des huiles essentielles d'*O. glandulosum*

Les résultats de l'activité antibactérienne des HEs d'*O. glandulosum* par le test atmosphérogramme sont illustrés dans le **tableau 13**. Nos résultats montrent que les HEs d'*O. glandulosum* exercent un effet antibactérien sur les souches de *Staphylococcus. aureus, Pseudomonas. aeruginosa* et *Escherichia. coli*. La mesure de la zone d'inhibition des huiles essentielles a permis de conclure que l'activité antibactérienne des HEs d'*O. glandulosum* a été excellente avec toutes les souches testees avec un diamètre varie entre (25 mm et 46mm). Contrairement aux *Pseudomonas. aeruginosa* 2 et 3 avec lesquelles on a enregistré une faible activité avec des diamètres (≤ 6 mm- 10 mm) respectivement.

Tableau 13. Détermination des diamètres de la zone d'inhibition (mm) des HEs *d'O. glandulosum* vis à vis les différentes souches testées

Huile essentielle d'*O. glandulosum*					
Souche	**Diamètres des zones d'inhibition (mm)**				
Pseudo 01	30	***E. coli 01***	13	***Staph 01***	46
Pseudo 02	10	***E. coli 02***	30	***Staph 02***	39
Pseudo 03	≤ 6	***E. coli 02***	25	***Staph 03***	35

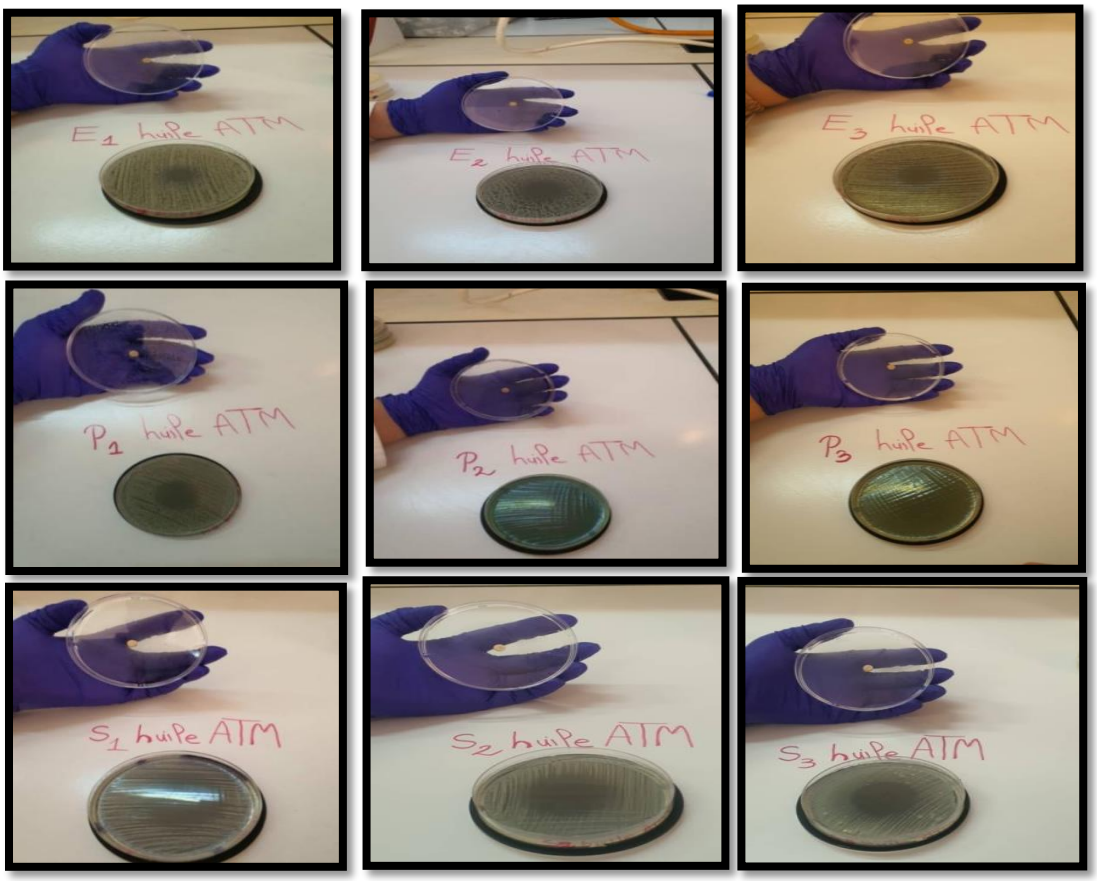


Figure 38. Zones d'inhibition des HEs d'*O. glandulosum* enregistrées avec les souches testées **(Photos personnelles, 2025)**

IV.4.4. Antibiogramme des isolats bactériens

Les résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques sont illustrés dans les **tableaux 14, 15, et 16**. Nos résultats montrent que les souches de de *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ont révélé des profils de résistance variés. Les souches d' *Escherichia coli* ont montré une résistance à la Cefoxitine (fox), et à l'amoxicilline/acide clavulanique (AMC), avec des diamètres d'inhibition (≤ 6 mm), et à la Aztréonam (ATM) avec des diamètres d'inhibition entre(6-14), tandis qu'elles sont sensibles à la gentamicine (CN) (19-20 mm).les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une résistance à la céfoxitine (≤ 6 mm), et Aztréonam (≤ 6 mm) dans les souches S1 et S4, mais une sensibilité aux autres antibiotiques (RD), (FC) (ATM) avec des diamètres d'inhibition entre (27-38 mm) avec tout les souches. Enfin Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étudiées ont montré une sensibilité variable aux antibiotiques. L'Aztréonam (ATM) s'est révélé le plus efficace, avec des diamètres d'inhibition allant de (18 à 22 mm), indiquant une sensibilité dans la souche *Pseudo*01et 03 et montré une résistance dans la souche *Pseudo* 02. Par contre, la Colistine (CS) montré une résistance avec des diamètres entre (7 et 9 mm), Quant à la Ticarcilline (TI), les souches ont présenté des diamètres (≤6 mm), reflétant une résistance.

Tableau 14. Sensibilité des souches *Escherichia coli* aux antibiotiques

Souche *E. coli*	**Molécules d'antibiotiques testees**			
	CN	**FOX**	**AMC**	**ATM**
	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
E. coli 01	20	≤ 6	≤ 6	14
E. coli 02	19	≤ 6	≤ 6	≤ 6
E. coli 03	19	≤ 6	≤ 6	10



Figure39. Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec *Escherichia coli* testées (A, 1, 2, 3, ATB) (**Photos personnelles, 2025)**

Tableau 15. Sensibilité des souches *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Souche	Molécules d'antibiotiques tastes			
	RD	FOX	FC	ATM
	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
Staph1	35	≤ 6	30	≤ 6
Staph2	36	≤ 6	32	27
Staph3	38	≤ 6	32	27
Staph4	35	≤ 6	30	≤ 6

