



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة حسيبة بن بوعلي بالشلف

Université Hassiba Ben Bouali à Chlef

معهد العلوم الزراعية

Institut des Sciences Agronomiques

MEMOIRE

Présenté par:

Mr. MEROUANE Abdelaziz

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE:

MAGISTER EN AGRONOMIE

Option : Ressources phytogénétiques et développement Durable

THEME:

*Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante
des huiles essentielles de trois espèces de sauges (Salvia
algeriensis, Salvia argentea et Salvia barrelieri).*

Soutenu le: 04/07/2013

Devant le jury:

M^r. M'HAMMEDI B. M	Professeur	Univ Chlef	Président
M^r. SAADI. A	Maitre de conférences -A-	Univ Chlef	Promoteur
M^{me}. MEDJAHED. F	Maitre assistant -A-	Univ Chlef	Co-promotrice
M^r. ADDA. A	Maitre de conférences -A-	Univ Tiaret	Examineur
M^r. KOUIDRI. M	Maitre assistant -A-	Univ Chlef	Examineur

Année universitaire: 2012/2013

Dédicace,

REMERCIEMENTS

Ma première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله) , le créateur du tout, pour me donner la vie, le bénédicité et la force pour accomplir ce travail.

Je suis en effet reconnaissant à mon promoteur, **Dr. SAADI. A** pour ses immenses contributions, critiques constructives, patience, compréhension, conseils, et appui au cours de réalisation de ce travail.

Les relations avec ma Co-promotrice sont toujours uniques et comment remercier **Mme MEDJAHED. F**, toujours à l'écoute. Cette thèse n'aurait pas été possible sans ses conseils, son aide, son appui, son encouragement, sa patience et ses critiques constructives...Merci et je suis extrêmement reconnaissant.

Mes remerciements s'adressent également à **Mr. M'HAMMEDI BOUZINA. M**, professeur à l'université de Chlef qui me fait l'honneur d'être le président de jury de mon mémoire.

Je suis également très honorée de la présence, dans ce jury de **Mr. ADDA. A** maitre de conférences à l'université de Tiaret.

Je veux également remercier **Mr. KOUIDRI. M** maitre assistant à l'université de Chlef, il était toujours prêt à m'aider avec les dosages, les analyses, la spectrophotométrie UV, l'extraction et les conseils, ...etc., toutes fois que je l'ai approché, et aussi pour avoir accepté d'être un membre de jury.

Mes reconnaissances particulières vont à **Mr. BARBAR. M**, laborantin à la clinique privée EL-IHSANE (Chlef), **M^{elle} Sara** laborantine à L'EPSP de Oued R'hiou (Relizane) -dont je ne connais pas son nom- et aussi **M^{elle} HALIMA MANSOUR. S** doctorante à l'université de Chlef, pour leurs aides dans la réalisation des tests antibactériens.

Mes remerciements spécifiques de profond de mon cœur vont à mon ami intime **NOUI. A** pour son aide, sa disponibilité et son bon accueil. Je veux également remercier mes amis (es) **MEDJAHED. H ; ZABEL. S; NEDJARI BEN**

REMERCIEMENTS

HADJ ALI. K, ZATOUT. A; YAHIA SAMET. I avec eux j'ai partagé un énorme paquet de sciences, de rêves et d'amitié.

Je veux bien remercier M^{elle} GADOUCHE. D ingénieur de laboratoire de Biotechnologie Végétale pour son aide et sa longue patience durant l'expérimentation.

Je voudrais vivement reconnaître Mr. BENMOUSSA. A surveillant médical de l'Établissement Public de Santé de Proximité (EPSP) de Beni-Haoua pour son accueil et son aide au travail.

Je suis très reconnaissant à tous mes collègues de travail: ACHOUR. F ; AMRANI. Y; ALI MERINA. Y; AMRANI. F; ASSENINE. Z; BENHENNI. M ; BOUALI. A; BOUKHELLOUF. S; BOURKAIB. A; MAABOU. S et NEGGADI. W pour leurs compréhension, gentillesse, sympathie, encouragements et patience envers moi. Et j'aimerais bien profiter cette occasion pour remercier tous le personnel de l'EPSP Beni-Haoua.

Je remercie également mes parents, mes frères et sœurs de leurs prières, encouragements et conseils qui m'ont soutenu et permis d'étudier pendant toutes ces années.

Enfin, je voudrais passer mes vifs remerciements et excuses à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, non cités dans ce mémoire, ils seront toujours dans ma mémoire.

MEROUANE ABDELAZIZ

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Introduction

Partie 01 : Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales (PAM) et les sauges

1.1. Aperçu historique des PAM -----	6
1.2. Le marché des PAM dans le monde -----	7
1.3. La famille des Lamiaceae -----	8
1.3.1. Présentation botanique -----	8
1.4. Le genre Salvia -----	9
1.4.1. Description botanique -----	9
1.4.2. Diversification, taxonomie et distribution géographique -----	10
1.4.3. Usage et importance des sauges -----	12
1.5. Importance économique dans la zone méditerranéenne -----	13

Chapitre 02 : Substances actives des plantes : Huiles essentielles et Composés phénoliques

2.1. Les huiles essentielles -----	14
2.1.1. Définition et historique -----	14
2.1.2. Répartition et localisation -----	15
2.1.3. Les techniques d'extraction des HE -----	16
2.1.4. La composition chimique des HE -----	19
2.1.5. Les facteurs influençant la composition des HE -----	19
2.1.6. Les propriétés des HE -----	22
2.1.7. Toxicité des HE -----	26
2.1.8. Applications des HE -----	26
2.2. Les composés phénoliques -----	29
2.2.1. Définition -----	29
2.2.2. Diversité -----	29
2.2.3. Les flavonoïdes -----	29
2.2.4. Effets des composés phénoliques -----	31

Partie 02 : Matériel et méthodes

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

1.1. Matériel végétal -----	33
1.1.1. Présentation des espèces étudiées -----	33
1.1.2. Récolte et préparation des échantillons -----	34

1.1.3. Matériel biologique -----	35
1.2. Méthodes -----	36
1.2.1. Extraction des HE par entraînement à la vapeur d'eau -----	36
1.2.2. Méthode d'extraction des HE -----	37
1.2.2. Calcul du rendement -----	39
1.2.3. Analyse des propriétés organoleptiques et physiques -----	39
1.2.4. Analyse des propriétés chimiques -----	40
1.2.5. Activité antibactérienne des HE -----	41
1.2.6. Evaluation de l'activité antioxydante -----	43
1.2.7. Dosage des composés phénoliques totaux -----	45
1.2.8. Dosage des flavonoïdes totaux -----	47
1.3. Analyses statistiques -----	47

Partie 03 : Résultats et discussion

Chapitre 01 : Caractéristiques et composition des HE

1.1. Extraction et rendement en huile essentielle -----	49
1.2. Étude des caractéristiques physiques des huiles essentielles -----	50
1.3. Composition chimique des huiles essentielles -----	52
1.3.1. Composition chimique des HE de <i>S. algeriensis</i> -----	52
1.3.2. Composition chimique des HE de <i>S. barrelieri</i> -----	54

Chapitre 02 : Activité antioxydante et antibactérienne des HE

2.1. Activité antioxydante des huiles essentielles -----	59
2.1.1. Activité antioxydante sur CCM -----	59
2.1.2. Activité antioxydante par spectrophotométrie -----	60
2.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles -----	62
2.2.1. Aromatogramme par la méthode des disques -----	62
2.2.1.1. Pouvoir antibactérien des HE de <i>S. algeriensis</i> -----	63
2.2.1.2. Pouvoir antibactérien des HE de <i>S. argentea</i> -----	64
2.2.1.3. Pouvoir antibactérien des HE de <i>S. barrelieri</i> -----	66

Chapitre 3: Teneur en composés phénoliques et flavonoïques

3.1. Teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux -----	69
--	----

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

AAR: Activité antioxydante relative.

AFNOR: Association Française de normalisation.

Amp¹⁰ : Ampicilline à 10 microgramme/disque.

BHT: Butylhydroxytoluène.

BMH: Bouillon Mueller Hinton.

CCM : Chromatographie sur couche mince

cm: Centimètre

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CRL: Laboratoires Charles River.

DD : Diamètre d'inhibition.

DO: Densité optique

DPPH: 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle.

EAG: Equivalent d'acide gallique.

EQs: Equivalent Quercétine.

FAO: Organisation internationale des aliments et d'agriculture.

FE: Feuilles.

FR: Fleurs.

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Gent⁵⁰ : Gentamycine à 50 microgramme/disque.

h: heure

HE: Huile essentielle.

IAEA: Agence internationale de l'énergie atomique.

ISO : Organisation internationale de normalisation.

mg : milligramme.

MHA: Mueller Hinton Agar.

min : Minute.

mm : millimètre.

MS: Matière sèche.

NA : Non actif.

NCCLS: Committee for Clinical Laboratory Standards.

nm : nanomètre.

OMS: Organisation mondiale de la santé.

Oxa⁵ : Oxacilline à 5 microgramme/disque.

PAM: Plantes aromatiques et médicinales

S: Salvia

UFC: Unité formant de colonie

USD: Dollar Américain.

UV-V: Ultraviolet à visible.

Liste des tableaux

Tableau I: Dates et lieux de récolte des échantillons de feuilles et de fleurs selon l'espèce de sauge étudiée.....	35
Tableau II : Indice de réfraction et densité relative des HE extraites à partir de fleurs et de feuilles de trois espèces de sauge (<i>S. algeriensis</i> , <i>S. argentea</i> et <i>S. barrelieri</i>).....	50
Tableau III : Composition chimique des huiles essentielles de <i>Salvia algeriensis</i>	52
Tableau IV: Composition chimique des huiles essentielle de <i>Salvia barrelieri</i>	54
Tableau V: Effet antibactérien des HE de feuilles et fleurs de <i>S. algeriensis</i> contre quelques espèces de bactéries pathogènes.....	63
Tableau VI: Effet antibactérien des HE de <i>S. argentea</i> contre quelques espèces de bactéries pathogènes.....	65
Tableau VII: Activité antibactérienne des HE de <i>S. barrelieri</i> contre quelques espèces de bactéries pathogènes.....	66
Tableau VIII : Teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux des extraits de feuilles (FR) et de fleurs (FR) de trois espèces de sauge.....	69

Liste des figures

Figure 01 : Répartition géographique du genre <i>Salvia</i> dans le monde.....	11
Figure 02: Scanographie des trichomes glandulaires sur la surface des feuilles de sauge (<i>S.officinalis</i>).....	16
Figure 03: différentes classes des composés phénoliques.....	30
Figure 04: Aspect général des trois espèces de sauge étudiées : <i>Salvia algeriensis</i> (A); <i>Salvia argentea</i> (B) et <i>Salvia barrelieri</i> (C).....	33
Figure 05 : Schéma descriptif de l`installation semi-pilote d`entraînement à la vapeur.....	37
Figure 06: Ampoule à décanner (A) et Evaporateur rotatif (Rotavapor) (B).....	38
Figure 07 : Rendement (%) en huile essentielle obtenu à partir de fleurs et de feuilles de trois espèces de sauge (<i>S. algeriensis</i> , <i>S. argentea</i> et <i>S. barrelieri</i>).....	49
Figure 08: révélation de l`activité antiradicalaire des huiles essentielles sur CCM.....	59
Figure 09: Les valeurs des IC ₅₀ obtenues selon les HE extraites de feuilles (FE) et fleurs (FR) de <i>S. algeriensis</i> , <i>S. argentea</i> et <i>S. barrelieri</i> et les standards.....	60
Figure 10: Taux d`inhibition du test β _carotène/acide linoléique obtenus par les huiles de feuilles (FE) et de fleurs (FR) de <i>Salvia algeriensis</i> , <i>S. barrelieri</i> et <i>S. argentea</i>	61

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'elles s'en servent pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses traditions superstitieuses et religieuses. Les propriétés odorantes et thérapeutiques des plantes étaient, déjà, connues par l'ancienne Egypte et en Chine (FELLAH *et al.*, 2006).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 75 à 95% des populations rurales (particulièrement dans les pays en développement) font recours à la médecine traditionnelle faite en grande partie à base de plantes (OMS, 2003).

Il est actuellement prouvé qu'environ 20% des espèces végétales poussant dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.) (SUFFREDINI *et al.*, 2004). Parmi ces molécules ou ces constituants chimiques figurent les huiles essentielles.

Avec l'apparition des effets secondaires des médicaments synthétiques et l'augmentation de la résistance des microorganismes pathogènes vis-à-vis des antibiotiques classiques, une bonne partie des recherches scientifiques s'orientent actuellement vers la voie de l'usage des extraits biologiques actifs des plantes aromatiques et médicinales, notamment vers les huiles essentielles (ESSAWI *et al.*, 2000). C'est une voie très prometteuse et très efficace pour lutter contre les germes bactériens et même les virus puisqu'elle ne présente, à long terme, aucune résistance de la part des organismes bactériens (LIS-BALCHIN *et al.*, 1997 ; SAXENA, 1997). La complexité des constituants chimiques des huiles essentielles rend extrêmement difficile aux germes bactériens de développer une résistance.

En plus des huiles essentielles, les plantes constituent aussi une source importante de substances naturelles (molécules) qui présentent un grand potentiel antioxydant (LIS-BALCHIN *et al.*, 1997). Le développement et l'utilisation de ces substances antioxydantes efficaces, d'origine naturelle, sont hautement désirés (KIVRAK *et al.*, 2009). Ces molécules assurent la protection des cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres (molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies

cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement) (WILLCOX et *al.*, 2004).

Les molécules antioxydantes naturelles, contrairement aux synthétiques, semblent être très privilégiées par les utilisateurs dans l'industrie alimentaire afin d'empêcher la détérioration oxydante des denrées par les radicaux libres. En effet, l'emploi d'antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), et le tert-butylhydroquinone (TBHQ), sont suspectés d'avoir des effets secondaires cancérogènes (AMES, 1983).

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3 150 espèces végétales que compte notre pays (MOKKADEM, 1999).

Le genre *Salvia*, de la famille des labiées ou lamiacées, font partie de la gamme variée des plantes médicinales et aromatiques spontanées caractérisant la flore Algérienne. Le genre en question compte, à lui seul, plus de 900 espèces, (BEKTAS et *al.*, 2005; KIVRAK et *al.*, 2009). Les espèces décrites en Algérie sont au nombre de dix huit (QUEZEL ET SANTA, 1963)

De par le monde, ces espèces (à grande valeur ajoutée) occupent une place économique très privilégiée. Les huiles essentielles extraites à partir de ces espèces, possèdent un large spectre d'utilisation. Elles sont utilisées en phytothérapie et en aromathérapie pour traiter l'anxiété, la nervosité, et les insomnies, mais aussi pour soulager les rhumatismes et soigner les infections des voies respiratoires. Outre leur application dans le domaine de la phytothérapie et de l'aromathérapie, ces huiles entrent aussi dans d'autres domaines dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie, etc. (KARAMAN et *al.*, 2007). Les huiles de ces espèces possèdent également des propriétés antibactérienne et antifongique (BARICEVIC et BARTOL, 2000).

Malgré leur importance (en termes de diversité et de superficies couvertes dans la région de Chlef) très peu d'étude ont été conduites sur les espèces de sauge d'Algérie (dont certaines sont endémiques comme les *Salvia algeriensis* en vue de les préserver ou les valoriser. La présente étude s'inscrit dans ce contexte et vise à déterminer la composition chimique des huiles essentielles extraites, de feuilles et de fleurs, de trois espèces de sauges spontanées (*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*). Certaines propriétés biologiques des huiles comme l'activité antibactérienne et antioxydante seront également étudiées. Nous avons aussi procédé au dosage des composés phénoliques et flavonoïques totaux extraits de feuilles et de fleurs des trois espèces étudiées.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales (PAM) et les sauges

1.1. Aperçu historique des PAM

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est intimement liée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire montre que l'homme s'est toujours servi des plantes pour se nourrir, s'habiller, s'abriter, chasser et se soigner (COCK, 2011). La connaissance des préparations médicinales et de leur potentiel toxique a été transmise au cours des générations par la tradition orale et parfois transcrite en littérature des remèdes en herbes.

Les premiers documents ayant décrit l'utilisation des plantes en médecine datent de plus de 6000 ans. Les tablettes d'argile Sumériennes (4000 av. J. Christ) détaillent l'utilisation de plus de 1000 plantes médicinales et aromatiques (AFZAL et ARMSTRONG, 2002 ; LEVETIN et MCMAHON, 2003).

Le Pun-tsaou, un document chinois contient des milliers de traitements en extraits végétaux date d'environ 2500 av. J. Christ. Le corpus Hippocratique (une collection des textes de médication en plantes) par le médecin Grec HIPPOCRATE a été écrit vers la fin du cinquième siècle avant Jésus Christ et des écritures romaines "De Materia Medica" par DISCORIDES, documentent plus de 600 espèces avec leurs valeurs médicinales (LEVETIN et MCMAHON, 2003). Ces références historiques n'ont pas seulement une valeur anthropologique ou archéologique, mais elles nous fournissent une compréhension des préparations médicinales des plantes antiques, dont certaines sont toujours actuellement en service.

En Moyen-Orient, notamment l'ère Arabo-musulmane a aussi connu ses lettres de noblesse dans la pratique de la médecine par les plantes. Nous pouvons citer quelques noms de savants célèbres comme ABU BAKR AL-RAZI ou RHAZES (865-925), persan d'origine, qui fut l'un des grands médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par IBN-SINA ou AVICENNE (980-1037) qui écrivit à Téhéran une œuvre qui s'intitule *Canon de la médecine*. Mais le plus grand d'entre eux fut sans aucun doute IBN AL-BAYTAR (1197-1248) qui rédigea, en Orient, le très complet *Somme des Simples* (livre qui contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales) (HENNEZEL-WHITECHURCH, 2007).

PARTIE I : Synthèse bibliographique

Vers le XV^{ème} siècle, Christophe Colomb et Vasco De Gama, rapportent de leurs expéditions des plantes médicinales. On parle des "Plantes de la Découverte". Au XVI^{ème} siècle, Paracelse définit la notion de principe actif. Des recherches se font sur la morphologie des plantes pour expliquer leur activité thérapeutique. On parle de la "Théorie des signatures".

Depuis, l'homme n'a cessé de poursuivre sa quête vers la connaissance des plantes, leurs secrets et leurs vertus bénéfiques. Aujourd'hui, les progrès de la science sont tels que de nouveaux horizons s'ouvrent pour la phytothérapie : nouvelles méthodes scientifiques de pointe pour connaître les principes actifs des plantes, découverte de nouvelles propriétés, nouvelles formes d'utilisation plus pratiques, conçues pour s'adapter aux besoins de la vie actuelle. Désormais, les plantes sont devenues d'authentiques médicaments (WALSH, 2003).

1.2. Le marché des PAM dans le monde

Les statistiques des nations unies basées sur l'exportation et l'importation de 162 pays pour la période 1991 à 2000, rapportent 2924 produits frais ou sec, écrasé ou en poudre d'origine de 1211 plantes médicinales ou aromatiques. Ces produits se composent principalement des racines, des feuilles, de l'écorce, du bois, des fleurs, des graines sèches, ou parfois, de plusieurs parties ou même d'une plante entière, si les constituants exigés sont répartis dans plusieurs organes (LANGE, 2004).

L'importance globale des PAM est énorme. Dans les années quatre vingt dix, son importation globale annuelle est rapportée à 400 000 tonnes avec une valeur de 1.224 trillion de dollar Américain (USD). Ce secteur est dominé seulement par peu de pays: 82 % de l'importation mondiale est occupée par 12 pays et 12 pays étaient responsables de 80 % de l'exportation globale des PAM. Le rôle de l'Asie et de l'Europe dans ce commerce est dominant, car les pays de l'Asie tempérée sont responsables de 42 % de l'importation mondiale annuelle et l'Europe de l'un tiers (LANGE, 2004; LANGE, 1997).

En effet, Hong Kong est le premier importateur important des PAM avec une moyenne annuelle de 67000 tonnes, il est suivi du Japon avec une importation moyenne d'environ 51 350 tonnes puis des Etats-Unis avec 49 600 tonnes par an. L'Allemagne suit dans la 4^{ème} place avec une moyenne de 45 350 tonnes par an, dans la suite respectivement on trouve la France, la Chine, l'Italie, le Pakistan, l'Espagne, le Royaume-Uni et la Singapour. Du côté exportation, la Chine est à la tête de la liste des pays principaux exportateur du monde. Elle a exporté en moyenne environ 147 000 tonnes dans la période 1991-2000. Ces quantités

PARTIE I : Synthèse bibliographique

représentent le double de celles exportées de Hong Kong (63 150 tonnes y compris les réexportations), et quatre fois plus hautes que les quantités exportées d'Inde (33 900 tonnes), et de dix fois plus hautes que celles d'Allemagne (15 100 tonnes) et des Etats-Unis (13 500 tonnes), le reste des pays exportateurs sont respectivement le Mexique, l'Égypte, le Chili, la Bulgarie, la Singapour, le Maroc et le Pakistan (LANGE, 2004).

En conséquence, le Japon est le premier consommateur, suivi des Etats-Unis, de l'Allemagne et de la Corée du sud, et encore les quatre pays européens: la France, l'Italie, le Royaume-Uni et l'Espagne. Dans ces pays européens, la matière première des PAM est principalement traitée par l'industrie, puis vendue comme produits finis dans les marchés locaux ou exportée. Sur l'autre côté, la Chine est le premier fournisseur de la matière première des PAM, suivi de l'Inde en Asie. Dans l'Europe, la Bulgarie et l'Albanie sont les principaux pays de source des PAM, dans l'Amérique du Nord, le Mexique, et en Afrique, l'Égypte et le Maroc (LANGE, 2004 ; LANGE, 1998).

1.3. La famille des Lamiaceae

1.3.1. Présentation botanique

La famille des Lamiacées (Lamiaceae ou Labiateae) est une famille botanique très large. La majorité de ces espèces ont une grande importance, vu leurs valeurs économiques (DUARTE et LOPEZ, 2007). Elle comporte environ 264 genres et 6990 espèces (GURCHAN, 2004) d'herbes, parfois arbre ou arbustes, annuelles ou pluriannuelles, habituellement aromatiques à tiges quadrangulaires. Les feuilles opposées, rarement verticillées ou alternées, simples à pennées ou composées, sans stipules (LIHSI et *al.*, 1994).

L'inflorescence est généralement composée, parfois par des fleurs solitaires ou en cyme, verticillée de deux à plusieurs fleurs. les fleurs bisexuées, zygomorphes (HILAN et *al.*, 2006). Le calice est tubuleux ou en cloche persistant à cinq dents et deux lèvres; la lèvre supérieure tridentée ou entière; la lèvre inférieure bidentée ou quadri-dentée. La corolle a souvent deux lèvres; la lèvre supérieure bilobée rarement entière, la lèvre inférieure fragmentée de 3 à 5 lobes. Les étamines sont libres au nombre de deux à quatre, rarement apparentés (LIHSI et *al.*, 1994). L'ovaire varie depuis le type arrondi jusqu'à celui de profondément 4-lobé et le style terminal à gynobasique (WALTER et *al.*, 2002).

PARTIE I : Synthèse bibliographique

Le fruit, est composé d'habitude de quatre noyaux, une gousse indéhiscente à quatre graines ou un schizocarpe (tétrakène lisse) pouvant rarement avoir un aspect charnu ou drupacé, la graine, pratiquement exalbuminée, avec ou sans endosperme (HANNEBELLE, 2006; LIHSI-WEN, 1994).

Les lamiacées possèdent un appareil sécréteur externe, constitué par des poils sécréteurs à essence. Elles vivent dans des endroits secs et présentent des adaptations leur permettant de résister à la transpiration: feuilles velues à limbe replié par-dessous, à stomates enfoncés, à hypoderme collenchymateux très développé (CRETE, 1965).

Les espèces de la famille des lamiacées sont considérées comme étant les plus évoluées parmi toutes les plantes dicotylédones. Elles sont distribuées dans les différentes zones tempérées du monde entier, mais concentrées en grande partie dans la région méditerranéenne. Cette famille inclut plusieurs espèces utilisées dans la cuisine, la phytothérapie et la cosmétologie notamment celles appartenant aux genres: *Lavandula*, *Mentha*, *Stachys*, *Thymus*, *Rosmarinus* et *Salvia* (GURCHAN, 2004).

1.4. Le genre *Salvia*

1.4.1. Description botanique

Le genre *Salvia* comprend des espèces annuelles, bisannuelles ou vivaces. Les tiges sont généralement quadrangulaires inclinées comme les autres membres de la famille des lamiacées. Les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales (SCULLY, 2008).

Les fleurs se regroupent en inflorescences de type grappes ou panicules, et produisent généralement un joli étalage formé de fleurs dont les couleurs vont du bleu au rouge, et moins souvent du blanc au jaune. Le calice est tubulaire ou en forme de cloche. La corolle est formée de deux lèvres. La lèvre supérieure est généralement entière ou à trois dents. La lèvre inférieure a généralement deux lobes. Les étamines sont réduites à deux structures courtes avec deux cellules d'anthères, la cellule supérieure fertile, et l'inférieure stérile. Les fruits sont ovoïdes lisses ou nutlets oblongues et dans de nombreuses espèces ils ont un revêtement mucilagineux (SUTTON, 1999).

PARTIE I : Synthèse bibliographique

Beaucoup de sauges sont pourvus de trichomes (poils) au niveau des feuilles, des tiges et des fleurs. Ces organes aident à réduire la transpiration (perte d'eau) chez certaines espèces. Parfois, les poils sont glandulaires et sécrètent des huiles volatiles donnant généralement une odeur distincte de la plante. Lorsque les poils sont frottés ou brossés, certaines des cellules oléifères sont rompues, libérant ainsi l'huile essentielle. Souvent les sauges sont peu attrayantes pour les animaux de pâturage et certains insectes (SUTTON, 1999).

1.4.2. Diversification, taxonomie et distribution géographique

Le genre *Salvia* est considéré comme étant le genre le plus large et le plus important de la famille des lamiacées (*Lamiaceae* ou *Labiatae*) (BAGCI et al., 2008 ; WALTER et al., 2002). Il rassemble, à lui seul, plus de 900 espèces identifiées autour du monde (BEKTAS et al., 2005; KIVRAK et al., 2009).

Le nom vernaculaire « sauge » est attribué aux différentes espèces aromatiques du genre *Salvia* (KAROUSOU et al., 2000). Le nom scientifique de la sauge indique clairement l'importance de son rôle en phytothérapie : *Salvia* vient de « salvare » qui, en latin, signifie «sauver» (BARAN, 2010; ULUBELEN, 2000 ; BARICEVIC et al., 2000; NICOLETTE et al., 2000; STANLEY et al., 2000). Ce nom est corrompu populairement en « Sauja » et « Sauge » en Français et « Sawge » en ancien anglais, devenu actuellement « Sage », en référence à ces propriétés médicinales, connues depuis les anciennes civilisations (ANTHONY, 2000).

En Algérie, les espèces qui ont été déterminées sont au nombre de dix huit : *Salvia Balansae* de Noé ; *S. officinalis* L. ; *S. Chudaei* Batt. et Trab. ; *S. triloba* L. fils ; *S. lavandulaefolia* Vahl. ; *S. Aucheri* Benth. ; *S. phlomoides* Asso. ; *S. Jaminiana* de Noé ; *S. verbenaca* (L.) Briq. ; *S. Horminum* L. ; *S. aegyptiaca* L. ; *S. silvestris* L. ; *S. tingitana* Ette. ; *S. Sclarea* L. ; *S. Aethiopis* L. ; *S. algeriensis* Desf. ; *S. Barrelieri* Ettling. et *S. argentea* L. (QUEZEL ET SANTA, 1963)

PARTIE I : Synthèse bibliographique

Selon QUEZEL et SANTA, (1963) le genre *Salvia* appartient à la classification suivante :

Règne: Plantes

Sous règne: plantes vasculaires

Embranchement: Phanérogames

Sous Embranchement: Angiospermes

Classe: Magnoliopsida

Sous classe : Astéride

Ordre: Lamiales (Labiales)

Famille: Lamiacées

Genre: *Salvia*

Les espèces *Salvia* représentent un groupe d'espèces cosmopolites, qui montrent une gamme remarquable de variation (PISTELLI, 2006). Ce genre est distribué dans trois régions principales dans le monde: 530 espèces à l'Amérique centrale et latine, 250 espèces en Asie centrale et en régions méditerranéennes, 30 en Afrique du Sud et 90 espèces en Asie de l'Est (figure 01) (WALKER et *al.*, 2004).

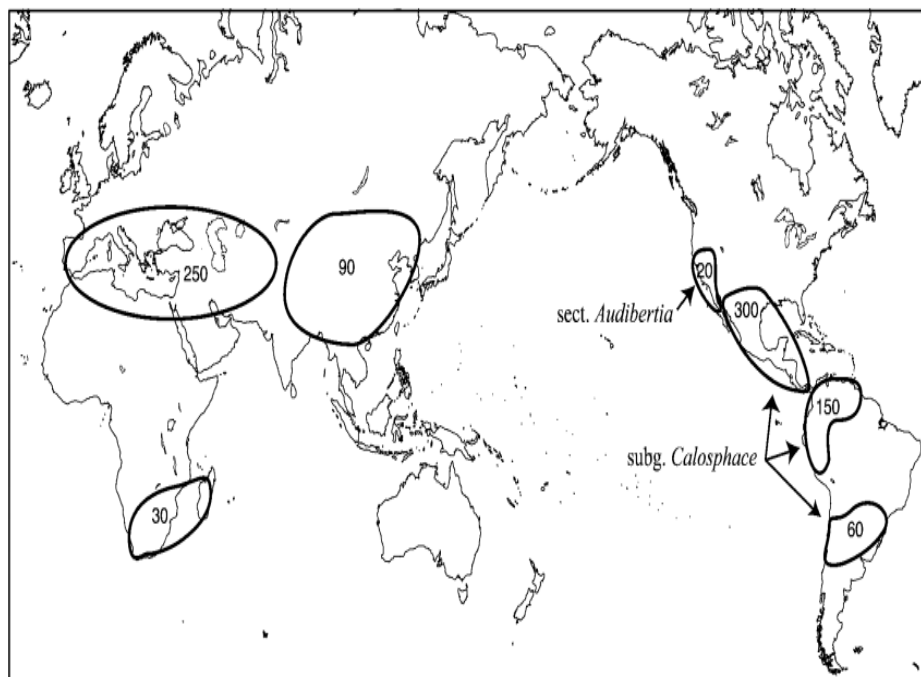


Figure 01 : Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde,

selon WALKER et *al.*, (2004).

