



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem**  
**Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie**  
**Département de Biologie**

**UNIVERSITÉ**  
**Abdelhamid Ibn Badis**  
**MOSTAGANEM**

**UNIVERSITÉ**  
**Abdelhamid Ibn Badis**  
**MOSTAGANEM**

# Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de  
**MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE**

**Spécialité : Biochimie appliquée**

Par  
**KOUROULOU KAOUTER FAIZA**

Thème :

**Caractérisation et valorisation des huiles essentielles des graines de chia « Salvia hispanica » et leur effet stimulateur sur la viabilité de quelques ferments lactiques**

**Soutenue le 25/06/2023 devant le jury composé de :**

<b>Président</b>	<b>REBAI OUAFAE</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>BAHLOUL HALIMA AURASS</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Examinateur</b>	<b>SIDHOUM WARDA</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Co-encadreur</b>	<b>ZERIOUH ILHEM FATIMA</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Mostaganem</b>

**Année Universitaire : 2022/2023**

## *Dédicace :*

### *Je dédie ce travail*

*À mes parents la lumière de ma vie, ma source de joie et de bonheur  
aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne  
cessent de me témoigner.*

*Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*À ma famille, mes proches, pour leurs encouragements permanents, et leur  
soutien moral*

*À tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin  
dans ce travail, je leur suis reconnaissante du fond du cœur, merci ! Que  
dieux vous réserve de très belles surprises dans votre vie*

*Kawtar*

***Remerciement :***

Avant tout je remercie ALLAH le tout puissant, de m'avoir donné la force, le courage, la volonté et la patience pour accomplir ce travail

Je tiens avant tout à exprimer mes sincère reconnaissances à ma directrice de mémoire **Mme BAHLOUL HALIMA** pour son aide, sa patience, sa gentillesse et ses orientations durant la réalisation de ce mémoire

J'adresse mes vifs remerciements aux membres de jury, madame **REBAI OUAFAE** qui m'a fait l'honneur de présider le Jury, madame **SIDHOUM WARDA** pour avoir accepté d'examiner mon travail, madame **ZERIOUH ILHEM** pour ses conseils et sa bienveillance

Un remerciement profond et sincère gratitude envers tous ceux qui ont contribué de loin ou de près pour mon travail

Enfin, mes remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoire de biologie

***Kawtar***

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**ABTS** : 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

**ADN** : Acide désoxyribo nucléique

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**AlCl<sub>3</sub>** : Le chlorure d'aluminium

**B. cereus** : Bacille cereus

**cm** : centimètre

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**COOH** : Acide carboxylique

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse

**CPG-SM** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

**Da** : Dalton

**DMPD** : Dimethyl-p-phenylenediamine

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DO** : Densité optique

**DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**E. faecalis** : Enterococcus faecalis

**E.coli** : Escherichia coli

**EMSH** : Extrait méthanolique de *Salvia hispanica*

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**FeCl<sub>3</sub>** : Tri chlorure de fer

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power.

**g** : grammes

**HCL** : Chlorure d'hydrogène

**HE** : Huile essentielle

**HEs** : Huiles essentielles

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%.

**M. luteus** : *Micrococcus luteus*

**Mg** : Magnésium

**min** : minutes

**ml** : Millilitres

**mm** : millimètre

**MRS** : Man, Rogosa, Sharpe

**MS** : Matière Sèche

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniac

**P. aeruginosa** : *Pseudomonas aeruginosa*

**PBS** : phosphate-buffered saline

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**ROS** : Espèces réactives oxygénées

**S. aureus** : *Staphylococcus aureus*

**S.hispanica** : *Salvia hispanica*

**SFME** : Solvent free microwave extraction

**TROSC** : Total oxyradical scavenging capacity

**%** : Pourcentage

**C °** : degré Celsius

**µg EAG/gMS** : Microgramme d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

**µg EQ/g MS** : Microgramme d'équivalent de quercitine par gramme de matière sèche

**µg** : Microgramme

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Différents genres de bactéries lactiques et leurs caractéristiques .....	<b>23</b>
<b>Tableau 2:</b> Résultat du rendement d'extraction des graines de <i>S. hispanica</i> .....	<b>32</b>
<b>Tableau 3:</b> Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait méthanolique des graines <i>S. hispanica</i> .....	<b>32</b>
<b>Tableau 4 :</b> IC <sub>50</sub> et inhibitions maximales de l'extrait méthanolique déterminés par la méthode de DPPH .....	<b>36</b>
<b>Tableau 5:</b> Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait méthanolique et le contrôle positif (diclofénac sodique) à différentes concentrations .....	<b>37</b>
<b>Tableau 6:</b> Diamètre (mm) des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique de <i>S. hispanica</i> .....	<b>38</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Culture et dispersion du chia .....	<b>04</b>
<b>Figure 2:</b> La plante <i>Salvia hispanica</i> .....	<b>05</b>
<b>Figure 3 :</b> Les graines de Chia.....	<b>06</b>
<b>Figure 4 :</b> Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante .....	<b>12</b>
<b>Figure 5:</b> Schéma du montage de l'hydrodistillation .....	<b>13</b>
<b>Figure 6:</b> Extraction sans solvant assistée par micro-ondes .....	<b>15</b>
<b>Figure 7:</b> Forme libre et réduite du DPPH .....	<b>21</b>
<b>Figure 8:</b> Hydrodistillation par Entraînement de la vapeur.....	<b>24</b>
<b>Figure 9 :</b> Le dispositif de l'hydrodistillation (Clevenger).....	<b>25</b>
<b>Figure 10 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	<b>33</b>
<b>Figure 11:</b> Teneur des polyphénols totaux en $\mu\text{g EAG/g MS}$ .....	<b>34</b>
<b>Figure 12 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine .....	<b>34</b>
<b>Figure 13 :</b> Teneur des flavonoïdes en $\mu\text{g EQ/g MS}$ .....	<b>35</b>
<b>Figure 14 :</b> Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.....	<b>35</b>
<b>Figure 15:</b> Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique .....	<b>36</b>
<b>Figure 16:</b> Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par le diclofénac sodique et l'extrait méthanolique.....	<b>37</b>
<b>Figure 17 :</b> L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations.....	<b>39</b>

## Table des matières

Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	01
<b>I. Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre I: Salvia hispanica</b>	
I.1. Origine et l’historique .....	03
I.2. Distribution géographique .....	03
I.3. Description morphologique .....	05
I.4. Classification taxonomique.....	05
I.5. Les graines de Salvia hispanica .....	06
I.5.1. Intérêt médicinal .....	07
I.5.2. Intérêt commercial .....	07
<b>Chapitre II: Les huiles essentielles et les composés phénoliques</b>	
II.1. Huiles essentielles .....	08
II.1.1. Composition chimique des huiles essentielles.....	08
II.1.1.1. Les terpènes et les terpénoïdes .....	08
II.1.1.2. Les phényl propanoïdes .....	09
II.1.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	09
II.1.3. Utilisation des huiles essentielles .....	09
II.1.3.1. En pharmacie .....	09
II.1.3.2. En agriculture .....	10
II.1.3.3. En cosmétologie et parfumerie .....	10
II.1.3.4. Dans l’industrie alimentaire .....	11
II.1.4. Les méthodes conventionnelles d’extraction des huiles essentielles .....	11
II.1.4.1. Distillation .....	11
II.1.4.1.1. Entraînement à la vapeur d’eau .....	11



II.1.4.1.2. Hydrodistillation .....	12
II.1.4.2. Expression à froid .....	13
II.1.4.3. Extraction par solvant organique .....	14
II.1.4.4. Extraction assistée par micro-ondes .....	14
II.2. Les composés phénoliques .....	16
II.2. Les principales classes de composés phénoliques .....	16
II.2.1. Les acides phénoliques .....	17
II.2.2. Les flavonoïdes .....	17
II.2.3. Les tanins .....	18
 <b>Chapitre III : Les activités biologiques</b>	
III.1. Activité antioxydante .....	19
III.1.1. Définition d'un radical libre .....	19
III.1.2. Les antioxydants .....	19
III.1.3. Activité antioxydante des composés phénoliques .....	19
III.1.4. Mécanisme d'action des antioxydants .....	19
III.1.5. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant .....	20
III.1.6. Méthodes d'évaluations de l'activité antioxydante .....	20
III.1.6.1. Méthode du piégeage du radical libre DPPH .....	20
III.1.6.2. Méthode du piégeage du radical libre ABTS .....	21
 <b>Chapitre IV : Les ferments lactiques</b>	
IV-1. Généralités .....	22
IV-2. Caractéristiques principales des bactéries lactiques .....	22
IV-3 Classification des bactéries lactiques .....	23
IV-4. Principaux genres des bactéries lactiques .....	23
 <b>II. Partie expérimentale</b>	
 <b>Chapitre V: Matériel et méthodes</b>	
V.1. Matériel végétal .....	24
V.2. Méthodes .....	24
V.2.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation .....	
V.2.1.1. Entraînement à la vapeur .....	24
V.2.1.2. Hydrodistillation .....	24
V.2.2. Extraction par macération .....	25

V.2.3. Analyse qualitative .....	26
V.2.3.1. Screening phytochimique .....	26
V.2.4. Analyse quantitative .....	28
V.2.4.1.1. Dosage des polyphénols totaux .....	28
V.2.4.2. Dosage des flavonoïdes .....	28
V.2.5. Evaluation de l'activité antioxydante <i>In vitro</i> .....	29
V.2.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vitro</i> .....	30
V.2.6.1. Test de dénaturation l'albumine d'œuf.....	30
V.2.7. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les ferments lactiques	30

## **Chapitre VI: Résultats**

VI.1. Rendement .....	32
VI.2. Analyse qualitative.....	32
VI.3. Analyse quantitative.....	33
VI.3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT) .....	
VI.3.2. Teneur en flavonoïdes .....	34
VI.4. Activité antioxydante .....	35
VI.4.1. Le piégeage du radical libre DPPH.....	35
VI.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire .....	36
VI.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les ferments lactiques.....	38

## **Chapitre VII: Discussion**

VII.1. Rendement .....	40
VII.2. Screening phytochimique .....	40
VII.3. La teneur en composés phénoliques .....	41
VII.4. Evaluation de l'activité antioxydante .....	41
VII.4.1. Le piégeage du radical libre DPPH.....	41
VII.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>In vitro</i> .....	42
VII.5.1. Test de dénaturation l'albumine d'œuf.....	42
VII.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les ferments lactiques .....	43
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>45</b>

## Résumé :

La plante *Salvia hispanica* est une plante herbacée annuelle de la famille Lamiaceae, traditionnellement utilisée pour traiter diverses maladies. Elle est dotée de composants bioactifs possédant des activités antioxydantes, anti-inflammatoires. La première partie de l'étude consiste à extraire les huiles essentielles, préparer de l'extrait méthanolique des graines de chia et déterminer quantitativement et qualitativement par screening phytochimique et dosage des polyphénols et les flavonoïdes. La deuxième partie se base sur l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* déterminée *in vitro* en utilisant la méthode du piégeage du radical DPPH. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des graines de *S.hispanica hispanica* se fait en utilisant le test de la dénaturation de l'albumine d'œuf. Enfin, la dernière partie est l'étude de l'effet de l'extrait méthanolique des graines de *S.hispanica* sur la stimulation de la croissance de quelques ferments lactiques.. Les résultats obtenus ont révélé une teneur en polyphénols totaux avec  $6.92 \pm 0.23$  µg EAG/gMS, suivi des flavonoïdes  $3.12 \pm 0.07$  µg EQ/gMS. L'évaluation du pouvoir antioxydant par le test du DPPH a révélé que l'extrait méthanolique présente des propriétés antioxydantes. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* révélée que l'extrait a également un pouvoir anti-inflammatoire remarquable. L'extrait méthanolique des graines de *S.hispanica* n'altère pas les ferments lactiques. Pour en conclure, les graines de *Salvia hispanica* peuvent être considérées comme un élément nutritive fonctionnel, qui peut empêcher et ralentir l'évolution des maladies chroniques.