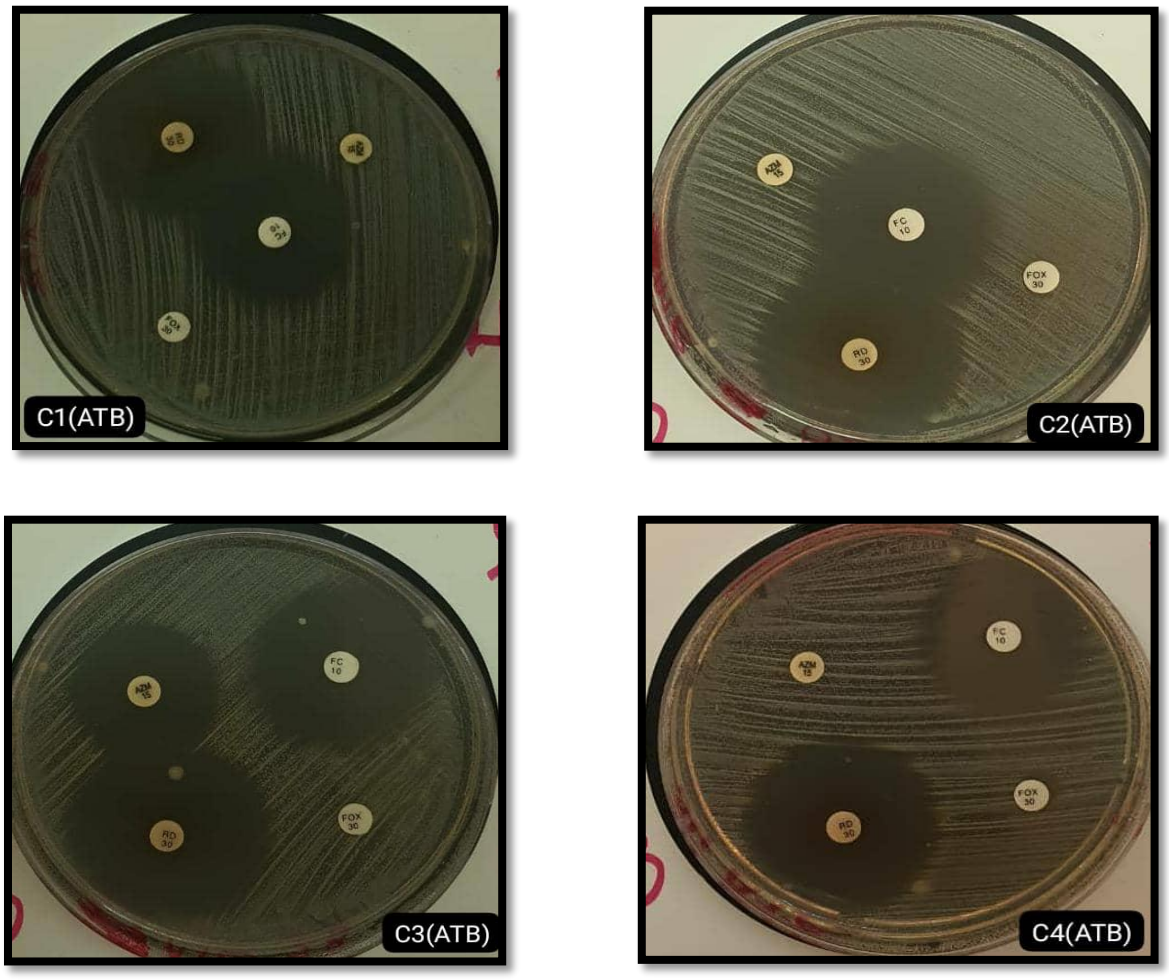


Figure 40. Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec *Staphylococcus aureus* testés (C,1,2,3,4 ATB) **(Photos personnelles, 2025)**

Tableau 16. Sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques

Souche	Molécules d'antibiotiques testes		
	ATM	CS	TI
	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
Pseudo 01	22	09	07
Pseudo 02	18	07	≤ 06
Pseudo 03	20	09	≤ 06

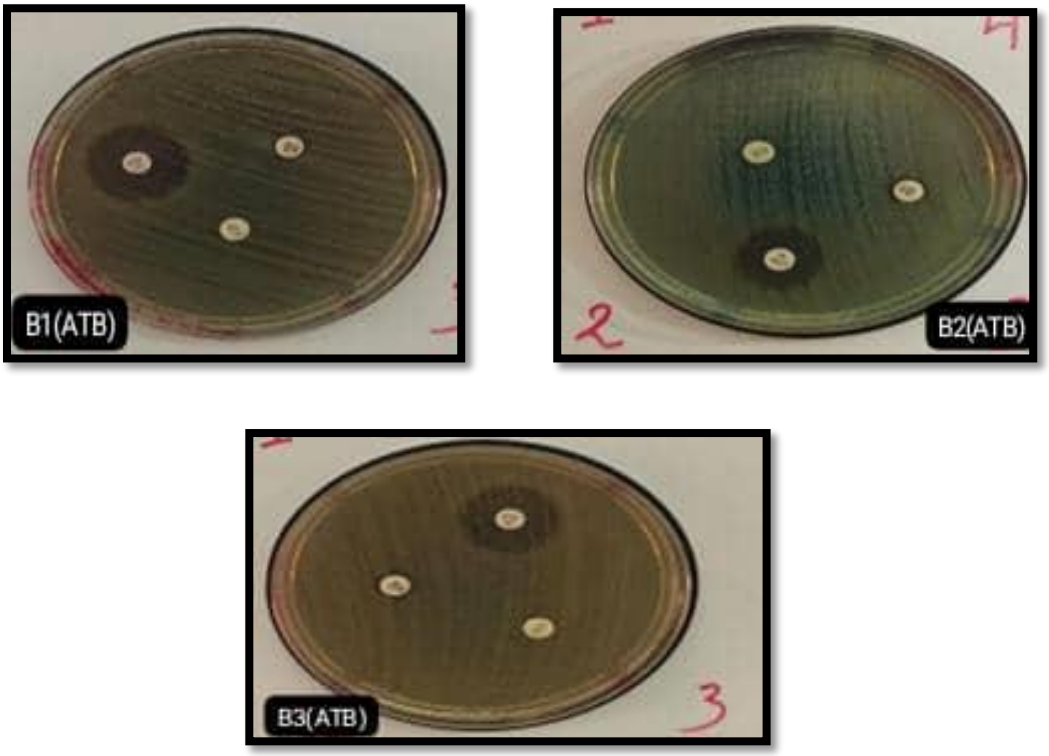


Figure 41. Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Pseudomonas aeruginosa* testées (B,1,2,3 ATB) **(Photos personnelles, 2025)**

IV.5. Résultats de la détermination de profils de sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a permis de déterminer le profile suivant :

Tableau 17. Sensibilité des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Escherichia coli*

Souche *E. coli*	Molécules d'antibiotiques testees			
	CN	FOX	AMC	ATM
E. coli 01	S	R	R	R
E. coli 02	S	R	R	R
E. coli 03	S	R	R	R

Tableau 18. Sensibilité des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Staphylococcus aureus*

Souche	Molécules d'antibiotiques tastes			
	RD	FOX	FC	ATM
Staph1	S	R	S	R
Staph2	S	R	S	S
Staph3	S	R	S	S
Staph4	S	R	S	R

Tableau 19. Sensibilité des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Pseudomonas aeruginosa*

Souche	Molécules d'antibiotiques testes		
	ATM	CS	TI
Pseudo 01	S	R	R
Pseudo 02	R	R	R
Pseudo 03	I	R	R

IV.5.1. Étude comparative de l'activité des huiles essentielles d'O. *glandulosum* et des antibiotiques

La comparaison de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*O. glandulosum* avec celle des antibiotiques de référence a révélé que nos HEs possèdent une forte efficacité contre les trois souches de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

IV.6. Validation des tests

La validation de l'activité antibactérienne avec les deux tests aromatogramme et atmosphérogramme des huiles essentielles d'*O. glandulosum* a été réalisée à l'aide des souches bactériennes de référence ATCC. Le diméthylsulfoxyde (DMSO) a été utilisé comme témoin négatif pour l'aromatogramme et l'atmosphérogramme, afin de s'assurer que le solvant n'exerçait aucun effet antibactérien par lui-même (Figure 42). En parallèle, des disques imprégnés d'antibiotiques standards, auxquels les souches sont sensibles, ont servi de témoins positifs, permettant ainsi de comparer l'efficacité des huiles testées à celle des antibiotiques de référence



Figure 42. Résultat de validation des tests par **DMSO (Photo personnelle, 2025)**

Discussion

V. Discussion générale

Plusieurs facteurs déterminent le rendement des plantes en huiles essentielles à savoir l'espèce de plante utilisée, l'aire de sa répartition géographique, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction, la température, la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante **(Tchoumbougnang *et al.*, 2005)**. Le résultat de cette étape est interprété par le calcul du rendement **(Bruneton, 1993)**.