1.4.3. Usage et importance des sauges

La majorité des espèces du genre *Salvia* sont utilisées à des fins diverses : aliments, médicaments, parfums et produits cosmétiques (BAGCI et *al.*, 2008 ; KARAMAN et *al.*, 2007). Dès l'antiquité, quelques membres de ce genre ont servi à parfumer et à odoriser les corps et les temples (ARSLAN et *al.*, 2008).

1.4.3.1. Usages pharmaceutiques

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des milléniums. La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux. L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*), montrent une gamme des activités biologiques; antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente (BARICEVIC et BARTOL, 2000).

La sauge est avérée active dans les préparations combinées pour le traitement de la bronchite aiguë et chronique. Les études *in vivo*, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central (NEWALL et *al.*, 1996), et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices (FARAG et *al.*, 1986).

Malgré tous ces bienfaits des espèces de sauges et de ses préparations commerciales, leurs utilisations doivent être contrôlées. L'inhalation ou l'ingestion des huiles essentielles de la sauge officinale sont avérées provoquant des convulsions qui proviennent de l'effet sur le système nerveux central (GRIMAUD-GASPARI, 1979).

1.4.3.2. Usages cosmétologiques

Les espèces *Salvia* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *S. officinalis* et *S. lavandulaefolia* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums (NICOLETTE et *al.*, 2000). La sauge est peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches (BACK, 1987).

1.4.3.3. Usages alimentaires

Au Mexique et à l'Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer ses boissons (NOLL, 1951).

La découverte des antioxydants a augmenté l'usage des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydante élevée (KÜPELI AKKOL et *al.*, 2007) due essentiellement à l'acide Rosmarinique et l'acide carnosique (CUVELIER et *al.*, 1994), afin de protéger les denrées alimentaires contre la détérioration oxydative (MADSEN et BERTELSEN, 1995).

1.5. Importance économique dans la zone méditerranéenne

Le commerce des sauges dans le monde est moins développé comparativement à la lavande et il concerne essentiellement: *Salvia officinalis*, *S. fruticosa*, *S. lavandulaefolia*, *S. verbenaca*, *S. sclarea* et *S. tomentosa*. Les statistiques de l'année 1996 montre que l'Espagne a produit plus de 40 milles tonnes d'HE de *S. lavandulaefolia* avec un rendement qui varie entre 0,8 à 1 % (P/P), alors que le Maroc et la Turquie, considérés comme des pays sources de la matière première, ont exporté 81,4 tonnes de feuilles sèches de *S. officinalis* et *S. verbenaca* et 68,1 tonnes de feuilles sèches de *S. fruticosa* respectivement, ce qui évalué à environ 1,5 million USD dans le cas de la Turquie (HUSNU CAN BASER, 2000).

Chapitre 2: Substances actives des plantes : Huiles essentielles et Composés phénoliques

2.1. Les huiles essentielles

2.1.1. Définition et historique

Selon la norme AFNOR: "les huiles essentielles (HE) sont des produits obtenus à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation à sec et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 1989).

Le terme « huile essentielle » a été conçu empiriquement. Le mot « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances; cependant, le mot «essentielle» se comprenant comme étant le caractère principal de la plante (BERNARD et *al.*, 1988). Certaines huiles pressées à froid sont considérées comme étant des huiles essentielles, malgré leur composition chimique qui est faite principalement de triglycérides et d'acides gras sans composants de parfum d'huiles essentielles, comme l'huile de pépins de raisin et l'huile de noix de coco (BALANDRIN et *al.*, 1985).

Sur le plan historique, les grandes civilisations connues pour avoir utilisé les plantes aromatiques sont : l'Inde, la Chine et le bassin méditerranéen. Ces civilisations ont légué à l'humanité des procédés et des connaissances dans le domaine des huiles essentielles dont la validité est toujours d'actualité. Selon NTEZURUBANZA (2000), l'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des HE, peut se résumer en quatre époques :

- L'époque où les plantes aromatiques étaient utilisées telles quelles ou en infusion ou en décoction ;
- Ensuite celle, dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante ;
- La troisième époque correspond à la recherche de l'extraction de cette substance odorante. Il apparaît le concept "HE" qui aboutit à la création et au développement de la distillation ;

PARTIE I : Synthèse bibliographique

- Enfin, la dernière époque qui est la période moderne dans laquelle la connaissance des composants des HE intervient et explique les effets physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques, voire électroniques des arômes végétaux.
- Ainsi, l'industrie des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, le secteur de l'industrie pharmaceutique connaissant la plus forte croissance annuelle, soit 15 à 20% (SMALL et CATLING, 2000).

2.1.2. Répartition et localisation

C'est souvent chez les végétaux supérieurs qu'on rencontre les HE. Les plantes qui les élaborent sont réparties dans un nombre restreint de familles comme : *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae*, *Rutaceae*, etc.) (DESMARES et *al.*, 2008). On les rencontre dans tous les organes végétaux ; écorce (cannelier) ; rhizomes (gingembre) ; racines (vétiver) ; bois (camphrier) ; feuilles et sommités fleuries (lavande). Elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes avec une composition variée d'un organe à l'autre. La teneur en HE d'un végétal varie selon l'espèce et elle est de l'ordre de 1% à 3% : (géranium: 0,15-0,3%) ; (vétiver: 1-2,5%) ; (ylang-ylang: 1,6-2,0%) ; (rose de Provence: 0,007%). Il existe, cependant, quelques exceptions comme les clous de girofle (15-20%) ou la badiane de Chine (5%) (SMAJDA, 2009).

La production d'HE dans les plantes est, généralement, associée avec la présence des structures spéciales sécrétrices ; des cellules sécrétrices, des poils sécréteurs, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs et des trichomes glandulaires qui existent dans toutes les parties aériennes de la plante (KAROUSOU et *al.*, 2000 ; SMAJDA, 2009).

Chez les lamiales, l'organe sécréteur majeur est le trichome glandulaire (figure 02) (VENKATACHALAM et *al.*, 1984). Deux types de trichomes sont décrits, les trichomes peltates et les trichomes capitates, qui sont distingués l'un de l'autre par la structure et le mode de sécrétion. Le premier est formé d'une base cellulaire épidermique, un col cellulaire et une tête de 4-16 cellules. Dans les trichomes matures, la sécrétion est accumulée au large de l'espace sub-cuticulaire, qui forme au-dessus les cellules sécrétrices. Les trichomes capitates sont très différents en forme (court, long, avec une tête unicellulaire ou pluricellulaire) (MALECI, 2006).

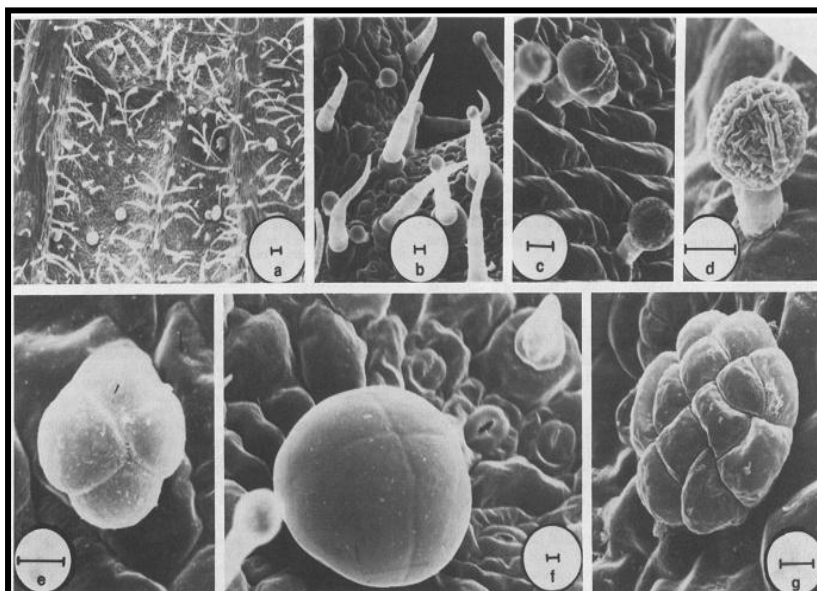


Figure 02: Scanographie des trichomes glandulaires sur la surface des feuilles de sauge (*S. officinalis*) (VENKATACHALAM et al. 1984).

2.1.3. Les techniques d'extraction des HE

Parmi les paramètres qui influencent fortement la composition chimique des huiles, on retrouve la technique d'extraction. En effet, le choix d'une technique d'extraction approprié à une plante donnée reste une étape très importante puisqu'elle peut avoir des répercussions et sur le rendement et sur la qualité de l'huile produite. Il existe plusieurs techniques d'extraction. Les plus importantes peuvent être résumées comme suit :

2.1.3.1. Enfleurage et Macération

Cette technique, la plus ancienne, très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'emploie pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgés de parfum, les corps gras sont filtrés au travers de tissus de lin ou de coton. Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool pur, filtrées et évaporées (BRUNETON, 1993 ; SOUSA et al., 2002 ; ADIO, 2005).

2.1.3.2. Extraction par expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau, puis séparé par décantation (AFNOR, 1986).

2.1.3.3. Extraction par distillation

Selon BENJILALI (2000), Il existe trois méthodes de distillation qui repose sur le principe d'entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau : l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur d'eau ou évapohydrodistillation et la distillation à la vapeur directe.

La différence entre ces trois modes réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal. Dans le premier type, le matériel végétal se trouve en contact direct avec l'eau bouillante. L'évaporation de l'eau dans l'alambic peut être réalisée par chauffage direct ou par injection de vapeur surchauffée. La seconde technique utilise une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, permettant d'éviter le contact du matériel végétal avec l'eau. La distillation à la vapeur directe utilise aussi la grille, sauf que cette fois il n'y a pas d'eau au fond de l'alambic. La vapeur provient d'une chaudière indépendante et traverse la masse végétale de bas en haut (BOARD, 1999).

2.1.3.4. Hydrodiffusion

Cette technique consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'HE obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils, ce qui lui vaut une appellation spéciale: « essence de percolation » (FRANCHOMMEET *al.*, 1990 ; RICHARD, 1992).

2.1.3.5. Extraction par micro-onde

La technique d'extraction par micro-onde a été développée au cours des dernières décennies pour des fins analytiques. Le procédé d'extraction est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal et qui sont mesurées par

une constante diélectrique. Cette absorption dépend aussi de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal (BENAYAD, 2008).

2.1.3.6. Extraction par solvant organique

Cette technique est basée sur la solubilité des essences aromatiques dans les solvants organiques. Les solvants les plus utilisés actuellement sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone. L'emploi de cette méthode est limité par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (LAGUNEZ RIVERA, 2006).

2.1.3.7. Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le dioxyde de carbone vu son inertie et inflammabilité. Dans ce système le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente (MOURA *et al.*, 2005).

Cette technique présente énormément d'avantages. Tout d'abord, le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux. De plus, il s'élimine facilement de l'extrait sans laisser de résidus. Outre ces avantages, le principal point fort est la qualité irréprochable de l'extrait puisqu'aucun réarrangement ne s'opère lors du processus. Son unique point faible est le coût très élevé de son installation (PELLERIN, 1991). En jouant sur les conditions de température et de pression, il est possible de rendre l'extraction plus sélective aux composés odorants et ainsi obtenir des extraits de composition tout à fait semblable aux huiles essentielles, non chargé en molécules non volatils. Ainsi, la température et la pression à ne pas dépasser pour extraire uniquement les principes volatils est 60 °C et 60 bars (RICHARD, 1992). Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité et qui respecterait intégralement l'essence originelle de la plante (WENQIANG *et al.*, 2007).

2.1.4. La composition chimique des HE

Les HE sont des mélanges complexes et très variables des composants qui appartiennent à deux groupes : les composés terpénoïdes et les composés aromatiques, dont les monoterpènes qui sont formés de deux molécules d'isoprènes constituent les principales composés terpénoïdes, avec présence des diterpènes et des sesquiterpènes (SEIGLER, 1998). Les composés aromatiques sont des dérivés contenant le noyau benzénique. Ces deux groupes sont accumulés dans tous les types d'organes végétaux : fleurs, feuilles, écorces, bois, racine, rhizomes, fruits et graines (BRUNETON, 1999). Il est observé que les HE lorsqu'ils sont produites dans différents organes de la même plante présentent des profils de composition chimique différentes (BALANDRIN *et al.*, 1985).

Les HE sont principalement composées des monoterpènes et sesquiterpènes avec la formule générale $(C_5H_8)_n$ (BAUER *et al.*, 2001). Les composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures comprennent les alcools, les aldéhydes, les esters, les éthers, les cétones, les phénols et les oxydes. Ces composants sont regroupés en composés majeurs et mineurs selon leurs pourcentages dans l'HE (OKOH, 2010). Les composés majeurs peuvent constituer jusqu'à 85 % de l'HE, alors que d'autres composés sont présents uniquement sous forme de trace (SENATORE, 1996).

2.1.5. Les facteurs influençant la composition des HE

La composition des HE d'une espèce donnée dépend de plusieurs facteurs d'origine intrinsèques (spécifiques de l'équipement génétique de la plante) et extrinsèques (liées aux conditions environnementales de la plante). Ces facteurs peuvent influencer à la fois et la quantité et la qualité des huiles produites. Le temps de récolte, l'humidité relative, la photopériode, la méthode d'extraction, la position de l'organe sur la plante (son emplacement), les techniques culture des plantes aromatiques si elles sont cultivées, la structure du sol et le climat font partie de ces facteurs (PANIZZI *et al.*, 1993).

2.1.5.1. Les facteurs Intrinsèques

a. Facteur génotypique

Les variations de la composition des HE provenant d'un même phénotype se développant dans le même environnement sont l'expression de différences génotypiques. Elles peuvent être attribuées à des hybridations, à un polymorphisme génétique ou à des mutations (polyploïdies, aberration chromosomique).

- Les hybridations introduisent une hétérogénéité dans un peuplement végétal et sont à l'origine de modifications dans la composition chimique des essences ;
- En cas de polymorphisme génétique, la composition de l'HE varie au sein du même genre (BERNARD *et al.*, 1988) ;
- La composition des HE change selon les races chimiques ou chémotypes ou parfois des formes physiologiques quand il s'agit de la même espèce (GARNERO, 1985) et HEINRICH *et al.*, 1983).
- Les facteurs de mutation, qui conduisent à des cas de polyploïdies, favorisent une augmentation du rendement avec une fluctuation de la composition chimique (GARNERO, 1985).

b. Facteur structural

Le potentiel et la composition de l'essence dépendent de l'organe. Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles peuvent produire des HE différentes (PINGOT, 1998). Ils dépendent également de la nature des glandes sécrétrices. Selon HEINRICH *et al.* (1983), les poches situées dans l'exocarpe ou dans l'endocarpe des fruits de *Poucirus trifoliota* génèrent des essences qui diffèrent en monoterpènes et sesquiterpènes.

La position de l'organe végétal (sur la plante mère) qui sert à l'extraction des huiles influence à son tour la composition chimique. Selon ALFATUNI (2005), pour obtenir une composition parfaite d'HE à partir des feuilles, il est conseillé de les récolter de la partie basale de la plante, puisqu'elles contiennent plus de menthol et donnent une huile renfermant la majorité des composés d'autres organes.

c. Facteur évolutif

La biosynthèse des principes odorants évolue lors de la maturation de la plante. Elle est prédominante pendant les périodes de forte croissance ou pendant celles correspondantes à des activités métaboliques intenses telles que la floraison et la fructification (BERNARD et *al.*, 1988). Une récolte précoce ou tardive entraîne un faible rendement en HE. Pour certains auteurs, ils recommandent de récolter la plante après l'achèvement de la floraison pour obtenir un rendement élevé en HE (PANIZZI et *al.*, 1993).

Toujours, dans ce même registre, DELAQUIS (2002) signale que les huiles produites durant ou immédiatement après la période de floraison possèdent la plus forte activité antimicrobienne.

2.1.5.2. Les facteurs extrinsèques

Les facteurs extrinsèques peuvent être de nature diverse comme :

a. L'origine géographique, l'écologie et le climat

Les rendements des HE ainsi que leur composition diffèrent suivant l'origine géographique de la plante (EL ABED et KAMBOUCHE, 2003). Les caractéristiques écologiques exercent une influence directe sur la production et la quantité de l'essence (DUPONT, 2000). La durée d'exposition au soleil, la température nocturne et diurne, l'humidité, le régime du vent, la pluviométrie, ...etc, sont des paramètres responsables des modifications de la proportion de l'essence et de la composition chimique (CLARCK et MENARY, 1980).

b. Nature des sols et techniques culturales

La nature du sol (calcaire, siliceux, ...), les aspects cultureux comme la densité de culture, l'apport d'engrais, le nombre de récolte par an et l'alimentation en eau affecte d'une manière déterminante la qualité des HE et leur rendement (EL ABED et KAMBOUCHE, 2003).

c. Des facteurs d'origine technologique

Le mode d'extraction d'une HE marque de son empreinte la composition chimique de celle-ci. En effet, l'hydrodistillation et la distillation par solvant volatil ne conduisent pas à la même quantité et qualité d'essence. La durée et la vitesse de distillation, ainsi que la masse du végétal à traiter ont une grande influence (CLARK et MENARY, 1984). Selon BRUNETON (1999), un changement très léger dans la durée de distillation peut entraîner des manques de 18 à 20% dans les constituants chimiques des huiles. Lors de l'hydrodistillation d'une plante aromatique, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire des réactions chimiques d'altération (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement et autres ...) sur les composés terpéniques thermosensible de l'essence (MORIN et *al.*, 1985).

Les molécules aromatiques d'une huile essentielle sont fragiles et facilement détruites ou altérées par des températures élevées et donc, le processus de distillation doit utiliser des méthodes de basses températures (DURIYAPRAPAN et *al.*, 1986). Les températures élevées semblent affecter le pH, l'équilibre des charges électropositives et électronégatives des HE produites. Même le rendement en huile peut être affecté en cas où la distillation est réalisée à température élevée (OKOH, 2010).

2.1.6. Les propriétés des HE

2.1.6.1. Propriétés antibactériennes

La résistance contre les agents antimicrobiens est devenue de plus en plus un problème majeur et urgent dans le monde (TIM CUSHNIE et *al.*, 2005), ce qui a orienté les recherches des agences et des autorités de la santé vers les ressources phytogénétiques pour trouver une solution à ce problème (SUDANO ROCCARO, 2004).

Selon GHASEMI PIRBALOUTI et *al.* (2010) l'utilisation des HE comme agents antibactériens semble être une solution alternative intéressante pour contrôler la présence des bactéries pathogènes dans les aliments, dont beaucoup de ces huiles ont des activités antibactériennes remarquables contre un large spectre.

PARTIE I : Synthèse bibliographique

Les HE qui ont des activités antibactériennes déstabilisent la bicouche phospholipidique de la membrane bactérienne, bien qu'elles interviennent dans les systèmes enzymatiques et matériel génétique des bactéries (KIM et *al.*, 1995). En outre, un certain nombre de constituants des huiles essentielles présentent des propriétés antibactériennes significatives lorsqu'ils sont testés séparément en intervenant par différents mécanismes (ULTEE et *al.*, 1998).

Il est évident que les propriétés antibactériennes des huiles essentielles sont plus fortement expliquées par l'effet additif de leurs principaux composés antimicrobiens en raison de leurs constituants mineurs qui apparaissent, à jouer un rôle significatif en synergie (LATTAOUI et *al.*, 1994).

Certains constituants d'HE tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol (composé phénolique) ont été prouvés antibactériens. Les composés Aldéhydes des huiles essentielles sont quelque peu antibactériens; les constituants aldéhydes : néral, géraniol, citronnellal et cuminal sont les plus largement utilisés. L'action antibactérienne des éthers est certaine, mais irrégulière; les terpènes ont été prouvés intéressants, mais sont surtout diffusés dans l'air (KIM et *al.*, 1995).

2.1.6.2. Propriétés antivirales

Les huiles essentielles des différentes familles botaniques présentent des actions antivirales, mais le degré d'efficacité varie selon la souche et la structure virale. C'est en raison de structures moléculaires particulières trouvés dans chaque type viral, que les huiles essentielles pénètrent dans les entités à des degrés divers (DAVIDSON et *al.*, 2005).

Les recherches ont découvert qu'un certain nombre d'huiles essentielles ont une activité antivirale contre certaines souches virales de la grippe, les adénovirus, les souches de la fièvre glandulaire, de l'entérite virale, de l'entérocolite virale et le VIH-1 (SCHNITZLER et *al.*, 2001). Des chercheurs ont montré que certains composés spécifiques des huiles essentielles, testés séparément, possèdent une activité antivirale remarquable. Il s'agit de l'acétate d'anéthole, carvone, bêta-caryophyllène, citral, eugénol, limonène, linalol et linalyle (BELAICHE, 1979).

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques et certaines infections virales graves peuvent montrer une grande amélioration par la phytothérapie (HAYASHI et *al.*,

1994). La synergie entre les composés d'huile tels que cinéole-monoterpénol a été utilisée pour traiter des infections virales des voies respiratoires; cétones et composés cryptones des huiles essentielles ont montré une capacité de lutte contre les virus nus (BHASKARA-REDDY *et al.*, 1998).

Plusieurs méthodes d'action antivirales ont été proposées pour les huiles essentielles bien que pour leurs composés. Certaines huiles interfèrent avec la glycoprotéine de surface dans l'enveloppe virale, empêchant ainsi l'attachement du virus avec la cellule hôte. On croit que les autres huiles attaquent le virus dans la cellule hôte, possiblement au niveau de la membrane cellulaire (BELAICHE, 1979).

2.1.6.3. Propriétés antifongiques

Les infections fongiques ont augmenté durant ces dernières années en raison du nombre croissant de patients à haut risque, particulièrement les hôtes immunodéprimés (personne avec système immunitaire déficient). L'augmentation de la résistance fongique vis-à-vis les médicaments classiques, les frais de traitement et le fait que les antifongiques les plus disponibles n'ont que l'activité fongistatique, justifient la recherche de nouvelles stratégies (RAPP, 2004). Les huiles essentielles de nombreuses plantes sont reconnues qu'elles possèdent une activité antifongique (KALEMBA *et al.*, 2003), cependant, seulement des informations limitées existent sur l'activité vers les champignons pathogènes humains (OKOH, 2010).

2.1.6.4. Propriétés insecticides

La conservation des denrées entreposées est généralement assurée par des insecticides synthétiques qui peuvent être le moyen le plus efficace et le moins coûteux pour contrôler les insectes. Cependant l'utilisation abusive des insecticides chimiques a des effets nocifs (GUARRERA, 1999), ce qui oriente les travaux actuels vers la recherche des substances extraites des végétaux qui présentent une activité insecticide, répulsive ou anti-appétant à l'égard des insectes (BARKIRE, 1996).

En effet les plantes constituent une source de substances naturelles qui présente un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (BOUZOUITA *et al.*, 2008).

2.1.6.5. Propriétés antioxydantes

a. L'origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (BOYD et *al.*, 2003). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire (MOREL et BAROUKI, 1999).

La peroxydation lipidique est un processus complexe de stress oxydatif, qui se produit dans les cellules, en aérobiose et reflète l'interaction entre l'oxygène moléculaire et des acides gras polyinsaturés (JANERO, 1990). L'asthme, l'inflammation, l'arthrite, la neurodégénérescence, la maladie de Parkinson, le mongolisme et la démence sont des résultats de l'effet de formation de radicaux libres (PERRY et *al.*, 2000).

b. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (VANSANT, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène (FAVIER, 2003). L'appellation n'est pas restrictive, elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygènes réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le peroxy-nitrite (ONOO⁻) (NOVELLI, 1997).

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques (inflammation, cycle de redox,...etc.) afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophage, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose (FAVIER, 2003).

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux (HADI, 2004) l'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme (HOSEIN et LYTLE, 2001).

c. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (BOYD et *al.*, 2003). Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (VANSANT, 2004).

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention. Ils bloquent l'initiation, en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation ou en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (BERSET et CERVELIER, 1996).

Au cours de ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour la recherche d'antioxydants naturels. Les propriétés antioxydantes de nombreuses herbes et épices ont été signalées pour être efficace à cet égard, notamment les espèces appartenant à la famille des *Lamiaceae* qui possèdent une activité antioxydante appréciable (GUTTERIDGE et *al.*, 1994).

2.1.7. Toxicité des HE

Les HE utilisées depuis des siècles présentent souvent des propriétés biologiques intéressantes. Cependant, certaines d'entre-elles peuvent révéler une toxicité qui peut être redoutable en raison de leur passage par voie transdermique et de leur impact sur certaines cibles de l'organisme. Elles peuvent par mésusage être utilisées non diluées et s'avérer toxiques en particulier chez l'enfant (DESMARES et *al.*, 2008).

2.1.8. Applications des HE

Les HE des plantes sont largement utilisées en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (AMARTI, 2010 ; SCHELZ et *al.*, 2010).

2.1.8.1. Applications en cosmétologie

L'utilisation des HE dans la production des produits cosmétiques peut avoir plusieurs fins, comme un arôme agréable, assurant la protection contre les microorganismes et dans certains cas, améliorent les propriétés dermato-cosmétiques et la préservation des produits cosmétiques (MANOU *et al.*, 1998). Les problèmes de cheveux comme les pellicules et la dermatite séborrhéique causée par *Malassezia furfur* pouvait être corrigée à l'aide d'huile de théier grâce à la présence de terpinen-4-ol qui s'est avéré efficace. L'ajout d'HE comme agents colorant ou odorant dans le produit cosmétique final est souvent déconseillée et considérée comme une perte potentielle en raison de leur volatilité et leur caractère lipophile (MCLAUGHLIN *et al.*, 1999).

2.1.8.2. Applications en santé et soins

Des HE ont été utilisées depuis des siècles dans la guérison, la modification des humeurs et l'amélioration de la conscience (WAGNER *et al.*, 1998). Elle affecte l'état émotionnel, mental, spirituel et physique d'un être humain. Quelques études montrent que les composés aromatiques peuvent exercer des effets sur le cerveau, en particulier sur l'hypothalamus et le système limbique (le siège des émotions). Certaines HE peuvent considérablement augmenter l'oxygénation et l'activité du cerveau, et inhiber la croissance bactérienne (OKOH, 2010).

L'usage des HE en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un réservoir irremplaçable des principes actifs (OURAÏNI *et al.*, 2005). L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies. En effet, les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (SCHWARTZ *et al.*, 1992). De même, des études très récentes ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon (CARNESECCHI *et al.*, 2001), en plus de l'activité anti-inflammatoire, récemment mise en évidence par SIANI *et al.* (1999).

2.1.8.3. Applications en industrie alimentaire

Dans ces dernières années, une attention croissante est tirée vers l'exploration des ressources naturelles à cause de la demande élevée des aliments sans additifs chimiques synthétiques, les HE par leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes sont considérées le leader pour répondre à cette tendance (WANG et *al.*, 2010).

Les HE peuvent servir d'additifs alimentaires ou d'agents de conservation qui soutiennent la production, la transformation et maintiennent les propriétés organoleptiques désirées. Elles peuvent assurer plusieurs fonctions dans l'industrie alimentaire tel que l'amélioration de la valeur nutritive des aliments; le maintien de la salubrité des aliments et l'appétibilité; le contrôle d'acidité/alcalinité; l'amélioration de la saveur et la couleur (FOULK et *al.*, 2002).

Comme agent de conservation, les huiles essentielles peuvent servir d'agents antimicrobiens ou d'antioxydants, comme agents antimicrobiens, elles empêchent la croissance des moisissures, levures et bactéries, comme agents antioxydants, elles empêchent les aliments de rancissement, brunissement et développement de black spots, par la suppression de la réaction qui se produit lorsque les aliments se combinent avec l'oxygène en présence de lumière, la chaleur et certains métaux afin de minimiser les dommages à certains acides aminés essentiels et la perte de certaines vitamines (OKOH, 2010).

2.2. Les composés phénoliques

2.2.1. Définition

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (BOIZOT *et al.*, 2006).

2.2.2. Diversité

Les polyphénols naturels peuvent varier de molécules simples telles que l'acide phénolique à gros composés hautement polymérisés comme les tanins (figure 03). Les formes conjuguées de polyphénols sont les plus courantes, où divers sucres, acides organiques et lipides (graisses) sont liées à la structure phénolique (BOUCHET *et al.*, 1998).

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette, ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, ...etc.) (MACHEIX *et al.*, 2005).

2.2.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques, omniprésents dans la nature. Plusieurs structures sont regroupées autour de la structure chimique des flavonoïdes (figure 03), flavone, flavanone, isoflavones, anthocyanidiques, catéchine 61 et chalcone. Plus de 4 000 flavonoïdes ont été identifiés, dont beaucoup sont largement distribués dans les aliments végétaux et comprennent: les lignines ; les proanthocyanines; les anthocyanes / anthocyanidines; les isoflavones; la Génistéine; les catéchines; les tanins; et la quercétine (NAKATAMI *et al.*, 2000).