**Mots clés :** *Salvia hispanica* L, graines de Chia, composés phénoliques, activité antioxydante, activité, anti-inflammatoire, ferments lactiques.

## Abstract :

*Salvia hispanica* is an annual herbaceous plant in the Lamiaceae family, traditionally used to treat a variety of illnesses. It is endowed with bioactive components with antioxidant and anti-inflammatory activities. The first part of the study consists in extracting the essential oils, preparing the methanolic extract of chia seeds and determining quantitatively and qualitatively by phytochemical screening and dosage of polyphenols and flavonoids. The second part is based on the evaluation of the antioxidant activity of the methanolic extract of *Salvia hispanica* seeds, determined *in vitro* using the DPPH radical scavenging method. The anti-inflammatory activity of the methanolic extract of *S.hispanica hispanica* seeds is assessed using the egg albumin denaturation test. Finally, the last part of the study investigates the effect of *S.hispanica* methanolic seed extract on the growth stimulation of a number of lactic ferments. The results obtained revealed a total polyphenol content of  $6.92 \pm 0.23$  µg EAG/gMS, followed by flavonoids at  $3.12 \pm 0.07$  µg EQ/gMS. Evaluation of antioxidant power by the DPPH assay revealed that the methanolic extract exhibited antioxidant properties. Evaluation of anti-inflammatory activity *in vitro* revealed that the extract also has remarkable anti-inflammatory power. The methanolic extract of *S.hispanica* seeds does not alter lactic ferments. In conclusion, *Salvia hispanica* seeds can be considered a functional nutrient that can prevent and slow the progression of chronic diseases.

**Key words:** *Salvia hispanica* L, Chia seeds, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, lactic ferments.

## ملخص

سالفيا هيسبانيكا هي عشبة سنوية من عائلة لامياسي، تستخدم تقليدياً لعلاج أمراض مختلفة. يحتوي على مكونات نشطة بيولوجياً مع أنشطة مضادة للأكسدة والالتهابات. يتمثل الجزء الأول من الدراسة في استخراج الزيوت الأساسية، وإعداد مستخلص الميثانول من بذور الشيا، وتحديد الكم والنوعية عن طريق الفحص الكيميائي النباتي وتحديد البوليفينول والفلافونويد. يستند الجزء الثاني إلى تقييم الجذري. يتم DPPH النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الميثانول لبذور سالفيا هيسبانيكا المحددة في المختبر باستخدام طريقة حبس تقييم النشاط المضاد للالتهابات لمستخلص الميثانول من بذور سالفيا هيسبانيكا باستخدام اختبار نزع تشبع ألومين البيض. أخيراً، الجزء الأخير هو دراسة تأثير مستخلص الميثانول من بذور سالفيا. على تحفيز النمو لبعض التخمر اللاكتيكي.. أظهرت النتائج إجمالي كشف تقييم فاعلية مضادات الأكسدة.  $g \text{ EQ/gMS} \sim$  ، تليها الفلافونويد  $0.07 \text{ EAG/gMS}$  } البوليفينول عند  $0.23 \text{ } 6.92$  أن مستخلص الميثانول له خصائص مضادة للأكسدة. كشف تقييم النشاط المضاد للالتهابات في المختبر أن DPPH من خلال اختبار التخمر اللبني. في *Salvia.hispanica* المستخلص يتمتع أيضاً بقوة ملحوظة مضادة للالتهابات. لا يغير مستخلص الميثانول من بذور الختام، يمكن اعتبار بذور سالفيا هيسبانيكا كعنصر غذائي وظيفي، والذي يمكن أن يمنع ويبطئ تطور الأمراض المزمنة.

**الكلمات المفتاحية :** سالفيا هيسبانيكا إل، بذور شيا، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للالتهابات، التخمر اللبني.

# **Introduction**

**Introduction :**

Depuis ces dernières décennies l'homme utilise des composants naturels aromatiques nutritionnels qui procurent un équilibre alimentaire à l'homme et un bénéfice pour sa santé. Au fil des années, la consommation des plantes est devenue très diversifiée car l'homme a découvert qu'elles possèdent des valeurs nutritionnelles très importantes tels que : les protéines, les lipides, les glucides, les vitamines et les minéraux.

En termes simples, un aliment fonctionnel est un aliment qui a la capacité de protéger contre les maladies confèrent une vie plus saine à l'homme lui offrant ainsi un supplément nutritionnel à sa nourriture de base en l'améliorant et répondant aux exigences de son corps (**Hasler et Brown, 2009**).

*Salvia hispanica* est une plante herbacée qui ne dépassant pas 1 mètre de hauteur et d'origine mexicaine et se cultive en Australie, en Bolivie, en Colombie, au Pérou, en Argentine, en Amérique et en Europe. Les graines sont la partie la plus utilisée depuis 5500 ans (**Marcinek et Krejpcio, 2017**). C'est une plante qui est très utilisée, disponible. Elle renferme des composants qui contribuent à la nutrition humaine, qui aide à augmenter l'indice de satiété, à prévenir les maladies cardiovasculaires, les problèmes inflammatoires et neurologiques et le diabète. Actuellement, les graines de chia présentent un énorme potentiel dans le domaine de la santé, de la nutrition, de l'alimentation animale, des produits pharmaceutiques et des nutraceutiques, entre autres, en raison de ses composants fonctionnels (**Muñoz et al., 2013**).

En raison de la grande diversité des graines de chia en métabolites primaires et secondaires comme les protéines, les acides gras oméga-3, les fibres alimentaires (solubles et insolubles), les composés bioactifs et polyphénoliques, elles ont aussi de nombreuses propriétés physico-chimiques et des propriétés fonctionnelles qui les rendent mieux adaptées à l'utilisation dans l'industrie alimentaire, elles sont utilisées comme épaississant, agent gélifiant et chélateur, renforçateur de mousse, émulsifiant, agent de suspension et facteur de réhydratation et comme substitut des œufs, des graisses et des huiles (**Dinçoğlu et Yeşildemir, 2019**). On peut facilement les incorporer ou intégrer à notre repas en les saupoudrant sur du yogourt ou de la farine d'avoine. En outre, elles sont extrêmement pourvues en fibres, ce qui a des effets positifs sur le système digestif et le contrôle du diabète. Elles ont des effets thérapeutiques sur la dyslipidémie

et l'hypertension, et possèdent des propriétés anti-inflammatoires, anti oxydantes, anticoagulantes, laxatives, antidépressives

Elles présentent d'importantes caractéristiques fonctionnelles, en raison des 17 à 20 % de protéines, qui leur confèrent une grande stabilité thermique et une capacité de rétention d'eau, des attributs idéaux pour leur utilisation dans les produits de boulangerie (**Ayerza et Coates, 2004**).

L'objectif principal de ce travail vise à extraire et caractériser les huiles essentielles des graines de *Salvia hispanica*, quantifier les contenus des composés phénoliques et étudier quelques activités biologiques de l'extrait méthanolique brut issu des graines de *S.hispanica*.

Dans ce contexte, les objectifs de la présente étude peuvent être résumés comme suit :  
Extraction des huiles essentielle par deux méthodes d'hydrodistillation.

- Préparation des extraits méthanoliques des graines de *S.hispanica* .
- Evaluation de la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique préparé
- Etude de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique brut des graines de chia par la méthode de piégeage de radical DPPH
- Étude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait méthanolique.
- Étude de l'effet stimulateur de l'extrait méthanolique des graines de chia sur quelques ferments lactiques.

# **Partie bibliographique**



# **Chapitre I :**

## ***Salvia hispanica***

## I. *Salvia hispanica*

### I.1. Origine et l'historique :

C'est une plante d'origine d'Amérique centrale, elle se trouve dans les zones tropicales chaudes des montagnes de l'ouest et du centre du Mexique et du Guatemala, plus les zones semi-chaudes et tempérées de l'axe transversal néovolcanique de la Sierra Madre Occidental et du Chiapas méridional, à des hauteurs variant de 1 400 à 2200 mètres (**DiSapio et al., 2012**)

Dans l'époque de précolombienne, la plante de Chia a été utilisée comme nourriture avec le maïs, les haricots et l'amarante, et elle a également été utilisée en médecine. Certains historiens suggèrent que la *Salvia hispanica* était un aliment de base plus important que le maïs dans certaines régions (**Fernandes et al, 2021**)

*Salvia hispanica* doit son nom à Carolus Linnaeus (1707-1778) qui l'a trouvée poussant à l'état sauvage dans le nouveau Monde et l'a confondue avec une plante originaire d'Espagne (**Edwards, 1819**). Cependant, la chia est originaire du Mexique et a été introduit en Espagne après l'installation d'Hernán Cortés au Mexique (**Valdivia-López, 2015**).

### I.2. Distribution géographique

Le genre *Salvia* est constituée d'environ 900 espèces, largement réparties depuis des millénaires dans plusieurs régions du monde, y compris l'Afrique australe, l'Amérique centrale, l'Amérique du Nord et du Sud, et l'Asie du Sud-Est. La littérature indique que *Salvia hispanica* n'est pas cultivé uniquement au Mexique et au Guatemala, mais aussi en Australie, en Bolivie, en Colombie, au Pérou, en Argentine, en Amérique et en Europe. Aujourd'hui, le Mexique est considéré comme le plus grand producteur mondial de chia. (**KnezHrnčič et al.,2020**).

Elle pousse de façon naturelle dans les forêts de chênes et de pins, où les températures sont en général basses, (**Di Sapio et al., 2012**). Aux latitudes supérieures comme l'Argentine et Tucson, Arizona, USA, la plante ne peut pas produire de graines, car elle est tuée par le gel avant la floraison, (**Jamboonsri et al.,2012**)

*S.hispanica* est distribuée dans les milieux semi-chauds et tempérés de l'axe néo volcanique transversal de la Sierra Madre Occidental et du Chiapas méridional, des altitudes allant de 1400 à 2200 m. (**Figure 1**) (**Di Sapio et al., 2012**)



**Figure 1** : Culture et dispersion du chia. (DISAPIO *et al.*, 2012 ).

- La surface en rouge représente les zones où les nouveaux géotypes de chia à floraison précoce rapportés ici pourraient être cultivés pour la production de semences
- La surface en bleu représente la zone traditionnelle de culture du chia du nord du Mexique central au Guatemala
- Les surfaces en jaune représentent les zones dans lesquelles les lignées de chia traditionnelles peuvent être cultivées aux États-Unis.
- La surface en vert représente une zone de culture apparemment précolombienne est connue dans le sud du Honduras et du Nicaragua

### I.3. Description morphologique :

La chia appartient à la famille des Labiatae ou Lamiaceae (famille de la menthe). C'est une plante herbacée annuelle, d'environ 1 m de haut, à tiges et branchuiles essentielles quadrangulaires, feuilles opposées, et pétiole de 40 mm de long.

Les feuilles sont elliptiques à oblongues, presque lisses, avec peu de pubescence blanche et très courtes, elles ont des marges dentelées et mesurent 80 à 100 mm de long et 40 à 60 mm de large. Les fleurs sont produites en épis terminaux ou axillaires. Les graines sont présentes par groupes de quatre et sont d'une couleur lisse, brillante, gris-noir avec des taches irrégulières mesurant 2 mm sur 1,5 mm (Victor et al., 2011) .