Le rendement d'extraction des HEs obtenues par hydrodistillation de la partie aérienne d'*O. glandulosum* a enregistré une valeur de 2,63 %. Ce même rendement (2 .7%) a été rapporté par **(Belhattab, 2018)** chez la même espèce. Par ailleurs, de fortes valeurs ont été signalées chez la sous espèce *O. vulgare ssp. glandulosum* cultivée dans la région de Médéa (de 1,5 à 3,0%) **(Houmani *et al.*, 2014)** et la région de Azzaba (2,50%) **(Boughendjioua et Seridi, 2017).** Les mêmes observations ont été faites chez *O. glandulosum* récolté dans différentes stations de la région de Sétif, où le rendement enregistre des valeurs de 2,3 jusqu'à 5% **(Ruberto *et al.*, 2002 ; Belhattab *et al.*, 2005).** De plus, les rendements signalés dans d'autres pays du monde, révèlent une supériorité des valeurs chez *O. vulgare* collecté en Inde (13.6 ml/ kg de poids frais) **(Govindarajan *et al.*, 2016),** au Pakistan (22.0 g/kg) **(Hussain *et al.*, 2011)**, en Turquie (2,8%) **(Özer *et al.*, 2018)** et dans les régions eurasiennes (7,4%) **(Pavela, 2008).** D'après la littérature, Cette variabilité témoigne de l'impact des différents facteurs : intrinsèques liés au bagage génétique de la plante et extrinsèques liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante **(Bruneton, 1993),** la période de récolte, l'origine géographique, la période de séchage, la localisation, la température et la technique d'extraction, etc**. (Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001).**

L'utilisation d'une huile essentielle nous oblige à vérifier ses qualités à savoir : ses caractéristiques sensorielles (Aspect, couleur, odeur) et ses caractéristiques physicochimiques (densité, indice de réfraction, potentiel d'hydrogène, et indice acide…etc). Les HEs d'*O. glandulosum* extraitent par hydrodistilation présente les propriétés sensorielles suivantes : liquide mobile, couleur jaune foncé avec une odeur agréable et piquante. Selon **Marouf et Tremblin (2009)**, Les HEs d'*O. glandulosum* sont généralement sous forme liquide température ambiante, très volatiles, insolubles dans l´eau mais soluble dans l´alcools et la plupart des solvants organiques jusqu´à un certain degré. Selon **Bouhaddouda, (2016)** l'huile essentielle d'*O. glandulosum* est obtenue par la

méthode d'hydrodistillation. Cette huile est de couleur jaune foncé, de saveur piquante et d'odeur fortement aromatique.

Par contre, *O. glandulosum* elle se présente sous forme d'un liquide limpide, homogène et non trouble, conforme aux standards de qualité des huiles essentielles **(Mechergui *et al*., 2010).** Sa couleur varie généralement du jaune pâle au jaune doré, selon l'origine botanique, les conditions environnementales et la méthode d'extraction utilisée, notamment l'hydrodistillation ou l'extraction assistée par micro-ondes **(Bendahou *et al*., 2008 ; Krim *et al*., 2021)**. L'odeur est particulièrement forte, aromatique, piquante et caractéristique de l'origan, en raison de sa richesse en composés phénoliques volatils tels que le carvacrol et le thymol, responsables de son profil olfactif chaud et épicé **(Béjaoui *et al*., 2013 ; Ruberto et Baratta, 2000).**

Selon **Hilan *et al*., (2005),** les caractères organoleptiques sont en relation avec la période de cueillette ; La relation entre la période de récolte et la couleur de l'huile *d'O.glandulosum* est influencée par la maturité du fruit, qui affecte à la fois la composition chimique de l'huile et ses caractéristiques sensorielles. À mesure que le fruit mûrit, les changements de couleur peuvent indiquer des variations dans la qualité et les caractéristiques de l'huile, Le processus de maturation des fruits *d'O. glandulosum* est probablement parallèle à celui d'autres fruits producteurs d'huile, où la couleur passe du vert au jaune ou au brun à mesure que la maturité augmente. Les changements de couleur sont corrélés à l'accumulation de composés phénoliques et d'antioxydants, qui sont essentiels à la qualité de l'huile **(Kafkaletou *et al*., 2021, Sousa *et al*., 2015)**. Les HEs possèdent des critères organoleptiques communs comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entrainables à la vapeur d'eau. Cependant, certaines propriétés organoleptiques restent propres à chaque HE **(Franchomme *et al*., 2011).** Les HEs sont volatiles, c'est ce qui les rend entrainables à la vapeur et particulière ment odorantes. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou fixes. La volatilité étant très liée à la composition chimique, les monoterpènes sont par exemple beaucoup plus volatiles que les sesquiterpènes **(Kaloustian et Hadji, 2012).** Chaque composé par sa volatilité, dégage une odeur propre, ainsi certaines plantes peuvent avoir une odeur similaire due à une molécule commune présente en quantité notable dans l'huile essentielle **(Nakahara *et al*., 2003).**

La détermination de la couleur des huiles renseigne sur les pigments qui peuvent éventuellement exister dans une huile **(Morin, 1992).** La couleur est déterminée en

analysant l'huile par spectrométrie dans le visible selon le mode opératoire décrit par l'A.O.C. Les résultats obtenus sont en moyenne de 38,67. Selon **Karleskind, (1992),** les valeurs comprises entre 24,33 et 39,77 correspondent à une coloration jaune, ce qui est en accord avec nos résultats. Ceci laisse penser qu'en plus de la chlorophylle, les huiles sont riches en pigments de caroténoïdes et xanthophylles **(Franchomme *et al.*, 2011).** Le β-carotène se rencontre dans toutes les huiles végétales. C'est un colorant particulièrement sensible à la chaleur et à l'oxydation. Il est transformé en un composé incolore par hydrogénation. La chlorophylle est présente en grande quantité dans les huiles. Les colorants d'origine oxydative sont responsables de la couleur brune de certaines huiles **(Kartika, 2005).**

La détermination de la densité d'une huile, nous renseigne sur sa pureté. Elle est en fonction de la composition chimique de l'huile et la température **(Karleskind, 1992).** Dans notre étude, on a déterminé ce critère de pureté à une température de 20°C dont les résultats révèlent que la densité de notre huile est de 1.54. La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entrainable à la vapeur d'eau. Selon **Garnero, (1996)**, la densité renseigne sur la composition chimique ; ainsi une densité inférieure à 0,9 indique la présence dans cette huile de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques. Les huiles essentielles de la *O. glandulosum* présente une densité de 1,54. Cette valeur est conforme selon **(Chenna, 2024)** Il semble y avoir une variation dans les caractères physiques la densité à 20 °c des huile d'*Origanum glandulosum,* Les valeurs varient de 0,34 à 1,6**.** Les HEs d'*O. glandulosum* est miscible à un volume maximal égal à 3 ml, conformément aux valeurs de la **Pharmacopée Européenne, (2007)**, qui indiquent 1 ml à l'éthanol 80%.

L'indice d'acide ou l'acidité est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation d'acides libres contenus dans un gramme d'huiles essentielles. C'est un critère de qualité permettant de déterminer la teneur en acides gras libres qui renseigne sur l'activité des lipases, la stabilité d'une huile ainsi que sur la qualité du fruit **(International Organization for Standardization, 2009**). Les acides gras libres dérivent de l'hydrolyse des triglycérides **(Chimi, 2005).** Dans notre étude, cet indice est de 1,12 mg, avec un pourcentage d'acidité de 0,0224 %. Un indice d'acide faible indique que les huiles essentielles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation car l'huile en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acidité **(Cliff**

et Harerimana, 2013). L'indice d'acide de l'huile essentielle de *O. glandulosum* est égale à 1,12 mg. Cette valeur est conforme aux normes de la **Pharmacopée Européenne, (2007)** qui signifie la valeur maximale 2, et par conte selon **Makhlaf, (2016)**, l'indice d'acide d'*Origanum glandulosum* (14.586) est bien supérieur à celui trouvé dans la fiche technique de l'HE de l'*Origanum* compact um du Maroc qui est égale à 2.