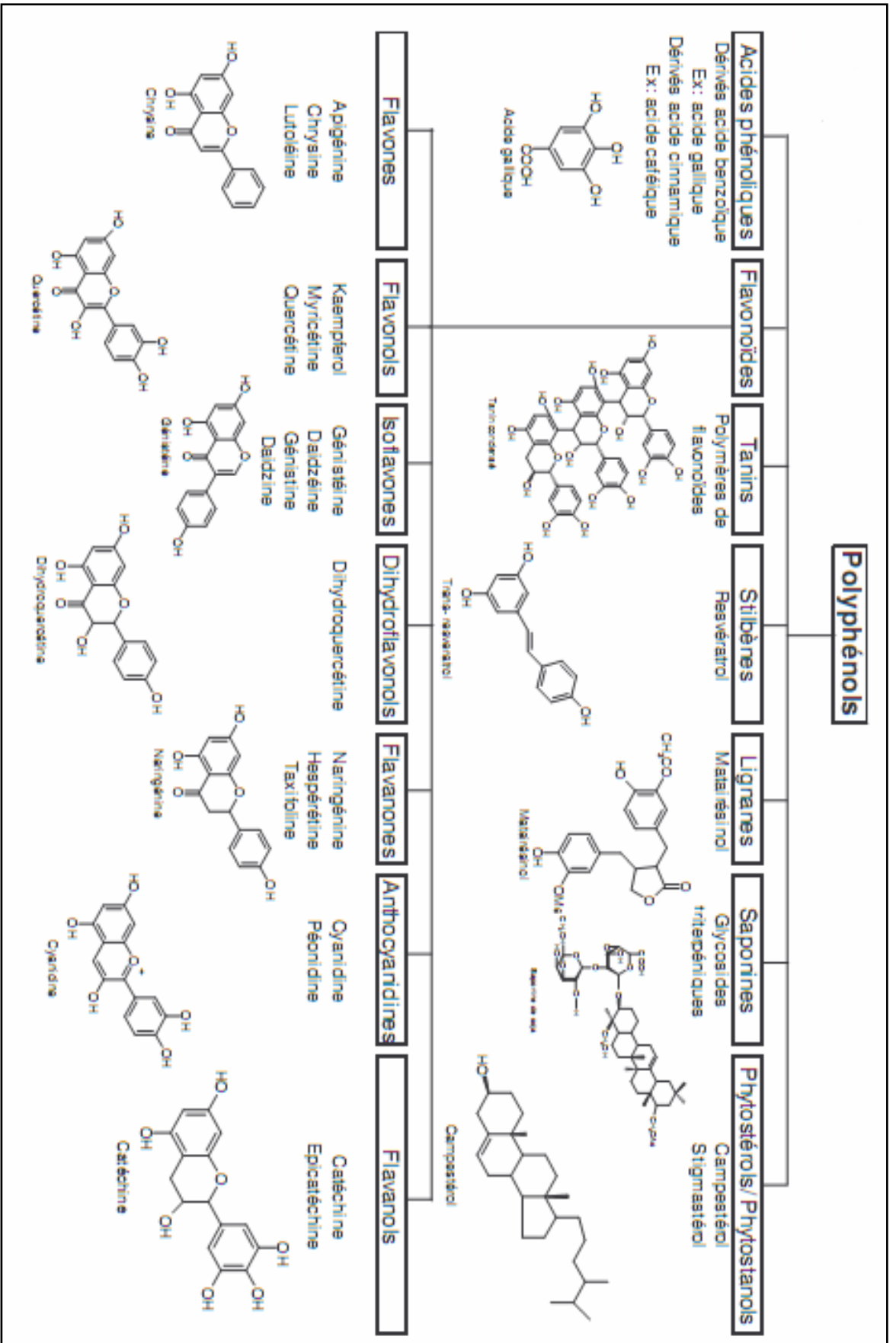


Figure : Les différentes classes des polyphénols (Gervaise, 2004)

2.2.4. Effets des composés phénoliques

Il est actuellement admis que les polyphénols aident dans la prévention du cancer, la protection contre les maladies cardiaques et l'hypertension (BOUCHET et *al.*, 1998). L'ingestion de ces polyphénols par l'intermédiaire des fruits et des légumes pourrait permettre à notre organisme de renforcer ses moyens de défense, grâce à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, et anticancéreuses (KHAN, 2010).

2.2.5.1. Effet antioxydant

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps. Cette activité permet aux polyphénols de réguler les radicaux libres comme l'oxyde nitrique qui permet une bonne circulation sanguine, coordonne l'activité du système immunitaire avec celle du cerveau et module la communication entre les cellules cérébrales (MASQUELIER, 2006).

2.2.5.2. Effet anticancéreux

Les polyphénols possèdent un pouvoir anticancéreux prouvé, dont ils agissent comme agents bloquants (protection des acides nucléiques), ce qui minimisent les mutations au niveau d'ADN et comme agents supprimeurs de tumeurs par l'inhibition de la prolifération cellulaire (KHAN, 2010).

2.2.5.3. Effet anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire des polyphénols a été mis en évidence chez le lapin par la prévention des lésions dues à une application externe d'huile de croton (HELME et *al.*, 1999), et chez les rats par test des flavonoïdes sur une réaction inflammatoire induite par une substance appelé carrageenan (EMIM et *al.*, 1994). Les hypothèses formulées concernent la stabilisation de la membrane des mastocytes évitant la libération d'histamine et d'autres médiateurs de l'inflammation, et l'inhibition de l'activité de la phospholipase (HELME et *al.*, 1999).

MATÉRIEL
&
MÉTHODES

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

1.1. Matériel végétal

1.1.1. Présentation des espèces étudiées

1.1.1.1. *Salvia algeriensis*

Salvia algeriensis est une sauge annuelle, native des régions du nord-ouest Algérien et nord-est Marocain. Elle pousse à l'état spontané jusqu'à une altitude supérieure à 600 m. Les tiges de *S. algeriensis* sont droites, tétragones, velues. Dans son habitat naturel, l'espèce pousse jusqu'à atteindre des tailles d'environ 1 m de hauteur. Ses feuilles, en forme ovale, peuvent avoir près de 8 cm de longueur. La floraison commence durant le mois de mars. Chaque plante produit de 3 à 4 inflorescences. Ses fleurs violettes zygomorphes à deux lèvres sont disposées en verticilles au sommet des rameaux (figure 04) (SANTA et QUEZL, 1963). Elles sont munies d'un calice velu à cinq dents, et d'un style plus long que la corolle. Elle donne par distillation une huile essentielle camphrée, dans laquelle résident leurs principales vertus (ROQUES, 1809). Les fleurs dégagent de légères odeurs similaires à celle du thym (CLEBSCH et *al.*, 2010; SURHONE et *al.*, 2010).

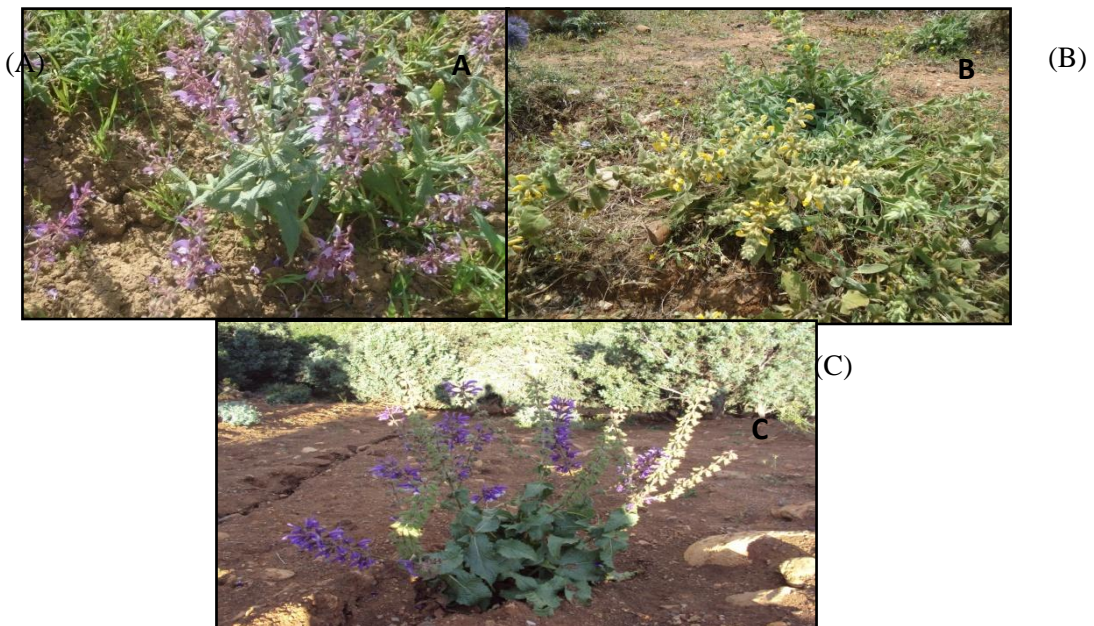


Figure 04: Aspect général des trois espèces de sauge étudiées : *Salvia algeriensis*(A) ; *Salvia argentea* (B) et *Salvia barrelieri*(C).

1.1.1.2. *Salvia argentea*

Salvia argentea, est une plante bisannuelle. Elle est réponde en Afrique du nord et en Europe méridionale. Au cours de son développement, elle commence par former une rosette basale de feuilles veloutées qui s'étale jusqu'à atteindre 1 mètre de diamètre, en fin d'hiver. En début d'été, lorsqu'elle atteint environ 1m de hauteur, elle fleurit en développant une panicule de petites fleurs blanches ou jaunes (BURNIE et *al.*, 2006). L'espèce se caractérise non seulement par ses fleurs de coloration jaunâtres mais aussi par ses inflorescences terminées par les bractées et par leurs grandes feuilles velues crénelées-dentées, étalées en rosette (figure 04) (BENISTON et *al.*, 1984).

1.1.1.3. *Salvia barrelieri*

Salvia barrelieri est une plante herbacée, annuelle avec fleurs bicolores contenant le bleu violacé approché du mauve et le blanc. Elle pousse à l'état sauvage dans les régions nord-africaines entre 150 et 1200 m d'altitude. Elle s'adapte aux différents habitats qui incluent les bords de champs, les broussailles, les forêts de chênes et les pentes herbeuses. L'espèce *Salvia barrelieri* peut atteindre 1 à 2 mètres de hauteur. Ses feuilles sont grandes, ondulées, grises-vertes et recouvrent entièrement la partie inférieure de la plante formant un monticule qui atteint 45 cm de hauteur au début d'été (figure 04). Habituellement, sa floraison commence au début de juin et peut s'étaler jusqu'à un mois après (CLEBSCH, 2008).

1.1.2. Récolte et préparation des échantillons

Les plantes ayant fait l'objet de cette étude appartiennent à trois espèces de sauges : *Salvia algeriensis*, *S. argentea* et *S. barrelieri*. Les échantillons de feuilles et de fleurs qui seront soumis à l'extraction des huiles essentielles ont été récoltés à des dates et dans des localités différentes, selon l'espèce étudiée (Tableau I). Une fois récoltées, dans des sacs en plastiques, les feuilles et les fleurs fraîches sont soumises à un séchage à l'ombre dans un endroit sec et aéré du laboratoire pendant 5 à 7 jours. Devenues sèches, les parties utilisées seront soumises à l'extraction.

Une partie de la matière végétale (de chaque échantillon) est récupérée pour préparer des extraits destinés au dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux.

PARTIE II : Matériel et Méthodes

Tableau I : Dates et lieux de récolte des échantillons de feuilles et de fleurs selon l'espèce de sauge étudiée.

Espèce étudiée	Date de récolte	Lieu de récolte
<i>Salvia algeriensis</i>	Mars 2012	OuledFarès (Chlef)
<i>Salvia barrelieri</i>	Mai 2012	Thaniet El-had (Tissemsilt)
<i>Salvia argentea</i>	Juin 2012	Sidi -Ameur (Chlef)

1.1.3. Matériel biologique

Les expériences réalisées lors de cette étude en vue de mettre en évidence l'effet antibactérien ont été conduites sur plusieurs espèces de bactéries pathogènes. En tout, la collection comprend dix (10) souches de bactéries pathogènes. L'origine de provenance des souches est diverse. Six souches (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Citrobacter ssp* proviennent du laboratoire d'analyses médicales Al-Ihssan (Chlef), trois autres (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) de l'Institut Pasteur d'Alger et une souche (*Helicobacter pylori*) du laboratoire de microbiologie de la faculté de biologie d'université de Chlef.

1.2. Méthodes

1.2.1. Extraction des HE par entraînement à la vapeur d'eau

Ce procédé consiste à récupérer les HE des sauges étudiées, à partir de feuilles et fleurs, en faisant passer un courant de vapeur d'eau, à travers l'échantillon du végétal. Ces vapeurs saturées en composées organiques volatiles sont condensées et récupérées sous forme de distillat aromatisé.

1.2.1.1. Description de l'appareil de distillation

L'appareil utilisé se compose de trois parties : la chaudière, le distillateur et le condenseur qui sont reliées entre elles par de minces tubes en cuivre.

a. La chaudière et le distillateur

Il s'agit d'un autoclave qui a été adapté pour effectuer l'extraction des HE par entraînement à la vapeur d'eau (figure 05). C'est un récipient de forme cylindrique de hauteur égale à 80 cm et de diamètre égale à 30 cm fabriqué en acier (INOX) à double enveloppe et sont séparés entre eux par une plaque perforée. Le niveau d'eau dans la chaudière est contrôlé par un tube en verre fixé le long de la paroi latérale du bac. La vapeur produite à l'aide d'un chauffage électrique s'échappe par un trou situé au centre de la plaque supérieure qui sépare la chaudière du distillateur. Ce dernier se termine à sa partie supérieure par un couvercle, sur lequel est fixé un manomètre pour contrôler la pression qui règne à l'intérieur de l'enceinte et une vanne commandant la sortie de la vapeur d'eau saturée d'HE.

b. Le condenseur

Le condenseur est un bac métallique (inox) de forme circulaire de 40 cm de diamètre et 60 cm de hauteur (figure 05). Il est alimenté en eau courante froide. A l'intérieur du bac baigne un serpentín en cuivre qui accueille le mélange vapeur d'eau et HE provenant du distillateur. La vapeur, ainsi refroidie, se condense en gouttelettes et arrive dans un flacon de récupération.

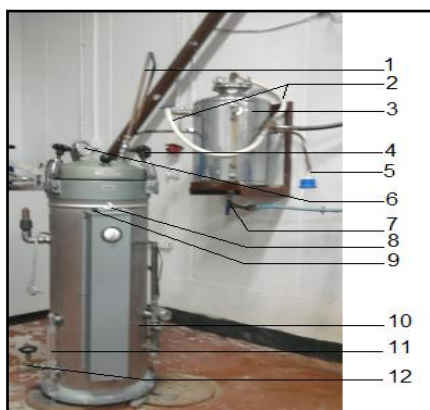


Figure 05 : Schéma descriptif de l'installation semi-pilote d'entraînement à la vapeur d'eau. 1) Le serpentin; 2) Tuyau de sortie d'eau ; 3) Condenseur; 4) Vanne de sortie; 5) Tuyau de récupération de distillat; 6) indicateur de pression; 7) Vanne d'entrée d'eau; 8) Interrupteur; 9) Lampe témoin; 10) La chaudière et le distillateur; 11) Indicateur de niveau d'eau dans la chaudière; 12) Vanne de décharge de chaudière.

1.2.2. Méthode d'extraction des HE

1.2.2.1. Extraction des HE par entraînement à la vapeur d'eau

L'extraction des huiles essentielles à partir de fleurs et de feuilles, s'est faite par entraînement à la vapeur d'eau, dans une installation semi-pilote décrite précédemment (Figure 05). L'extraction dure deux heures, à la température de 100°C et une pression de 1,2 bar. La vapeur d'eau enrichie de constituants volatils est condensée et récupérées dans des flacons opaques de 1 litre chacun.

a. Décantation

Elle est réalisée dans une ampoule à décanter dans laquelle le distillat se sépare en deux phases non miscibles : une phase aqueuse et une phase organique (comprenant l'HE et le solvant organique). La séparation s'est effectuée en suivant les étapes suivantes :

- Verser dans une ampoule à décanter 20 ml d'hexane pour chaque 100 ml de distillat ;
- Reboucher l'ampoule à décanté, la sortir de son support et agiter en dégazant de temps en temps. L'opération est appelée « dégazage » ;
- Replacer l'ampoule sur son support, la déboucher puis laisser décanter 2 à 3 minutes. Cette étape est qualifiée de décantation ;
- Les deux phases organiques liquides non miscibles se séparent progressivement, jusqu'à ce que deux phases distinctes soient observées ;

PARTIE II : Matériel et Méthodes

- Ouvrir le robinet de l'ampoule pour éliminer la phase aqueuse et récupérer la phase organique (figure 06A).

b. Elimination du solvant organique

Le solvant de la phase organique est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le principe de cet appareil est basé sur l'abaissement du point d'ébullition sous pression réduite (figure 06B). L'élimination du solvant se fait selon les étapes suivantes :

- Placer la solution contenant le solvant à évaporer dans le ballon et le placer sur l'évaporateur rotatif à l'aide d'un raccord.
- Placer le ballon de récupération du solvant à l'aide d'un deuxième raccord.
- Faire plonger le ballon dans le bain marie réglé probablement à la température d'évaporation du solvant.
- Mettre le ballon en rotation.
- Mettre en marche la circulation d'eau froide dans le réfrigérant.
- Après disparition complète du solvant du ballon, récupérer les HE, les pesées puis les mettre dans des flacons en verre et les conservées à froid à l'abri de la lumière.

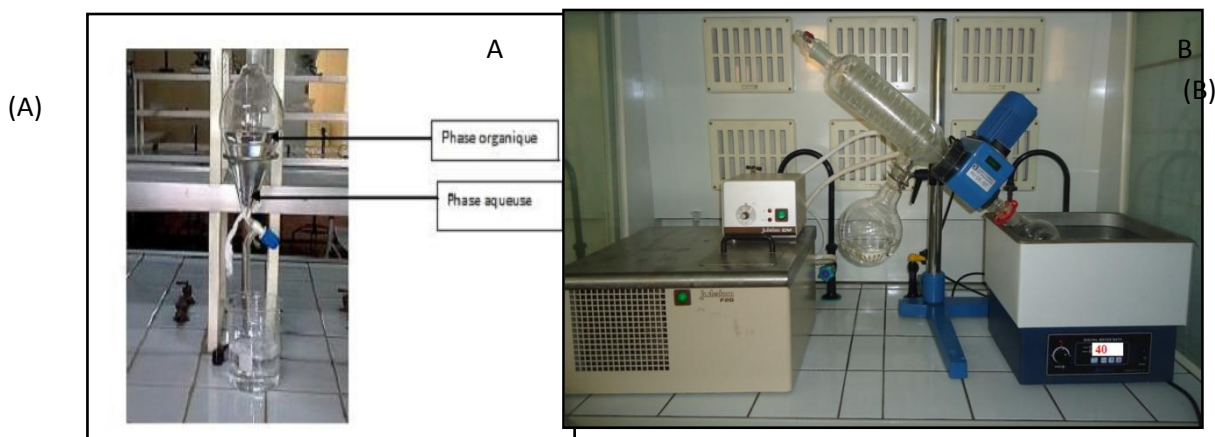


Figure 06: Ampoule à décanter (A) et Evaporateur rotatif (Rotavapor) (B).

PARTIE II : Matériel et Méthodes

1.2.2. Calcul du rendement

Le rendement en HE (R_{HE} en %) d'une plante est le rapport entre le poids de l'huile extraite (M_{HE}) et le poids de la matière végétale sèche (M_S). Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule :

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE} / M_S) \times 100$$

1.2.3. Analyse des propriétés organoleptiques et physiques

La détermination des propriétés physiques de nos HE comme: la densité, l'indice de réfraction a été réalisée conformément aux normes A.F.N.O.R (1989).

1.2.3.1. L'odeur

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habilité des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parvient à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'à dix millièmes de grammes par litre d'air. L'appréciation de l'odeur de nos huiles a été faite par moi-même et par l'enseignant encadreur.

1.2.3.2. La couleur

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Dans notre cas, elle a été appréciée et décrite visuellement.

1.2.3.3. Aspect physique

De même, l'aspect d'une essence végétale change selon les produits qui la constituent. Elle peut apparaître sous différentes formes : solide, liquide ou solide - liquide.

1.2.3.4. La densité

On pèse chaque huile à l'aide d'un pycnomètre taré, puis on calcule la densité, en appliquant la formule suivante:

$$D = m_2 - m_0 / m_1 - m_0$$

m_0 : est la masse (g) du pycnomètre vide ; m_1 : est la masse (g) du pycnomètre rempli d'eau distillée ; m_2 : est la masse (g) du pycnomètre rempli d'HE.

1.2.3.5. L'indice de réfraction

L'appareil ayant servi à mesurer l'indice de réfraction des liquides est le Réfractomètre ABBE qui a un usage assez recommandé. Pour calculer l'indice de réfraction η^t_D , on applique la relation suivante :

$$\eta^{20}_D = \eta^t_D + (t - 20) * 0.0004$$

t : Température de laboratoire ; D : La raie de sodium ; **0,0004** : d'indice de réfraction quand la température varie de 1° C.

1.2.4. Analyse des propriétés chimiques

1.2.4.1. Analyse quantitative au GPC (chromatographie en phase gazeuse)

L'analyse quantitative des constituants chimiques des HE a été réalisée par un appareil de chromatographie en phase gazeuse GPC. L'appareil de CPG est un Hewlett Packard Agilent6890N piloté par Chemstation (NIST98). Les conditions opératoires sont :

- Injection de 0,5 μ l en mode split1/50
- Température de l'injecteur : 250°C
- Colonne capillaire HP5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m)
- Programmation de température : 50°C Pendant 5 min; 4 °C/min jusqu'à 250°C pendant 10 min.
- Débit du gaz vecteur : Hélium (1ml/min).

1.2.4.2. Analyse qualitative au GC/MS (chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse)

L'analyse qualitative des constituants chimiques des HE a été réalisée à l'aide d'un appareil de chromatographie phase gaz (Agilent 6890) couplée à un spectromètre de masse (Agilent 5973) (GC-MS). Les conditions opératoires sont:

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

L'identification des constituants est basé sur la comparaison des temps de retentions avec ceux des échantillons authentiques et sur les spectres de masse de la base de données de l'appareil. En plus de la comparaison des indices de retentions des composés obtenus avec les indices de retentions théoriques de la même colonne HP5MS.

En basant sur la série d'alcane relatifs analysée en parallèle aux mêmes conditions chromatographiques que les HE, l'indice de rétention est calculé selon la formule suivante donnée par VAN DEN DOOL et KRATZ (1963) *in* SOUICI *et al.* (2007).

$$IRx = 100 n + 100 \left(\frac{TR(x) - TR(n - 1)}{TR(n + 1) - TR(n - 1)} \right)$$

Où:

IR_x : indice de rétention du composé

n: nombre de carbone de l'alcane classé avant le composé

TR_x : temps de rétention du composé

$TR_{(n-1)}$: temps de rétention de l'alcane classé avant le composé

$TR_{(n+1)}$: temps de rétention de l'alcane classé après le composé

1.2.5. Activité antibactérienne des HE

Les méthodes utilisées pour étudier l'interaction entre les HE et les espèces microbiennes sont basées sur la diffusion de ces huiles dans des milieux de culture pour inhiber la croissance d'un microorganisme pathogène.

1.2.5.1. Préparation de l'inoculum

Les espèces cibles (souches bactériennes choisies) ont été revivifiées et repiquées dans la gélose nutritive, puis incubées à des températures optimales de développements (37C°) pendant 18 heures pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08 à 0.1 correspond à une concentration de 10⁸ UFC/ml (ATHAMENA et *al.*, 2010 ; KARATAS et *al.*, 2010 ; SARAC et *al.*, 2007; YEN TAN et *al.*, 2006 ; RAHAL et *al.*,2005).

1.2.5.2. Test de l'aromatogramme (méthode des disques)

Pour réaliser le test de l'aromatogramme, nous avons réalisé par les étapes suivantes :

- Une suspension de chaque germe est préparée dans l'eau physiologique stérile et ajustée à environ 10⁸UFC/ml.
- Chaque souche estensemencée par inondation sur des boîtes de pétri contenant le milieu Muller – Hinton. La surface des milieux est ensuite séchée sous hotte à flux laminaire en laissant le couvercle des boîtes de pétri légèrement ouvert.
- Dépôt de disques (papier Whatman stériles de 0.6 cm de diamètre) préalablement imprégnés de 15 µl d'HE à la surface du milieu Muller–Hinton agar (MHA) contenant une souche donnée (NCCLS, 1997 *in* MUSTAFA et BEKTAS, 2008).
- Des disques vides sont déposés à la surface du milieu géloséensemencé avec les différentes souches bactériennes pour préparer les témoins.
- Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures, à l'exception de la bactérie *Helicobacter pylori* où la durée d'incubation est prolongée à 72 h (FRANZIN et *al.*, 2000).

Les résultats sont évalués par la mesure de diamètre du halo de la zone d'inhibition en mm. La sensibilité ou la résistance des souches est exprimée en suivant les fourchettes des diamètres données par BELAICHE, (1979) (Tableau I en annexe II).

1.2.5.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des HE ont été déterminées selon la méthode recommandée par NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) avec quelques modifications (NCCLS, 1997 *in* MUSTAFA et BEKTAS, 2008). Les tests ont été réalisés dans le bouillon de Muller-Hinton contenant du Tween 80 à 0.5% (v/v).

Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique qui correspond à 10^8 UFC/ml sur un spectrophotomètre.

Une série de dilution allant de 1/25 (V_{HE}/V_{MHB}) à 1/800 (V_{HE}/V_{MHB}) des huiles essentielle a été réalisées dans des tubes Eppendorf au lieu d'une microplaque.

Des témoins, contenant le milieu de culture, le tween 80 et la suspension bactérienne sont également préparés. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures à l'exception d'*Helicobacter pylori* dont la durée est prolongée à 72 h (FRANZIN *et al.*, 2000).

La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'un culot blanc qui se forme au fond du tube. Les résultats sont exprimés par la présence ou l'absence de croissance bactérienne.

1.2.6. Evaluation de l'activité antioxydante

1.2.6.1. Test du DPPH sur CCM

Pour mettre en évidence l'activité antioxydante des HE, nous avons effectué le test DPPH sur chromatographie sur couche mince (CCM) selon la méthode de BEKTAS *et al.* (2005) modifiée.

Le principe du test se résume en réduction du radical 2,2-diphényle 1-picrylhydrazyle (DPPH) par les substances anti-radicalaires qui sont dans notre cas les huiles essentielles. Une dilution de 1:1 de chaque HE est préparée dans le méthanol. Après dilution, un volume de 15 µl de chaque huile est déposé sur une plaque CCM (MERCK : TLC silicagel 60 F₂₅₄ glass plate) en plus d'une solution témoin de BHT à 2mg/ml.

La phase mobile est composée de méthanol et acétate d'éthyle à un ratio de (1:1). La révélation est effectuée par pulvérisation d'une solution 0.016 % de DPPH dans le méthanol suivie d'une incubation à une température ambiante pendant 30 min. Le blanchissement de la

couleur du DPPH par des spots jaunes, sur fond violet, est l'indication d'une activité antioxydante.

1.2.6.2. Test du DPPH par spectrophotométrie

Le principe du test se résume en la capacité des huiles à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

Le test de DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par BEKTAS *et al.* (2005). où 50µl de chacune des solutions méthanoliques des HE testées à différentes concentrations (0.9, 1.8, 2.7, 3.6, 4.5, 5.4, 6.3, 7.0, 8.1, 9.0 mg/ml) sont mélangées avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). Après une période d'incubation de 30 minutes à une température ambiante, l'absorbance est lue à 517nm.

a. Détermination du pourcentage d'inhibition

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

$$I \% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

A_{blanc} : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol)

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

Les concentrations en HE en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50% (SHARIFIFAR *et al.*, 2007).

1.2.6.3. Test du β -carotène- acide linoléique

Par ce test, l'activité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composés organiques volatils et des hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation d'acide linoléique (MUSTAFA et BEKTAS, 2008).

Le test du β - carotène-acide linoléique est réalisé en suivant la méthode décrite par MUSTAFA et BEKTAS, (2008). On dissous 2 mg de β - carotène dans 1 ml de chloroforme. La solution obtenue est introduite dans un ballon contenant 2 mg d'acide linoléique et 200

PARTIE II : Matériel et Méthodes

mg de Tween 40. Après évaporation du chloroforme sous vide, 100 ml d'eau distillée saturée en oxygène est ajouté avec agitation vigoureuse. De cette nouvelle solution 2.5 ml sont transférés dans des tubes, et 350µl de chaque huile essentielle à une concentration de (2g/l) dans l'éthanol. Ce système d'émulsion a été incubé pendant 48 heures à l'obscurité, le même procédé est répété avec l'antioxydant synthétique l'hydroxytoluène buthylé (BHT) utilisé comme contrôle positif et aussi avec un tube blanc (contenant l'éthanol à la place de l'HE).

Après incubation, l'absorbance est mesurée à 490 nm pour les échantillons, quant au BHT, elle est immédiatement mesurée.

a. Détermination de la valeur d'activité

Selon MUSTAFA et BEKTAS, (2008), l'activité antioxydante relative après 48 heures est calculée selon la formule suivante :

$$AAR = (A_{\text{échantillon}} / A_{\text{BHT}}) * 100$$

AAR : activité antioxydante relative ; $A_{\text{échantillon}}$: absorbance de l'échantillon après 48 heures ; A_{BHT} : absorbance du BHT.

1.2.7. Dosage des composés phénoliques totaux

Le principe de la méthode de dosage repose sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange de complexes des acides phosphotungstène (H₃PW₁₂O₄₀) et phosphomolybdène (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune). Cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe entre 725 et 750 nm (GERVAISE, 2004). Le dosage de polyphénols totaux est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (FAO/IAEA, 2000; DUARTE et LOPEZ *et al.*, 2007).

1.2.7.1. Extraction des composés phénoliques totaux

Pour extraire les composés phénoliques, nous avons adopté le protocole cité par BOIZOT et *al.* (2006) modifié. Les polyphénols sont extraits par macération et agitation de 200 mg de poudre végétal fine dans 10 ml de solvant organique (acétone 80%), pendant 24 H et à 4°C pour empêcher l'action de polyphénoloxydases qui dégraderaient les composés phénoliques. Après centrifugation (3000 g pendant 10 min à 4°C) le surnageant contenant les polyphénols est récupéré. On procède à une deuxième extraction identique sur le culot pour extraire le reste de polyphénols supplémentaires et donc d'obtenir un dosage plus exhaustif. Les surnageants sont réunis avant d'être concentrés à sec sous vide. Puis récupérés dans 5 ml de méthanol.

1.2.7.2. Mode opératoire du dosage

Les composés phénoliques totaux des extraits végétaux obtenus, sont déterminés selon la méthode préconisée par DUARTE et LOPEZ et *al.*, (2007) qui utilise le réactif Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard.

500 µl de réactif Folin-Ciocalteu et 450 µl d'eau distillée sont ajoutés dans un tube contenant 50 µl d'extrait, puis agités vigoureusement. Après 3 minutes, on additionne 400µl de Na₂CO₃ (75g.L⁻¹). Lors de cette opération, il y aura formation d'un précipité blanc qui sera éliminé par une simple centrifugation. Cela n'affecte en rien les résultats obtenus ni leur reproductibilité (SCALBERT et *al.*, 1989).