**Figure 2 :** La plante *Salvia hispanica* (Floralpes, 2022)

### I.4. La classification taxonomique

Selon Inventaire National du Patrimoine Naturel la classification taxonomique de *IS.hispanica* est la suivante :

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Sous- règne :</b>	Viridiaeplantae
<b>Classe :</b>	Equisetopsida
<b>Sous-classe :</b>	Magnloidae
<b>Ordre :</b>	Lamiales
<b>Famille :</b>	Lamiaceae
<b>Sous-famille :</b>	Nepetoideae
<b>Genre :</b>	<i>Salvia</i> L
<b>Espèce :</b>	<i>Salvia hispanica</i>

### I.5. Les graines de *Salvia hispanica*

Les graines ont un aspect doux et brillant (**Di Sapiro, 2012**). La couleur de la graine varie du noir, gris et noir tacheté au blanc, et la forme est ovale avec la taille allant de 1 à 2 mm (**Mohd Ali, 2012**).

Les graines se composent de protéines (15 à 25 %), de graisses (30 à 33 %), de glucides (26 à 41 %), de fibres alimentaires élevées (18 à 30 %), de minéraux, de vitamines et de matière sèche (90 à 93 %). Et contient une grande quantité d'antioxydants et aussi se contient de 25% à 40% d'huile dont 60% d'acide alpha linoléique (oméga)  $\omega$ -3 et 20% d'acide linoléique (oméga)  $\omega$ -6. Le corps humain a besoin des deux acides gras essentiels pour être en bonne santé, et ils ne peuvent pas être synthétisés artificiellement (**Mohd Ali, 2012**).



**Figure 3 : Les graines de Chia (Danie Poiret, 2014)**

Les graines sont une source essentielle de protéines végétales et contiennent des acides aminés essentiels (arginine, leucine, phénylalanine, lysine, valine, isoleucine, thréonine, méthionine, histidine et tryptophane). Les graines de chia contiennent également des niveaux élevés de fibres alimentaires, principalement dans la fraction insoluble dans l'eau ainsi que des macronutriments et des micronutriments essentiels et aussi les acides phénoliques (acide gallique, acide férulique, acide p-coumarique, acide caféique), dépsides (acide rosmarinique et

acide chlorogénique), flavonols (kaempferol, quercétine, myricetin andrutoside), flavones (apigénine), isoflavones (daidzéine, glycitine, génistéine et glycitéine) et flavan-3-ols (catéchine, épicatechin) sont présents en quantités prédominantes. Elles ont une teneur élevée en acide rosmarinique, qui présente un large spectre d'activité biologique, notamment antioxydante, anti-inflammatoire et antibactérienne, est particulièrement remarquable dans les études (**Motyka, 2023**).

Les graines de chia sont une bonne source de vitamines du complexe B, telles que B6, thiamine, niacine et la vitamine C est également présente. Elles peuvent être utilisées entières, moulues, sous forme de farine, trempées dans l'eau ou séchées, ou comme composant extrait d'elles, tels que le mucilage et les composants bioactifs (**Tanwar, 2021**).

### **I.5.1. Intérêt médicinal**

La plante de chia est extrêmement pourvue en fibres, ce qui a des effets positifs sur le système digestif et le contrôle du diabète. Il a des effets thérapeutiques de la dyslipidémie et de l'hypertension, et possède des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-coagulantes, laxatives, anti-dépressives, elle a été scientifiquement prouvée qu'elle possède des propriétés anti-anxiété, analgésiques, qui renforcent la vision et le système immunitaire (**Uullah, 2016**).

### **I.5.2 Intérêt commercial**

La chia est souvent utilisée pour adoucir l'eau et lors de la fabrication de la peinture (huile) comme additif pour améliorer la qualité des produits de boulangerie (**López, 2017**), ou bien en tant qu'un assaisonnement dans la cuisine ou encore tant qu'un ingrédient supplémentaire dans les produits cosmétiques (**Ayerza, 2004**). Les graines de chia sont également couramment employées pour extraire des substances bioactives en vue de la création d'aliments fonctionnels (**Bresson, 2009**).

# **Chapitre II:**

## **Les huiles essentielles et les composés phénoliques**

## II. Les huiles essentielles et les composés phénoliques

### II.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un mélange complexe des molécules volatiles et odorantes, contenue dans une plante (**Duquenois and Anton, 1968**), on peut les obtenir à partir des fruits, des graines, des feuilles et des écorces. (**Burt, 2004**). Ce sont des substances odorantes, volatiles, ils ont une consistance huileuse, concentrées. Généralement, pour obtenir une petite quantité (quelques millilitres) d'huiles essentielles, il nécessite une très grande quantité de plantes (**Nogaret, 2003**).

#### II.1.1. Composition chimique des huiles essentielles :

Plusieurs facteurs sont liés à la variation de la composition chimiques des huiles essentielles ; par exemple le stade de développement de la plante, les organes choisis, la période de la récolte et la zone géographique (**Guinoiseau, 2010**) la composition chimiques est généralement étudiée par la technique de chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**), la technique de la résonance magnétique nucléaire (RMN) est également utilisée pour l'identification des différents constituants (**Tomi et al., 1995**).

Pour les constituants des huiles essentielles, ils peuvent être classés dans un premier groupe principal : qui se compose de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (**Ruberto and Baratta, 2000**), les autres groupes incluent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcanes et alcènes) qui sont d'habitude présente en petite quantité. Ces composés se caractérisent par un poids moléculaire faible (**Bakkali et al., 2008**)

##### II.1.1.1. Les terpènes et les terpénoïdes:

Leur structure est caractérisée par la présence d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ). Ils sont classés selon le nombre d'entités isoprène en monoterpène formés de deux isoprènes ( $C_{10}H_{16}$ ), en sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ( $C_{15}H_{24}$ ), en diterpènes, formés de quatre isoprènes ( $C_{20}H_{32}$ ), en tétraterpènes, huit isopènes qui conduisent ainsi aux caroténoïdes, en polyterpènes ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub> où n varie de 9 à 30 (**Hernandez Ochoa, 2005**).

Les terpénoïdes sont la classe la plus varié en termes de structure, ils sont des dérivées des composés ayant un ou plusieurs groupes chimiques fonctionnels (alcool, aldéhyde, cétone, acide...) (**Bayala, 2014**).



Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C5), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, sont formées par la condensation de plusieurs isoprènes. Ainsi, les mono terpénoïdes (C10) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesqui-terpénoïdes (C15) sont formés par l'association de trois isoprènes. Les mono et les sesquiterpènes sont les plus fréquemment retrouvés dans les huiles essentielles (Tooure, 2015).

#### **II.1.1.2. Les phényl propanoïdes**

Ils sont des dérivés du phényl propane et ils sont moins répandus que les terpènes, (Bayala, 2015) leur biosynthèse est à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. En général, leur caractéristique est la présence d'un groupe hydroxyle fixé à un cycle phényle (Tooure, 2015).

#### **II.1.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

A la température ambiante, les huiles essentielles sont incolores ou jaune pâle à l'état liquide, les huiles essentielles sont inflammables volatiles, odorantes et avec une densité généralement inférieure à 1, il n'y a que 3 huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de saffran (Charpentier, 2008).

Le terme "huile" s'explique par la capacité de solubilisation dans les graisses et par sa nature hydrophobe, Ces huiles ne sont pas solubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles et la vaseline. Étant sensibles, elles subissent une oxydation au contact de l'air et de la lumière (Charpentier, 2008).

Les huiles essentielles sont utilisées à des fins thérapeutiques, ils ont des propriétés antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires, anesthésiques, cicatrisantes, insecticides, anti-tumorales (Deschepper, 2017).

#### **II.1.3. Utilisation des huiles essentielles**

##### **II.1.3.1. En pharmacie**

Depuis longtemps l'être humain a utilisé les huiles essentielles pour soigner et ces jours-là le public apprécie de plus en plus la médecine dite naturelle (Garneau, 2005).

Il faut faire la différence entre l'usage traditionnel des huiles essentielles (où elles sont utilisées telles quelles à des fins thérapeutiques) et les applications de l'industrie pharmaceutique. En industrie pharmaceutique les huiles essentielles sont employées sous un nombre grandissant de formes (gélules, pastilles, complexes à vaporiser, dentifrices, etc...). Ces préparations qui contiennent des huiles essentielles répondent à la réglementation des médicaments à base de plantes. En plus, ces produits sont classés en tant que complément alimentaire, réglementairement moins contraignant (**Deschepper, 2017**).

Ils peuvent être utilisées aussi en tant que des excipients dans les médicaments et agir comme un arôme pour dissimuler le goût d'un principe actif (**Kaloustian, 2012**), comme un pénétrant percutané (**Karande, 2009**). Aujourd'hui elles sont utilisées dans l'alimentation animale en tant que conservateur, ou bien tout simplement pour traiter les animaux atteints de différentes infections (**Deschepper, 2017**).

#### **II.1.3.2. En agriculture**

L'utilisation des huiles essentielles dans le domaine de l'agriculture est encore récente mais elle est destinée à se développer, le contexte réglementaire actuel encourage à développer des produits phytosanitaires naturels en tant que substituts aux moyens de lutte chimique. Les huiles essentielles sont actuellement soumises à des essais sur plusieurs cibles : les champignons, les bactéries, les insectes et aussi pour conserver les semences (**Deschepper, 2017**).

#### **II.1.3.3. En cosmétologie et parfumerie**

L'avantage des huiles essentielles est le fait qu'elles sont à la fois actives, odorantes et associées à une image de produit « naturel ». Toutefois, il est fallu se rappeler que les cosmétiques sont des produits destinés au bien-être et non des médicaments. Donc c'est important de rester prudent face à certaines allégations excessives sur les bienfaits thérapeutiques des produits qui contiennent des huiles essentielles (**Kaloustian, 2012**).

En raison de leurs propriétés antioxydantes, de nombreux produits cosmétiques tirent leurs propriétés caractéristiques comme agents anti-rides, ou agents pour soigner les problèmes de pigmentation de la peau (**Fahed, 2016**). Les odeurs plaisante qui caractérisent certaines huiles essentielles les rendent indispensables dans fabrication de parfum et d'autres produits cosmétiques tels que les déodorants, les crèmes corporelles, les shampoings pour cheveux, les laits de corps... etc (**Navarra et al., 2015**).

Pour la parfumerie, qu'elle soit cosmétologique ou technique, l'odeur de l'huile essentielle jugera sa qualité. C'est différé lorsque l'on parle de la cosmétologie en général pour laquelle les huiles essentielles présentent l'avantage d'être à la fois des produits actifs, odorants et naturels (**Fernandez, 1974**).

De nos jours, l'usage des huiles essentielles est réglementé. Bien qu'ils soient considérés comme deux secteurs différents, la parfumerie et la cosmétique sont régis par le même texte (**Deschepper, 2017**).

#### **II.1.3.4. Dans l'industrie alimentaire**

Les plantes aromatiques ont été d'abord utilisées par l'homme pour enrichir la cuisine. Les Egyptiens diffusaient des odeurs en chauffant de mélanges contenant des huiles essentielles afin d'augmenter l'appétit des personnes souffrant des maladies (**Baser, 2009**).

Maintenant, ils sont devenus des arômes naturels et des rehausseurs de saveur dans de divers secteurs de l'industrie agroalimentaire (boissons, sucreries, plats préparés). Le domaine des boissons gazeuses est le plus grand consommateur des huiles essentielles ; parmi celles qui sont les plus utilisées dans l'industrie agroalimentaire à l'échelle mondiale, il y a l'huile essentielle d'orange douce (**Garneau, 2005**).