L'indice de pyroxide est un critère de qualité mesuré afin d'évaluer le degré d'oxydation de l'huile, et de contrôler les premières étapes de l'altération oxydative **(Chimi, 2005).** L'indice de peroxyde (encore appelé indice de Léa) est recherché pour évaluer l'état de conservation d'une matière grasse au cours du stockage. En effet, les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisants (UV, eau, enzyme, trace de métaux…). Les premiers composés formés au cours de l'oxydation sont les peroxydes ou les hydroperoxydes. Ceux-ci vont ensuite évoluer vers des composés plus stables : aldéhydes, cétones, acides **(Cheftel *et al.*, 1984).**

Nos résultats montrent que l'indice de pyroxide des huiles essentielles testée est de 2 méq. O2/Kg. Les valeurs de l'Ip varient de 0,25 à 4,1 méq. O2 /Kg **(Hilali, 2005)** ou de 0,2 à 11,5 méq. O2 /Kg **(Afssaps, 2002).** Ces valeurs sont généralement inférieures à 10 meq. O2/Kg ; ce qui caractérise la plupart des huiles conventionnelles. Cela, peut s'expliquer par la richesse de l'huile en tocophérols qui sont des substances antioxydantes naturelles **(Codex, 1992).** Les HEs sont altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air **(Rakotonanahary, 2012 ; Barkat et Laib, 2011).** Une huile essentielle sera déclarée de bonne qualité si elle est conforme en tous points à la spécification des normes. Une marge de variabilité est toutefois tolérable.

Quant, a l'étude des activités biologiques des huiles essentielles d'*O. glandulosum.* L'activité anti-radicalaire des huiles essentielles a été mesuré par un test DPPH. Les résultats obtenus ont montré que les HEs d'*O. glandulosum*, présentent une capacité progressive à inhiber les radicaux libres, proportionnelle à la concentration. Cependant, le pourcentage d'inhibition maximal des HEs obtenu à la concentration de 1000 µg/mL est reste modere (59.05%) comparativement au taux très élevé obtenu avec la vitamine C (90.68 %). Par contre Selon Une étude menée par **Sari *et al.*, (2006)** sur différentes populations d*'O. glandulosum* d'Algérie (Sétif, Bejaia, Biskra, M'sila et Bordj Bou Arreridj) ont démontré un fort pouvoir antioxydant des huiles essentielles qui ont donné des IC50 variant de 16.2 à 26.7 µg/ml Comparativement aux précédents rapports, l'huile

essentielle de la sous espèce étudiée, *O. glandulosum*, possede une activité antiradicalaire moyenne. Aussi, **Mechergui *et al.*, (2010)** ont enregistré une valeur d'IC50 de l'huile essentielle de cette même plante issue de deux régions de Tunisie à 105.29 mg/L et 142.86 mg/L. Une autre étude tunisienne sur l'huile essentielle de cette plante a également mis en évidence une activité antioxydante comparable à celle que nous avons observée, avec une IC50 rapportée de 625 µg/mL, une valeur proche de celle que nous avons obtenue 710,85 µg/mL **(Béjaoui *et al.*, 2013a).** Cette variabilité est due aux impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique des huiles essentielles. En effet, l'étude des propriétés antioxydantes des composants chimiques des huiles essentielles ont montré que les monoterpènes, tel que le gamma-terpinène, ont un effet antioxydant important **(Ruberto *et al.*, 2000)**. Cependant, le para-cymène ne montre pas une activité antioxydante appréciable **(Lee et Shibamoto, 2001).** Le carvacrol et le thymol, les deux principaux monoterpènes phénoliques de l'huile essentielle d'origan, ont été les principaux responsables de son activité antioxydante dans plusieurs travaux **(Baratta *et al.*, 1998 ; Ruberto et Baratta, 2000 ; Milos *et al.*, 2000).** Ceci dit, le thymol a été jugé beaucoup plus antioxydant que le carvacrol et ce fait a été attribué à la position du groupement hydroxyle sur la structure phénolique des deux molécules **(Yanishlieva *et al.*, 1999 ; Dorman et Dean, 2000 ; Baser et Buchbauer, 2010).** Malgré sa forte teneur en thymol et carvacrol, l'huile essentielle d*'O. glandulosum* est moins efficace que ses principaux composants actifs indiquant de possibles interactions synergiques entre les constituants de l'huile, majeurs et mineurs, qui peuvent atténuer le potentiel antioxydant de cette dernière.

Les résultats de l'activité antimicrobienne « in vitro » obtenue à l'aide des deux techniques aromatogramme et atmosphérogramme montrent une excellente activité antibactérienne des HEs avec tout les souches vis-à-vis les Gram+ (*S. aureus*) testées et les Gram- (*E. coli* et *P. aeruginosa*).

L'aromatogramme des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* a démontré une excellente activité antibactérienne contre la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus*, avec des zones d'inhibition variant entre 44 et 50 mm de diamètre. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Bendahou *et al.* (2008),** qui ont observé une forte inhibition de *S. aureus* par les huiles essentielles d'origan extraites par hydrodistillation. De même, **Bouhaddouda, (2016),** ont confirmé cette efficacité remarquable en mettant en évidence des diamètres des zones d'inhibition dépassant 40 mm. Ces données confirment le potentiel de l'huile essentielle d'*O. glandulosum* comme agent antibactérien naturel,

notamment contre les souches résistantes de *Staphylococcus aureus.* D'après **(Kalemba et Kunicka, 2003)**, la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés des HEs et le microorganisme lui-même. Il est bien connu que les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles aux HEs que les bactéries à Gram (-). Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs confirmant ce phénomène **(Poole, 2001 ; Cimanga *et al*., 2002 ; Burt, 2004 ; Bekhechi *et al*.,2008).** Mais notre huile essentielle d*'Origanum glandulosum* a démontré aussi une excellente activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif, notamment *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec des zones d'inhibition variant entre 25 et 38 mm de diamètre. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Bendahou *et al*. (2008),** qui ont observé des diamètres de 26 à 34 mm pour *E. coli* et jusqu'à 30 mm pour *P. aeruginosa*. **Bouhaddouda, (2016)** a également signalé une activité significative contre ces souches, avec des zones d'inhibition allant de 28 à 36 mm, en particulier contre *E. coli*. et confirmant la forte efficacité de l'huile essentielle même face à des bactéries réputées résistantes comme *P. aeruginosa*. Ces effets sont majoritairement attribués à la forte teneur en carvacrol et thymol, deux phénols connus pour leur action sur la membrane cytoplasmique bactérienne **(Burt, 2004).**

Selon l'activité de l'atmosphèrogramme, les huiles essentielles *d'Origanum glandulosum* ont démontré une excellente activité antibactérienne obtenue par la voie atmosphérique contre des souches bactériennes Gram positif et Gram négatif testes *S. aureus, E. coli* et *P. aeruginosa*. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 25 mm et 50 mm, indiquant une efficacité remarquable des HEs même à distance de contact.

Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Bekka, (2009),** qui a démontré une activité atmosphérique élevée de l'huile essentielle d*'O. glandulosum* contre plusieurs souches bactériennes pathogènes, avec des diamètres d'inhibition allant jusqu'à 45 mm notamment contre *S. aureus* et *E. coli*. Cela souligne le potentiel d'action des composés volatils tels que le carvacrol et le thymol présents dans cette huile, capables de diffuser dans l'air et inhiber la croissance bactérienne sans contact direct.

Cependant, les activités antimicrobiennes des HEs diffèrent selon la composition chimique, les génotypes, les méthodes employées pour évaluer l'activité antimicrobienne (la technique de diffusion par disque sur agar ou par méthode de dilution), selon le choix et conditions physiologiques des microorganismes, la période de l'exposition du microorganisme à l'HE, aux doses des HEs utilisées, le choix de l'émulsifiant pour

solubiliser les HEs. Ceux-ci autant de facteurs pouvant expliquer parfois des résultats contradictoires des différentes études **(Hellal,2010).**

Conclusion

Ce modeste travail s'inscrit dans une dynamique de valorisation et de préservation d'une plante aromatique et médicinale, *Origanum glandulosum*, traditionnellement utilisée par les populations locales pour le traitement de certaines affections.

L'extraction par hydrodistillation a révélé un bon rendement.

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur, couleur) confirment l'identification précise de l'espèce végétale.

L'analyse physico-chimique (densité, indice de pyroxide, indice d'acidité) nous permet indique un haut degré de pureté.