Les tubes sont incubés, à l'obscurité, à la température ambiante pendant 40 minutes. L'absorbance est lue à 735 nm contre un blanc (50 µl méthanol +500µl de réactif de Folin-Ciocalteu +950µl H₂O + 400µl de Na₂CO₃).

La teneur en composés phénoliques des extraits est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique et les résultats sont exprimés en µg équivalent acide gallique par mg de matière sèche (µg EAG/mg MS).

1.2.8. Dosage des flavonoïdes totaux

1.2.8.1. Extraction des flavonoïdes

Les composés flavonoïques sont extraits selon le protocole préconisé par RISPAIL *et al.*, (2005). Une prise d'essai de 50 mg de poudre très fine du matériel végétal (feuille ou fleurs) est mise en macération dans 5 ml de méthanol 70% avec agitation pendant 15 min à température ambiante. Après centrifugation (3000 g, pendant 5 min), le supernatant est récupéré. Le culot va mener deux rinçage successifs par 5 ml de méthanol 70 % enfin d'épuiser l'extrait. Les trois supernatants sont réunis puis évaporés à sec, l'extrait sec est récupéré par 05 ml de méthanol 100%.

1.2.8.2. Mode opératoire du dosage

Le contenu en flavonoïdes totaux est déterminé par la méthode spectrophotométrique d' $AlCl_3$, selon le protocole préconisé par BEKTAS *et al.* (2011). On additionne 1ml de l'extrait flavonoïque et 1ml d'aluminium trichloride ($AlCl_3$) à 2% in méthanol. Après une incubation de 10 min à la température de laboratoire et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 415 nm.

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage du quercétine et les résultats sont exprimés en μg équivalent quercétine par mg de matière sèche (μg EAG/mg MS).

1.3. Analyses statistiques

Les résultats des tests sont exprimés en moyenne \pm SD. Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)]. La différence entre le contrôle et les différents tests, est déterminée par l'analyse de la variance (ANOVA) univariée suivie du test de Dunnett/Tukey ou Test de Newman & keuls pour les comparaisons multiples des moyennes et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives. Les programmes informatiques utilisés sont: STATISTICA 6.1 Copyright © StatSoft. Inc. 1984-2003 (pour les corrélations) et XLSTAT version 7. 5. 2 Copyright © 1995-2004 Addinsoft (pour l'ANOVA).

RÉSULTATS

&

DISCUSSION

Chapitre 1 : Caractéristiques et composition des HE

1.1. Extraction et rendement en huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles, par entraînement à la vapeur, à partir de feuilles et de fleurs des espèces de sauge étudiées (*Salvia algeriensis*, *S. argentea* et *S. barrelieri*), nous a permis d'obtenir des rendements de l'ordre de 1.51 à 1.72 % pour les fleurs et de 0.83 à 0.87 % pour les feuilles (figure 09). Nous constatons, de manière générale, que les rendements en huiles obtenus avec les fleurs sont meilleurs que ceux des feuilles et cela quelle que soit l'espèce étudiée. Aussi, les différences de rendements en huiles entre les espèces étudiées ne sont assez grandes. On note cependant, un léger avantage en faveur de l'espèce *S. argentea* qui fournit des taux de 1.72 (fleurs) et 0.87 % (feuilles) (figure 07).

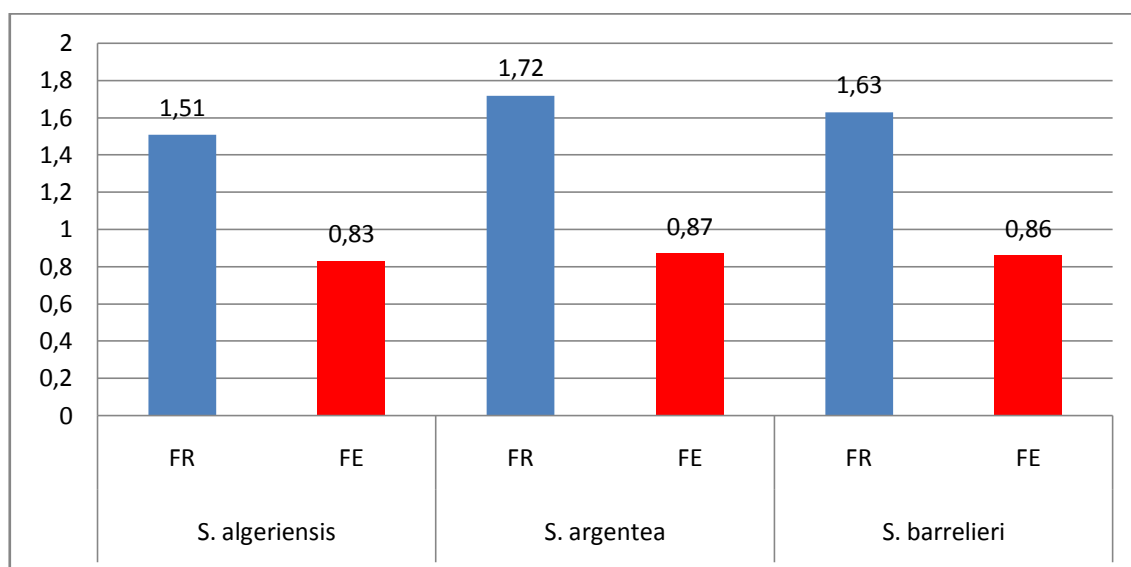


Figure 07 : Rendement (%) en huile essentielle obtenu à partir de fleurs et de feuilles de trois espèces de sauge (*S. algeriensis*, *S. argentea* et *S. barrelieri*).

La comparaison de nos rendements avec ceux rapportés par la bibliographie montre que nos espèces sont plus riches en huiles. En effet, les rendements en huile obtenus avec des espèces de sauge comme *S. tomentosa* et *S. hydrangea*, à partir de feuilles, étaient respectivement de l'ordre de 0.51 % et 0.53 % (BEKTAS et al., 2005 et KOTAN et al., 2008). Une espèce comme *S. potentillifolia* a donné un rendement avoisinant les 0.88 % (KIVRAK et al., 2009).

PARTIE III : Résultats et Discussion

Les fluctuations et les variations dans les rendements, constatées dans nos résultats et ceux des autres espèces de sauge, peuvent être attribuées à plusieurs facteurs. La diversité interspécifique ; la nature des organes sur lesquelles les huiles ont été extraites, la localité où sont récoltés les échantillons, sont autant de paramètres qui peuvent avoir une influence sur le rendement en huile (RODOLFO et al., 2006). Même, la méthode d'extraction peut influencer sur le rendement et sur la qualité des HE. À titre d'exemple, le rendement en HE de *Salvia potetillifolia* obtenu par la technique d'hydrodistillation était de 0.88% alors qu'avec l'entraînement à la vapeur d'eau elle n'a atteint que 0.55% (KIVRAK et al., 2009).

1.2. Étude des caractéristiques physiques des huiles essentielles

Les huiles extraites de trois espèces de sauge, avaient un aspect liquide de coloration jaune claire pour les feuilles et jaune foncée pour les fleurs, Elles dégagent toutes une très forte odeur. L'étude de leurs propriétés physiques constitue un moyen de vérification et de contrôle de qualité.

Deux principales propriétés physiques de nos huiles ont été déterminées à savoir : la densité relative et l'indice de réfraction. Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : Indice de réfraction et densité relative des HE extraites à partir de fleurs et de feuilles de trois espèces de sauge (*S. algeriensis*, *S. argentea* et *S. barrelieri*).

	Huiles essentielles						
	<i>S. officinalis</i>	<i>S. algeriensis</i>		<i>S. argentea</i>		<i>S. barrelieri</i>	
	(ONIPPAM)*	FR	FE	FR	FE	FR	FE
Densité	0.910 – 0.930	0.883	0.902	0.887	0.914	0.896	0.918
Indice de réfraction	1.458 - 1,474	1.443	1.447	1.455	1.451	1.442	1.443

*ONIPPAM : Office Nationale Interprofessionnelle des Plantes à Parfums Aromatiques et Médicinales, France in (FELLAH, 2006).

La détermination de la densité d'une huile nous renseigne sur sa pureté. Elle est en fonction de la composition chimique des huiles (KARLESKIND, 1992). Dans notre étude,

PARTIE III : Résultats et Discussion

nous avons déterminé ce critère de pureté à la température 20 °C, chez toutes les huiles extraites.

Les résultats révèlent que les valeurs moyennes des densités varient de 0.883 à 0.918. Les densités relatives des HE extraites de feuilles semblent toutes supérieures à celles des huiles de fleurs et cela quelle que soit l'espèce. Pour une même espèce, nous constatons que les densités des huiles de *S. barrelieri* (0.896 et 0.918) sont légèrement élevées par rapport aux huiles des deux autres espèces à savoir *S. algeriensis* (0.883 et 0.902) et *S. argentea* (0.887 et 0.914).

La comparaison des densités de nos huiles avec celles rapportées par la bibliographie, montre qu'elles sont très proches. En effet, l'étude réalisée par l'Office Nationale Interprofessionnelle des Plantes à Parfums Aromatiques et Médicinales, France *in* (FELLAH, 2006) a montré que les densités de l'huile de *Salvia officinalis* affichent des valeurs allant de 0.910 à 0.930.

Quant aux indices de réfraction des HE, ils ont été calculés et ramenés à 20°C à l'aide d'un réfractomètre. Les résultats, représentés dans le tableau II, montrent que les indices de réfraction des différentes huiles possèdent des valeurs très proches les unes des autres et cela quelle que soit l'espèce de sauge étudiée. Ces valeurs varient de 1.442 (*S. barrelieri*) à 1.455 (*S. argentea*) et sont toutes supérieures à l'indice de réfraction de l'eau qui est de 1.3356.

Selon les référentiels classiques (Pharmacopée Européenne, ISO, AFNOR), la détermination de ces grandeurs physiques est une étape nécessaire dans l'évaluation de la qualité des HE (DESMARES et *al.*, 2008), mais demeure insuffisante pour caractériser l'HE surtout avec la non détermination des autres paramètres physico-chimiques (indice d'acide, indice d'esters, indice de peroxyde, angle de rotation optique, point de solidification, résidu d'évaporation, solubilité dans l'alcool ...). Il sera donc primordial de déterminer le profil chromatographique de nos essences aromatiques.

PARTIE III : Résultats et Discussion

1.3. Composition chimique des huiles essentielles

L'analyse par GC/MS, des HE des trois espèces étudiées, est effectuée dans le laboratoire de recherche et développement de la société Algériennes des aérosols. Les résultats de ces analyses sont présentés dans les tableaux (III) et (IV). Seule l'analyse des HE de l'espèce *Salvia argentea* ne seront pas présentés à cause des résultats aberrants obtenus.

1.3.1. Composition chimique des HE de *S. algeriensis*

Tableau III : Composition chimique des huiles essentielles de *Salvia algeriensis*.

Composé	IR	FE(%)	FR(%)	Composé	IR	FE(%)	FR(%)
1-Octen-3-ol	999	-	0,55	Benzeneacetic acid, .alpha.,4-dihydroxy-	1438	0,87	-
Benzaldehyde	927	1	0,79	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	1446	0,72	-
Eucalyptol	1009	-	4,88	3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole	1450	-	0,31
Limonene	1026	0,34	-	Benzene, 1,4-dimethyl-2,5-bis(1-methylethyl)-	1454	0,61	-
2-Decen-1-ol	1047	-	0,39	Ethanone, 1-[5-(2-furanylmethyl)-2-furanyl]-	1459	1,96	-
1-Octanol	1066	0,36	0,57	Benzene, 1-ethyl-4-(1-methylethyl)	1463	0,97	-
Camphor	1070	-	15,27	6-Acetamido-1,4-benzodioxane	1465	1,08	-
L-Fenchone	1084	0,77	-	Benzene, 1-ethyl-3,5-diisopropyl-	1477	2,47	-
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	1095	1,33	0,72	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-, (E)-	1479	2,63	-
Nonanal	1100	0,61	0,22	Naphthalene, 1,2-dihydro-2,5,8-trimethyl-	1497	0,41	-
Fenchol, exo-	1101	-	0,56	Phenol, m-tert-butyl-	1501	1,44	-
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-	1132	-	7,73	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)	1507	0,54	-
Butanoic acid, 1-cyclopentylethyl ester	1140	-	1,77	Phenol, 2-(1,1-dimethylethyl)-	1511	1,51	-
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1R)-	1143	0,46	-	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a trimethyl-	1531	0,78	-
Isoborneol	1158	-	0,76	1,3,4-Thiadiazol-2-amine, 5-[(1-methylethyl)thio]-	1549	-	0,2
3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	1167	-	1,51	1-(3-Methylbutyl)-2,3,5,6-tetramethylbenzene	1564	-	0,45
Thymol	1173	-	0,28	Formic acid, 1-(4,7-dihydro-2-methyl-7-oxopyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)-, methyl ester	1568	-	0,45
Cyclohexene,1-methyl-3-(1-methylethenyl)-	1182	-	1,93	1H-Indene, 3-ethenyl-2,3-dihydro-1,1-dimethyl-	1574	-	0,83
p-menth-1-en-8-ol	1192	1,08	-	2-Butanone, 1-(2,3,6trimethylphenyl)-	1581	6,31	-

PARTIE III : Résultats et Discussion

Composé	IR	FE(%)	FR(%)	Composé	IR	FE(%)	FR(%)
1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1195	0,36	-	Disiloxane, 1,1,3,3-tetraméthyl-1,3-bis[3-(oxiranylméthoxy)propyl]-	1582	-	0,37
Fenchyl acetate	1205	-	1,22	β-Gurjunene	1587	-	4,05
2,4-Cycloheptadien-1-one, 2,6,6-triméthyl-	1207	-	0,24	beta.-Panasinsene	1595	2,43	-
2-Pentene, 2,4-diméthyl-	1209	2,4	-	beta.-guaiene	1603	11,31	34,32
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-triméthyl-	1216	1,29	-	Megastigmatrienone I	1617	0,66	-
4-Méthyl-1,3-pentadiene	1228	0,32	-	Megastigmatrienone II	1621	1,46	-
2-Cyclohexen-1-one, 3-méthyl-6-(1-méthylethyl)-	1246	-	0,25	Megastigmatrienone III	1626	2,15	-
Bornyl acetate	1280	-	5,99	1,4-Benzenediol, 2,6-diméthyl-	1646	-	0,9
1H-Inden-1-one, 2,3-dihydro-	1281	0,75	-	Patchoulene	1653	-	0,85
2-Undecanone	1295	0,73	-	4-Hydroxy-.beta.-ionone	1662	0,61	-
1,3-di-n-Propyladamantane	1314	0,33	-	delta.-Selinene	1697	-	0,54
Benzene, 1-méthyl-3-(1-méthylethyl)	1324	-	0,3	Hexanal, 4,4-diméthyl-	1750	-	0,33
Myrtenyl acetate	1325	0,54	4,66	Ledol	1834	-	1,53
2-Naphthalenamine, 5,6,7,8-tetrahydro-	1331	3,9	-	Propyphenazone	1863	-	0,28
Eugenol	1352	2,36	-	Benzene, (1-méthyl-dodecyl)-	1903	-	0,33
4-(1H-Pyrazol-1-yl)benzèneamine	1377	-	0,6	Tridecanoic acid	1967	0,73	-
beta.- demascenone	1379	22,96	0,88	1-Nonadecene	2046	0,52	-
Propofol	1388	-	0,22	Phytol	2058	0,82	-
1-(2-Cyanoéthyl)-2-éthyl-4-méthylimidazole	1396	4,24	-	TOTAL (%)	/	94,61	98,03
1,3-Benzodioxol-2-one, 5-(1,1-diméthylethyl)-	1404	1,47	-				
Benzeneethanal, 4-[1,1-diméthylethyl]-.alpha.-méthyl-	1426	4,02	-				

IR : indice de rétention calculé ;
FE : Feuilles ; FR : Fleurs

Les résultats de l'analyse des HE de *Salvia algeriensis* effectuée par GC-MS montrent qu'il existe un total de 45 composés (94.61 %) identifiés chez les feuilles et 39 autres (98.03 %) chez les fleurs (tableau III). Les constituants majoritaires des HE de feuilles sont représentés par β -demascenone (22.96 %) ; β -guaiene (11.31 %) ; 2-Butanone, 1-(2,3,6-triméthylphényl)- (6.31 %) ; 1-(2-Cyanoéthyl)-2-éthyl-4-méthylimidazole (4.24 %) ; Benzeneethanal, 4-[1,1-diméthylethyl]-.alpha.-méthyl- (4.02 %) et 2-Naphthalenamine, 5,6,7,8-tetrahydro- (3.9 %). Les HE des fleurs comptent sept (7) constituants majoritaires : β -guaiene (34.32 %) ; camphor (15.27 %) ; Bicyclo [2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-triméthyl- (7.73 %) ; Bornyl acetate (5.99 %) ; Eucalyptol (1,8 Cinéole) (4.88 %) ; Myrtenyl acetate (4.66 %) et β -Gurjunene (4.05 %). Ces constituants majoritaires des feuilles et des fleurs représentent respectivement 52.74 % et 76.9 % des constituants totaux.

PARTIE III : Résultats et Discussion

Les résultats du tableau III montrent aussi que certain composé majoritaire comme le β -guaiene est commun pour les HE de feuilles et de fleurs. D'autres par contre, sont spécifiques à l'huile comme le β -Damascenone (chez les feuilles) ou le camphor (chez les fleurs).

Les différences relevées entre les constituants chimiques des huiles, de la même espèce, peuvent être attribuées essentiellement à la nature de l'organe ayant fait l'objet d'extraction. En effet, les métabolites secondaires produits par la plante ne se distribuent pas de la même manière dans tous les organes. Ce qui peut expliquer les différences enregistrées dans la composition des huiles de feuilles et de fleurs.

1.3.2. Composition chimique des HE de *S. barrelieri*

Tableau IV: Composition chimique des huiles essentielle de *Salvia barrelieri*.

Composé	IR	FE (%)	FR(%)	Composé	IR	FE(%)	FR(%)
alpha.-Pinene	903	-	0,22	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)-	1371	8,05	-
2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	959	-	0,21	1-(2-Cyanoethyl)-2-ethyl-4-methylimidazole	1388	0,74	-
Benzaldehyde	962	0,97	0,42	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	1391	-	1,85
1-Decen-3-one	996	1,69	1,24	2-Azidomethyl-1,3,3-trimethyl-cyclohexene	1393	0,23	-
beta.-Myrcene	994	-	2,53	2,3,3,4,7-Pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran	1397	0,73	-
Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	984	0,25	-	3-(4-Isopropyl-phenyl)-acrylic acid	1398	-	0,2
beta.-Phellandrene	1009	-	2,7	6,8-Nonadien-2-one, 6-methyl-5-(1-methylethylidene)-	1401	-	0,46
Eucalyptol	1010	-	1,29	Caryophyllene	1413	0,48	3,18
Benzeneacetaldehyde	1023	0,65	0,84	4-Butyl-indan-5-ol	1419	0,76	0,19
1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	1031	0,53	-	gamma.-Elemene	1422	-	0,55
cis-Linalol oxide	1045	0,09	-	4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]-	1435	-	0,44
Linalool	1084	1,07	3,81	6-Methyl-6-(5-methylfuran-2-yl)heptan-2-one	1431	0,53	-
Phenylethyl Alcohol	1087	0,31	-	Cyclobutaneethanol, 1-methyl-2-(1-methylethenyl)-, (1R-cis)-	1440	1,63	-
Nonanal	1089	0,67	0,5	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-	1443	-	0,52
1H-Pyrazole, 4,5-dihydro-5,5-dimethyl-4-isopropylidene-	1096	0,28	-	m-Cymene, 5-tert-butyl-	1447	0,81	-
Terpineol, cis-.beta.-	1109	-	0,28	alpha.-Caryophyllene	1451	-	1,41
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	1122	0,34	-	1-(3-Methylbutyl)-2,3,5-trimethylbenzene	1452	2,08	-
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, cis-	1128	-	0,25	gamma. Dodecalactone	1459	1,08	-

PARTIE III : Résultats et Discussion

Composé	IR	FE(%)	FR(%)	Composé	IR	FE(%)	FR(%)
2,6-Nonadienal	1131	0,17	-	Benzene, 1-ethyl-3,5-diisopropyl-	1470	2,01	0,25
Cyclohexene,3-butyl-	1136	-	0,24	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	1472	1,25	0,19
Benzenemethanol,4(1,1-dimethylethyl)	1149	0,19	-	Hexylresorcinol	1476	0,37	-
Naphthalene, decahydro-2,2-dimethyl-	1151	0,21	-	2-Tridecanone	1489	0,31	-
4-Ethylbenzoic acid, 2-phenylethyl ester	1154	0,36	-	Phenol, m-tert-butyl-	1494	1,07	-
Borneol	1159	0,27	0,25	Phenol, 2-(1,1-dimethylethyl)-	1504	0,8	-
Octanoic Acid	1165	0,58	-	Phenol, 3-methoxy-2,4,5-trimethyl-	1511	-	7,06
Hexanoic acid	1166	0,09	-	3,7-Benzofurandiol, 2,3-dihydro-2,2-dimethyl-	1512	-	0,28
3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	1168	0,76	1,14	cis, cis-3-Ethylbicyclo[4.4.0]decane	1516	0,57	-
Furan, 2,4-dimethyl-	1175	-	1,8	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro 4,4,7a-trimethyl-	1524	0,57	-
3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl-	1177	1,58	-	Anisindione	1532	-	0,77
1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1180	0,9	-	1H-Inden-1-one, 2,3-dihydro-3,3,5,7-tetramethyl-	1540	0,39	-
α-Terpineol	1185	-	4,53	3,7-Cyclodecadiene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4,8-tetramethyl-, [s-(Z,Z)]	1545	-	0,56
Anisole, p-allyl-	1186	-	1,01	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethyl idene)-	1557	-	1,12
Decanal	1188	0,26	-	Dodecanoic acid	1558	0,77	-
3-Nonen-5-one	1195	2,52	-	Benzene, 1,4-dimethyl-2,5-bis(1-methylethyl)-	1573	-	1,48
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1201	0,78	-	Benzene, 1,2,4,5-tetraethyl-	1574	8,59	-
Furan, 3-phenyl-	1204	0,15	-	Caryophyllene oxide	1581	0,52	4,66
Benzofuran, 2,3-dihydro-	1210	-	1,13	beta.-Panasinsene	1593	0,47	-
Thiazole, 5-methyl-	1225	0,41	-	Carotol	1600	1,39	-
Propanal, 2-methyl-3-phenyl-	1235	7,32	1,84	Ledene oxide-(II)	1606	-	0,45
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (E)-	1244	-	0,76	2,3,5,6-Tetrafluoroanisole	1615	-	0,41
3-Cyclohexen-1-one, 2-isopropyl-5-methyl-	1251	-	13,72	Megastigmatrienone I	1618	2,76	0,33
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-	1237	0,6	-	Megastigmatrienone II	1619	2,03	0,43
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-	1242	0,61	-	Megastigmatrienone III	1620	6,59	1,10
Benzeneacetaldehyde,.alpha.-ethylidene-	1258	0,24	-	Cedren-13-ol, 8-	1625	-	0,24
2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-	1262	-	0,3	Eudesma-4(14),11-diene	1631	-	0,5
Nonanoic acid	1264	0,68	-	Neopentylidencyclohexane	1636	-	1,55

PARTIE III : Résultats et Discussion

Composé	IR	FE(%)	FR(%)	Composé	IR	FE(%)	FR(%)
1,5-Cyclohexadiene-1-methanol, 4-(1-methylethyl)-	1267	-	0,6	Epi-bicyclosesquiphellandrene	1640	-	1
1,2,5,5,6,7-Hexamethylbicyclo [4.1.0]hept-2-en-4-one	1272	0,58	-	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4 dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, (1S-cis)-	1654	-	1,5
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethyl)-	1274	0,47	1,12	Isolimonene	1666	-	1
alpha.-Thujenal	1280	3,28	-	Isoaromadendrene epoxide	1668	-	0,5
2,5-Cyclohexadien-1-one, 4-ethyl-3,4-dimethyl-	1283	-	0,7	1-Hexadecanol	1672	0,38	-
Benzenemethanol, .alpha.-propyl-	1284	1,59	-	gamma.-Neoclovene	1675	-	0,39
Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)	1288	-	0,6	Guaia-3,9-diene	1697	-	0,32
beta.-Acetylacrylic acid	1291	0,29	-	Crotonophenone, 2',5'-dimethyl-	1706	-	0,3
2-Methoxy-4-vinylphenol	1307	0,94	2,7	Bicyclo[2.2.2]octa-2,5-diene, 1,2,3,6-tetramethyl-	1710	-	0,2
Benzene, 1-ethyl-3,5-dimethyl-	1323	1,39	0,29	Santolina triene	1713	-	0,39
(+)-4-Carene	1342	-	1,3	(-)-Spathulenol	1745	-	0,29
Eugenol	1344	1,41	-	Tetradecanoic acid	1757	1,24	-
Naphthalene, 1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl-	1347	0,64	-	Isolongifolene, 4,5-dehydro-	1779	-	0,33
2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-	1350	0,74	-	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	1836	0,54	0,38
3,3-Dimethyl-2,5-bis-(2-oxo-propyl)-cyclopentanone	1351	-	0,68	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	1853	0,51	0,26
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-,acetate, (Z)-	1352	-	1,45	Dibutyl phthalate	1950	0,45	0,28
Geranyl acetate	1373	-	9,2	n-Hexadecanoic acid	1959	2,91	0,22
1,3-Cyclooctadiene	1358	1,42	-	Phytol	2055	2,8	0,33
Spiro[4.5]decan-1-one	1359	0,81	-	9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-	2068	0,47	-
1,4-Cyclooctadiene, (Z,Z)-	1363	1,34	-	TOTAL (%)	/	99,44	99,96
n-Decanoic acid	1366	0,63	-				
8-Quinolinol, 2-methyl-	1380	-	1,25	IR : indice de rétention calculé ; FE : feuilles ; FR : fleurs			

Les résultats de l'analyse des HE des feuilles de *Salvia barrelieri* effectuée par GC-MS ont permis d'identifier 81 composés (99.44 %) chez les feuilles (tableau IV). Les constituants majoritaires, représentant environ 40.32 % des composés totaux, sont formés de : 2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)- (8.05 %) ; Propanal, 2-methyl-3-phenyl- (7.32 %) ; Megastigmatrienone III (6.59 %) ; alpha.-Thujenal (3.28 %) ; n-Hexadecanoic acid (2.91 %) ; Phytol (2.8 %) ; Megastigmatrienone I (2.76 %) ; 3-Nonen-5-

PARTIE III : Résultats et Discussion

one (2.52 %) ; 1-(3-Methylbutyl)-2,3,5-trimethylbenzene (2.08 %) ; 1-(3-Methylbutyl)-2,3,5-trimethylbenzene (2.01 %).

Avec les HE des fleurs de *Salvia barrelieri*, l'analyse GC/MS a montré l'existence de 76 composés (99.96 %) (Tableau IV). Au total, sept (7) composés chimiques qui représentent environ 46,16 % de la composition totale, sont majoritaires. Il s'agit de : 3-Cyclohexen-1-one, 2-isopropyl-5-methyl- (13.72 %) ; Geranyl acetate (9.2 %) ; Phenol, 3-methoxy-2,4,5-trimethyl- (7.06 %) ; Caryophyllene oxide (4.66 %) ; α -Terpineol (4.53 %) ; Linalool (3,81 %) ; Caryophyllene (3.18 %).

La comparaison de la composition des HE provenant de feuilles et de fleurs de *S. barrelieri* montre qu'il n'existe aucune ressemblance entre les constituants majoritaires malgré l'appartenance des deux huiles à la même espèce pour ne pas dire à la même plante. Cependant, on dénombre à plus de vingt (20) constituants chimiques communs parmi les composés minoritaires.

D'après les résultats de la composition chimique des HE des trois espèces de sauge étudiées, nous relevons quelques observations qui peuvent être résumées comme suit :

Il y a d'abord les différences qui existent dans la composition des huiles provenant de fleurs ou de feuilles au sein d'une même espèce. Cette différence touche à la fois et à la qualité et à la quantité des constituants chimiques des HE comme le confirme la composition des constituants majoritaires. La variabilité constatée dans la composition chimique des huiles peut être expliquée soit par l'existence d'un polymorphisme intraspécifique soit par une distribution différente des métabolites secondaires vers les différents organes composants la plante. L'étude moléculaire, utilisant la technique du RAPD, réalisée par SBIHI, (2012) sur plusieurs populations de *S. algeriensis* a mis en évidence l'existence d'un polymorphisme intra-population et inter-population. Des observations similaires ont été faites dans une étude portant sur les HE de *Lavandula stoechas* où le polymorphisme existant au sein d'une même population était déterminant dans la composition chimique (BENABDELKADER et al., 2011).

La deuxième différence dans la composition des huiles est liée aux espèces de sauge étudiées. En effet très peu de ressemblance existe entre la composition de leurs HE. Particulièrement les composés majoritaires. Seulement deux composés (1,8 cinéole et bornéol) semblent être présents dans la composition des HE de nombreuses espèces

PARTIE III : Résultats et Discussion

appartenant au genre *Salvia* y compris les nôtres (KIVRAK et al., 2009). La variabilité dans la composition chimique est sûrement due à l'effet génotypique mais pas seulement puisque l'environnement peut avoir aussi sa part d'influence.

En faisant une comparaison de la composition chimique de nos HE avec celles de la bibliographie, nous nous sommes parvenu à faire plusieurs constatations.

La première, concerne la rareté des études publiées sur les HE conduites sur les mêmes espèces de sauge à savoir *S. algeriensis*, *S. barrelieri* et *S. argentea*. Cela nous a privé à faire une confrontation entre nos résultats et ceux de la bibliographie. Les résultats de la présente étude sont donc originaux.