#### **II.1.4. Les méthodes conventionnelles d'extraction des huiles essentielles**

##### **II.1.4.1. Distillation**

###### **II.1.4.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau**

C'est une un des méthodes les plus utilisées pour extraction des huiles essentielles, dans cette technique il n'y'a pas un contact direct entre l'eau et la matière végétale traitée la chaudière fournit de la vapeur d'eau qui passe dans la matière végétale , pendant ce passage les cellules vont s'éclater et libérer les molécules des huiles essentielles avec de l'eau et vont former un mélange, ce dernier va être transporté vers le condensateur et l'essencier avant d'être, le fait que l'eau ne rentre pas directement en contact avec la matière végétale, empêche certains processus d'hydrolyse ou de dégradation qui pourraient affecter la qualité de l'huile (**Lucchesie, 2005**).

L'hydrodiffusion représente une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau, la vapeur ne monte pas, mais descend dans ce flux, cette méthode utilise l'effet osmotique de la vapeur d'eau, elle repose sur l'utilisation de la gravité pour séparer et de concentrer le mélange constitué de "vapeur d'eau - huile essentielle" présent dans la substance végétale, elle offre l'avantage de

ne pas entrer en interaction le produit végétal et l'eau. En plus, l'hydrodiffusion engendre des économies d'énergie grâce à la diminution de la période de distillation et donc de la consommation de vapeur (Lucchesie, 2005).

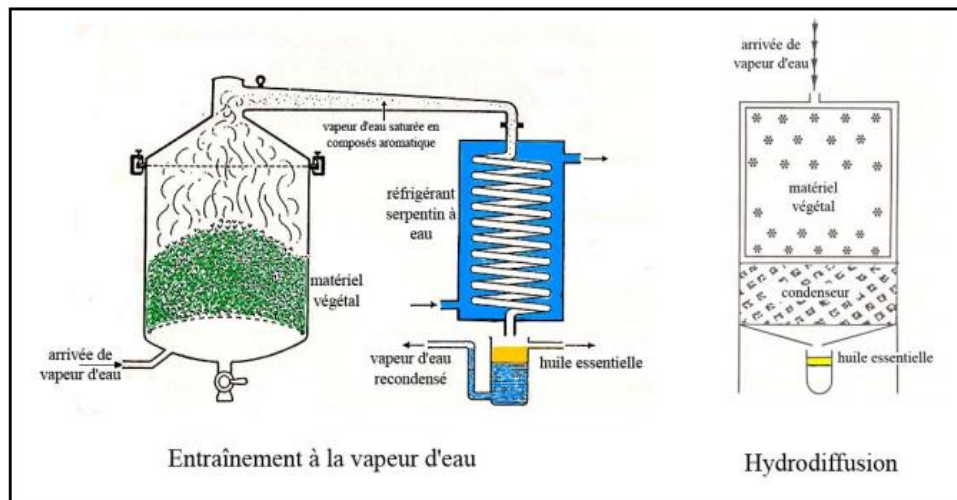
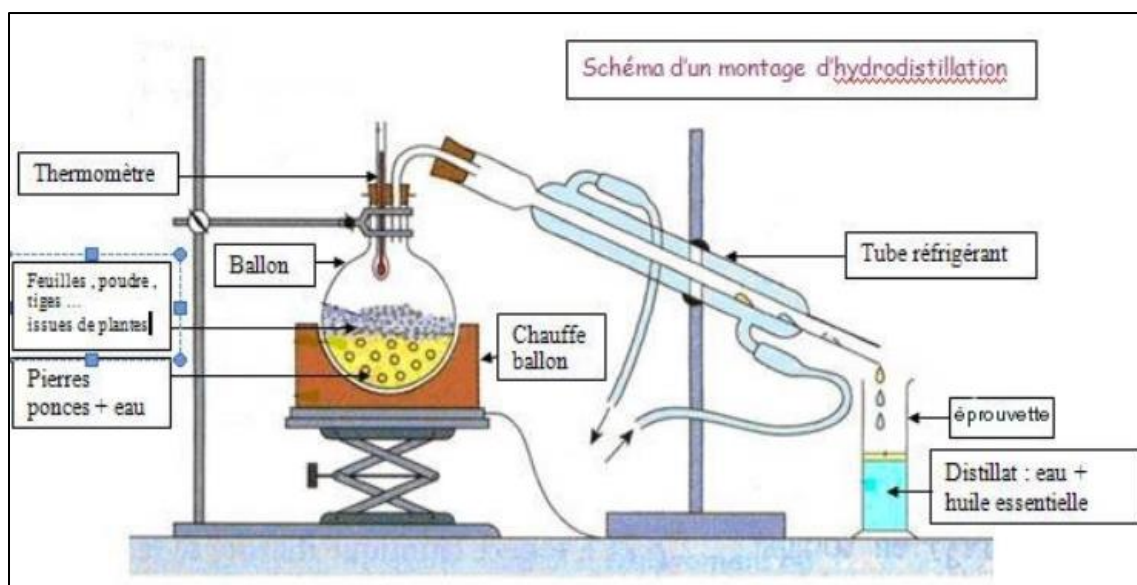


Figure 4 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante (Lucchesie, 2005)

#### II.1.4.1.2. Hydrodistillation

La méthode normalisée pour extraire une huile essentielle est l'hydrodistillation. Ce procédé implique une distillation hétérogène, où la matière végétale est immergée dans de l'eau bouillante sous l'effet de la chaleur les molécules odorantes sont libérées des cellules végétales et se mélangent à la vapeur d'eau pour former un mélange azéotrope ce mélange distille à une température de 100°C, inférieure à celle des composés aromatiques purs après refroidissement et condensation dans un essencier, l'eau et les molécules aromatiques se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle (Lucchesie, 2005).

La durée d'une distillation par hydrodistillation peut varier considérablement, pouvant s'étendre sur plusieurs heures en fonction de l'équipement employé et de la plante à distiller, la longueur de la distillation impacte non seulement le taux de production, mais aussi la composition de l'extrait (Lucchesie, 2005).



**Figure 5:** Schéma du montage de l'hydrodistillation ([gingembreblog](#), 2016).

#### II.1.4.2. Expression à froid

Les extraits aromatiques dérivés des fruits d'huiles essentielles péricarpés ou d'agrumes sont d'une importance capitale dans l'industrie de la parfumerie et des produits de beauté. Toutefois, leur composition en terpènes et aldéhydes les rend très délicats. Ainsi, pour cette catégorie de matière première, est employée une technique de production tout à fait différente de la distillation traditionnelle, à savoir l'expression à froid. La base de cette méthode réside dans la fragmentation ou l'éclatement des membranes des poches essentielles d'huile logées dans l'écorce des fruits, ainsi que dans la force exercée par le contenu de ces poches essentielles sur les membranes (Lucchesie, 2005).

### II.1.4.3. Extraction par solvant organique

Les solvants les plus fréquemment employés à ce jour sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le liquide choisi doit être stable face à la chaleur, la lumière et l'oxygène, il est préférable que sa température d'ébullition soit basse pour faciliter son élimination et qu'il ne réagisse pas chimiquement avec l'extrait. L'extraction se réalise avec un appareil de Soxhlet.. Ces solvants présentent un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, et les extraits obtenus ne contiennent pas seulement des composés volatils, mais aussi un bon nombre de composés non volatils comme les cires, les pigments, les acides gras et bien d'autres substances. (Hubert, 1992)

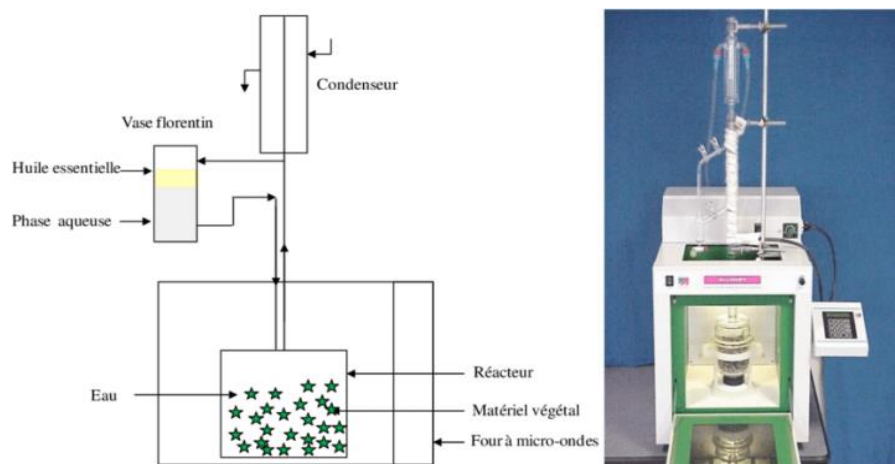
En fonction de la méthode et du liquide utilisé, divers produits peuvent être obtenus : des hydrolats (eau florale), des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (mélange d'éthanol et d'eau), des résinoïdes (extraits éthanoliques concentrés). (Hernandez Ochoa, 2005).

La méthode d'extraction "classique" par solvant implique l'utilisation d'un solvant volatil et de matériel végétal. Le solvant est lavé à plusieurs reprises pour absorber les molécules aromatiques, puis est envoyé au concentrateur pour être distillé à pression atmosphérique (Boukhatem *et al.*, 2019).

### II.1.4.4 Extraction assistée par micro-ondes

Le bénéfice de cette méthode est de diminuer considérablement le temps de distillation et d'augmenter le rendement. Actuellement, la distillation assistée par micro-ondes fait l'objet de beaucoup d'études et continue d'être améliorée car elle présente de nombreux bénéfices : technologie verte, économise l'énergie et le temps, nécessite un investissement initial réduit et minimise les dégradations thermiques et hydrolytiques. (Lucchesi, 2004, Olivero *et al.*, 2010)

La SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche, elle consiste à mettre le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans l'utilisation d'eau ou de solvant (Figure 6), Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante cause la dilatation des cellules et entraîne la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'huile essentielle libérée s'évapore avec l'eau de la plante (Wang *et al.*, 2006)



**Figure 6 :** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (Farhat, 2010)

Les huiles essentielles obtenues se composent d'un taux plus important en composés oxygénés, de valeurs odorantes plus significatives, alors que les monoterpènes sont présents en moindre quantité (Ferhat *et al.*, 2006, Golmakani *et al.*, 2008)

Dans le protocole de SFME il y a 3 points importants :

- La quantité de matière végétale a été fixée de manière à obtenir une quantité suffisante des huiles essentielles pour séparer par simple décantation. Le but de ce protocole est d'éviter l'utilisation de solvant organique pour que d'obtenir un produit le plus « propre » possible
- La puissance micro-ondes appliquée (300- 450 Watt) lors de l'extraction est obligatoirement en fonction de la quantité de matière végétale . Cette grandeur représente la quantité de puissance appliquée en Watts par kilogramme de matériel végétal traité
- La durée de l'extraction est composée du temps de chauffage (première étape = 10 min) et du temps d'extraction (seconde étape = 10 min). La capacité de chauffage des micro-ondes est supérieure à un chauffage traditionnel. La durée de l'extraction sous micro-ondes sera considérablement réduite par rapport à une hydrodistillation classique

En comparaison avec l'hydrodistillation traditionnelle la SFME se caractérise par une consommation énergétique diminuée et des rejets en CO<sub>2</sub>, mais, surtout, par un temps d'extraction de l'ordre de 9 fois plus rapide (Ferhat *et al.*, 2006, Golmakani *et al.*, 2008) et les huiles essentielles obtenues par cette extraction sont plus riches en composés oxygénés. En effet, la forte présence de ces composés est due à la rapidité de chauffage des substances polaires avec les micro-ondes et la faible quantité d'eau dans le milieu, ce qui empêche la dégradation des composés par des réactions thermiques et hydrolytiques. Cette technique présente plusieurs avantages, notamment des temps d'extraction plus courts, une réduction de la quantité de solvant utilisé, une reproductibilité élevée et des rendements satisfaisants (Boukhatem *et al.*, 2019).