Les huiles essentielles d'Origanum glandulosum ont montré une activité antioxydante modere comparativement a celle obtenue par la vitamine C.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* par les deux techniques aromatogramme et atmosphérogramme a montré un effet inhibiteur notable contre les souches microbiennes testées, à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

À l'avenir, il serait pertinent de compléter ce travail par :

- ✓ Evaluation de l'impact des variations saisonnières sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité des huiles essentielles.
- ✓ Caractérisation de la composition chimique des huiles essentielles extraites à partir d*'Origanum glandulosum* par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).
- ✓ Purification des composés majoritaires et minoritaires de ces huiles, et l'étude de leurs activités antifongique et anti-inflammatoire.

Références Bibliographiques

- **Afssaps, (2002).** Normes de qualité des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
- **Afssaps, (2008).** Recommandations sur les huiles essentielles utilisées comme médicaments traditionnels à base de plantes. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
- **Allane, N. (2009).** Propriétés pharmacologiques et usages thérapeutiques d'Origanum glandulosum dans les maladies respiratoires. Phytomedicine, 16(2), 101-107.
- **Amiour, R. (2017).** Propriétés physiques des huiles essentielles. Revue Scientifique des Plantes Aromatiques.
- **Aouadi, S., & Labiod, A. (2016).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum contre diverses souches bactériennes. Journal of Essential Oil Research, 28(5), 419-426.
- **Aouadi, S., & Labiod, A. (2016).** Analyse comparative de l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum par les tests DPPH et pouvoir réducteur. Journal of Food Science, 81(6), 1401.
- **Azalenko, A. I. (1995).** Étude chimique des huiles essentielles de Lippia multiflora au Togo. Journal of Essential Oil Research, 7(4), 439–443.
- **B Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Effets biologiques des huiles essentielles – Une revue. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446–475.
- **Aratta, M. T., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Ruberto, G. (1998).** Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles de laurier, sauge, romarin, origan et coriandre. Journal of Essential Oil Research, 10(6), 618-627.
- **Bardeau, J. F., Valnet, J., & Gattefossé, R. M. (1976).** Aromathérapie : Les huiles essentielles, hormones végétales. Maloine
- **Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2015).** Manuel des huiles essentielles : Science, technologie et applications (2e éd.). CRC Press.
- **Basli, A., Bessiere, J. M., & Benali, M. (2012).** Activités antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes aromatiques algériennes. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15(3), 345-353.
- **Baytop, T. (1999).** Plantes médicinales et traitements. Publications de l'Université d'Istanbul.

- **Beirão, H. S., & Bernardo-Gil, M. G. (2006).** Stress oxydatif et antioxydants : une revue. Journal of Biomedical Science, 13(4), 345-358.
- **Béjaoui, A., Chaâbane, H., & Jemâa, J. M. (2013).** Activité antidiabétique de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum et sa capacité à inhiber l'α-amylase. Phytotherapy Research, 27(5), 764–770.
- **Béjaoui, A., Chaâbane, H., & Jemâa, J. M. (2013).** Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum : étude comparative avec des antioxydants synthétiques. Journal of Essential Oil Research, 25(2), 111-118.
- **Béjaoui, A., Jemâa, J. M., Neffati, A., & Chaâbane, H. (2017).** Effets antidiabétiques et anti-inflammatoires d'Origanum glandulosum dans des modèles expérimentaux. Journal of Ethnopharmacology, 208, 110–116.
- **Béjaoui, A., Jemâa, J. M., Chaâbane, H., & Neffati, A. (2017).** Potentiel antioxydant in vitro des huiles essentielles d'Origanum glandulosum et de leurs composés bioactifs. Food Chemistry, 214, 210–216.
- **Béjaoui, A., Noumi, E., & Khouja, M. L. (2013)**. Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum Desf. de Tunisie. Food Chemistry, 138(2-3), 1463-1469.
- **Belhattab, R. (2018).** Étude de la composition chimique et des activités biologiques de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum Desf. Thèse de doctorat, Université de Médéa, Algérie.
- **Belhattab, R., Boucherit-Otmani, Z., & Otmani, K. (2004).** Activités antifongiques des huiles essentielles de plantes algériennes. Journal of Ethnopharmacology, 95(1), 53-56.
- **Belhattab, R., Djebar, M. R., & Hammache, F. (2005).** Variabilité chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Origanum glandulosum Desf. Phytothérapie, 3(2), 112-119 .
- **Belhattab, R., Larous, L., Figueiredo, A. C., Santos, P. A. G., Barroso, J. G., & Pedro, L. G. (2005).** Essential oil composition of Origanum glandulosum from Setif: Influence of geographical origin. Natural Product Research, 19(8), 707–711
- **Benchaoua, S., Haddadi, M., & Ghodbane, N. (2021).** Rôle écologique et applications pharmacologiques des huiles essentielles. Journal of Medicinal Plants Studies, 9(4), 34-42
- **Bencheikh, R. (2017).** Étude des propriétés antibactériennes des huiles essentielles. Revue Algérienne de Pharmacie, 10(2), 45-53 .
- **Bencheikh, R. (2017).** Étude des propriétés biologiques des huiles essentielles. Revue Algérienne de Microbiologie, 12(1), 25-33 .

- **Bencheikh, R. (2017).** Étude des propriétés antifongiques des huiles essentielles. Revue Algérienne de Microbiologie, 12(1), 25-33.
- **Bendahou, A., Abdelmalek, A., & Kabouche, A. (2007).** Identification of major compounds in the essential oil of Origanum glandulosum from Eastern Algeria. Phytochemistry Letters, 3(2), 135–139
- **Bendahou, M., Naggara, H., & Merghoub, N. (2008).** Extraction and chemical composition of Origanum glandulosum essential oil by hydrodistillation and microwave-assisted extraction. International Journal of Aromatherapy, 18(3), 141-145 .
- **Besombes, C. (2008).** Techniques d'extraction des huiles essentielles. Revue des huiles essentielles, 12(3), 45-52 .
- **Besombes, C. (2008).** Techniques modernes d'extraction des huiles essentielles. Revue des Sciences Pharmaceutiques, 12(3), 45-58
- **Bessah, E., & Benyoussef, M. (2015).** Analyse du commerce extérieur des huiles essentielles, oléorésines et résinoïdes en Algérie. Revue Algérienne d'Économie Agricole, 12(2), 45-57 .
- **Bézange, G. (1980).** Phytochemical analysis of Origanum glandulosum: Essential oil composition and bioactive compounds. Journal of Essential Oils Research, 22(3), 179–184.
- **Bharti, S., & Vasudeva, P. (2013).** Physicochemical characteristics of Origanum vulgare ssp. glandulosum: Analysis of ash content and swelling index. Journal of Medicinal Plants Studies, 35(2), 45-52
- **Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181(4617), 1199-1200 .
- **Bouguerra, S. (2019).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et leurs composants. Revue Algérienne de Pharmacie, 10(2), 45-53 .
- **Bouhaddouda, N. (2016)**. Extraction et caractérisation physicochimique de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum. Mémoire de Master, Université de Constantine, Algérie .
- **Boudjit, D., Announ, M., & El-Hadi, D. (2022).** Étude de l'influence de la taille des particules de la poudre des écorces des fruits de mandarine Citrus reticulata Blanco L. sur le rendement et la qualité de l'huile essentielle. Revue Agrobiologia, 12(1), 2862–2869.
- **Brand, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), 25-30 .

- **Brian, J. (1995).** Vacuum Microwave Hydrodistillation: A New Technique for Essential Oil Extraction. Journal of Microwave Chemistry, 7(2), 123–130.
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, Paris .
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris : Lavoisier Tec & Doc .
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3rd ed.). Lavoisier .
- **Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (4e éd.). Lavoisier
- **Burits, M., & Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotherapy Research, 14(5), 323-328 .
- **Caillaud, J. (2013).** Les plantes hémicryptophytes et leurs caractéristiques morphologiques.
- **Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88(2), 308–316.
- **Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002).** Biological activities of lavender essential oil. Phytotherapy Research, 16(4), 301-308.
- **Cheftel, J. C., Semon, E., & Culioli, J. (1984).** Oxidation and stability of lipids in foods. Lipids, 19(12), 1013-1020 .
- **Chenna, S. (2024).** Étude de la variabilité des caractéristiques physiques des huiles essentielles d'Origanum glandulosum. Revue Algérienne de Chimie, 12(1), 25-35 .
- **Codex Alimentarius. (1992).** Normes internationales pour les huiles essentielles.
- **Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999).** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils of five plants from the Mediterranean region. Journal of Ethnopharmacology, 67(1), 221–226
- **Crouzet, J. (1996).** Les huiles essentielles : Extraction et contrôle de qualité. Editions Techniques, Paris .
- **Da Silva, J. K. R., Mothé, G., de Oliveira, A. L. H., & da Silva, C. A. (2017).** Plant-derived essential oils and their pharmacological applications. Frontiers in Pharmacology, 8, 212 .