La deuxième, est liée à la comparaison de nos résultats avec les études menées sur d'autres espèces de sauge. Les études avec lesquelles nous avons confronté nos résultats montrent que la composante des constituants majoritaires est totalement différente des nôtres. C'est le cas des résultats de l'analyse des huiles de *S. ceratophylla*, qui a permis d'identifier 53 composés dont dix forment les constituants majoritaires : γ -muurolène (11.4%), α -pinène (7.6%), γ -cadinène (5.7%), trans-pinocarvylacétate (5.3%), α -copaène (4.7%), α -thujone (4.6%), 1-épi-cubénol (3.9%), cis- β -guaïène (3.4%), p-cymène (3.2%) et α -muurolène (3.0%) (NEVCIHAN et al., 2012). Dans une autre étude conduite sur *S. piliferai* montre que les composés majoritaires sont représentés essentiellement par deux composés : α -thujone (36,1 %) et α -pinène (13,8 %) (MUSTAFA et BEKTAS, 2008).

Parfois, certains composés identifiés dans nos huiles comme majoritaires, sont cités comme tels dans la composition des huiles d'autres espèces de sauge. L'étude conduite par MUSTAFA et BEKTAS, (2008) sur les HE de *S. aucheri* var. *aucheri* et de *S. aramiensis* montre que le 1,8-cinéole et le camphor font partie des composés majoritaires. C'est aussi le cas de *S. palaestina* où les constituants majoritaires sont représentés par : caryophyllène oxyde (16.1%) et (E)-caryophyllène (4.5%) (GÜRISOY et al., 2012). Toujours avec l'espèce *S. palaestina*, RUSTAIYAN et al, (2005) et SALEHI et al, (2005), rapportent tous deux, que le β -caryophyllène figure dans la liste des composés majoritaires des HE. Dans notre étude, certains de ces constituants se retrouvent dans le pool des composés majoritaires de l'huile de fleur de *S. algeriensis* (1,8-cinéole et le camphor) et des feuilles de *S. barrelieri* (caryophyllène oxyde et caryophyllène).

Chapitre 2: Activité antioxydante et antibactérienne des HE

2.1. Activité antioxydante des huiles essentielles

2.1.1. Activité antioxydante sur CCM

La chromatographie sur couche mince est employée pour tester qualitativement l'activité antioxydante des huiles essentielles, dont une solution méthanolique de DPPH (0.016 %) est utilisée pour révéler la présence ou l'absence d'une activité antiradicalaire (figure 08).

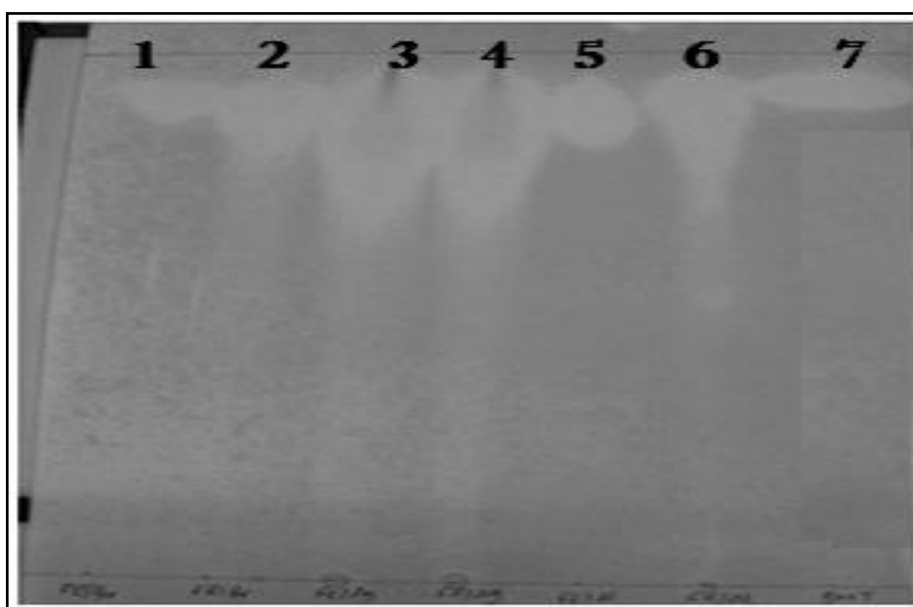


Figure 08: révélation de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles sur CCM.

1: FE *S. barrelieri*; 2: FR *S. barrelieri*; 3: FE *S. argentea*; 4: FR *S. argentea*; 5: FE *S. algeriensis*; 6: FR *S. algeriensis*; 7: BHT.

La figure n° (08) montre que toutes les HE, quelles que soient leurs origines ont réagi positivement aux tests anti-radicalaires avec le DPPH. Cependant, les réponses diffèrent d'une espèce de sauge à une autre. Les meilleurs résultats (surface des spots) sont ceux obtenus avec les huiles de *S. argentea*, suivi de *S. algeriensis* et de *S. barrelieri*. Les différences d'aptitude enregistrées à l'égard de l'activité antioxydante des huiles peuvent être attribuées à divers facteurs comme la composition chimique de chaque HE, la nature et la teneur en composés réagissant avec le radical DPPH. Le spot 7 est le témoin, représenté par le BHT.

2.1.2. Activité antioxydante par spectrophotométrie

L'activité antioxydante des HE est évaluée en utilisant deux essais complémentaires à savoir : le test du DPPH (figure 09) et le test du β -carotène/acide linoléique (figure 10). Les résultats de ces deux tests nous permettent de mieux apprécier les propriétés antioxydantes de nos huiles.

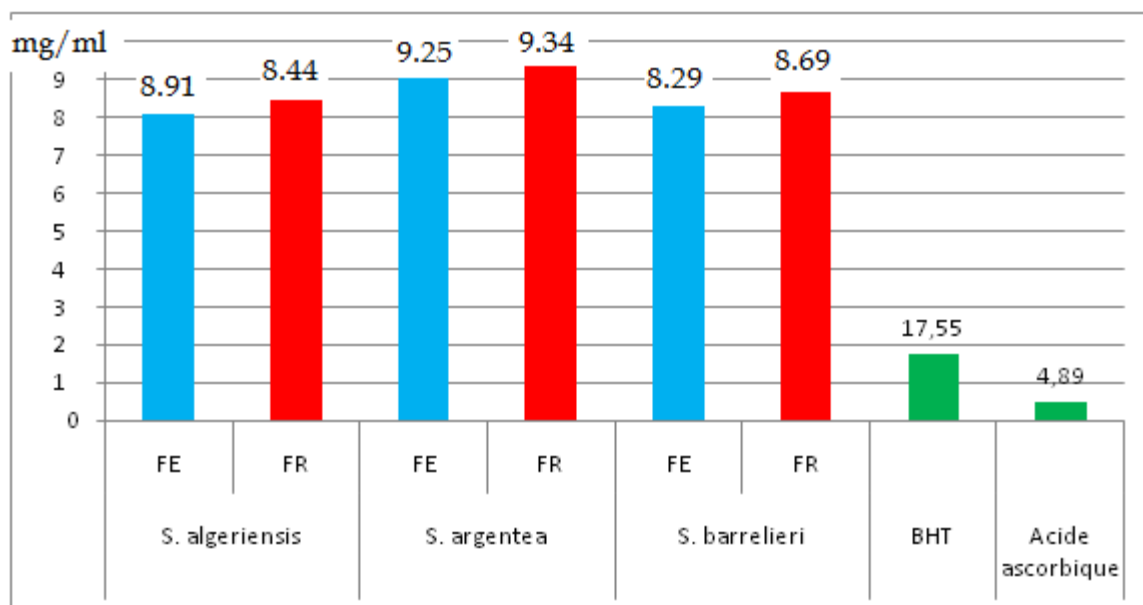


Figure 09: Les valeurs des IC_{50} obtenues selon les HE extraites de feuilles (FE) et fleurs (FR) de *S. algeriensis*, *S. argentea* et *S. barrelieri* et les standards.

Selon les résultats de l'activité antioxydante (Figure 09), les huiles de l'espèce *S. algeriensis* semblent présenter les meilleures réponses avec des valeurs d' IC_{50} égales à $8,91 \pm 0,76$ mg/ml (avec les FE) et $8,44 \pm 0,37$ mg/ml (avec les FR). Elle est suivie par *S. barrelieri* qui enregistre des IC_{50} de $8,29 \pm 0,32$ mg/ml (avec les FE) et $8,69 \pm 0,39$ mg/ml (avec les FR). Les huiles les moins efficaces sont celles de l'espèce *S. argentea*.

Malgré les résultats positifs de nos huiles sur l'activité antioxydante, les témoins se montrent plus performants. En effet, les valeurs IC_{50} des antioxydants synthétiques obtenues avec le BHT et acide ascorbique ont atteints respectivement $17,55 \pm 0,35$ μ g/ml et $4,89 \pm 0,13$ μ g/ml.

PARTIE III : Résultats et Discussion

Les propriétés antioxydantes de nos huiles peuvent avoir une liaison avec les constituants chimiques qui les composent. En effet, un constituant chimique tel que le damascenone, composé majoritaire des HE de *S. algeriensis* et dérivés du groupe des caroténoïdes, possèdent de forte activité antioxydante (SACHIIHIKO et *al.*, 1973). De même pour l'eucalyptol, un autre constituant majoritaire, pourvu d'une bonne capacité antioxydante (YUN et *al.*, 2000). En plus de l'action individuelle antioxydante que génère un composé chimique d'une huile, il existe aussi l'effet synergique qui peut s'établir entre les différents constituants.

De nombreuses études conduites avec d'autres espèces de sauges confirment leur pouvoir antioxydant. C'est le cas de l'étude réalisée sur l'espèce *S. tomentosa* par BEKTAS et *al.* (2005) et dans laquelle l'IC₅₀ maximal a atteint les 145 µg/ml. Ces valeurs comparées aux nôtres paraissent plus efficaces, même ceux signalés par MUSTAFA et BEKTAS, (2008), paraissent meilleurs que les nôtres. En effet, les huiles de *Salvia aucheri var aucheri*, *S. aramiensis* et *S. pilifera* donnent des IC₅₀ de 18,8 ± 1,2 µg/ml, 12,2 ± 1,0 µg/ml et de 24,1 ± 0,7µg/ml respectivement.

Les molécules antioxydantes contenues dans les HE possèdent des propriétés biologiques diverses telles que les actions : anti-inflammatoires, anti-athéroscléroses et anti-cancérogènes. Ces propriétés peuvent être liées à leurs activités antioxydantes (CHUNG et *al.*, 1998).

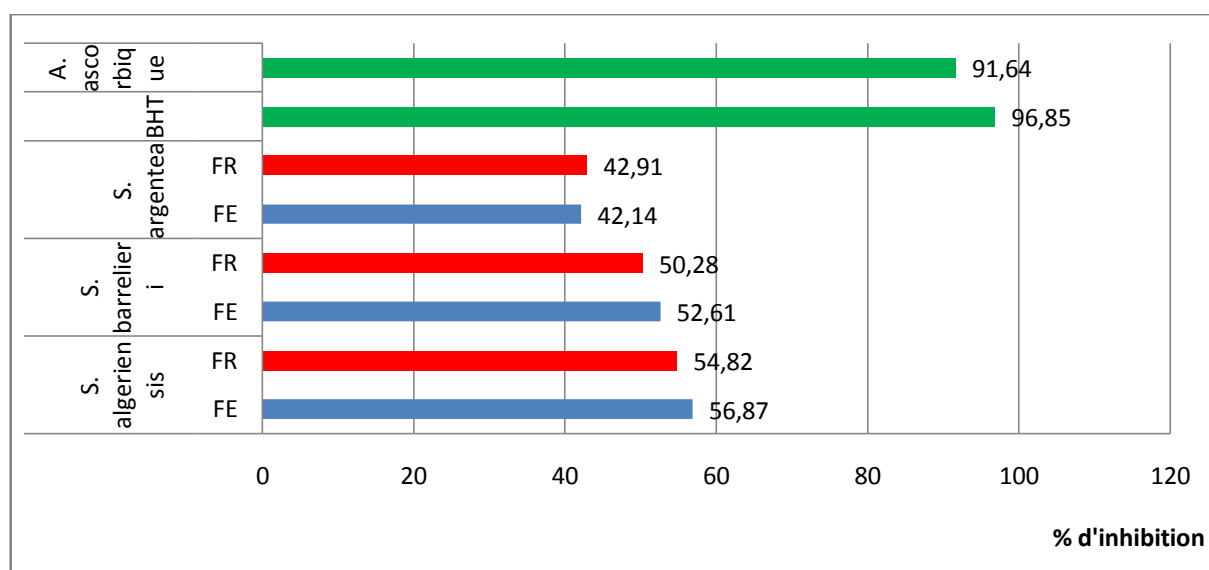


Figure 10: Taux d'inhibition du test β -carotène/acide linoléique obtenus par les huiles de feuilles (FE) et de fleurs (FR) de *Salvia algeriensis*, *S. barrelieri* et *S. argentea*.

PARTIE III : Résultats et Discussion

L'évaluation de l'activité antioxydante des HE par le test de la β _carotène/acide linoléique a donné des résultats intéressants. L'activité la plus élevée est enregistrée avec *S. algeriensis* (FE: $56,87 \pm 0,74$ % ; FR: $54,82 \pm 1,54$ %), suivie de *S. barrelieri* (FE: $52,61 \pm 1,66$ % ; FR: $50,28 \pm 1,34$ %), et de *S. argentea* en dernier rang avec une inhibition de (FE: $42,14 \pm 1,08$ % ; FR: $42,91 \pm 1,02$ %). Aucun de ces résultats n'a dépassé le taux d'inhibition des témoins positifs : BHT ($96,85 \pm 0,41$ %) et acide ascorbique ($91,64 \pm 0,52$ %) (Figure 10).

La comparaison des résultats des deux tests (DPPH et β _carotène/acide linoléique) nous a permis de déduire qu'il existe des différences dans le classement basé sur les valeurs de l'activité antioxydante entre les espèces expérimentées. Avec le test DPPH, l'activité antioxydante de *S. algeriensis* (FE) > *S. barrelieri* (FE) > *S. algeriensis* (FR) > *S. barrelieri* (FR) > *S. argentea* (FE) > *S. argentea* (FR). Par contre avec le test du β _carotène/acide linoléique, l'activité antioxydante de *S. algeriensis* (FE) > *S. algeriensis* (FR) > *S. barrelieri* (FE) > *S. barrelieri* (FR) > *S. argentea* (FR) > *S. argentea* (FE).

Cependant, il y a lieu de noter que les deux tests confirment la supériorité de l'espèce *S. algeriensis*, suivie de *S. barrelieri*. Les résultats des deux tests classent l'espèce *S. argentea* comme étant la moins performante. Ce n'était pas le cas avec l'espèce *S. palaestina* où les HE sont révélées plus efficaces que l'emploi du BHT comme antioxydant par le test β _carotène/acide linoléique (80.57% avec les huiles contre 41,53 % avec le BHT) (GÜRSOY et al., 2012).

Statistiquement (test Dunnett), une différence significative est enregistrée entre les valeurs de l'activité antioxydante des HE des trois espèces de sauge (*S. algeriensis*; *S. argentea* et *S. barrelieri*) avec celles des témoins positifs BHT et acide ascorbique (annexe II).

2.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles

2.2.1. Aromatogramme par la méthode des disques

En milieu solide l'action antibactérienne des HE des trois sauges testées se traduit par l'apparition de zone d'inhibition autour des disques. Le diamètre des zones d'inhibition (DD) diffère d'une bactérie à une autre et d'une huile à une autre. Les résultats des expériences portant sur l'effet antimicrobien des HE de feuilles et de fleurs des trois espèces de *Salvia* sont présentés dans les tableaux V, VI, VII.

PARTIE III : Résultats et Discussion

De manière générale, nous constatons que toutes les huiles expérimentées manifestent des propriétés antibactériennes à l'égard de la majorité des bactéries pathogènes testées. Nous présentons ci-après les résultats de l'aromatogramme obtenus avec chaque espèce de sauge.

2.2.1.1. Pouvoir antibactérien des HE de *S. algeriensis*

Les résultats du tableau V montrent que les huiles de *S. algeriensis* sont toutes pourvues de pouvoir antibactérien. On note cependant, des différences d'efficacité, entre les huiles provenant de feuilles ou de fleurs. A ce sujet, l'activité antibactérienne des huiles de feuilles est plus efficace que celle des fleurs. Les huiles de feuilles ont eu des effets antibactérien importants vis-à-vis de *S. typhimirium*, *S. aureus* ATCC 25923 et *P. vulgaris*, avec des diamètres des zones d'inhibition (DD) ayant atteint 30,0 mm et une CMI de 1/400), (DD : 19,5 mm, 1/800) et (DD : 19,5 mm, CMI: 1/400) respectivement. D'autres réponses positives ont été enregistrées avec deux autres souches de bactéries : *E. coli* ATCC 25922 (DD : 13,5 mm, CMI: 1/400) et *E. coli* (DD : 12,0 mm, CMI: 1/400).

Tableau V: Effet antibactérien des HE de feuilles et fleurs de *S. algeriensis* contre quelques espèces de bactéries pathogènes.

Souches bactériennes	Feuilles		Fleurs	
	DD	CMI	DD	CMI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13,5	1/400	11,5	1/400
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	7,5	1/400	8,0	1/400
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	19,5	1/800	9,5	1/800
<i>E. coli</i>	12,0	1/400	10,5	1/400
<i>S. typhimirium</i>	30,0	1/400	7,5	1/100
<i>S. aureus</i>	9,0	1/200	12,0	1/400
<i>P. vulgaris</i>	19,5	1/400	19,0	1/400
<i>P. mirabilis</i>	9,5	1/100	7,5	1/100
<i>H. pylori</i>	10,5	1/100	9,0	1/200
<i>Citrobacter ssp</i>	8,5	1/100	10,5	1/200

DD : Diamètre d'inhibition en mm incluant 6 mm de disque; CMI : Concentration minimale inhibitrice

PARTIE III : Résultats et Discussion

Les seules souches bactériennes qui semblent avoir résisté aux HE de feuilles de *S. algeriensis* sont : *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Citrobacter ssp*, *P. mirabilis*, *S. aureus* et *H. pylori* et les DD obtenus étaient de 7,5 mm ; 8,5 mm ; 09 mm et 10,5 mm, respectivement. L'activité anti *H. pylori* est remarquable, mais la CMI est élevée (1/100).

Concernant les HE des fleurs de *S. algeriensis*, elles ont montré une activité antibactérienne moins efficace que celle des feuilles. En effet, les résultats ont révélé l'existence de quatre germes seulement qui paraissent sensibles à l'égard de ces huiles. Il s'agit de *P. vulgaris* (19,0 mm, CMI: 1/400) ; suivie de *S. aureus* avec (12,0 mm, CMI: 1/400) ; *E. coli* ATCC 25922(11,5 mm, CMI: 1/400) et de *Citrobacter ssp* (10,5 mm, CMI:1/200). Les six souches de bactéries restantes à savoir : *S. typhimirium*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. pylori*, *S. aureus* ATCC 25923, semblent être moins à peu sensibles à nos huiles compte tenu des faibles DD obtenus (7,5 mm et 9,5 mm).

A travers ces résultats, nous pouvons dire que les HE de *S. algeriensis* surtout celles des feuilles, se sont montrées très efficaces vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes comme *S. typhimirium* ou *P. vulgaris*. Cependant, l'efficacité de ces mêmes huiles s'est révélée moindre sur d'autres souches de bactéries telles *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. mirabilis* et *H. pylori*.

2.2.1.2. Pouvoir antibactérien des HE de *S. argentea*

Les huiles de *S. argentea* enregistre une activité antibactérienne très efficace à l'égard des dix bactéries testées par rapport à *S. algeriensis*. Selon les résultats du tableau VI, nous avons noté que trois souches de bactéries parmi les dix se montrent sensibles aux huiles de feuilles. Les espèces, représentées par *E. coli* ATCC 25922 ; *S. aureus* ATCC 25923 ; *E. coli* et *P. vulgaris*, ont donné des DD dépassant les 20 mm et des CMI de 1/400 et 1/200.

PARTIE III : Résultats et Discussion

Tableau VI: Effet antibactérien des HE de *S. argentea* contre quelques espèces de bactéries pathogènes.

Souches bactériennes	Feuilles		Fleurs	
	DD	CMI	DD	CMI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	22,0	1/400	21,5	1/800
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	9,5	1/200	8,0	1/400
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	22,0	1/400	7,5	1/200
<i>E. coli</i>	22,0	1/400	19,5	1/400
<i>S. typhimirium</i>	12,5	1/400	10,0	1/400
<i>S. aureus</i>	8,0	1/200	9,5	1/200
<i>P. vulgaris</i>	20,5	1/200	20,0	1/400
<i>P. mirabilis</i>	15,0	1/200	16,0	1/400
<i>H. pylori</i>	17,0	1/400	16,5	1/400
<i>Citrobacter ssp</i>	8,5	1/100	7,0	1/100

DD : Diamètres des zones d'inhibition en mm incluant 6 mm de disque; CMI : Concentration minimale inhibitrice

Toujours selon les résultats du tableau VI, nous avons relevé que la sensibilité de certaines bactéries à nos huiles était moyenne, comme c'est le cas de *P. vulgaris* (DD : 20,5 mm, CMI: 1/400) ; *H. pylori* (DD : 17,0 mm ; CMI: 1/400) ; *P. mirabilis* (DD : 15,0 mm ; CMI: 1/200), à faible avec *S. typhimirium*, (DD de 12,5 mm ; CMI de 1/400).

S'agissant des HE de fleurs de *S. argentea*, les réponses étaient presque les mêmes que celles produites par les huiles de feuilles (tableau VI). Parmi les germes qui se sont montrés sensibles figurent : *E. coli* ATCC 25922 (DD : 21,5 mm ; CMI très faible 1/800) ; *P. vulgaris* (DD : 20,0 mm, CMI: 1/400). D'autres semblent être moins sensibles que les premiers, comme *E. coli* (DD : 19,5 mm, CMI: 1/400) ; *H. pylori* (DD : 16,5 mm, CMI: 1/400) et *P. mirabilis* (DD : 16,0 mm, CMI: 1/400). Les seules souches qui paraissent être, une fois de plus, récalcitrantes à nos huiles sont : *S. typhimirium* (DD : 10,0 mm, CMI: 1/400) ; *Citrobacter ssp* (DD : 7,00 mm, CMI : 1/100) ; *P. aeruginosa* ATCC 27853 (DD : 8,0 ; 1/400) et *S. aureus* ATCC 25923 (DD : 7.5, CMI : 1/200).

L'inhibition importante constatée chez les HE de *S. argentea* contre des bactéries pathogènes comme *E. coli* ATCC 25922, ou *H. pylori* peut les classer comme un agent antibactérien puissant pour lutter contre certaines maladies. Ces deux germes causent des maladies très graves de type diarrhéiques (pour *E. coli* ATCC 25922) (PANG et al., 2013) ou gastroduodénales: ulcère duodéal, ulcère gastrique, lymphome gastrique du MALTE et aussi

PARTIE III : Résultats et Discussion

cancer gastrique (pour *H. pylori*) (MEGRAUD, 2004). La sensibilité de ces germes à nos huiles essentielles peut constituer donc une piste sérieuse pour trouver un remède ou un moyen de lutte naturel efficace contre ces bactéries pathogènes.

2.2.1.3. Pouvoir antibactérien des HE de *S. barrelieri*

Contrairement aux huiles des espèces précédentes, celles de *S. barrelieri* s'avèrent moins performantes sur le plan activité antibactérienne que les autres. Il n'existe pas une grande différence en termes d'effet antimicrobien entre les HE de feuilles et de fleurs (tableau VII). Le plus grand halo d'inhibition (DD) est celui obtenu, en présence des huiles de fleurs avec l'espèce *S. aureus* ATCC 25923 (18,5 mm ; CMI: 1/800) et des huiles de feuilles avec l'espèce *P. mirabilis* (18 mm ; CMI: 1/400).

Tableau VII: Activité antibactérienne des HE de *S. barrelieri* contre quelques espèces de bactéries pathogènes.

Souches bactériennes	Feuilles		Fleurs	
	DD	CMI	DD	CMI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	9,0	1/400	11,5	1/400
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10,0	1/200	11,5	1/400
<i>S. aureus</i> ATCC25923	8,0	1/200	18,5	1/800
<i>E. coli</i>	8,5	1/400	10,5	1/400
<i>S. typhimurium</i>	7,0	1/400	11,5	1/400
<i>S. aureus</i>	13,5	1/400	9,5	1/400
<i>P. vulgaris</i>	13,0	1/400	14,5	1/400
<i>P. mirabilis</i>	18,0	1/400	12,0	1/200
<i>H. pylori</i>	10,0	1/100	12,0	1/400
<i>Citrobacter ssp</i>	14,5	1/400	9,5	1/100

DD : Diamètres des zones d'inhibition en mm incluant 6 mm de disque; CMI : Concentration minimale inhibitrice.

Il est utile de souligner aussi que la sensibilité de certains germes peut changer selon l'origine de l'huile appliquée. En effet, l'espèce *S. aureus* ATCC 25923 semble être sensible aux huiles des fleurs mais pas à celles des feuilles et c'est l'inverse pour l'espèce *Citrobacter ssp*. Cependant, certaine souche comme *P. aeruginosa* ATCC 27853 paraît développer la même sensibilité à l'encontre des HE appliquées au milieu de culture quelle que soit son origine (tableau VII).

PARTIE III : Résultats et Discussion

Les souches bactériennes ayant développées une forte résistance à l'égard des HE provenant de feuilles et de fleurs ne sont pas toujours les mêmes. Ce sont les *Citrobacter ssp* et *S. aureus* et *E. Coli* qui paraissent les moins sensibles lorsqu'on applique les HE de fleurs alors qu'avec les huiles de feuilles, on retrouve *S. aureus* ATCC 25923 ; *E. coli*, *S. typhimirium* ; *E. coli* ATCC 25922 et *P. aeruginosa* ATCC 27853 (tableau VII).

Les valeurs de CMI les plus élevées (1/100) sont obtenues pour des bactéries gram négatif notamment *P. mirabilis*, *H. pylori* et *Citrobacter ssp*, alors que les bactéries Gram positif *S. aureus* ATCC 25923 et *S. aureus* ont trouvées sensibles vis-à-vis quelques HE des trois espèces de sauge à des dilutions de CMI très faibles (1/800). Nos résultats concordent à l'étude de BEKTAS et al. (2005) effectuée sur *Salvia tomentosa* et à celle de MUSTAFA et BEKTAS, (2008) réalisées sur *Salvia aucheri* var. *aucheri*, *S. aramiensis* et *S. pilifera* qui confirment la résistance des bactéries Gram négatif vis-à-vis les HE des espèces du genre *Salvia* par rapport aux bactéries Gram positif.

D'une façon générale, toutes les huiles essentielles testées avaient enregistré un pouvoir antibactérien sur la totalité des souches étudiées. Quoique cet effet balance sur une échelle de sensibilité variante et dépendante de l'origine de l'huile. Cette variance est due essentiellement à la composition chimique (BAYDAR et al., 2004; DORMAN et al., 2000; PANIZI et al., 1993), notamment aux constituants majoritaires tel que: linalool, alpha terpinéol connus pour leurs bonnes antibactérienne (SOON-NANG et al., 2012). Des composés du genre camphre, bornéol, eucalyptol, bornyl acétate, caryophyllène, oxyde de caryophyllène et myrcène ont tous été cités par de nombreux auteurs comme étant des molécules à grand pouvoir antimicrobien (DORMAN et al., 2000 ; DUKE, 2013). Beaucoup de molécules parmi celles qu'on vient de citer figurent dans la composition chimique de nos huiles.

Il est utile de rappeler que le pouvoir antimicrobien d'une huile essentielle ne résulte pas nécessairement de l'action d'un constituant chimique seule, mais de l'action d'un ensemble de composés qui interagissent entre eux. Donc, des phénomènes de synergie et d'antagonisme entre les différents constituants peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires (BOUAOUN et al., 2007).

PARTIE III : Résultats et Discussion

En outre, la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des microorganismes ciblés sont des facteurs pouvant largement influencer l'activité antibactérienne des huiles essentielles (MALECKY, 2007).

Le mécanisme d'action des HE à l'égard des bactéries n'est pas complètement élucidé mais on pense qu'il provoque une rupture de la membrane par des composés lipophiles (COWAN, 1999). L'activité antimicrobienne des HE est difficile à corréler à un composé particulier en raison de leur complexité et de leur variabilité. Il a souvent été rapporté que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles à l'HE que les bactéries Gram (-). La tolérance des bactéries Gram (-) à l'HE a été attribuée à la présence d'une membrane hydrophile externe qui bloque la pénétration des HE hydrophobes dans la membrane de la cellule cible. Cela n'est pas toujours juste, car la sensibilité des bactéries est, en fait, dépendante des HE utilisées (DEANS et RITCHI, 1987).

Chapitre 3: Teneur en composés phénoliques et flavonoïques

3.1. Teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles et fleurs des espèces de sauge étudiées, un dosage des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes leur sont attribués.

La méthode de dosages des composés phénoliques totaux choisie est celle de Folin-Ciocalteu, universellement employée par les laboratoires de recherche (FAO/IAEA, 2000 ; BOIZOT *et al.*, 2006 ; LOPEZ *et al.*, 2007). Ladite méthode est très satisfaisante sur le plan faisabilité et reproductibilité (HUANG *et al.*, 2005). L'acide gallique a été utilisé comme standard.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium en utilisant la quercétine comme solution standard (BEKTAS *et al.*, 2011). Les résultats sont représentés dans le Tableau VIII après lecture sur les courbes d'étalonnages (annexe I).

Tableau VIII : Teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux des extraits de feuilles (FR) et de fleurs (FE) de trois espèces de sauge.

	<i>Salvia algeriensis</i>		<i>Salvia argentea</i>		<i>Salvia barrelieri</i>	
	FE	FR	FE	FR	FE	FR
Phénols^b	34,66±1,38	31,58±0,82	29,64±0,38	28,55±0,54	30,11±0,24	29,83±0,92
Flavonoïdes^c	10,32±0,33	10,05±0,25	8,32±0,23	8,37±0,20	11,03±0,15	10,54±0,25

^a les valeurs exprimées sont des moyennes de trois mesures parallèles± ET.

^b valeurs exprimées en µg EAG/mg de matière sèche de la plante.

^c valeurs exprimées en µg EQ/mg de matière sèche de la plante.