### II.1.5. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont omniprésents dans la plupart des tissus végétaux, y compris les parties comestibles telles que les fruits, les graines, les feuilles, les tiges, les racines, etc. (De La Rosa *et al.*, 2019).

Ces composés possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques comportant un ou plusieurs groupes hydroxyles, (Rupasinghe *et al.*, 2014), ils sont synthétisés naturellement par le métabolisme secondaire des plantes (De Araújo *et al.*, 2021).

Les polyphénols sont classés en fonction du nombre d'anneaux de phénol qu'ils contiennent et des éléments structuraux qui les lient les uns aux autres. (Rupasinghe *et al.*, 2014). Leurs effets biologiques sont principalement attribués à la capacité de séquestrer ou d'inhiber les espèces réactives d'oxygène et d'azote, de transférer des électrons aux radicaux libres, en plus d'activer les enzymes antioxydantes, améliorant le stress oxydatif et l'inflammation, démontrant des effets prometteurs dans la prévention de diverses maladies comme le diabète, l'obésité, le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose, les maladies neurodégénératives, entre autres. (De Araújo *et al.*, 2021)

#### II.1.5.1 Les principales classes de composés phénoliques :

Il est possible de classer les composés phénoliques en diverses catégories, qui se distinguent principalement par la complexité du squelette de base (qui peut varier d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées), et selon le niveau de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation...) et enfin à travers liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules comme les glucides, lipides, protéines, etc. (Macheix *et al.*, 2005)



### II.1.5.1.1. Les acides phénoliques :

Il s'agit d'une classe de composés appartenant à des composés phénoliques que l'on trouve naturellement dans les fruits et légumes (**De Araújo et al., 2021**). Il existe deux classes d'acides phénoliques : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (**Rupasinghe et al., 2014**), ils peuvent être divisés en deux groupes, ceux dérivés des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques ; les composés dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont caractérisés par un groupe carboxylique (COOH) et ses dérivés les plus courants sont les acides p-hydroxybenzoïque, gallique, protocatéchique et vanillique. Pendant que les composés dérivés de l'acide hydroxycinnamique sont caractérisés par deux squelettes de carbone (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CHCHCOOH) avec au moins une molécule d'hydrogène qui peut être remplacée par un groupe hydroxyle, ils sont représentés principalement par des acides p-hydroxycinnamique, p-coumarique, caféique et férulique (**De Araújo et al., 2021**).

### II.1.5.1.2. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont parmi les composés phénoliques les plus couramment trouvés dans les fruits et légumes, ils jouent un rôle important sur la couleur et le goût, la synthèse des enzymes et des vitamines et la minimisation des effets de peroxydation lipidique (**De Araújo et al., 2021**).

En ce qui concerne la structure chimique, les flavonoïdes ont un squelette phénylbenzopyrane composé de deux cycles aromatiques (A et B) attachés à un cycle tétrahydropyran (C). Le cycle pyrane peut présenter des différences, qui permet de classer les flavonoïdes en six groupes (flavonols, flavonones, flavanols, flavones, anthocyanes et isoflavons (**De Araújo et al., 2021**)).

Les flavonoïdes sont connus pour leur activités biologiques, qui sont en partie attribuées aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. Car les ont la capacité de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées. (**Fuhrman et al., 1995**).

en raison de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes ont la capacité thermodynamique de réduire les radicaux libres oxydants, comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène. et le radical flavonoxy, qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (**Jovanovic et al., 1998**).

**II.1.5.1.3. Les tanins :**

Les tanins sont un groupe de composés phénoliques insolubles dans l'eau ayant un poids moléculaire de 500 à 3000 Da, qui sont subdivisés en tanins condensés et hydrolysables, et généralement trouvés avec des alcaloïdes, des polysaccharides et des protéines (**Rupasinghe et al., 2014**).

Toutes les plantes contiennent des tanins mais à un degré plus au moins élevé. Ceux-ci confèrent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent inappropriées à la consommation, que ce soit pour les insectes ou pour le bétail (**Eberhard et al, 2005**). Ils possèdent la capacité de tanner la peau, cette capacité de tannage provient de l'interaction des molécules de tanins avec les fibres de collagène. (**Schauenberg et Paris ,2006**)

Les tanins hydrolysables sont naturellement présents dans l'écorce, les troncs, les feuilles et les fruits de diverses espèces végétales, ont des glucides comme noyau central et des hydroxyles estérifiés avec des groupes phénoliques, tandis que les tanins condensés sont formés par la polymérisation de plusieurs flavon-3-ols monomères (**De Araújo et al., 2021**).

Les tannins ont une action anti diarrhéique ; ils réduisent la dilatation des vaisseaux sanguins et limitent la perte de liquides, ces caractéristiques, associées à leur action antiseptique, en font des substances intéressantes pour la régénération des tissus en cas de de blessures superficielles et les rendent utiles dans le traitement des diarrhées infectieuses. (**Bruneton, 1999**)

La capacité antioxydante des tannins est extrêmement remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. (**Rahman et al., 2006**).

***Chapitre III :***  
***Les activités***  
***biologiques***

### III. Les activités biologiques

#### III.1. Activité antioxydante

##### III.1.1. Définition d'un radical libre

Un radical libre est un atome ou molécule, possédant un électron solitaire (ou libre), ce qui le rend réactif. Ils apparaissent lorsqu'une liaison covalente est rompue de manière symétrique, où chaque atome conserve son électron, soit lors d'une réaction redox où un composé non radical subit une perte ou un gain d'électrons. (Koechilin-Ramonatxo, 2006).

##### III.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances qui ont la capacité de neutraliser ou diminuer les conséquences causés par les radicaux libres au sein de l'organisme, ils permettent ainsi de maintenir des concentrations de ROS non toxiques au niveau cellulaire. Ainsi, notre corps réagit continuellement à cette production permanente de radicaux libres et il existe deux niveaux de défense à l'intérieur des cellules, qui ne sont pas équivalents en termes de puissance pour éliminer les toxines. (Favier, 2006).

##### III.1.3. Activité antioxydante des composés phénoliques

Depuis une dizaine d'année, les polyphénols ont attiré une grande attention et un grand intérêt, et de nombreuses études incomplètes portent sur plusieurs de leurs caractéristiques biologiques. (Manach *et al.*, 2004 ; Djerdane *et al.*, 2006). Une des raisons principales est la reconnaissance de leur propriété antioxydante, ainsi que leur rôle dans la prévention de diverses maladies liées au stress oxydatif. (Akagawa et Suyama, 2001)

##### III.1.4. Mécanisme d'action des antioxydants

Le mécanisme d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants agissent en tant que "piégeurs" de radicaux libres. En effet certains antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme proposé en 1976 par Sherwin décrit comme suit : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins

rapidement, par un transfert de protons, pour donner un intermédiaire radical stabilisé par ses structures mésomères conjuguées ( **Sherwin, 1976**).

### III.1.5. Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant

Les ROS jouent un rôle physiologique crucial en régulant les réponses biologiques, la transduction de signal et d'autres voies de signalisation, même à des concentrations faibles. (**Favier, 2006**).

la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre dès lors les défenses antioxydantes sont capables de faire face aux radicaux libres produits en surplus. Mais dans certaines circonstances, production excessive de radicaux libres (tabac, alcool, pollution... ) ou une diminution des capacités antioxydantes (par manque d'apport en micronutriments antioxydants ou inactivation enzymatique) peut entraîner un déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense, provoquant ainsi un état altéré de la cellule appelé stress oxydatif. (**Sohal et al., 2002**).

Au cours d'un stress oxydant, les ERO non « détoxiquées » par le système antioxydant attaquent et altèrent par oxydation des macromolécules qu'elles rencontrent directement dans les cellules, y compris les lipides, les protéines et l'ADN. (**Koechlin-Ramonatxo, 2006; Halliwell, 2007**).

Afin de prévenir le stress oxydatif, il est ainsi nécessaire de soutenir la cellule et le corps en fournissant des antioxydants (tels que la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et les polyphénols) ) (**Kohen et Nyska, 2002**).

### III.1.6. Méthodes d'évaluations de l'activité antioxydante

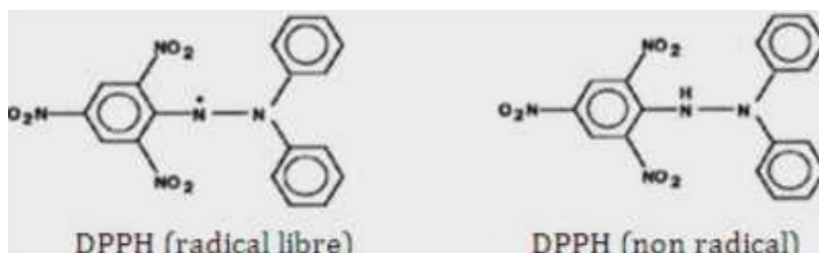
#### III.1.6.1. Méthode du piégeage du radical libre DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyl) est un radical stable , il montre en solution une absorption caractéristique à 517 nm, ce qui lui donne une teinte violette qui se transforme en jaune lorsqu'il est réduit par un donneur de proton. Cette transformation peut être représentée par l'équation suivante :



Où (AH)<sub>n</sub> représente un composé qui peut donner un atome d'hydrogène au radical DPPH.. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (**Brand-Williams et al., 1995**)

La mesure de l'activité antioxydante se fait par la dégradation du DPPH, un radical synthétique qui se caractérise par une couleur violette intense. Lorsqu'un antioxydant entre en contact avec ce radical, sa couche électronique se sature (Figure 7). ce qui entraîne la disparition de sa couleur (**Minichini et al., 2011**).



**Figure 7** : Forme libre et réduite du DPPH (**Brand-Williams et al., 1995**).

### III.1.6.2. Méthode du piégeage du radical libre ABTS

Dans cette méthode l'effet «piégeur» des antioxydants est déduit par leurs capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup> obtenu à partir de l'acide 2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique (l'ABTS) (**Gil et al., 2000 ; Pellegrini et al., 2003**)

Le radical ABTS<sup>•+</sup>se forme par l'arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS, en présence du Trolox (ou d'antioxydant donneur de H<sup>•</sup>), le radical d'azote concerné piège un H<sup>•</sup>, conduisant au cation l'ABTS<sup>+</sup>, ce qui entraîne la décoloration de la solution bleue (**Djeridane et al., 2007**).

Il y a aussi d'autres méthodes comme :

- La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (**Amarowicz et al., 2004**).
- La méthode TOSC (Capacité du piégeage des oxy-radicaux totaux) (**Winston et al., 1998**).
- La méthode de DMPD (Balayage du radical cation N, N- dimethyl-phenylenediamine) (**Li et al., 1994**)

**Chapitre IV :**

**Les ferments**

**lactiques**

## IV-Les ferments lactiques

### IV-1 Généralités

Les ferments lactiques (bactéries lactiques) sont des cultures pures ou bien un mélange de bactéries caractérisés par la production de l'acide lactique, ils sont utilisés pour la production des produits laitiers fermentés. Pendant la fermentation des bactéries se multiplient et génèrent des éléments qui donnent à l'aliment ses caractéristiques organoleptiques (saveur, texture, arôme) (Doleyres, 2003 ; Antoin, 2011).

De nombreuses bactéries lactiques requièrent une nutrition complexe comprenant des peptides, des acides aminés, des facteurs de croissance, des vitamines B et des acides gras, ainsi que des bases puriques et pyrimidiques. Elles possèdent également une capacité aromatique, ce qui explique leur usage dans le domaine agroalimentaire (Leveau *et al.*, 1991).