- **Da Silva, M. F. (2010).** Toxicité et sécurité d'utilisation des huiles essentielles. Revue de Pharmacologie et de Toxicologie, 45(3), 123-130 .
- **Da Silva, S. L., de Sousa, C. S., & Alves, R. B. (2021).** Antioxidant and antimicrobial potential of Lamiaceae family plants. Molecules, 26(5), 1422 .
- **De Cliff, J., & Harerimana, V. (2013).** Influence of acid value on stability of essential oils. Journal of Essential Oil Research, 25(5), 345-351 .
- **Deysson, P. (1967**). Taxonomy and Classification of the Genus Origanum.
- **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016).** Essential oils: Extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. Journal of Food Science, 81(5), R1197-R1209 .
- **Dorman, H. J. D., & Dean, L. (2000).** Antioxidant properties of thymol and carvacrol: structure-activity relationships. Food Chemistry, 73(3), 329-335 .
- **Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88(2), 308-316 .
- **Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial properties of thyme (Thymus vulgaris) and oregano (Origanum vulgare) essential oils. Journal of Essential Oil Research, 12(2), 116-119
- **Dubois, J., Mitterand, H., & Dauzat, D. A. (2006).** Dictionnaire étymologique et historique du français. Larousse.
- **Dubois, J., Timbal, J., & Lebreton, P. (2005).** Dictionnaire étymologique et historique des noms des plantes. Belin .
- **Duraffourd, C., Krenz, L., & Lemoine, P. (1990).** Étude sur l'oxydation des huiles essentielles. Journal de Chimie Physique, 87(3), 225-231.
- **Elshafie, H. S., Camele, I., & De Feo, V. (2016).** Synergistic antimicrobial effect of essential oil components: A review. Molecules, 21(4), 420 .
- **Fabrocini, A. (2007).** Extraction of essential oils. In Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Application.
- **Farhat, F. (2010).** Extraction des huiles essentielles par micro-ondes : principes et applications. Revue des Techniques d'Extraction, 15(3), 45-53.
- **Ferreira, J., Silva, P., & Oliveira, D. (2023).** Nomenclature and classification of Origanum species: A morphological and chemical perspective. Journal of Plant Taxonomy and Evolution, 59(2), 123-135.

- **Ferreira, M. Z., Alvarez, I., Jardim, R., & Sequeira, M. M. (2023).** Taxonomic and nomenclatural notes on Andryala glandulosa subsp. cheiranthifolia (Cichorieae, Asteraceae) from Madeira Island, Portugal. Phytotaxa, 579(4), 120–128.
- **Fidan, H., Gülçin, İ., & Köksal, E. (2019)**. Antimicrobial properties of Origanum species essential oils. Journal of Essential Oil Research, 31(4), 311-317 .
- **Franchomme, P., & Pénoël, D. (1990).** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie scientifique et médicale de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois .
- **Franchomme, P., & Penoel, D. (1990)**. La Médecine Aromatique. Editions M.-A. Inc .
- **Franchomme, P., & Pénoël, D. (2001).** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois Éditeur.
- **Garland, D. J. (1980).** Essential oils of the genus Origanum: A review. Journal of Essential Oil Research, 2(3), 105-111 .
- **Garnero, L. (1996).** Étude de la densité et composition des huiles essentielles. Phytothérapie, 4(3), 155-162 .
- **Geiger, D. (2005).** Essential oils and their antimicrobial properties. Natural Product Reports, 22(6), 839-847 .
- **Glisic, S. M., Mihailovic, V. D., & Sokovic, M. (2007).** The biological activities of essential oils from Mediterranean plants. Journal of Medicinal Plants Research, 1(4), 134-139 .
- **Govindarajan, M., Jebanesan, A., Pushpanathan, T., & Ganeshkumar, M. (2016).** Essential oil yield and composition of Origanum vulgare in India. Industrial Crops and Products, 87.
- **Gueffal, A., & Zengui, A. (2021).** Techniques d'extraction et analyse des huiles essentielles. [Éditeur ou revue si connu]
- **Gueffal, M., & Zengui, S. (2021).** Étude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles : cas des monoterpènes. Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie .
- **Gueffal, M., & Zengui, S. (2021).** Étude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles : cas des monoterpènes et sesquiterpènes. Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Guignard, A. (1996).** Position systématique et classification des espèces du genre Origanum.

- **Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999).** Antimicrobial and toxicity of Origanum oils: A review of their safety and applications. Journal of Essential Oil Research, 11(5), 278–282
- **Han, X., Parker, T. L., & Palombo, E. A. (2014).** Essential oils: Antimicrobial and antioxidant activity and application in food. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(5), 793-806
- **Hilali, E. (2005).** Étude des indices de peroxyde dans les huiles essentielles. Annales de Pharmacie, 60(2), 115-120.
- **Hilan, C., Abdel-Mogib, M., Sidahmed, M.M., Hassan, M.M., Al-Bekairi, A.M., & El-Feraly, F.S. (2005).** Influence de la période de récolte sur les caractéristiques des huiles essentielles. Journal of Medicinal Plants Research, 4(3), 273–278
- **Holley, R. A. (1999).** Les huiles essentielles comme agents antimicrobiens. In G. M. Padilla-Zakour, R. C. Anantheswaran, & C. A. Tomasula (Éds.), Food Processing and Preservation (pp. 95–108). Springer.
- **Hoshi, H., Horiuchi, T., & Miki, T. (2010).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'agrumes contre des bactéries résistantes aux médicaments. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(8), 1634–1639.
- **Houmani, H., Bekka, A., Bouzid, A., & Louar, R. (2014).** Variation du rendement en huile essentielle chez Origanum vulgare ssp. glandulosum dans la région de Médéa. Phytothérapie, 12(4), 220–228.
- **Houmani, M., Azzoudj, S., Naxakis, G., & Skoula, M. (2002).** Composition chimique et activité biologique de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum d'Alger. Journal of Medicinal Plants Research, 6(4), 255–260.
- **Howes, M.-J. R., Houghton, P. J., & Lee, C. C. (2004).** Plantes utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise et indienne pour l'amélioration de la mémoire et des fonctions cognitives. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 77(3), 459–471.
- **Hussain, A. I. (2009).** Chimie et activité biologique des huiles essentielles : un aperçu. Phytotherapy Research, 23(9), 1239–1247.
- **Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2010).** Composition chimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles de basilic (Ocimum basilicum) selon les variations saisonnières. Food Chemistry, 108(3), 986‑995.
- **Hussain, A. I., Perveen, S., Abbas, M. A., & Rashid, A. (2011).** Rendement et composition de l'huile essentielle d'Origanum vulgare du Pakistan. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 14(6), 790–798.