Les résultats rapportés dans le tableau VIII indiquent que les teneurs en composés phénoliques varient sensiblement d'une espèce à une autre. C'est l'espèce *S. algeriensis* qui présente les meilleures teneurs en composés phénoliques comparativement aux autres espèces étudiées que ce soit dans les extraits de feuilles ou de fleurs. En effet, les extraits de feuilles sont pourvus de 34.66 ± 1.38 µg EAG/mg de MS, suivie de *S. barrelieri* (30.11 ± 0.24 µg

Partie III : Résultats et discussion

EAG/mg de MS). Cette richesse de *S. algeriensis* en composés phénoliques s'est traduite aussi dans les extraits de fleurs en donnant des teneurs de $31.58 \pm 0.82 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ contre $29.83 \pm 0.92 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ pour *S. barrelieri*.

Les faibles teneurs en composés phénoliques sont fournies par *S. argentea* ($29.64 \pm 0.38 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ avec les extraits de feuilles et $28.55 \pm 0.54 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ les extraits de fleurs).

Les résultats du tableau VIII montrent aussi que les feuilles des trois espèces étudiées sont plus riches en composés phénoliques que les fleurs. L'examen des résultats a permis de mettre en évidence une corrélation linéaire positive ($r^2 = 0.93$, $p \leq 0.05$) entre la teneur des extraits des feuilles et ceux des fleurs. Cela signifie que plus les feuilles d'une espèce sont riches en composés phénoliques plus la teneur de ses fleurs en ces composés augmente.

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que les extraits de *S. algeriensis* et *S. barrelieri* sont les plus riches en flavonoïdes avec des teneurs de (FE : $10.32 \pm 0.33 \mu\text{g EQ/mg de MS}$; FR : $10.05 \pm 0.25 \mu\text{g EQ/mg de MS}$) et (FE : $11.03 \pm 0.23 \mu\text{g EQ/mg de MS}$; FR : $10.54 \pm 0.20 \mu\text{g EQ/mg de MS}$) respectivement. Les extraits de *S. argentea* (FE : $8.32 \pm 0.15 \mu\text{g EQ/mg de MS}$; FR : $8.37 \pm 0.25 \mu\text{g EQ/mg de MS}$).

L'examen des résultats des composés phénoliques et flavonoïdes totaux a permis de mettre en évidence une corrélation linéaire positive ($r^2 = 0.99$; $p \leq 0.05$) entre la teneur des extraits en flavonoïdes et en composés phénoliques. Ceci est logique étant donné que les flavonoïdes comptent parmi les constituants dominants formant les composés phénoliques des trois espèces de sauge.

La confrontation de nos résultats avec certains travaux de la bibliographie nous laissent penser que nos extraits sont réellement riches en composés phénoliques et en flavonoïdes. Les résultats de l'étude menée par M'HAMMEDI, (2006) sur plusieurs espèces végétales de la région de Tlemcen confirment cela. Les meilleures teneurs en composés phénoliques par espèces étaient comme suit : *Lavandula stoechas* ($06.9 \mu\text{g EAG/mg de MS}$) ; *Cistus ladaniferus* ($10.4 \mu\text{g EAG/mg de MS}$) ; *Crataegus oxyacanthae* ($04.6 \mu\text{g EAG/mg de MS}$) et *Smyrniium olysarum* ($0.9 \mu\text{g EAG/mg de MS}$). Alors qu'avec nos extraits, les teneurs oscillaient entre $34.66 \pm 1.38 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ et $28.55 \pm 0.54 \mu\text{g EAG/mg de MS}$.

Partie III : Résultats et discussion

Des teneurs plus élevées ont été obtenues dans les extraits de feuille de *Salvia miltiorrhiza* (entre 39.0 ± 1.13 and 54.3 ± 1.1 $\mu\text{g EAG/mg de MS}$) (ZHANG et al., 2010). Parmi les composés phénoliques dominants dans les extraits de feuilles de *Salvia miltiorrhiza* figurent l'acide rosmarinique et l'acide salvianolic (ZHANG et al., 2010). Ces deux composés peuvent être considéré comme des contributeurs principaux à l'activité antioxydante (ZHANG et al., 2010).

S'agissant des flavonoïdes totaux des feuilles et des fleurs de nos extraits, leurs teneurs sont aussi élevées si nous les comparons avec les résultats de l'étude conduite par M'HAMMEDI, (2006). Les valeurs de nos extraits varient entre 11.03 ± 0.35 $\mu\text{g EQ/mg MS}$ et 8.37 ± 0.31 $\mu\text{g EQ/mg de MS}$ alors que ceux de M'HAMMEDI, (2006) sont *lavandula stoechas* ($0,88$ $\mu\text{g EQ/mg de MS}$) ; *Cistus ladaniferus* (0.42 $\mu\text{g EQ/mg de MS}$) ; *Crataegus oxyacanthae* (0.74 $\mu\text{g EQ/mg de MS}$) et *Smyrniolum olisarum* (0.2 $\mu\text{g EQ/mg de MS}$).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui peuvent être associés à l'inhibition des cancers et de l'athérosclérose (ALIM et al., 2009). La richesse de nos espèces de sauge en ces composés phénoliques peut faire d'elles une source potentielle de molécules antioxydantes pouvant être employée en alimentation, en pharmacie, en cosmétique ou en industrie nutraceutique.

L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé que la teneur en composés phénolique des extraits est fortement liée aux facteurs espèces et nature de l'organe (feuilles ou fleurs). Pour les teneurs en flavonoïdes totaux, c'est plutôt le facteur espèce seul qui semble les influencer de manière significative. L'interaction des deux facteurs (espèce*nature de l'organe) reste sans effet pour les deux types de métabolites secondaires.

CONCLUSION

Conclusion et Perspectives

En guise de rappel, la présente étude vise à atteindre un objectif global qu'est la valorisation de trois espèces spontanées de sauge (*Salvia algeriensis*, *S. argentea* et *S. barrelieri*). Pour contribuer à cela, nous nous sommes intéressés à trois aspects de recherche à savoir : l'extraction et l'identification de la composition chimique des huiles essentielles extraites de fleurs et feuilles ; l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de ces huiles essentielles et le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir des extraits de feuilles et de fleurs des espèces étudiées.

L'extraction des huiles qui s'est faite par entraînement à la vapeur d'eau nous a permis d'obtenir des rendements très appréciables avec les fleurs (1,51 - 1,72 %) et acceptables avec les feuilles (0,83 - 0,87 %).

Les analyses effectuées par GC-MS des différentes huiles essentielles ont conduits aux résultats suivants :

- Pour l'espèce *S. algeriensis*, les HE des feuilles sont pourvues de deux composés majoritaires (beta- demascenone (22.96 %) et beta-guaiene (11.31 %)) et celles des fleurs de trois : beta-guaiene (34.32 %) ; Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl- (15.27 %) et Camphor (7.73 %).
- L'espèce *S. Barrelieri*, les huiles des feuilles sont riches en : 2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)- (8.05 %) ; Propanal, 2-methyl-3-phenyl- (7.32 %) et Megastigmatrienone III (6.59 %). Quant aux fleurs, les trois composés majoritaires sont : 3-Cyclohexen-1-one, 2-isopropyl-5-methyl- (13.72 %) ; Geranyl acetate (9.2 %) et Phenol, 3-methoxy-2,4,5-trimethyl- (7.06 %).

Concernant l'activité antioxydante, le test qualitatif réalisé par DPPH sur CCM a d'abord permis de découvrir un pouvoir antioxydant chez toutes les six huiles essentielles testées. Par la suite, et guidé par les valeurs obtenues par deux tests quantitatifs de l'activité antioxydante; le test DPPH et le test β carotène/acide linoléique, *S. algeriensis* a dévoilé l'activité antioxydante la plus élevée avec un IC_{50} égale à 8.91 ± 0.76 mg/ml ; 8.44 ± 0.37 mg/ml et un taux d'inhibition de 56.87 ± 0.74 % ; $54,82 \pm 1.54$ % pour les FE et les FR respectivement. Cette activité est suivie par celle des huiles essentielles de *S. barrelieri* (FE: 52.61 ± 1.66 %, $IC_{50} = 8.69 \pm 0.39$ mg/ml ; FR: 50.28 ± 1.34 % et l' $IC_{50} = 8.29 \pm 0.32$ mg/ml) et au dernier ordre les huiles extraites de *S. argentea*.

Ces résultats avèrent être très intéressants, en comparaison à d'autres HE extraites des espèces du genre *Salvia*, n'ont jusqu'alors jamais été publiés ou exploités.

La détermination de la teneur en composés phénoliques totaux a gardé le même classement obtenue avec l'activité antioxydante, dont *S. algeriensis* est la plus riche en contenu phénolique (FE : 34.66 ± 1.38 µg EAG/mg de MS; FR : 31.58 ± 0.82 µg EAG/mg de MS) en comparaison avec *S. barrelieri* (FE : 30.11 ± 0.24 µg EAG/mg de MS; FR : 29.83 ± 0.92 µg EAG/mg de MS) et *S. argentea* (FE : 29.64 ± 0.38 µg EAG/mg de MS; FR : 28.55 ± 0.54 µg EAG/mg de MS). Ceci confirme le rôle important et célèbre de ces métabolites secondaires dans la protection contre l'effet oxydatif des radicaux libres.

L'effet antibactérien, des huiles essentielles, testé par deux méthodes: la diffusion sur disques et la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) donne une sensibilité avec la majorité de dix souches testées. Une supériorité est remarquée chez les huiles essentielles extraites de *S. argentea* (feuilles et fleurs) par rapport à celles de *S. algeriensis* et *S. barrelieri*.

Comme perspectives:

À travers les résultats de cette étude, plusieurs nouvelles pistes de recherche peuvent être empruntées et envisagées dans le futur. Parmi les travaux de recherche à prévoir nous pouvons citer :

- Confirmer certains résultats que nous avons obtenus lors de cette étude ;
- Pousser les recherches sur les composés phénoliques contenus dans les extraits de feuilles, de fleurs et d'autres organes (racines, graines, etc.) en procédant à une analyse physico-chimiques fine par HPLC ;
- Prévoir une analyse moléculaire par RAPD, SSR, ISSR, ...etc. pour mettre en évidence l'existence ou pas de polymorphisme ;
- Elargir la panoplie des espèces de sauge dans nos études ;
- Prévoir une étude portant sur la régénération *in vitro* des chémotypes intéressants de sauge ;
- Prévoir une étude ethnobotanique sur l'utilisation des sauges.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- Adio, A. M.** (2005). Isolation and Structure Elucidation of Sesquiterpenoids from the Essential Oils of Some Liverworts (Hepaticae). *Thèse doctorat* . Institut ational de la chimie organique, université de Hambourg, 280p.
- AFNOR.** (1989). "*Les huiles essentielles*": 3ème Recueil des normes françaises.
- Afzal, M., & Armstrong, D.** (2002). Oxidative stress Biomarkers and Antioxidant Protocols. *Methods in Biology molecular* , 186, pp. 293-299.
- Alfatuni, A.** (2005). The yield and essential oil content of mint (*Mentha* spp.) In Northern Ostrobothnia. *Academic Dissertation to be presented with the assent of the Faculty of science for public discussion* . Faculty of Science, University of Oulu, Oulu, Finland: Oulu University Press, 52p.
- Alim, A., Goze, I., Goze, H. M., Bektas, T., & Serkedjieva, J.** (2009). In vitro antimicrobial and antiviral activities of the essential oil and various extracts of *Salvia cedronella* Boiss. *Journal of Medicinal Plants Research* , 3 (5), pp. 413-419.
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., et al.** (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* , 14 (1), pp. 141-148.
- Ames, B. N.** (1983). Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. *Science, New Series* , 221 (4617), pp. 1256–1263.
- Anthony, C. D.** (2000). The folklore and cosmetic use of various *Salvia* species. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 01-25). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Arslan, I., & Celik, A.** (2008). Chemical composition and antistaphylococcal activity of an endemic *Salvia chrysophylla* Stapf. naturally distributed Denizli province (Turkey) and its vicinity. *Pak. J. Bot* , 40 (4), pp. 1799-1804.
- Association Française de Normalisation (AFNOR).** (1986). *Recueil de Normes Française « huile essentielles »*. Paris.
- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S.** (2010). Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal* , 11 (1), pp. 69-81.
- Back, P.** (1987). *The Illustrated Herbal*. Hong Kong: Hamlyn Publishers through Octopus Books.
- Bagci, E., & Kokak, A.** (2008). Essential oil composition of the aerial parts of two *Salvia* L. (*S. multicaulis* Vahl. Enum and *S. tricochlada* Bentham) Species from east Anatholian region (Turkey). *International journal of science and technology* , 3 (1), pp. 13-18.
- Balandrin, M. F., Kjocke, A. J., & Wurtele.** (1985). Natural Plant chemicals sources of Industrial and mechanical materials. *Science* , 228, pp. 1154-1160.
- Baran, P., Ozdemir, C., & Aktas, K.** (2010). Structural investigation of the glandular trichomes of *Salvia argentea*. *Biologia* , 65 (1), pp. 33-38.

Références Bibliographiques

- Baricevic, D., & Bartol, T.** (2000). Pharmacology: The biological/pharmacological activity of the *Salvia* genus. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 143-184). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Barkire, B.** (1996). *Les ressources naturelles d'origine végétale au Niger : les possibilités de leur valorisation sous forme de biopesticides*. séminaire-atelier, Niamey, Niger, 28 octobre-8 novembre 1996.
- Bauer, K., Garbe, D., & Suburg, H.** (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*. Weinheim: Wiley-VCH, 293 pp.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., & Karadog, T.** (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15, pp. 169–172.
- Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P.** (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, 90, pp. 333-340.
- Bektas, T., Serpil, D., Serdal, A., Erdogan, M., & Cengiz, S.** (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia* (82), pp. 237–246.
- Belaiche, P.** (1979). *Traite de phytothérapie et d'aromathérapie, L'Aromatogramme*. Paris: Malonie, 204 p.
- Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., et al.** (2011). Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. *Chem Biodivers*, 8 (5), pp. 937-953.
- Benayad, N.** (2008). *Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées*. Rapport de stage. Faculté des sciences, Rabat, Maroc.
- Beniston, W. S.** (1984). *Fleurs d'Algérie*. Alger, Algérie: éd Entreprise National du Livre.
- Benjilali, B.** (2000). *Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique*. Rabat, Maroc: Corporation LASEVE, 60 p.
- Bernard, T., & Coll.** (1988). "Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie". *Information chimie*, 289.
- Berset, C., & Cervelier, M. E.** (1996). Methods of estimating the degree of lipid oxidation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments*, 16, pp. 219-245.
- Bhaskara-Reddy, M. V., Angers, P., Gosselin, A., & Arul, J.** (1998). Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 42 (8), pp. 1515-1520.

Références Bibliographiques

- Board, N.** (1999). *The complete technology book of essential oils (aromatic chemicals)*. Delhi, India: Asia Pacific business press, 597p.
- Boizot, N., & Charpentier, J.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, pp. 79-82.
- Bouaoun, D., Hilan, C., Garabeth, F., & Sfeir, R.** (2007). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie*, 5, pp. 129-134.
- Bouchet, N., Barrier, L., & Fauconneau, B.** (1998). Radical scavenging activity and antioxydant property of tannins from *Guiera senegalensis* (Combretaceae). *Phytotherapy research*, 12, pp. 159-162.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M.** (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, pp. 119-125.
- Boyd, B., Ford, C., Koepke, C., Horn, E., McAnalley, S., & McAnalley, B.** (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *glyoScience et Nutrition*, 4 (6), p. 7p.
- Brand-william, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxydant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 28, pp. 25-30.
- Bruneton, J.** (1993). *Pharmacognosie et Phytochimie, Plantes Médicinales*. Paris, France: Lavoisier, 279p.
- Bruneton, J.** (1999). *Pharmacognosy: Phytochemistry, Medicinal Plants* (éd. 2nd Edition). London: Intercept, 1119 pp.
- Burnie, G., Forrester, S., Greig, D., Guest, S., Harmony, M., Hobley, S., et al.** (2006). *Botanica: Encyclopédie de botanique et d'horticulture (éd. française)*. Paris: éd Place des victoires(sous licence de Random House Australia).
- Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N., et al.** (2001). Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 298 (1), pp. 197- 200.
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Huang, Y. W., & Lin, Y.** (1998). Tannins and human health: a review (Crit Rev). *Food Sci Nutr*, 38, pp. 421-464.
- Clark, R. J., & Menary, R. C.** (1984). The effect of two harvest per year on the yield and composition of *Tasmanian peppermint* oil (*Mentha piperita* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35, pp. 1191-1195.
- Clebsch, B.** (2010). *A book of salvias: sages for every garden* (éd. illustrée, réimprimée). University of Michigan, USA: Timber Press .ISBN 0881923699, 9780881923698.
- Clebsch, B.** (2008). *The New Book of Salvias: Sages for Every Garden* (éd. 2, illustrée par Carol D. Barner). California, USA: TIMBER PR INC. ISBN 0881929131, 9780881929133.

Références Bibliographiques

- Cock, I. E.** (2011). *Medicinal And Aromatic Plant –Australia*. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). Sydney: Australia. 25p.
- Cowan, M. M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, pp. 564–582.
- Craker, L. E.** (2007). Medicinal and Aromatic Plants—Future Opportunities. Dans J. Janick, & A. Whipkey, *Issues in new crops and new uses*. Alexandria: ASHS Press Edition.
- Craker, L. E., & Gardner, Z. E.** (2006). Medicinal plants and tomorrow's pharmacy. Dans R. J. Bogers, L. E. Craker, & D. Lange, *Medicinal and aromatic plants. Proc. Frontis Workshop on Medicinal* (pp. 29–41). The Netherlands, 17–20 April 2005. Nucleus for Strategic Expertise Wageningen University and Research Centre, Wageningen.
- Crete, P.** (1965). *Précis de botanique*. Paris, France: Masson.
- Cuvelier, M. E., Berset, C., & Richard, H.** (1994). Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, pp. 665-669.
- Davidson, P. M., Sofos, J. N., & Branen, A. L.** (2005). *Antimicrobials in Food* (éd. Third Edition). Boca Raton: CRC Press, 429p.
- Deans, S. G., & Ritchie, G.** (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5, pp. 162-180.
- Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G.** (2002). Antimicrobial activity of individual mixed fractions of dill, Cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. Journal of Food Microbiology*, 74, pp. 101-109.
- Desmares, C., Laurent, A., & Delerme, C.** (2008). *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles: Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles*. Saint-Denis cedex: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSPS), 17p.
- Duarte, M. R., & Lopez, J. F.** (2007). Stem and leaf anatomy of *Plectranthus neochilus* Schltr., Lamiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17 (4), pp. 549-556.
- Duke**. (2013). *Chemicals and their Biological Activities in: Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae) -- Rosemary*. Consulté le 05 10, 2013, sur Phytochemical and Ethnobotanical Databases: <http://www.ars-grin.gov/duke/>
- Dupont, R.** (2000). *Propriétés physiques et psychiques des huiles essentielles*. France: Editions Diffusion crucienne, 365.
- Duriyapapan, S., Britten, E. J., & Basford, K. E.** (1986). The effect of temperature on growth, oil yield and oil quality of corn mint. *Annals of Botany*, 58, pp. 729–736.
- Elabed, D., & Kambouche, N.** (2003). *Les huiles essentielles*. Oran, Algérie: Dar El Gharb.

Références Bibliographiques

- Emim, J. A., Oliveira, A. B., & Lapa, A. J.** (1994). Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, duartin and claussequinone, in rats and mice. *J. Pharm. Pharmacol* , 46, pp. 118-122.
- Essawi, T., & Srour, M.** (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* , 70, pp. 343-349.
- FAO/IAEA.** (2000). *Quantification of Tannins in Tree Foliage (FAO/IAEA Working Document)*. Vienna, Austria: FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture, 31p.
- Farag, R. S., Salem, H., Badei, A., & Hassanein, D. E.** (1986). Biochemical studies on the essential oil of some medicinal plants. *Fette Seifen Anstrichmittel* , 88 (2), pp. 69–72.
- Favier, A.** (2003). *le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique*. L'actualité chimique, 108- 115pp.
- Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M.** (2006). Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.Soc.Alger.Chim* , 16 (2), pp. 193-202.
- Fouk, J. A., Akin, D. E., & Dodd, R. B.** (2002). *Trends in New Crops and New Uses*. Alexandria: ASHS Press, 361p.
- Fouk, J. A., Akin, D. E., Dodd, R., & McAlister III, D. D.** (2002). Flax Fiber: Potential for a New Crop in the Southeast. Dans J. Janick, & A. Whipkey, *Trends in new crops and new uses* (pp. 361-370). Alexandria, VA: ASHS Press.
- Franchommeet, P., & Penoel, D.** (1990). Matière médicale aromatique fondamentale. Dans R. Jollois, *L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles* (pp. 317-406). édition Limoge.
- Franzin, L., Pennazio, M., Cabadi, D., Paolo Rossini, F., & Gioannini, P.** (2000). Clarithromycin and amoxicillin susceptibility of *Helicobacter pylori* strains isolated from adult patients with gastric or duodenal ulcer in Italy. *Curr. Microbiol* , 40, pp. 96 – 100.
- Garnero, J.** (1985). Semipréparative separation of terpenoids from essential oil. *Phytotherapy* , pp. 15-19.
- Gervaise, Y.** (2004). *Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits*. Euroforum-Polyphénols, Paris, France, le 12 octobre 2004.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Rahimi, E., & Moosavi, S. A.** (2010). Antimicrobial activity of essential oils of three herbs against *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Acta agriculturae Slovenica* , 95 (3), pp. 219 - 223.
- Grimaud-Gaspari, I.** (1979). Toxicité des essences végétales du commerce (Sauge, Hysope). *Thèse doctorat* . Marseille, France.
- Guarrera, P. M.** (1999). Traditional antielmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in central Italy. *Journal of Ethnopharmacology* , 68, pp. 183-192.

Références Bibliographiques

- Gurchan, S.** (2004). *Plants Systematics: an integrated approach*. USA: Science Publisher, INC, infield, NH (Printed in India), disponible online sur [<http://books.google.fr>].
- Gürsoy, N., Bektaş, T., & Aşkın Akpulat, H.** (2012). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Salvia palaestina* (Benth) and *S. ceratophylla* (L.). *Rec. Nat. Prod* , 6 (3), pp. 278-287.
- Gutteridge, J. M., & Halliwell, B.** (1994). *Antioxidants in Nutrition, Health and Diseases*. New York: Oxford University Press, 143 pp.
- Hadi, A. L.** (2004). *screening potato genotype for antioxidant activity, identification of the responsible compounds*. Texas, USA: Office of graduate studies of TEXAS University, 260 P.
- Hannebelle, T.** (2006). Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de lamiales productrices d'antioxydants: *Marrubium pergrinum*, *Bollota larendana* et *Bollota pseudodictamnus* (lamiacées) et *Lipia alba* (verbénacées). *Thèse doctorat* . Université des Sciences Technologie de Lile, France.
- Hayashi, K., & Hayashi, T.** (1994). Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HSV-1, influenza virus and HIV. *Planta Medica* , 61, pp. 237–241.
- Heinrich, W., & Siegmars-W, B.** (1983). *Ökologie der Erde. Ban d I. Ökologische Grundlagen in globaler Sicht*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 238p.
- Helme, J. P., Chazan, J. B., & Perrin, J. L.** (1999). Les antioxydants. Dans M.-C. Martini, & M. Seiller, *Actifs et additifs en cosmétologie* (éd. 2ième édition, pp. 337-352). Paris, France: Éditions Tec & Doc.
- Hennezel-Whitechurch.** (2007). *Plantes medicinales d'hier et d'aujourd'hui*. Paris, France: Editions Hoëbeke.
- Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., & Aitour, S.** (2006). Huiles essentielles de certaines plantes medicinales libanaises de la famille des lamiaceae. *Lebanese Science Journal* , 7 (2), pp. 13-22.
- Hosein, S. R., & Lytle, M.** (2001). *Les antioxydants*. feuillet d'information, 5p.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R.** (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* , 53, pp. 1841-1856.
- Husnu Can Baser, K.** (2000). PRODUCTION OF SALVIA OIL IN MEDITERRANEAN COUNTRIES. Dans E. K. Spiridon, *Sage: The genus of Salvia* (pp. 263-268). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Janero, D. R.** (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad. Biol. Med* , 9, pp. 515-540.
- Kalemba, D., & Kunicka, A.** (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils "Review". *Curr. Med. Chem* , 10, pp. 813-829.
- Karaman, Ş., Ilcim, A., & çomlekçioglu, N.** (2007). composition of the essential oils of *Salvia aramiensis* Rech. Fil. and *Salvia cyanescens* Bois. and Bal. *Pak. J. Bot* , 39 (1), pp. 169-172.

Références Bibliographiques

- Karatas, H., & Ertekin, S.** (2010). Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (12), pp. 1238-1240.
- Karleskind, A.** (1992). *Manuel des Corps Gras (Tome II)*. Paris: Tech & Doc, 579p.
- Karousou, R., Hanlidou, E., & Kokkini, S.** (2000). The sage plants of greece: distribution and infraspecific variation. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 27-46). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Khan, M. K.** (2010). Polyphénols d'Agrumes (flavanones) : extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec la sérum albumine. *Thèse Doctorat*. Académie d'Aix-Marseille, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France.
- Kim, J., Marshall, M. R., & Wei, C.** (1995). Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *J. Agric. Food. Chem.*, 43, pp. 2839-2845.
- Kivrak, I., Duru, M. E., Ozturk, M., Mercan, N., Harmandar, M., & Topçu, G.** (2009). Antioxydant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.069. Article in press.
- Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., Kesdek, M., Kaya, Y., & Kilic, H.** (2008). Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. ex Benth. *Biochemical systematics and Ecology*, 36, pp. 360-368.
- Kupeli Akkol, E., Goger, F., Kosar, M., & Baser, H. C.** (2008). Phenolic composition and biological activity of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food chemistry*, 108, pp. 942-949.
- Lagunez Rivera, L.** (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. *Thèse doctorat*, 331p. Institut national polytechnique, Toulouse, France.
- Lange, D.** (2004). Medicinal and Aromatic Plants: Trade, Production, and Management of Botanicals Ressources. Dans L. E. Cracker, *Future for Medicinal and Aromatic Plants* (pp. 177-197). USA: Acta. Hort (Publication supported by Can. Int. Dev. Agency (CIDA)).
- Lange, D.** (1997). Trade figures for botanical drugs world-wide. *Medicinal Plant Conservation*, 3, pp. 16-17.
- Lattaoui, N., & Tantaoui-Elaraki, A.** (1994). Individual and combined antibacterial activity of the main components of three thyme essential oils. *Riv. Ital. EPPOS*, 13, pp. 13-19.
- Levetin, E., & McMahon, K.** (2003). *Plants and Society*. 3rd ed. USA: McGraw-Hill, Dubuque, Iowa.
- LiHsi, W., & Hedge, I. C.** (1994). LAMIACEAE (唇形科 chun xing ke). *Flora of China*, 17, pp. 50-299.
- Lis-Balchin, M., & Deans, S.** (1997). Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Bacteriol*, 82, pp. 759-762.

Références Bibliographiques

- López, V., Akerreta, S., Casanova, E., García-Mina, J. M., Yolanda Cavero, R., & Calvo, M. I.** (2007). In Vitro Antioxidant and Anti-rhizopus Activities of Lamiaceae Herbal Extracts. *Plant. Foods. Hum. Nutr.* , 62, pp. 151–155.
- Macheix, J., Fleriet, A., & Christian, A.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique*. Lausanne, Suisse: Les éditions PPTUR.
- Madsen, H. L., & Bertelsen, G.** (1995). Spices and antioxidant. *Trends in food science and technology* , 6, pp. 271-277.
- Maleci Bini, L.** (2006). *The glandular trichomes of Labiaceae*. International Symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.
- Malecky, M.** (2007). Métabolisme des terpénoides chez les caprins. *Thèse de Doctorat* . Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l' Environnement (Agro. Paris,Tech.).
- Manou, L., Bouillard, L., Devleeschouwer, M. J., & Barel, A. O.** (1998). Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *J. Appl. Microbiol.* , 84, pp. 368-376.
- Masquelier, J.** (2006). *More from 50 years of Research Reveals the Health benefits of Flavay*. Récupéré sur Flavay, for a healthy mind body: <http://www.healthbody.com>
- Mégraud, F.** (2004). *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* , 53, pp. 1374-1384.
- McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., & Anderson, J. E.** (1998). The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal* , 32, pp. 513-524.
- M'hammedi, Z.** (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Thèse de magistère* . Université Abou Bakr Belkaid- Tlemcen-, Algérie, 155p.
- Mokkadem, A.** (1999). Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Vie et Nature* , 7, pp. 24–26.
- Morel, Y., & Barouki, R.** (1999). repression of the gene expression by oxydatif stress. *Biochem Journal* , 342 (3), pp. 481- 496.
- Morin, L., Guenther, C., Peyron, L., & Richard, H.** (1985). Etude des intervants lors du procédé d'hydrodistillation. *Bulletin de la Société Chimique Française* , 5, pp. 921-930.
- Moura, L., Carvalho, J. R., Stefanini, M. B., Ming, L., & Meireles, M.** (2005). Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. *The Journal of Supercritical Fluids*. Article en presse.
- Mustafa, K., & Bektas, T.** (2008). Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioressources technology* , 99, pp. 4096-4104.