### IV-2 Caractéristiques principales des bactéries lactiques

Le terme « bactérie lactique » ne fait partie d'aucune classe phylogénétique d'organismes, et repose sur la capacité de causer une coagulation du lait. Historiquement parlant, elles sont décrites comme des bactéries hétérogènes et omniprésentes, elles sont des bactéries à Gram positif, catalase négative, tolérantes à l'acide, micro aérophiles, bâtonnets et cocci non sporulant qui vivent dans une variété de milieux distincts (Sun *et al.*, 2014).

Leur tolérance aux pH acides, les rends utilisables en agroalimentaire pour acidification du milieu et empêcher la croissance des bactéries pathogènes (Nielsen *et al.*, 2008).

Les propriétés des ferments lactiques dépendent aussi à la fois de l'espèce examinée et des conditions de l'expérience, la température, l'absence et la présence d'air, la nature des sucres de l'aliment celle de l'aliment azoté et la présence d'autres micro-organismes (Kayser, 1921).



#### IV-4 Classification des bactéries lactiques

Anciennement, leur classification a été selon leurs caractéristiques phénotypiques (mode de glucose fermentation, morphologie, croissance à différentes températures) (Bousmaha *et al.*, 2015 ; Hellal *et al.*, 2012).

#### IV-5 Les principaux genres de bactéries lactiques :

**Tableau1** : Différents genres de bactéries lactiques et leurs caractéristiques (Laurent *et al.*, 1998)

Genre	Morphologie	Fermentation	Température optimale
<i>Lactobacilles</i>	Bacilles	Homo ou heterofermentaire	Mésophiles /thermophiles
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles /thermophiles
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophile
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophile

**Partie expérimentale :**

# **Chapitre V :**

## **Matériel et méthodes**

### III. Matériel et méthodes

#### III.1. Matériel végétal

Dans cette étude, les échantillons des graines de Chia utilisées ont été achetées au mois de Février 2023 dans une épicerie de la Wilaya de Mostaganem.

Les graines ont été bien nettoyées et conservées dans des bocaux en plastique à la température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à utilisation ultérieure.

#### III.2. Méthodes

L'étude a été réalisée par deux différentes techniques d'extraction, permettant d'extraire des molécules naturelles des graines de chia. L'hydrodistillation a permis d'obtenir les huiles essentielles et la macération d'avoir les composées phénoliques.

##### III.2.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

- **Entraînement à la vapeur**

Pour l'extraction de l'huile essentielle des graines de *S. hispanica* par la méthode d'entraînement à la vapeur (Figure 8) on a introduit une masse de 2000 g des graines avec un volume de 1.5 litres de l'eau distillée, l'opération a duré 3 heures à la température 100°C.



**Figure 8 :** Hydrodistillation par Entraînement de la vapeur (photo original)

- **Hydrodistillation**

L'extraction d'huile essentielle a été effectuée par d'hydrodistillation à l'aide d'un appareillage de type *Clevenger* (figure 9).

Le principe de cette technique se base sur le pouvoir de la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. Elle consiste à introduire une masse de (150 g) des graines de *Salvia*

*hispanica*, broyées précédemment, dans un ballon en verre contenant une quantité de 2 litres d'eau distillée. Le mélange a été chauffé jusqu'à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'HEs sont acheminées à travers un tube vertical puis dans le condensateur, les gouttelettes ainsi formées sont captées dans le tube préalablement rempli d'eau distillée, en raison de leur différence de densité, les huiles essentielles remontent à la surface de l'eau. Ce processus s'étend sur une période de 3 heures à une température de 100°C.



**Figure 9** : Le dispositif de l'hydrodistillation (*Clevenger*). (*photo originale*)

- **Rendement de l'huile essentielle**

Selon la norme AFNOR (2000), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée, Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R (\%) = (M / M_0) * 100}$$

**R** : Le rendement en huile essentielle

**M** : La masse de l'huile essentielle en gramme

**M<sub>0</sub>** : La masse de la matière végétale utilisée en gramme

### III.2.2. Extraction par macération

La macération (extraction solide- liquide) est une opération qui consiste à la mise en contact la matière végétale (broyat) avec le solvant pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode a été réalisée selon le protocole décrit par **Falleh et al., (2008)** avec quelques modifications.

10g de poudre est mise à macération pendant 24h avec 100 ml de méthanol pur. Le macérât ainsi obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de type Wattman. Le filtrat a été évaporé sous vide à une température de 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif, ensuite l'extrait méthanolique brut obtenue a été conservé à froid (4°C) jusqu'à son utilisation.

- **Rendement de l'extrait méthanolique**

C'est le rapport entre la masse de l'extrait obtenu après l'évaporation du solvant et la masse de la matière végétale sèche (**Boudjema et al., 2021**)

Il est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (M_{\text{ext}} / M_{\text{mv}}) \times 100$$

**R** : Rendement (%)

**M<sub>ext</sub>** : Masse de l'extrait sec en gramme.

**M<sub>mv</sub>** : Masse de la matière végétale en gramme.

### III.2.3. Analyse qualitative

#### III.2.3.1. Screening phytochimique

Ce test nous permet de réaliser une analyse qualitative qui se base sur des réactions de coloration et/ou de précipitation en utilisant des réactifs spécifiques, en vue de mettre en évidence des groupes chimiques contenue dans l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* (**Boudjema et al., 2021**).

- **Flavonoïdes**

On ajoute 3 gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré (98%) et 4 milligrammes de magnésium (Mg) à 1 ml de l'extrait méthanolique, l'apparition de la couleur rouge ou orange confirme la présence des flavonoïdes (**Karumi et al., 2004**).

- **Tanins**

On ajoute 4 à 5 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à (1%) à 1 ml de l'extrait méthanolique, en présence des tanins galliques la couleur vire au bleu noir et en présence des tanins catéchiques (tanins condensés) la couleur vire au bleu verdâtre. (**Karumi et al., 2004**).

- **Saponines**

On ajoute 10 ml de l'eau distillée à 5 ml de l'extrait méthanolique, le mélange est agité horizontalement pendant 15 secondes puis on laisse reposer pendant 15 min, la présence des saponines est indiqué par la persistance d'une mousse d'au moins 1 cm (**N'Guessan et al., 2009**).

- **Terpénoïdes**

On ajoute 0,5 ml de chloroforme et 0,7 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 1 ml de l'extrait méthanolique. La couleur vert-bleu révèle la présence des hétérosides stéroïdiens et la couleur vert-violet révèle la présence des hétérosides terpéniques. (**Haddouchi et al., 2016**)

- **Alcaloïdes**

On ajoute 2 ml d'acide chlorhydrique à 1 % à 1 ml de l'extrait méthanolique, le tout est chauffé au bain-marie, puis on divise l'extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc jaunâtre par le réactif de Mayer ou rouge orangé à brun pour le réactif Wagner. (**Haddouchi et al., 2016**)

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suit : (**Majob, 2003**)

Réactif de Mayer : Dissoudre 1.358 g d'HgCl<sub>2</sub> dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.

Réactif de Wagner : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1.27 g de I<sub>2</sub>. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée

- **Les oses et holosides**

On ajoute 5 ml d'éthanol à 1 ml d'extrait, le mélange donne un aspect floconneux en présence des mucilages (**Bruneton, 1999**)

## Analyse quantitative

### III.2.3.2. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols ont été déterminés en suivant la méthode colorimétrique du Folin-Ciocalteu selon le protocole décrit par (Miliauskas *et al.*, 2004)

Le Folin-Ciocalteu est un acide jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif.

Dans des tubes à essai on introduit 5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) avec 1 ml de l'extrait. Le mélange est incubé pendant 4 minutes. 4 ml de la solution Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%) a été ajoutée au mélange. Parallèlement, dans les mêmes conditions une courbe d'étalonnage est réalisée avec des concentrations croissantes d'acide ascorbique. Après 1 heures d'incubation à température ambiante et en obscurité, l'absorbance a été mesurée à 760 nm contre un blanc (eau distillée) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Jenway 6715).

Le dosage a été fait en trois essais pour assurer la fiabilité des résultats. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS)

### III.2.3.3. Dosage des flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium selon Chang *et al.*, (2002).

Dans des tubes à essais la solution d'AlCl<sub>3</sub> (2%) dans le méthanol a été mélangé avec un volume égal de l'extrait (v/v). Après 10 minutes d'incubation à une température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à 460 nm.

La quantification des flavonoïdes est faite à partir une gamme d'étalonnage établie avec le quercétine. Toutes les lectures ont été faites en triplicata. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).



### III.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante *In vitro*

Le DPPH· (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est généralement le substrat le plus couramment utilisé pour une évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité sous forme radicale libre et de la facilité de son analyse.

La méthode de DPPH offre de nombreux avantages étant donné sa simplicité et sa rapidité. Le test consiste à mettre le radical DPPH (teinte violet foncé) avec des composés antioxydants pour évaluer leur capacité à réduire ce radical. (Haddouchi *et al.*, 2016).

Dans ce travail, l'activités antioxydantes d'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* ont été testé selon le protocole décrit par Zuraini *et al.*, (2008).

Une quantité de 40µl de différentes concentrations d'extrait méthanolique ont été ajoutée à 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à une température ambiante.

L'absorbance a été lue à une longueur d'ondes 517 nm.

Les résultats ont été exprimés en taux d'inhibition des radicaux libres en pourcentage, en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{Inhibition} = [(AB - AA) / AB] * 100$$

**AB** : Absorbance du blanc (absorbance de la solution ne contenant que les réactifs)

**AA** : Absorbance de l'échantillon

#### Détermination des IC<sub>50</sub> :

La valeur IC<sub>50</sub> ou concentration d'inhibition 50 est la concentration du substrat qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH déterminée graphiquement (Samarth *et al.*, 2008).

### III.2.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *In vitro*

- **Test de dénaturation l'albumine d'œuf :**

Selon la méthode de **Mizushima et Kobayashi (1968)** avec quelques modifications d'**Obese et al., (2018)**.

Une solution de de 5 ml, composée de 0,2 ml d'albumine d'œuf, 2,8 ml de solution saline de tampon phosphate (PBS, pH 6,4) et 2 ml de l'extrait méthanolique à différentes concentrations. Le diclofénac a été utilisée comme un médicament de référence, le contrôle négatif se constituait de la même quantité de l'albumine et de PBS avec 2 ml de l'eau distillée. Le tout a été incubé pendant 15 min à 37 °C ensuite chauffé pendant 5 min à 70°C, après le refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé à l'aide de la formule suivante : (**Anoop et Bindu, 2015**)

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \left[ \frac{(A \text{ test} - A \text{ control})}{A \text{ control}} \times 100 \right]$$

### III.2.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les ferments lactiques

Afin d'évaluer l'activité de l'extrait méthanolique des graines *Slavia hispanica* nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque sur milieu gélosé.

5 différentes souches ont été sélectionnés, ces souches utilisées sont des souches identifiées Génétiquement (B12, L5, B4, L20), les souches B12 et B4 appartiennent au genre *Bifidobaterium* et les souches L5 et L20 appartiennent au genre *Lactobacillus*.

- **Préparation des dilutions de l'extrait méthanolique des graines de *S. hispanica***

A partir d'une masse de 1g de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* et en utilisant le diméthylsulfoxyde (DMSO) qui été choisis comme solvant parce c'est le plus utilisé et ça a été prouvé qu'il ne possède pas un pouvoir antibactérien puissant (**Gachkar et al., 2007**) Nous avons diluer 1g le l'extrait méthanolique des graines de *S.hispanica* dans 10 ml du solavant DMSO et a partir de la solution mère obtenue (100%) on a préparé les autres solutions diluées à des taux variables de 80, 60, 40 et 20 %

- **Méthode des disques par diffusion sur gélose**

La méthode consiste à déposer des dépôts successifs des disques sur la surface de chacune des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé MRS ensemencé (**Prescott et al., 2003**).