- **Ietswaart, J. (1980).** Révision taxonomique du genre Origanum. Wageningen Agricultural University Papers, 80-4.
- **International Organization for Standardization**. Huiles essentielles — Détermination de l'indice d'acide: ISO 1242. Genève: ISO; 2009.
- **Isman, M. B. (2002).** Huiles essentielles insecticides : nouveaux outils pour la gestion des ravageurs. Pesticide Outlook, 13(2), 68–72.
- **Jham, G. N., Dhingra, O. D., & Lima, M. E. A. (2005).** Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de plantes médicinales. Journal of Essential Oil Research, 17(5), 541–544.
- **Johansen, L., Dorman, H. J. D., & Skibsted, L. H. (1997).** Activités antioxydantes et antibactériennes des huiles essentielles et de leurs composants. International Journal of Food Science & Technology, 32(6), 537-543.
- **Kafkaletou, M., Ouzounidou, G., & Tsantili, E. (2021).** Effet de la maturité du fruit sur la composition des composants à haute valeur et les activités biologiques des olives de nouvelles cultivars développées. Foods, 10(7), 1489.
- **Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012).** Volatilité et composition chimique des huiles essentielles. Revue de Chimie, 56(8), 541-548 .
- **Kanlayavattanakul, M., Lourith, N., & Harnprabhas, P. (2013**). Technique de l'enfleurage : histoire, principe et applications modernes. Journal de la Recherche sur les Huiles Essentielles (Journal of Essential Oil Research), 25(3), 192–198.
- **Karleskind, M. (1992).** Physico-chemical properties of essential oils. Phytochemical Analysis, 3(2), 76-80 .
- **Karteskind, G. (1992)**. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (AOCS). Champaign, IL: American Oil Chemists' Society
- **Kartika, M. (2005).** Impact of oxidation on pigment degradation in oils. Journal of Food Quality, 28(3), 267-275 .
- **Khalfi, H., Guedira, M., & Amrani, R. (2008).** Insecticidal effects of aromatic plants. Journal of Agricultural Science, 50(3), 180-185 .
- **Khoudali, S., Ayed, Y., Trari, M., & Boudries, H. (2014).** Antioxidant activity of essential oils extracted from Algerian plants. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 17(5), 1047–1054.
- **Khound, S. & Devi, S. (2024).** Clerodendrum glandulosum: Ethnopharmacological uses and pharmacological potentials. Phytomedicine Reviews, 15(1), 45-53.

- **Kintzios, S. (2002).** Diversity and Classification of the Genus Origanum. Kintzios, S. E. (2002). Oregano: The genera Origanum and Lippia. CRC Press .
- **Kohen, R., & Nyska, A. (2002).** Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic Pathology, 30(6), 620-650 .
- **Kokkini, S. (1996).** Distribution and Chemical Composition of Oregano Species in the Mediterranean Region.
- **Kokkini, S. (1996).** Taxonomy and distribution of the genus Origanum. Botanical Journal of the Linnean Society, 121(1), 1-19 .
- **Kouache, S. (2019).** Répartition géographique des espèces du genre Origanum dans la région méditerranéenne .
- **Koumaglo, K., Koudouvo, K., & Tchacondo, T. (1999).** Activité biopesticide de l'huile essentielle de Cymbopogon schoenanthus contre Callosobruchus maculatus. Revue Africaine de Recherche Agricole (African Journal of Agricultural Research), 14(2), 89-95.
- **Kouri, A., & Saidi, F. (2007).** Évaluation des activités antioxydantes des huiles essentielles. Phytothérapie, 5(4), 195-202.
- **Kurita, O., Kaneko, Y., & Mizuno, S. (1979).** Mécanisme d'action des aldéhydes sur les cellules fongiques : interaction avec les groupes thiols. Journal de Mycologie Médicale (Journal of Medical Mycology), 17(2), 85-92.
- **Labre, M. (2012).** Toxicité des huiles essentielles : risques et précautions d'utilisation. Journal de la Recherche sur les Huiles Essentielles (Journal of Essential Oils Research), 24(4), 250-257.
- **Lahlou, M. (2004).** Activité biologique et composition chimique des huiles essentielles. Phytotherapy Research, 18(10), 769-774.
- **Laib, N. (2010).** Activité antifongique des phénols présents dans les huiles essentielles. Phytothérapie, 8(3), 112-118.
- **Lee, S., & Shibamoto, T. (2001).** Antioxidant properties of para-cymene. Food Chemistry, 73(3), 263-268 .
- **Lion, C. (1995).** Analyse chimique des huiles essentielles : méthodes et applications. Paris : Éditions Techniques
- **Lion, C. (1995).** Quality control of essential oils: Physico-chemical parameters. Journal of Essential Oil Research, 7(1), 89–95

- **Maataoui, A., Ibijbijen, J., & El Bouadili, A. (2006).** Étude des propriétés antioxydantes de quelques extraits végétaux marocains. Revista de Chimie, 57(5), 504-507
- **Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., & Salunkhe, D. K. (1996).** Food antioxidants: Technological, toxicological, and health perspectives.
- **Makhlaf, A. (2016).** Étude comparative des huiles essentielles d'Origanum glandulosum et Origanum compactum. Journal of Essential Oil Research, 28(6), 501-508 .
- **Mann, J. (1987).** Secondary Metabolism (2nd ed.). Oxford University Press .
- **Manohar, M., Jain, S. K., & Singh, J. (2001).** Évaluation de la toxicité des huiles essentielles chez la souris : effet d'Origanum vulgare et de ses principaux composants. Phytotherapy Research, 15(3), 212–215.
- **MapInfo-Pro. (2019).** Présentation de la région de Sétif.
- **Mayer, R. (2012).** Pharmacology and bioactivity of essential oils: A review. Journal of Natural Products, 75(4), 643-656 .
- **Mechergui, K., Chehab, H., & Benahmed, D. (2010).** Study of antioxidant activity in Algerian plants. Algerian Journal of Biochemistry, 2(1), 15-21 .
- **Mechergui, K., Mechergui, S., Bellassoued, K., Dhahri, S., & Elfeki, A. (2010).** Étude des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum. Revue Tunisienne de Chimie, 31(2), 155–160.
- **Mechergui, S., Bellassoued, K., Dhahri, S., & Elfeki, A. (2010).** Activité antioxydante des huiles essentielles d'Origanum vulgare subsp. glandulosum. Phytotherapy Research, 24(12), 1783–1787.
- **Mechergui, S., Bellassoued, K., Dhahri, S., & Elfeki, A. (2016).** Origanum glandulosum : revue de ses propriétés médicinales et composés bioactifs. Journal of Medicinal Plants Research, 10(21), 304–310.
- **Milos, M., Radonic, A., & Katalinic, V. (2000).** Activité antioxydante du carvacrol et du thymol. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(11), 4890–4895.
- **Mechergui, S., Bellassoued, K., Dhahri, S., & Elfeki, A. (2016).** Activités biologiques d'Origanum glandulosum : effets antifongiques, antithrombotiques, antimutagènes, angiogéniques, antiparasitaires et antihyperglycémiques. Phytomedicine, 23(13), 1363.
- **Mojab, F., & Nickavar, B. (2003).** Phytochemical analysis of medicinal plants: A review. Journal of Herbal Medicine, 3(1), 25–33 .

- **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26(2), 211-219 .
- **Mompon, C. (1994).** Extraction des huiles essentielles par micro-ondes sous vide. Revue Française des Plantes Médicinales, 52, 45–50
- **Morin, P. (1992).** Méthodes d'analyse des pigments dans les huiles végétales. Oléagineux, 47(5), 229-235 .
- **Moshari, S., Ahmadi, N., & Rahimi, M. (2023).** Applications of Lamiaceae essential oils in food and pharmaceutical industries. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 32, 100418 .
- **Mukherjee, P. K. (2019).** Quality Control of Herbal Drugs: An Approach to Evaluation of Botanicals (2nd ed.). Elsevier
- **Nabti, E., Boukhari, A., Dib, S., & Bendeddouche, B. (2020)**. Activité antibactérienne des huiles essentielles d'Origanum glandulosum contre des souches multirésistantes d'Escherichia coli uropathogènes. Journal de Microbiologie Appliquée (Journal of Applied Microbiology), 129(4), 934–943.
- **Nakahara, K., Someya, N., & Oyanagi, Y. (2003).** Caractéristiques olfactives des huiles essentielles et des composés volatils. Sens chimiques (Chemical Senses), 28(7), 597–605.
- **NF ISO 660. (1999).** Animal and vegetable fats and oils — Determination of acid value and acidity. International Organization for Standardization .
- **Nicholas, A. (1973).** The role of secondary metabolites in plant defense. Academic Pr Norme NF ISO 1242 : 1999 (T 75-103). Huile essentielle – Détermination de l'indice d'acide. Institut Français de Normalisation (AFNOR), 1999 .
- **Ntezurubanza, L. (2000).** Aromathérapie et huiles essentielles: Histoire, principes, applications. Presses Universitaires.
- **Oliveira, A. L., Santos, M. R., & Pereira, J. C. (2024).** Étude comparative de la toxicité aiguë des huiles essentielles de Croton pulegiodorus et Croton argyrophyllus. Journal of Essential Oil Research, 36(1), 15-28 .
- **Özcan, M. M., & Chalchat, J.-C. (2007).** Composition and biological activities of essential oils from aromatic plants. Journal of Medicinal Plants Research, 1(1), 1-10 .
- **Padrini, A., & Lucheroni, M. (2003).** Physico-chemical characteristics of essential oils. Essential Oil Research Journal, 15(2), 120-134 .
- **Paris, R. R., & Hurabielle, F. (1981).** Matière médicale : Plantes médicinales, phytothérapie, aromathérapie (2e éd.). Masson .