Références Bibliographiques

- Nakatami, M., Kaneshima, S., & Fukao, Y.** (2000). Size-dependent microearthquake initiation inferred from high-gain and low-noise observations at Nikko district, Japan. *Journal of Geophysical Research* , 105 (doi: 10.1029/2000JB900255).
- Newall, C. A., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D.** (1996). *A guide for Health-care Professionals*. London: The Pharmaceutical Press.
- Nicolette, P., Melaine-Jayne, H., Houghton, P., & Elaine, P.** (2000). Why sage may be a wise remedy: effects of salvia on the nervous system. Dans E. K. Spiridon, *Sage: The genus Salvia* (pp. 207-223). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Noll, R.** (1951). Southwest Desert Botanicals. *Cosmetics and Toiletries* , 109, pp. 35–37.
- Novelli, G. P.** (1997). Role of free radicals in septic shock. *J physiol pharmacol* , 48, pp. 517-527.
- Ntezurubanza, L.** (2000). *Les huiles essentielles du Rwanda*. Chicoutimi, Québec: LASEVE-UQAC, 17 p.
- Okoh, O. O.** (2010). Chemical transformations and phytochemical studies of bioactive components from extracts of *rosmarinus officinalis* L. *A thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy* , 198pp. Faculty of Science and Agriculture at the University of Fort Hare.
- Organisation mondiale de la Santé (OMS).** (2003). *Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales*. Genève, Suisse, 96 p.
- Ouraïni, D., Agoumi, A., Alaoui, M. I., Alaoui, K., Cherrah, Y., Benlemlih, M., et al.** (2005). Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines. *Phytothérapie* , 1, pp. 3-12.
- Pang, W., Wang, H., Shi, L., Sun, Y., Wang, X., Wang, M., et al.** (2013). Immunomodulatory Effects of *Escherichia coli* ATCC 25922 on Allergic Airway Inflammation in a Mouse Model. *PLoS ONE* , 8 (3), p. e59174. doi:10.1371/journal.pone.0059174.
- Panizi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I.** (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology* , 39, pp. 167–170.
- Panizzi, J., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I.** (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacol.* , 39, pp. 167-170.
- Pellerin, P.** (1991). Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavour and perfume industry. *Perfum. Flavor* , 16 (4), pp. 37-39.
- Perry, R. J., Watson, P., & Hodges, J. R.** (2000). The nature and staging of attentional dysfunction in early (minimal and mild) Alzheimer's disease: Relationship to episodic and semantic memory impairment. *Neuropsychologia* , 38, pp. 252-271.
- Pingot, A.** (1998). *Les huiles essentielles*. Paris, : Ed. Tec. & Doc, pp. 230-236.

Références Bibliographiques

- Pistelli, L.** (2006). *Photochemicals from lamiaceae: from nutraceuticals to Hallucinogens*. International symposium The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilization, Sanremo, Italy: 22-25 February 2006.
- Quezel, P., & Santa, S.** (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II*. Paris, France: éd CNRS, 603 p.
- Rahal, K., Belouni, R., Benslimani, A., Tali Maamar, H., Missoum, M., Aboun, A., et al.** (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. *Fascicule de recommandations, 3ème Edition*. Alger, Algérie: Ministère de l'agriculture nationale.
- Rapp, R. P.** (2004). Changing strategies for the management of invasive fungal infections. *Pharmacotherapy, 24*, pp. 4S-28S.
- Richard, H.** (1992). *Épices et Aromates. Technologie et Documentation*. Paris, France: Lavoisier, 339p.
- Rispail, N., Morris, P., & Judith Webb, K.** (2005). Phenolic Compounds: Extraction and Analysis. Dans A. Márquez. Tokyo: Lotus japonicus Handbook. pp.349-355
in[<http://www.springer.com/life+sci/plant+sciences/book/978-1-4020-3734-4>].
- Rodolfo, J., Koroch, A., Simon, J., & Hitimana, N.** (2006). Quality of geranium oils: case studies in southern and eastern Africa. *Journal of essential oil research, Sept-Oct* .
- Roques, J.** (1809). *Plantes usuelles, indigènes et exotiques* (éd. 2 édition, Tme II). Paris, France: éd Hocquart Librairie.
- Rustaiyan, A., Akhgar, M. R., Masoudi, S., & Nematollahi, F.** (2005). Chemical composition of essential oils of three *Salvia* species growing wild in Iran: *Salvia rhytidea* Benth., *S. limbata* CA Mey. and *S. palaestina* Benth. *J Essent Oil Res, 17*, pp. 522-524.
- Sachihiko, I., Shigeo, K., & Takeo, S.** (1973). The Synthesis of Damascenone and beta-Damascone and the possible mechanism of their formation from carotenoids. *Helvetica Chimica Acta, 56* (5), pp. 1514–1516.
- Salehi, P., Sefidkon, F., Tolami, L. B., & Sonboli, A.** (2005). Essential oil composition of *Salvia palaestina* Benth. from Iran. *Flav Frag J., 20*, pp. 525-527.
- Sarac, N., & Ugur, A.** (2007). Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences, 4*, pp. 28-37.
- Saxena, K.** (1997). Antimicrobial Screening of Selected Medicinal Plants from India. *Journal of Ethnopharmacology, 58* (2), pp. 75-83.
- Sbihi, M.** (2012). étude de la diversité génétique par les marqueurs RAPD de plusieurs populations de *Salvia algeriensis*. *Thèse Master II* . Université de Chlef.
- Scalbert, A., Monties, B., & Janin, G.** (1989). Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *J Agric Food Chem, 37*, pp. 1324-1329.

Références Bibliographiques

- Schelz, S., Hohmann, J., & Molnar, J.** (2010). Recent advances in research of antimicrobial effects of essential oils and plant derived compounds on bacteria. *Ethnomedicine: A Source of Complementary Therapeutics* , pp. 179-201 ISBN: 978-81-308-0390-6 .
- Schnitzler, P., Schon, K., & Reichling, J.** (2001). Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie* , 56, pp. 343–347.
- Schwartz, R., Davis, R., & Hilton, T. J.** (1992). Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement. *Am. J. Dent* , 5 (3), pp. 147-150.
- Scully, R.** (2008). *KEY TO LAMIACEAE OF COLORADO (Mint Family)*. Colorado, USA: Univ Colorado Press.
- Seigler, D. S.** (1998). *Plant Secondary Metabolism*. Dordrecht: Kluwer, 759 p.
- Senatore, F.** (1996). Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *J. Agric. Food Chem.* , 44 (5), pp. 1327–1332.
- Sharififar, F., Mozaffarian, V., & Moradkhani, S.** (2007). Comparison of antioxidant and free radical scavenging activities of the essential oils from flowers and fruits of *Otostegia persia*. *Boiss. Pak. J. Biol. Sci* , 10, pp. 3895-3899.
- Siani, A. C., Ramos, M. S., Menezes-de-Lima, O. J., Ribeiro-dos-Santos, R., Fernandez-Ferreira, E., Soares, R. O., et al.** (1999). Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology* , 66 (1), pp. 57-69.
- Smajda, J.** (2009). *Les huiles essentielles*. Colloque GP3A, Tananarive, Madagascar:2-3 juillet 2009.
- Small, E., & Catling, P. M.** (2000). *les cultures médicinales canadiennes, version française de Canadian medicinal crops*. Ottawa, USA: les presses scientifiques du CNRC, 281p.
- Soon-Nang, P., Yun Kyong, L., Marcelo Oliveira, F., Eugene, C., Dongchun, J., & Joong-Ki, K.** (2012). Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe* , 8 (3), pp. 369-372.
- Souici, M. L., Lourici, L., & Messadi, D.** (2007). Relation structure / Retention chromatographique de treize Alkylnaphtalenes. *Lebanese Science Journal* , 8 (1), pp. 63-73.
- Sousa, E., Chiavone-Filho, O., Moreno, M. T., Silva, D. N., Marques, M. O., & Meireles, M. A.** (2002). Experimental Results for the Extraction of Essential Oil From *Lippia sidoides* Cham. Using Pressurized Carbon Dioxide. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* , 19 (2), pp. 229-241.
- Stanley, G., & Simpson, E. J.** (2000). Antioxidants from *Salvia officinalis*. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 185-192). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Sudano Roccaro, A., Rita Blanco, A., Giuliano, F., Rusciano, D., & Enea, V.** (2004). Epigallocatechin-Gallate Enhances the Activity of Tetracycline in Staphylococci by Inhibiting Its Efflux from Bacterial Cells. *Antimicrob Agents Chemother* , 48 (6), pp. 1968–1973.

Références Bibliographiques

- Suffredini, J. B., Sader, H. S., Goncalves, A. G., Reis, A. O., Gales, A. C., Varella, A. D., et al.** (2004). Screening of antimicrobial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rainforest and Atlantic forest. *Brazil. J. Med. Biol. Res* , 37, pp. 379-384.
- Surhone, L. M., Tennoe, M. T., & Henssonow, S. F.** (2010). *Salvia Algeriensis*. New York, USA: Betascript Publishing, 72p.
- Sutton, J.** (1999). *The Gardener's Guide to Growing Salvias*. Portland, Oregon: Timber Press, 160p.
- Tim Cushnie, T., & Andrew, J.** (2005). Antimicrobial activity of flavonoids "Review". *International Journal of Antimicrobial Agents* , 26, pp. 343–356.
- Ultee, A., Gorris, L. G., & Smid, E. J.** (1998). Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *J. Appl. Microbiol.* , 85 (2), pp. 211-218.
- Ulubelen, A.** (2000). Chemical constituents: Terpenoids in the genus *Salvia*. Dans E. K. Spiridon, *SAGE: The genus Salvia* (pp. 55-68). Athens, Greece: Overseas Publishers Association.
- Vansant, G.** (2004). Radicaux libres et antioxydants. Principe de base. *Symposium « antioxydant et alimentation »*. institut DANONE.
- Venkatachalam, K. V., Kjonaas, R., & Croteau, R.** (1984). Development and Essential Oil Content of Secretory Glands of Sage (*Salvia officinalis*). *Plant Physiol* , 76, pp. 148-150.
- Wagner, J., Wagner, M. L., & Hening, W. A.** (1998). Beyond benzodiazepines: alternative pharmacologic agents for the treatment of insomnia. *Ann Pharmacother.* , 32 (6), pp. 680-91.
- Walker, J. B., Kenneth, J., Treutlein, J., & Wink, M.** (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: Implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe *Mentheae*. *American Journal of Botany* , 91 (7), pp. 1115–1125.
- Walsh, G.** (2003). *Biopharmaceuticals: Biochemistry and Biotechnology, 3rd*. Chichester: Wiley, England.
- Walter, S. J., Christopher, S. C., Elizabeth, A. K., & Peter, S.** (2002). *Botanique systématique: une perspective phylogénétique* (éd. traduite). Paris, France: De Boeck Université.
- Wang, J., Zhao, J., Liu, H., Zhou, L., Liu, Z., Wang, J., et al.** (2010). Chemical Analysis and Biological Activity of the Essential Oils of Two Valerianaceous Species from China: *Nardostachys chinensis* and *Valeriana officinalis*. *Molecules* , 15, pp. 6411-6422.
- Wenqiang, G., Shufen, L., Ruixiang, Y., & Shaokun, T.** (2007). Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry* , 100 (1), pp. 1558-1564.
- Willcox, J. K., Ash, S. L., & Catignani, G. L.** (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* , 44 (4), pp. 275-295.
- Yen Tan, T., & Siew Yong Ng, L.** (2006). Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , 58, pp. 864–867.

Références Bibliographiques

- Yun, B. S., Lee IK, I. K., & Kim, J. P.** (2000). Lipid peroxidation inhibitory activity of some constituents isolated from the stem bark of *Eucalyptus globulus*. *Arch Pharm Res* , 23 (2), pp. 147-150.
- Zhang, Y., Xing, L., & Zhezhi, W.** (2010). Antioxidant activities of leaf extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge and related phenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology* , 48, pp. 2656–2662.

LES ANNEXES

Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

I. Les huiles essentielles

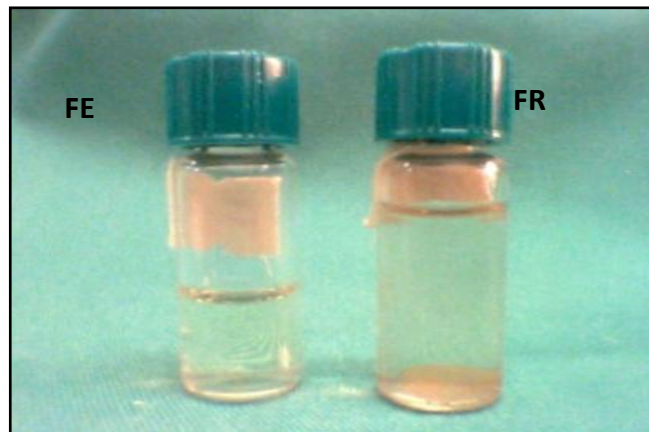


Figure 01: Les huiles essentielles extraites de *Salvia algeriens*



Figure 02: Les huiles essentielles extraites de *Salvia argentea*.

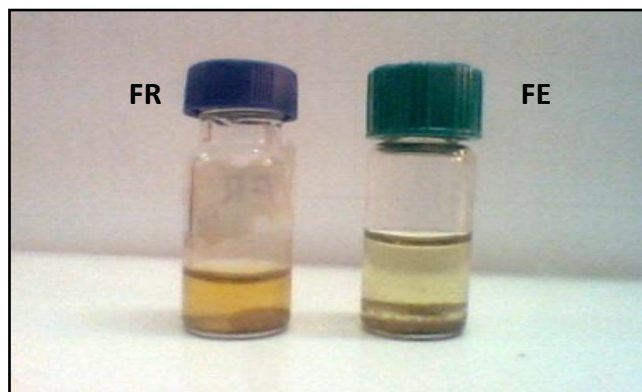


Figure 03: Les huiles essentielles extraites de *Salvia barrelieri*

Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

II. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux

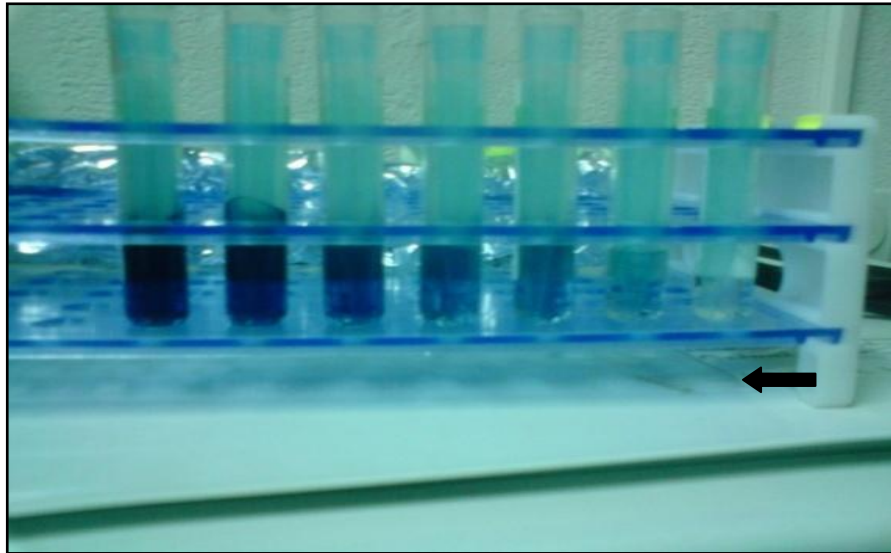


Figure 04: Gamme d'étalonnage en acide gallique
(La flèche indique l'ordre croissant de la concentration).

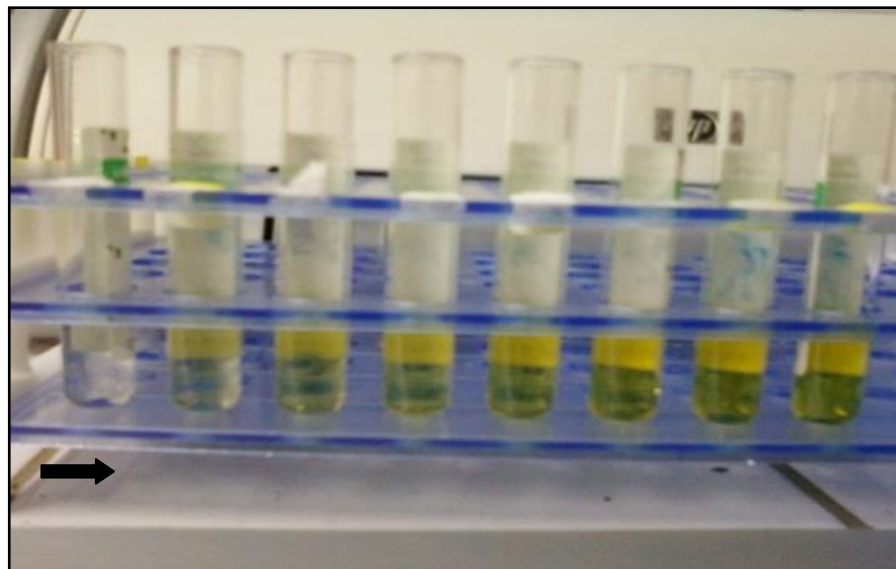


Figure 05: Gamme d'étalonnage des phénols et flavonoïdes totaux
(La flèche indique l'ordre croissant de la concentration).

Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

Tableau I : Préparation de la courbe d'étalonnage des composés phénoliques en acide gallique

Tube	Acide gallique 0.1mg/ml (μ l)	Folin-Ciocalteu (μ l)	Na ₂ CO ₃ (75g.L ⁻¹)	Eau distillé (μ l)	Acide gallique (μ g)
Blanc	00	500	400	1000	00
01	50	500	400	950	05
02	100	500	400	900	10
03	150	500	400	850	15
04	200	500	400	800	20
05	250	500	400	750	25
06	300	500	400	700	30

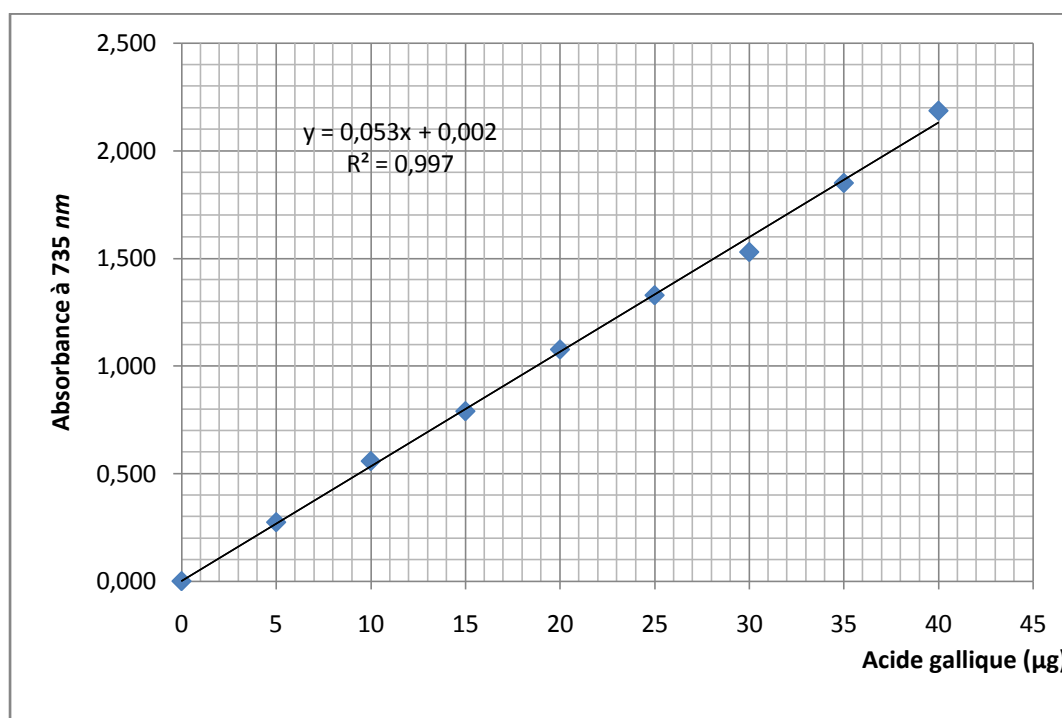


Figure 06: Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux.

Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

Tableau II : Préparation de la courbe d'étalonnage des flavonoïdes en quercétine

Tube	Quercétine 0.1mg/ml (μ l)	AlCl3 0,2% (μ l)	Méthanol (μ l)	Teneur en quercétine (μ g)
Blanc	00	1000	1000	00
01	50	1000	950	05
02	100	1000	900	10
03	150	1000	850	15
04	200	1000	800	20
05	250	1000	750	25
06	300	1000	700	30
07	350	1000	650	35

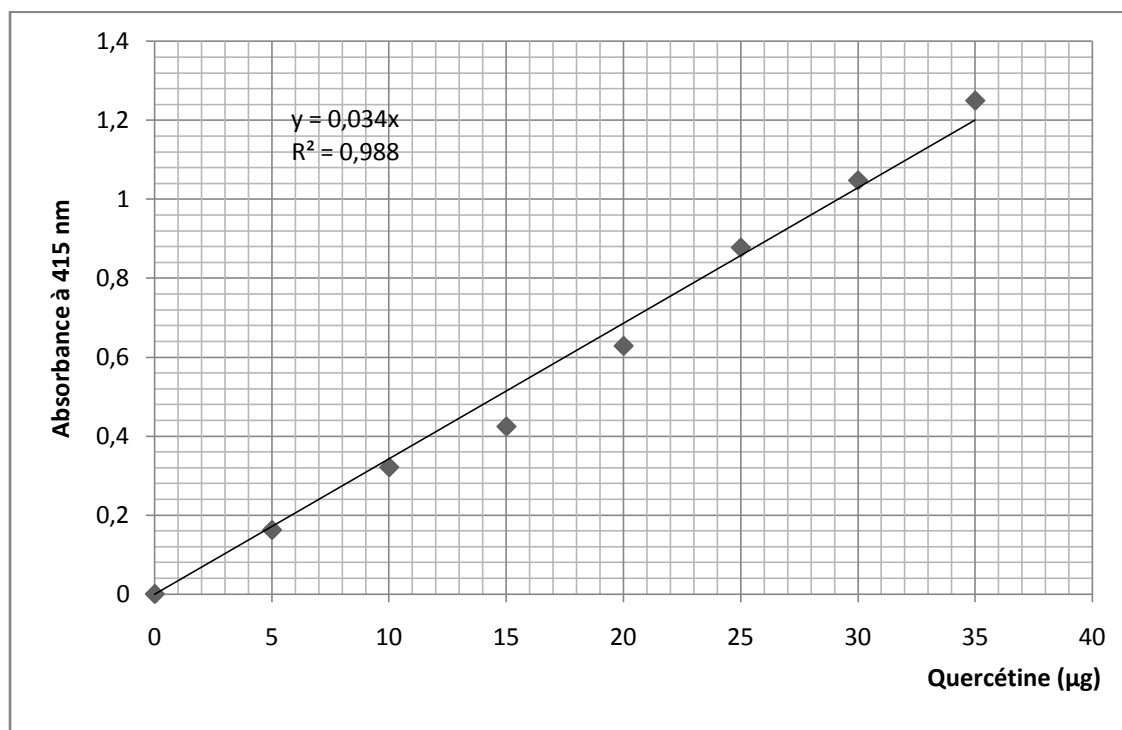


Figure 07: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux.

Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

III. GC/MS des huiles essentielles

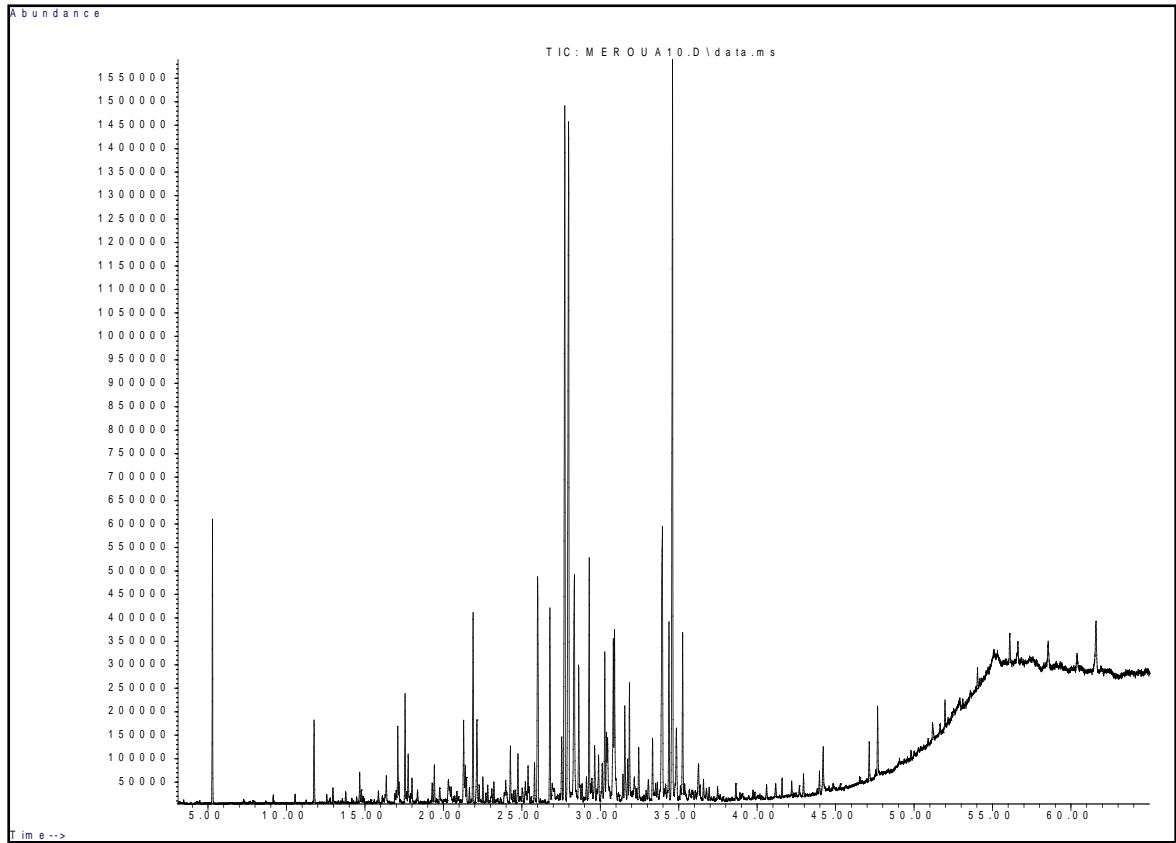
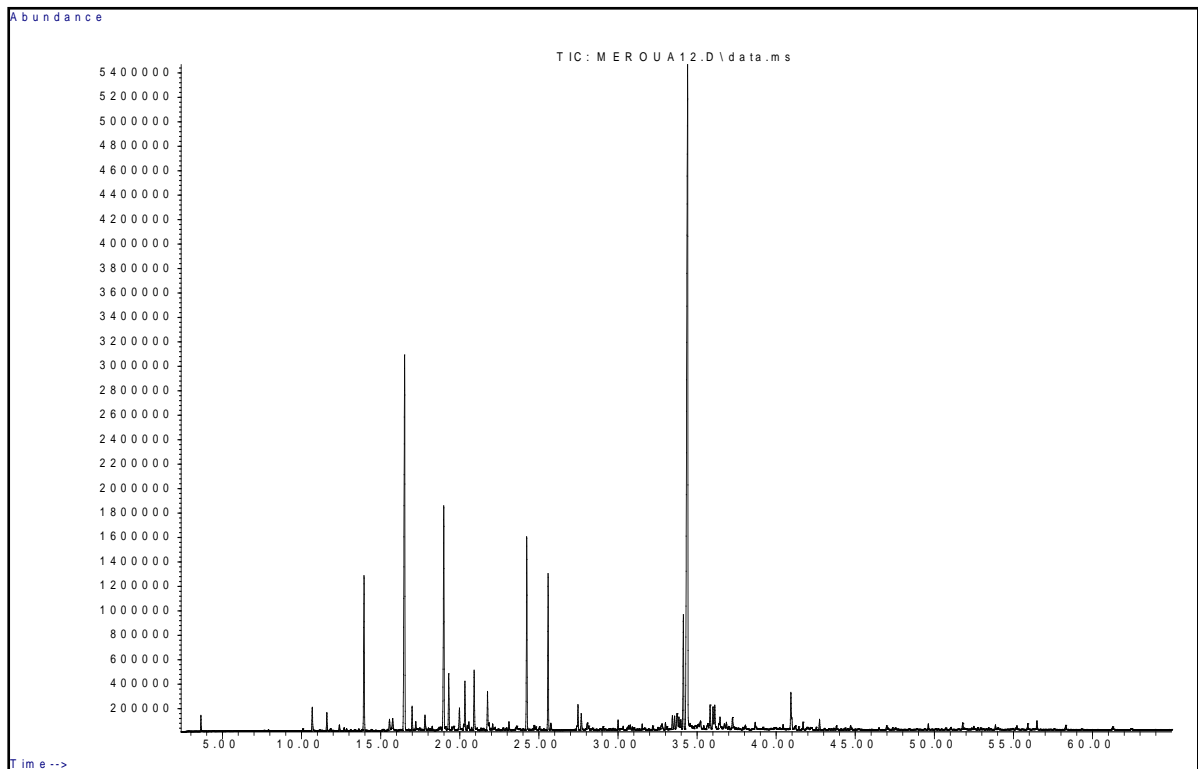


Figure 08: Chromatogramme de l'huile essentielle des FE de *S. algeriensis*.



Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

Figure 09: Chromatogramme de l'huile essentielle des FR de *S. algeriensis*.

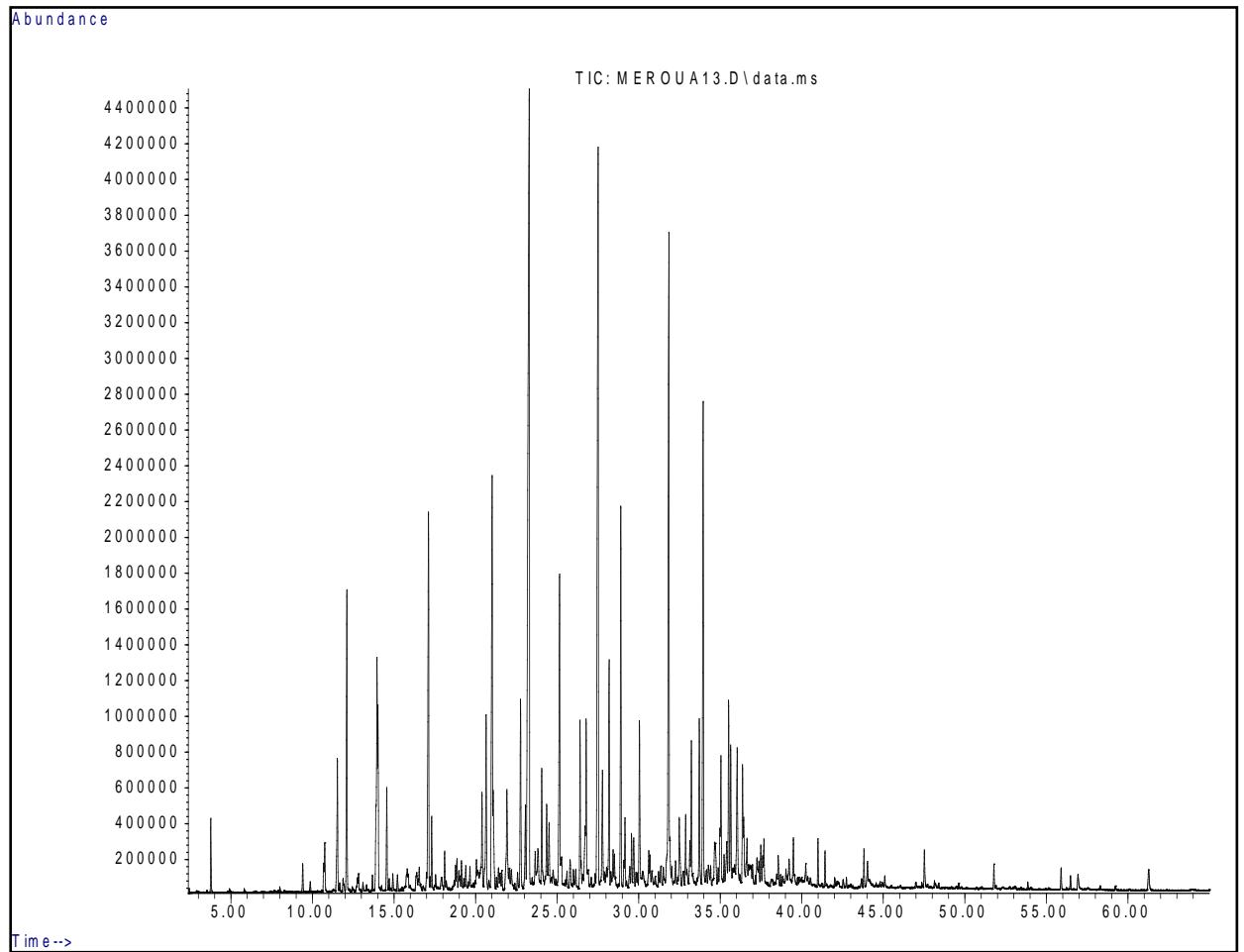


Figure 10: Chromatogramme de l'huile essentielle des FR de *S. barrelieri*.