À partir d'un papier filtre (Whatman n° 3) des disques ont été confectionnés ensuite stérilisés à 120°C pendant 15 minutes dans un autoclave.

On a prélevé des cultures jeunes du milieu gélosé MRS pour enrichissement. Les cultures après activation ont été ensemencées dans 5 ml de bouillon nutritif ensuite incubés pour une durée de 3 heures jusqu'à l'obtention de la solution mère, d'une densité optique de 0,08 à 0,1.

Dans des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé MRS, des volumes de 0,2 ml de la solution mère ont été étalés en surface. Trois disques ont été imbibés dans chaque concentration de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* pendant 5 minutes ensuite, la mesure des diamètres des zones d'inhibition a été effectuée après l'incubation des boîtes de Pétri à une température de 37°C pendant 24 heures (**Guignar, 1998**).

# **Chapitre VI :**

## **Résultats**

**VI. Résultats****VI.1. Rendements**

Après l'extraction des huiles essentielles des graines de *S. hispanica* et la récupération de l'extrait méthanolique le rendement de chacun des extraits ont été déterminés et représentés dans le tableau 2

**Tableau 2** : Résultat du rendement d'extraction des graines de *S. hispanica*

La méthodes	Hydrodistillation		Macération
	Par Entraînement à la vapeur d'eau	Par Clevenger	
<b>Le rendement en (%)</b>	0 %	0.013 %	0.806 %

**IV.2. Analyse qualitative****IV.2.1. Screening phytochimique**

Les résultats de la mise en évidence de quelques métabolites secondaires (des flavonoïdes, des tanins, des saponines, des terpénoïdes et des alcaloïdes) dans l'extrait méthanolique sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 3** : Résultats des tests préliminaires de quelques métabolites secondaires de l'extrait méthanolique des graines *S. hispanica*

Métabolites	Extrait méthanolique
<b>Flavonoïde</b>	+
<b>Tanins</b>	++
<b>Saponines</b>	-
<b>Terpénoïdes</b>	+
<b>Alcaloïdes</b>	+
<b>Oses et holosides</b>	-

(-) : Absence.

(+) : Présence en faible quantité.

(++) : Présence en quantité moyenne.

(+++): Présence en quantité importante.

### IV.3. Analyse quantitative

Afin de caractériser l'extrait méthanolique préparé à partir des graines de *S. hispanica*, la quantification des composés phénoliques a été effectuée par le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Donc deux courbes d'étalonnage ont été tracées.

Les teneurs ont été rapportées en  $\mu\text{g}$  équivalent de standard utilisé par g MS et sont déterminés utilisant l'équation de type :  $Y = a X + b$ .

#### IV.3.1. Teneur en polyphénols totaux (PPT)

La teneur en polyphénols totaux d'extraits méthanoliques a été effectuée selon le procédé spectrophotométrique, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage établie avec des différentes concentrations d'acide gallique et les résultats du dosage de la teneur en polyphénol contenus dans l'extrait méthanolique est illustrée dans la figure 10 et figure 11 respectivement.

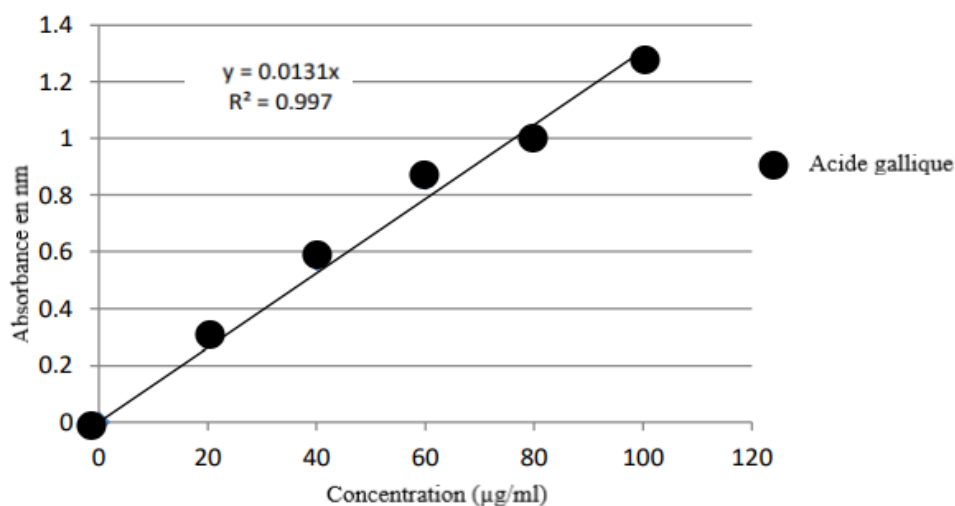
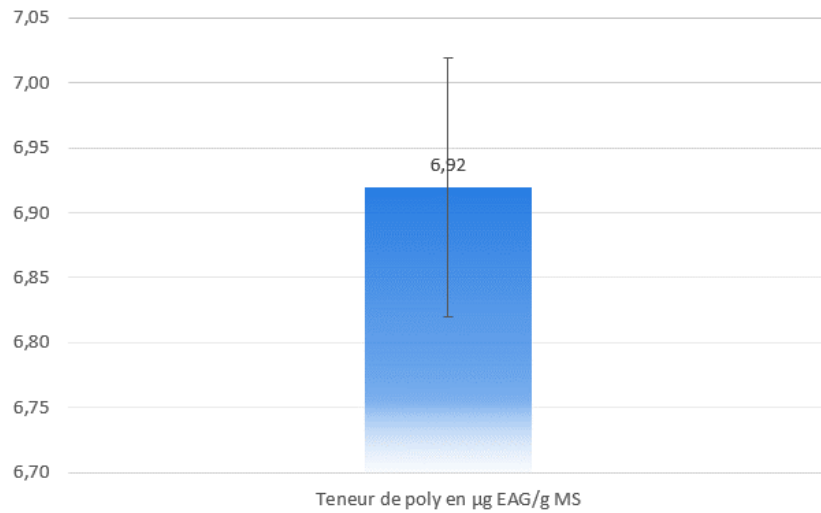


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,997$  figure (10)

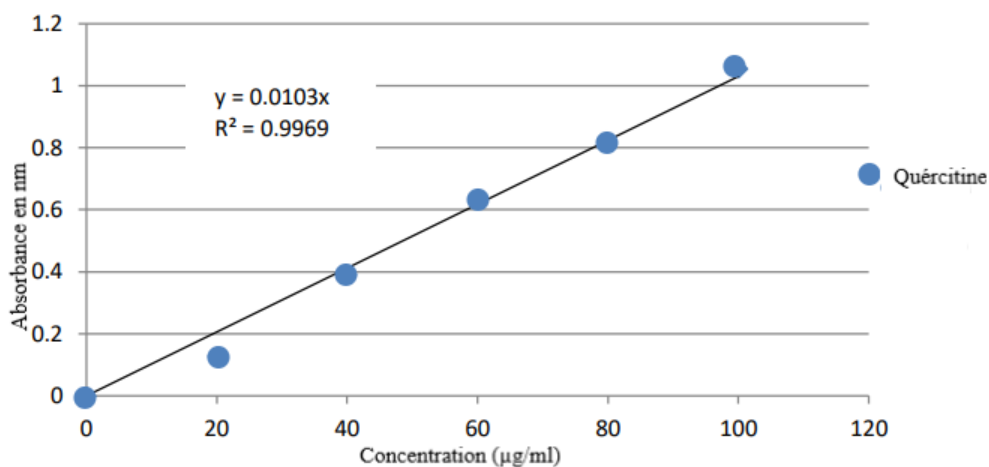


**Figure 11** : Teneur des polyphénols totaux en µg EAG/g MS

#### IV.3.2. Teneur en flavonoïdes

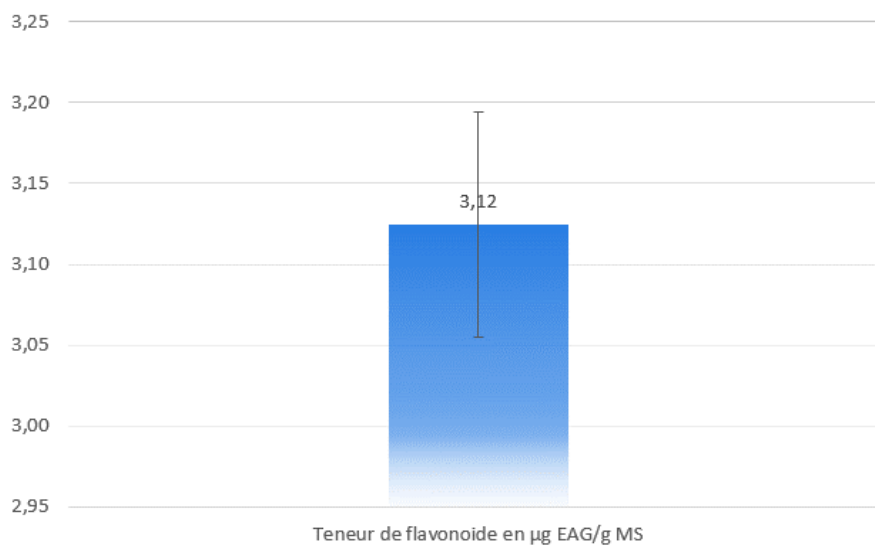
Pour la teneur des flavonoïdes d'extrait méthanolique, le dosage a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium en utilisant la quercétine comme un standard.

La courbe d'étalonnage établie par des différentes concentrations de quercétine et la teneur en flavonoïdes est illustré dans la figure (12) et figure (13) ci-dessous



**Figure 12** : Courbe d'étalonnage de la quercétine

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9969$  figure (12)



**Figure 13** : Teneur des flavonoïdes en μg EQ/g MS

#### **IV.4. Activité antioxydante**

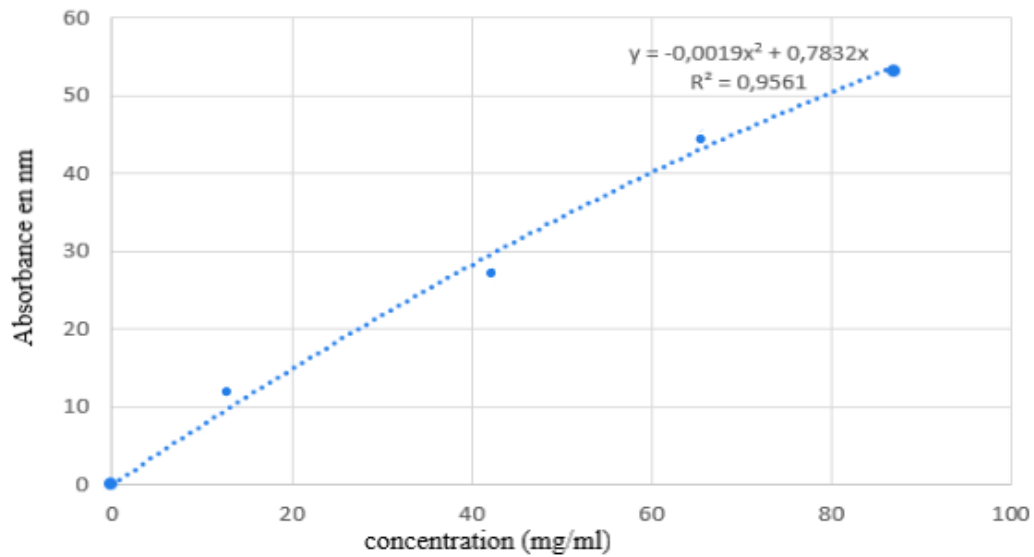
La mise en évidence du pouvoir antioxydant de l'extrait de la plante a été réalisée par la technique du piégeage du radical libre DPPH.