- **Paolini, J. (2005).** Propriétés pharmacologiques des plantes aromatiques et médicinales. Phytothérapie, 3(1), 10-15.
- **Pavela, R. (2008).** Yield and composition of Origanum vulgare essential oils in Eurasia. Industrial Crops and Products, 27(1), 1-5 .
- **Peyron, J. (1992).** Distillation des huiles essentielles : Principes et techniques. Techniques de l'Ingénieur, 10(4), 123-130
- **Pharmacopée Européenne. (2007).** European Pharmacopoeia (5th ed.). Council of Europe .
- **Pibiri, F. (2006).** Synergistic effects in essential oil components and their pharmacological implications. Journal of Ethnopharmacology, 108(3), 407-414
- **Popovici, R., Mitu, L., Radu, G. L. (2009).** Spectrophotometric assay of DPPH radical scavenging activity. Romanian Biotechnological Letters, 14(1), 4576-4580 .
- Quézel, P., & Santa, S. (1962). Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions CNRS .
- **Quézel, P., & Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Éditions CNRS .
- **Rakotonanahary, R. (2012).** Conservation des huiles essentielles et prévention de l'oxydation. Phytothérapie, 10(4), 211-215 .
- **Rodrigues, S., Andrade, P. B., & Valentão, P. (2017).** Antimicrobial and antioxidant properties of Mediterranean plants essential oils. Food Chemistry, 230, 44-50 .
- **Ruberto, G., & Baratta, M. T. (2000).** Antioxidant activity of essential oils from Origanum species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(11), 5477-5482 .
- **Ruberto, G., Baratta, M. T., & Deans, S. G. (2002).** Chemical composition and antimicrobial activity of Origanum vulgare essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 17(5), 332-336 .
- **Ruberto, G., Baratta, M. T., Deans, S. G., & Dorman, H. J. D. (2002).** Composition chimique de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum de Sétif, Algérie. Journal de la Recherche sur les Huiles Essentielles (Journal of Essential Oil Research), 14(2), 101–106.
- **Ruberto, G., Baratta, M. T., Deans, S. G., & Dorman, H. J. D. (2002).** Variabilité chimique de l'Origanum glandulosum provenant de différents sites. Revue des Arômes et des Parfums (Flavour and Fragrance Journal), 17(2), 92–96
- **Saad, A., Smith, R., & Johnson, M. (1995).** Chemical constituents of essential oils and their effects. Phytochemistry, 38(2), 367–370 .

- **Sakkas, H., & Papadopoulou, C. (2017).** Essential oils and their antimicrobial properties. Microbial Pathogenesis, 106, 22-28 .
- **Santos, M. R., Oliveira, A. L., & Silva, R. T. (2024).** Toxicité orale aiguë des huiles essentielles extraites de Croton pulegiodorus. Toxicology Reports, 11, 45-53 .
- **Sari, M., Kaâbeche, M., Biondi, D. M., Mandalari, G., D'Arrigo, M., Bisignano, G., Saija, A., Daquino, C., & Ruberto, G. (2006).** Composition chimique, activités antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de plusieurs populations algériennes d'Origanum glandulosum Desf. Revue des Arômes et des Parfums (Flavour and Fragrance Journal), 21(6), 890–896.
- **Sari, S., Bouamra, N., & Bensalem, A. (2006).** Composition de l'huile essentielle d'Origanum glandulosum de Sétif (Algérie) et ses propriétés antimicrobiennes. Revue de Phytochimie (Phytochemistry Reviews), 9(3), 183–189
- **Sharififar, F., Moshafi, M. H., Jahaniani, F., & Khoshnood-Mansoorkhani, M. (2007).** Antioxidant activity of six Iranian medicinal plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 6(3), 149–154.
- **Silva, P. R., Costa, L. M., & Almeida, F. M. (2023).** Effets toxiques des huiles essentielles de citronnelle, thym et origan sur le développement embryonnaire du poisson-zèbre. Aquatic Toxicology, 256, 105452 .
- **Skoula, M., & Harborne, J. B. (1999).** The taxonomy and chemistry of Origanum. In S. E. Kintzios (Ed.), Oregano: The genera Origanum and Lippia (pp. 67–108). CRC Press .
- **Small, E., & Catling, P. M. (2000)**. Canadian Medicinal Crops. NRC Research Press .
- **Smallfield, B. M. (2001).** Factors influencing essential oil composition. HerbalGram, 50, 34-42 .
- **Sousa, C., Fernandes, M., & Fernandes, V. (2015).** Maturation et teneur en antioxydants dans les fruits. Chimie Alimentaire, 171, 29–36.
- **Spiridon, I., Chirita, A., Nicuta, D., & Mureșan, I. (2016).** Effet de l'huile essentielle d'Origanum vulgare sur l'oxydation lipidique dans les huiles comestibles. Recherches Alimentaires Internationales, 89, 797–803.
- **Svoboda, K. P., & Hampson, M. (1999).** Environmental effects on essential oil yield. Journal of Essential Oil Research, 11(5), 627-631 .
- **Tan, C. X., & Li, J. M. (2013).** Révision taxonomique du genre Oreocharis en Chine. Taxonomie des Plantes, 35(2), 87–95.
- **Teisseire, H. (1991).** Les huiles essentielles : composition, extraction et propriétés.

- **Teisseire, P. (1991).** Aromathérapie : les huiles essentielles au service de votre santé Éditions Dangles.
- **Kintzios, S. E. (Éd.). (2002).** Oregano: The Genera Origanum and Lippia. Taylor & Francis .
- **Dirmenci, T. (Éd.). (2022).** Oregano: The Genus Origanum (Lamiaceae): Taxonomy, Cultivation, Chemistry and Uses. Nova Science Publishers.
- **Tia, C., & Adima, N. (2023).** Influence des halogènes sur les huiles essentielles : oxydation et modifications physico-chimiques. Journal of Natural Products, 76(5), 333-340.
- **Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Taniguchi, H., Ohyama, M., & Iinuma, M. (1996).** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of Ethnopharmacology, 50(1), 27-34 .
- **Ultee, A., Kets, E. P. W., & Smid, E. J. (2002).** L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et de leurs composants : une revue. Revue internationale de microbiologie alimentaire, 74(3), 187–196.
- **Valnet, J. (1984).** Phytothérapie, Médecine des Plantes. Editions Maloine .
- **Valnet, J. (2003).** Aromathérapie : Traitement des maladies par les essences des plantes. Le Livre de Poche
- **Viaed, H. (1993).** Pharmacological effects of Betula lenta essential oil rich in natural methyl salicylate. Journal of Ethnopharmacology, 39(3), 195-201 .
- **Willem, R. (2009).** Les huiles essentielles : Substances messagères et protectrices de la plante. Éditions Amyris
- **Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., & Gordon, M. H. (1999).** Activité antioxydante de composés phénoliques : thymol et carvacrol. Journal of the American Oil Chemists' Society, 76(10), 1059–1063.
- **Yao, X., Li, G., Gao, S., Hou, H., & Liu, M. (2019).** Effets de l'huile essentielle d'Origanum vulgare sur les enzymes antioxydantes et la teneur en malondialdéhyde chez le rat. Food and Chemical Toxicology, 132, 110662.
- **Zenasni, M. (2014).** Diversité et potentiel des plantes médicinales en Algérie. Revue Algérienne des Sciences Biologiques, 8(2), 23-37.