Annexes I: Huiles essentielles et composés phénoliques

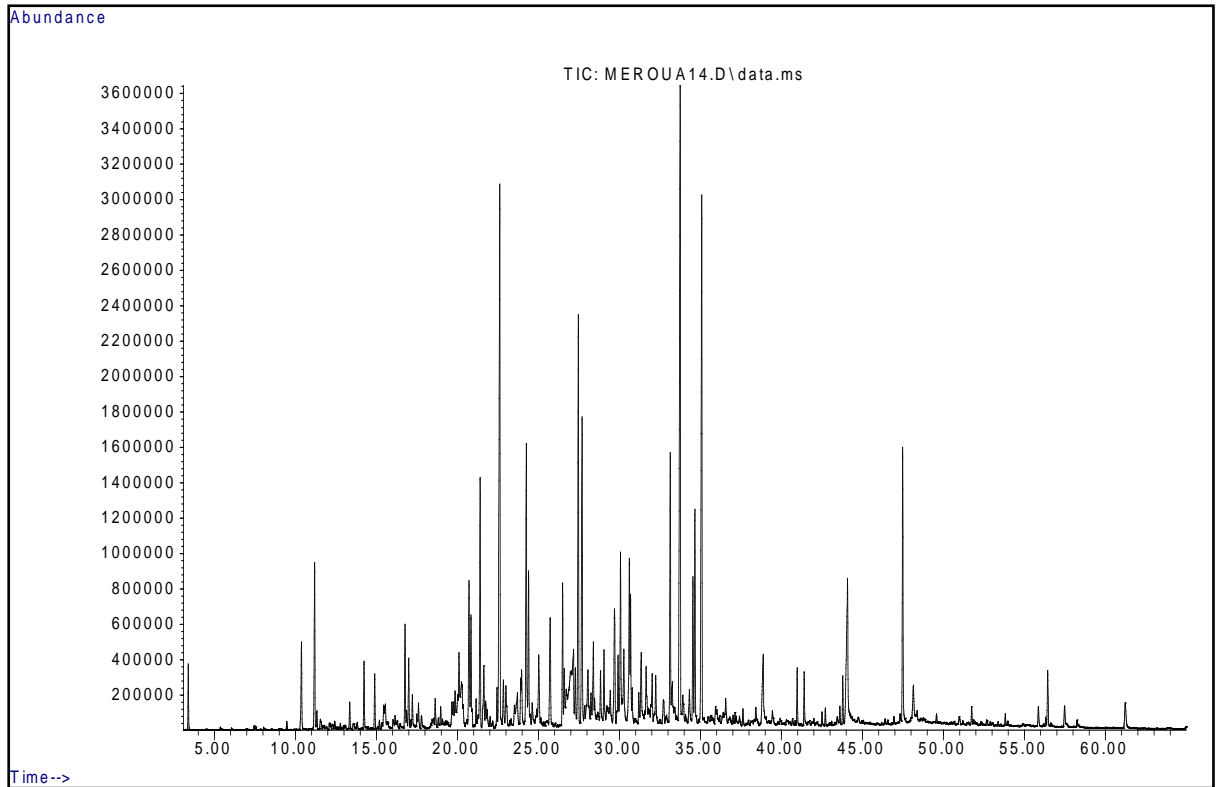


Figure 11: Chromatogramme de l'huile essentielle des FE de *S. barrelieri*.

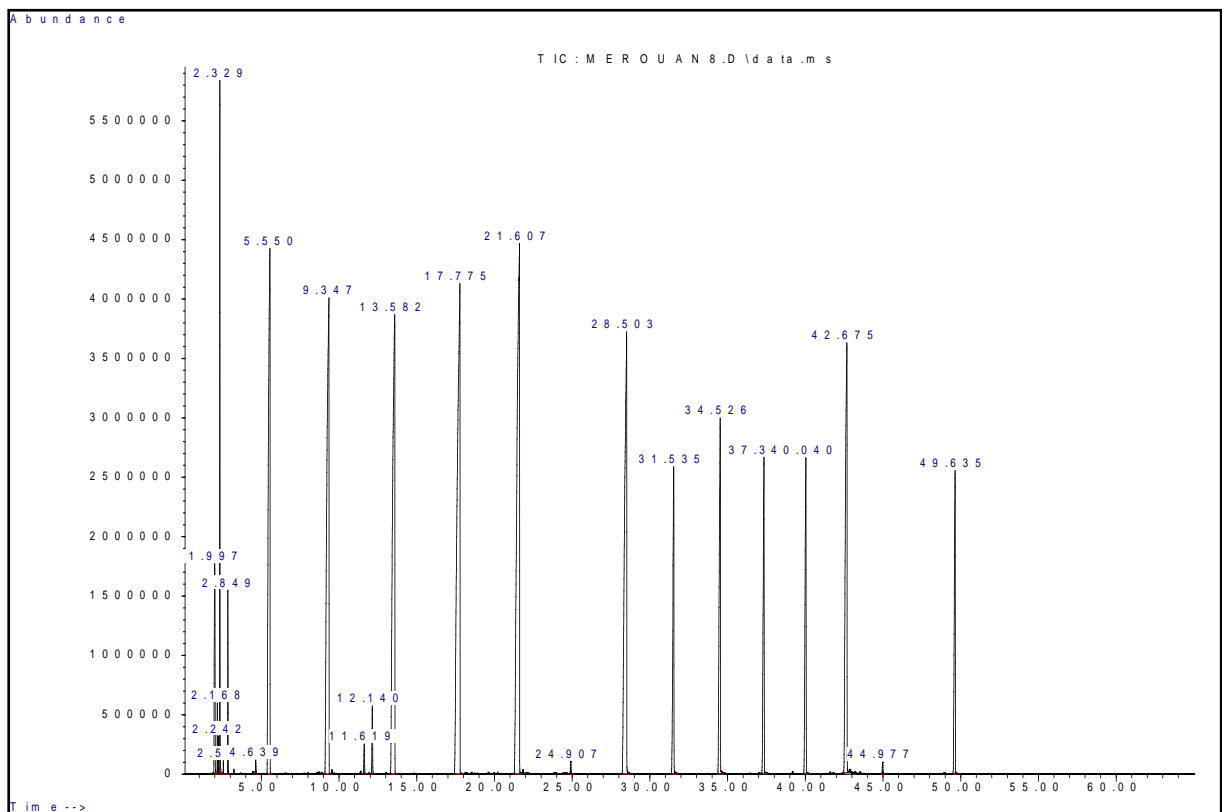


Figure 12: Chromatogramme de la série d'alcane.

Annexes II: Activité antibactérienne

IV. Composition de milieux de culture

Mueller Hinton (q. s. p 1 litre)

Infusion de viande de bœuf.....	300 ml
Hydrolysate de Caséine	17,5 g
Amidon.....	1,5 g
Agar	10 g
pH.....	7.4

V. Activité antibactérienne

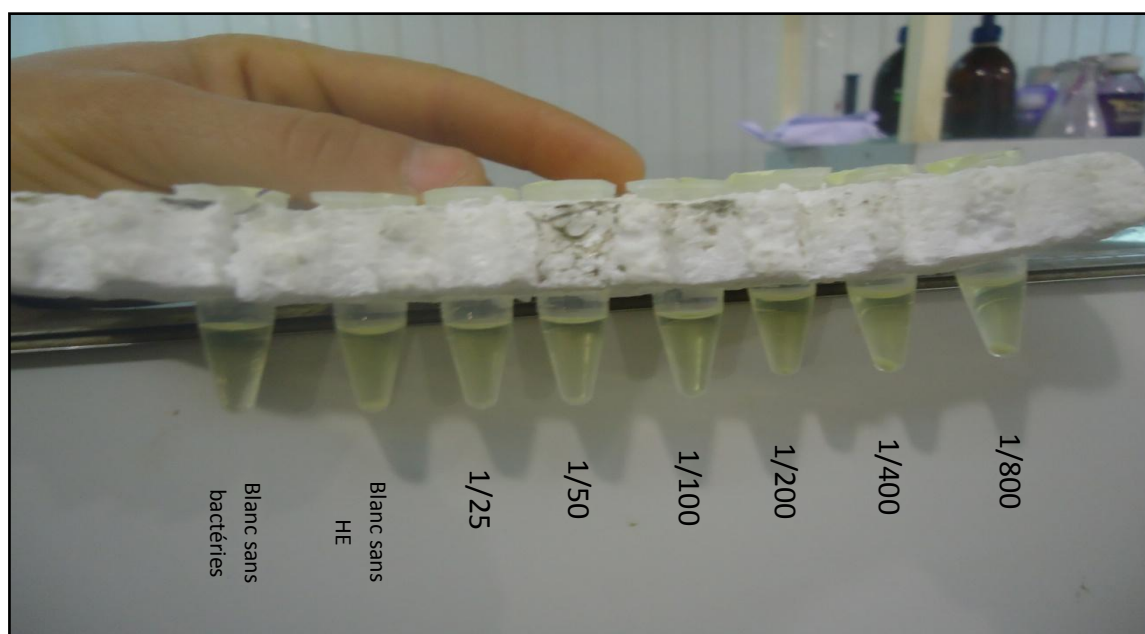


Figure 01: Concentration minimale inhibitrice (1/200 v/v) des huiles essentielles des fleurs de *Salvia algeriensis* sur *Helicobacter pylori*.

Tableau I : Fourchette de sensibilité selon le diamètre du halo de la zone d'inhibition selon BELAICHE, (1979).

Diamètre	Expression
0 mm	Résistant
05 mm	Peu sensible
10 mm	sensible
20-30 mm	Assez sensible
> 30 mm	Très sensible

Le diamètre de disque est soustrait

Annexes II: Activité antibactérienne

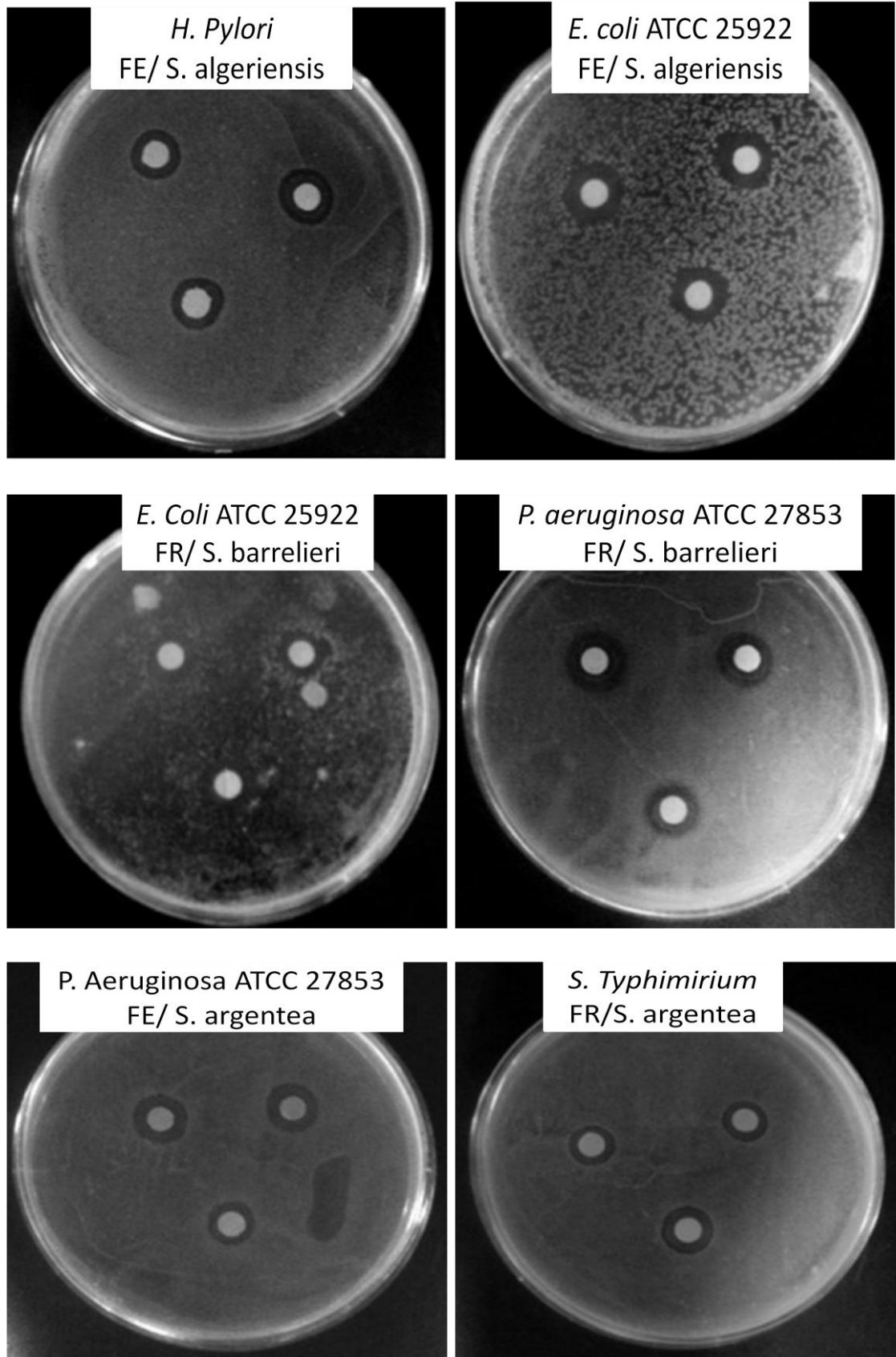


Figure 02: Quelques effets antibactériens des huiles essentielles.

Annexes III: Analyses statistiques

1. Contenu phénolique et flavonoïque

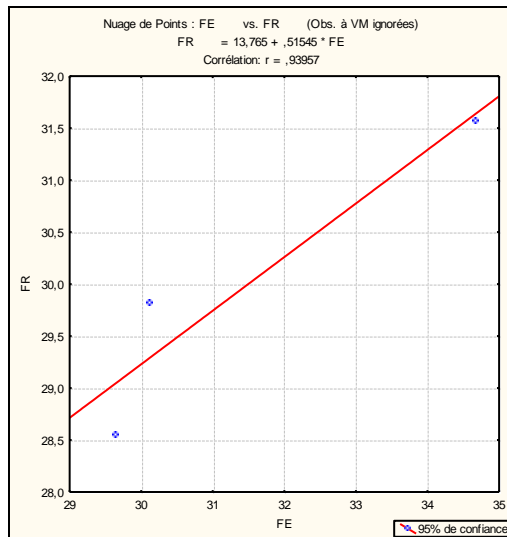


Figure 01: Corrélation entre les FE et les FR de point de vue contenu phénolique.

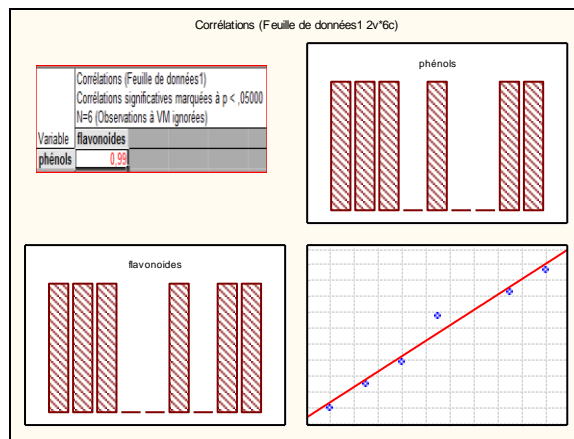


Figure 02: Corrélation entre la teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

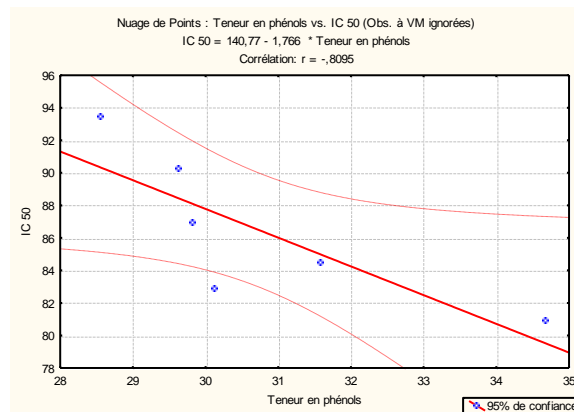


Figure 03: Corrélation entre la teneur en polyphénols et la valeur d'IC₅₀.

Annexes III: Analyses statistiques

2. Analyse de la variance ANOVA

2.1. Teneur en polyphénols

Tableau I : Analyse du modèle (Type I SS) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
espèce	2	53,762	26,881	41,352	< 0,0001
type d'organe	1	9,886	9,886	15,209	0,002
espèce*type d'organe	2	6,280	3,140	4,830	0,029

Tableau II : Analyse du modèle (Type III SS) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
espèce	2	53,762	26,881	41,352	< 0,0001
type d'organe	1	9,886	9,886	15,209	0,002
espèce*type d'organe	2	6,280	3,140	4,830	0,029

2.2. Teneur en flavonoïdes

Tableau III : Analyse du modèle (Type I SS) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
espèce	2	19,382	9,691	163,484	< 0,0001
type d'organe	1	0,252	0,252	4,252	0,062
espèce*type d'organe	2	0,232	0,116	1,958	0,184

Tableau IV : Analyse du modèle (Type III SS) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
espèce	2	19,382	9,691	163,484	< 0,0001
type d'organe	1	0,252	0,252	4,252	0,062
espèce*type d'organe	2	0,232	0,116	1,958	0,184

Annexes III: Analyses statistiques

2.3. **Activité antioxydante** **Le test β -carotène/acide linoléique**

Tableau V : Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle BHT avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique d	Différence critique	Significatif
ASCORBIC ~ BHT	-5,213	-62176,786	2,887	0,000	Oui
S. brl ~ BHT	-41,008	-564749,072	2,887	0,000	Oui
S. alg ~ BHT	-45,413	-625412,776	2,887	0,000	Oui
S. arg ~ BHT	-54,327	-748163,359	2,887	0,000	Oui

Tableau VI : Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle ASCORBIC avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique d	Différence critique	Significatif
BHT ~ ASCORBIC	5,213	62176,786	2,887	0,000	Oui
S. brl ~ ASCORBIC	-35,795	-492953,238	2,887	0,000	Oui
S. alg ~ ASCORBIC	-40,200	-553616,985	2,887	0,000	Oui
S. arg ~ ASCORBIC	-49,113	-676367,556	2,887	0,000	Oui

Le test DPPH

Tableau VII : Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle BHT avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique d	Différence critique	Significatif
S. arg ~ BHT	74,310	2100262,124	2,887	0,000	Oui
S. brl ~ BHT	67,390	1904678,706	2,887	0,000	Oui
S. alg ~ BHT	65,137	1840991,406	2,887	0,000	Oui
ASCORBIC ~ BHT	-12,657	-309795,412	2,887	0,000	Oui

Tableau VIII : Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle ASCORBIC avec un intervalle de confiance à 95,00 % :

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique d	Différence critique	Significatif
S. arg ~ ASCORBIC	86,967	2457983,955	2,887	0,000	Oui
S. brl ~ ASCORBIC	80,047	2262400,413	2,887	0,000	Oui
S. alg ~ ASCORBIC	77,793	2198713,265	2,887	0,000	Oui
BHT ~ ASCORBIC	12,657	309795,412	2,887	0,000	Oui

Annexes III: Analyses statistiques

2.4. Activité antibactérienne

Tableau IX: Tests Multivariés de Significativité, montrant l'effet significatif de l'espèce sur l'activité antibactérienne.

	Test	Valeur	F	Effet	Erreur	p
ord. origine	Wilk	0,000314	397,5962	8	1	0,038768
Espèce	Wilk	0,000001	117,3716	16	2	0,008479
Organe de la plante	Wilk	0,001434	87,0275	8	1	0,082726

Tableau X : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *E. Coli*

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. argentea ~ S. barrelieri	12,250	21,218	3,462	0,006	Oui
S. argentea ~ S. algeriensis	10,500	18,187	3,462	0,006	Oui
S. algeriensis ~ S. barrelieri	1,750	3,031	3,462	0,083	Non
FR ~ FE	0,000	0,000	3,068	1,000	Non

Tableau XI : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *S. Typhimirium*

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. algeriensis ~ S. argentea	10,000	18,516	3,462	0,006	Oui
S. algeriensis ~ S. barrelieri	9,500	17,591	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. argentea	0,500	0,926	3,462	0,793	Non
FE ~ FR	6,5	14,74	3,068	0,0036	Oui

Tableau XII: Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *S. aureus* ATCC 25923

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. argentea ~ S. barrelieri	1,500	1,643	3,462	0,424	Non
S. argentea ~ S. algeriensis	0,250	0,274	3,462	0,992	Non
S. algeriensis ~ S. barrelieri	1,250	1,369	3,462	0,558	Non
FE ~ FR	4,666	6,261	3,068	0,005	Oui

Annexes III: Analyses statistiques

Tableau XIII : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *S. aureus*

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. argentea ~ S. algeriensis	10,250	11,520	3,462	0,006	Oui
S. argentea ~ S. barrelieri	9,250	10,396	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. algeriensis	1,000	1,124	3,462	0,690	Non
FE ~ FR	1,167	1,606	3,068	0,314	Non

Tableau XIV : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *P. vulgaris*

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. algeriensis ~ S. argentea	8,000	10,119	3,462	0,006	Oui
S. algeriensis ~ S. barrelieri	5,500	6,957	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. argentea	2,500	3,162	3,462	0,071	Non
FE ~ FR	0,500	0,775	3,068	0,731	Non

Tableau XV : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *P. mirabilis*

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. barrelieri ~ S. algeriensis	6,500	9,601	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. argentea	6,250	9,232	3,462	0,006	Oui
S. argentea ~ S. algeriensis	0,250	0,369	3,462	0,981	Non
FE ~ FR	2,167	3,920	3,068	0,018	Oui

Tableau XVI : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *E. coli* ATCC 25922

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. argentea ~ S. barrelieri	10,000	14,142	3,462	0,006	Oui
S. argentea ~ S. algeriensis	7,750	10,960	3,462	0,006	Oui
S. algeriensis ~ S. barrelieri	2,250	3,182	3,462	0,069	Non
FE ~ FR	0,000	0,000	3,068	1,000	Non

Annexes III: Analyses statistiques

Tableau XVII : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *P. aeruginosa* ATCC 27853

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. argentea ~ S. algeriensis	7,750	12,006	3,462	0,006	Oui
S. argentea ~ S. barrelieri	4,750	7,359	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. algeriensis	3,000	4,648	3,462	0,014	Oui
FR ~ FE	1,000	1,897	3,068	0,220	Non

Tableau XVIII : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *H. pylori*

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. argentea ~ S. algeriensis	7,000	9,165	3,462	0,006	Oui
S. argentea ~ S. barrelieri	5,750	7,529	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. algeriensis	1,250	1,637	3,462	0,427	Non
FR ~ FE	0,000	0,000	3,068	1,000	Non

Tableau XIX : Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95,00 % (Tukey) pour *Citrobacter* ssp

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr. > Diff	Significatif
S. barrelieri ~ S. argentea	4,250	9,311	3,462	0,006	Oui
S. barrelieri ~ S. algeriensis	2,500	5,477	3,462	0,007	Oui
S. algeriensis ~ S. argentea	1,750	3,834	3,462	0,033	Oui
FR ~ FE	1,500	4,025	3,068	0,016	Oui

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى فحص التركيب الكيميائي، النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا للزيوت العطرية المستخرجة من أوراق وزهور ثلاثة أنواع من جنس المريمية [*Salvia barrelieri* و *Salvia argentea*, *Salvia algeriensis*]، وكذلك المحتوى الكمي من المركبات الفينولية و الفلانوويدية لأجزاء هذه النباتات.

نتائج تحليل الكروماتوغرافيا الغازية /الطيف الكتلي (GC/MS) حددت 45 مركبا (94.61%) في الزيت العطرية المستخلصة من أوراق *Salvia algeriensis* و 39 مركبا، ما يُمثّل (98.03%) لزيت أزهارها. تم العثور على أعلى النسب من حيث المكونات في الزيت العطرية المستخلص من أوراق *S. barrelieri* مع 81 مركبا (99.44%)، يليه زيت الزهور من هذه المريمية مع 76 مركبا أي ما يعادل 99.96%. في حالة المريمية الفضية (*S. argentea*) أعطى التحليل نتائج غير صالحة للاستعمال.

تم الحصول على نتائج متناسقة بين محتوى المركبات الفينولية و الفلانوويدية و النشاط المضاد للأكسدة الذي تم اختياره بنظامين تكمليين، اختبار الجذر الحر 2،2-ثنائي الفينيل بيكريليد هيدرازيل (DPPH) ونظام β -كاروتين /حمض اللينولييك. وأظهرت زيوت الأوراق تفوقا على الزهور، مع أولوية على التوالي ل *S. barrelieri* و *S. algeriensis* على *S. argentea*.

كذلك، لتحديد النشاط المضاد للبكتيريا ضد عشرة سلالات، تم استخدام اختبارين هما الانتشار عن طريق القرص و التركيز الأدنى المثبط. تأثير زيوت أوراق و أزهار *S. argentea* هو المرتفع و يتبع هذا التأثير من قبل *S. algeriensis* و *S. barrelieri* على التوالي.

الكلمات المفتاح: *Salvia barrelieri*, *Salvia argentea*, *Salvia algeriensis*، الزيوت العطرية، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة، متفاعل الفولين سيوكالتو، الكروماتوغرافيا الغازية /الطيف الكتلي.

Abstract

Essential oils of leaves and flowers of three different *Salvia* species [*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* and *Salvia barrelieri*] were screened for their possible antioxidant and antibacterial properties as well as their chemical compositions, moreover of the content of total phenolics compounds of the parts of these species.

The GC/MS (gas chromatography/mass spectrum) analysis results were identified in essential oils of *S. algeriensis*: 45 compounds (94.61 %) for the leaves, 39 compounds (98.03 %) for the flowers. The highest number of constituents was found at leaves of *S. barrelieri* with 81 compounds (99.44%), leaves followed by flowers of this sage with 76 compounds (99.96 %). In the case of *S. Argentea*, GC/MS results are unexploitable.

Equivalent results were obtained in the amount of total phenolics and flavonoids with antioxidant activity examined by two complementary test systems namely 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging and β -carotene/linoleic acid systems. Leaves were found to be higher than flowers, with favour of *S. algeriensis* then *S. barrelieri* against *S. argentea*.

In the case of antibacterial activity, also two tests are employed: disc diffusion and MIC (Minimal Inhibitory Concentration). Antibacterial activity of *S. argentea* (leaves and flowers) was found to be the higher, following by *S. algeriensis* and *S. barrelieri*, respectively.

Key words: *Salvia algeriensis*, *Salvia argentea*, *Salvia barrelieri*, essential oils, antibacterial activity, antioxidant activity, Folin-Ciocalteu, GC/MS.

Résumé

Les huiles essentielles des feuilles et des fleurs de trois espèces de genre *Salvia* [*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* and *Salvia barrelieri*] ont été examinées pour leur possible activité antioxydante et antibactérienne, aussi bien que leurs compositions chimiques, et la teneur en composés phénoliques et flavonoïques totaux des parties de ces espèces.

Les résultats de l'analyse GC/MS (chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse) ont identifiés 45 composés (94.61 %) pour les huiles essentielles des feuilles de *Salvia algeriensis* et 39 composés (98.03 %) pour leurs fleurs, le nombre de constituants le plus élevé est aperçu dans les huiles essentielles des feuilles de *S. barrelieri* avec 81 composés (99.44 %) suivie par les fleurs de cette sauge avec 76 composés (99.96 %). Dans le cas de *Salvia argentea*, la GC/MS a donné des résultats non exploitables.

Une équivalence des résultats est obtenue entre la teneur en composés phénoliques et flavonoïques avec ceux de l'activité antioxydante testée par deux systèmes complémentaires; le piégeage par le radical libre 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et le système β -carotène/acide linoléique. Les feuilles ont montré une supériorité par rapport aux fleurs, avec avantage de *S. algeriensis* et *S. barrelieri* sur *S. argentea*.

De même deux tests ont été utilisés pour déterminer l'activité antibactérienne contre dix souches; la diffusion sur disques et la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice). L'effet antibactérien de *S. argentea* (feuilles et fleurs) est le plus élevé, cet effet est suivi par celui de *S. algeriensis* et *S. barrelieri*, respectivement.

Mots clés: *Salvia algeriensis*, *Salvia argentea*, *Salvia barrelieri*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antioxydante, Folin-Ciocalteu, GC/MS.