##### **IV.4.1. Le piégeage du radical libre DPPH**

Le test DPPH est souvent utilisé pour évaluer l'efficacité antioxydante des extraits de plantes (Pękal et Pyrzynska, 2015).

La figure (14) représente le pourcentage d'inhibition de du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations





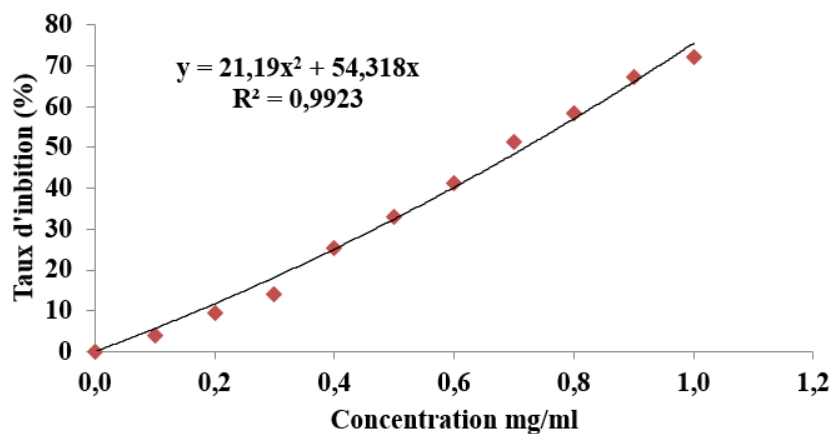
**Figure 14 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH

**Tableau 4 :** IC<sub>50</sub> et inhibitions maximales de l'extrait méthanolique déterminés par la méthode de DPPH

Échantillon	I <sub>max</sub> (mg/ml)	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
L'extrait méthanolique	53.197 ± 2.62	79.59 ± 3.43
L'acide ascorbique	0.7207 ± 1.666	0.7114 ± 0.004

Chaque résultat constitue la moyenne des trois valeurs obtenues (n=3)

La figure (15) représente le pourcentage d'inhibition l'acide ascorbique en fonction des différentes concentrations



**Figure 15 :** Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique

#### IV.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

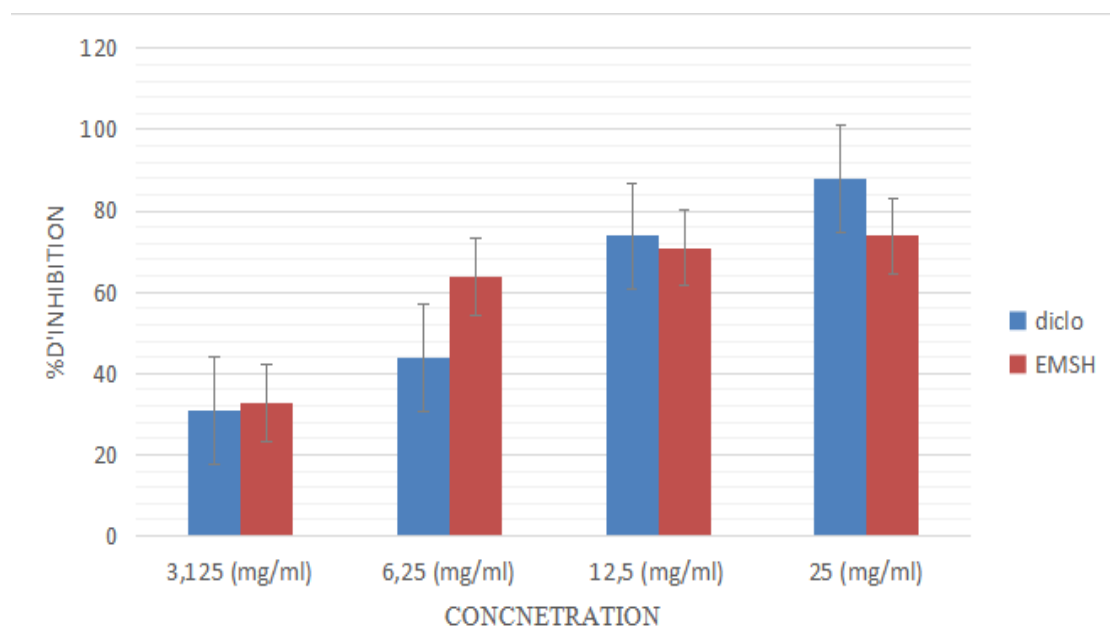
Dans notre étude, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait a été évaluée *in vitro* par le test d'inhibition de la dénaturation des protéines (l'albumine d'œuf) induite par un traitement thermique.

Le tableau 05 et la figures (16) représentent les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction des différentes concentrations d'extrait méthanolique. Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour le contrôle positif (diclofénac sodique).

**Tableau 5 :** Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait méthanolique et le contrôle positif (diclofénac sodique) à différentes concentrations.

Les inhibiteurs	% d'inhibition			
	3.125 mg/ml	6.25 mg/ml	12.5 mg/ml	25 mg/ml
Diclofénac sodique	30.86 ± 0.050	43.71 ± 0.860	73.78 ± 0.580	84.94 ± 0.530
EMSH	32.77 ± 0.47	63.86 ± 0.767	70.90 ± 0.362	73.82 ± 0.522

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais ± SD



**Figure 16 :** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par le diclofénac sodique et l'extrait méthanolique

#### IV.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les ferments lactiques

L'effet de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* vis-à-vis des ferments lactiques a été évalué par la méthode de diffusion en milieu solide, se teste nous a permis de juger qualitativement l'activité de notre extrait méthanolique à partir de la mesure des diamètres des zones d'inhibitions apprises autour des disques qui contiennent les différentes concentrations de l'extrait méthanolique.

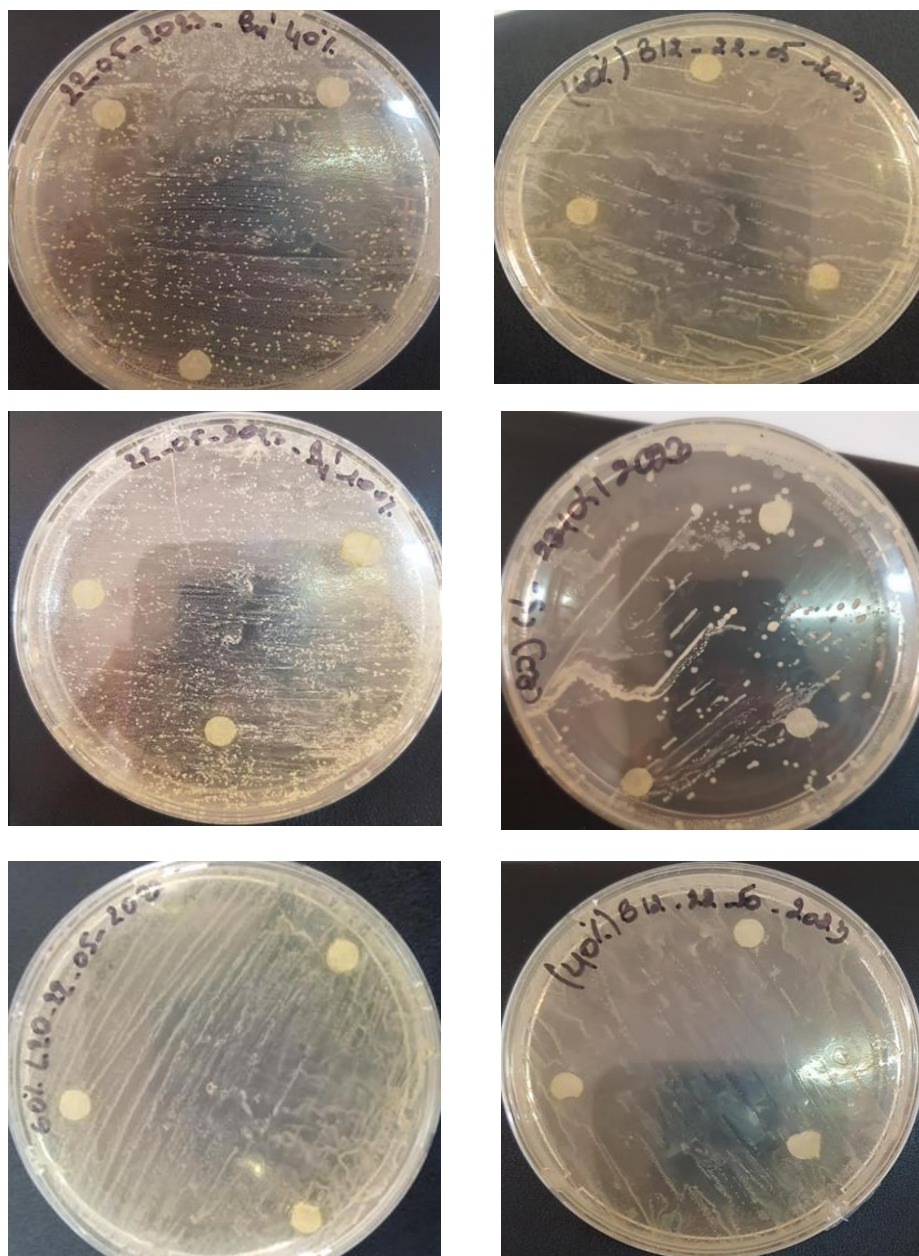
Les valeurs de zones d'inhibitions des différentes testes sont regroupées dans le tableau 6

**Tableau 06 :** Diamètre (mm) des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique de *S. hispanica*

Bactéries lactiques testées	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)				
	Doses (mg/ml)				
	20 %	40 %	60 %	80 %	100 %
Souche B12	-	-	-	-	-
Souche L20	-	-	-	-	-
Souche B4'	-	-	-	-	-
Souche L5	-	-	-	-	-

- : Absence de zone d'inhibition.

L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations de l'extrait est illustré dans la figure (17) ci-dessus :



**Figure (17) :** L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations

# **Chapitre VII :**

## **Discussion**

## VII. Discussion

### VII.1. Rendement

Afin d'évaluer les activités biologiques de notre plante, nous avons choisi deux différentes méthodes d'extractions (l'hydrodistillation et la macération).

Comparativement aux deux méthodes décrites précédemment, la méthode de la macération présente une efficacité plus importante que celle de l'hydrodistillation. D'après les résultats récapitulatives dans le tableau (02), le rendement d'extrait méthanolique des graines de chia par la macération a donné une quantité plus au moins importante par rapport au rendement des huiles essentielles avec une valeur de 0,806 %. Cependant, les huiles essentielles obtenues avec l'hydrodistillation par Clevenger a donné un faible rendement de 0,013 %

Dans un premier temps nous avons essayé de voir l'effet stimulateur des graines de chia sur les ferments lactiques. D'autre part, évaluer le teneur des composés phénoliques des graines de chia et de révéler leur propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

### VI.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique des graines de *Salvia hispanica* nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires. Il s'agit notamment les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les terpénoïdes . En outre, l'absence des saponines et les oses et les holosides. D'après **Rubavathi et al., (2020)**, nos résultats ne se concordent pas. Puisque **Rubavathi et al., (2020)** ont trouvé dans leur extrait méthanolique une présence des saponines et l'absence pour les alcaloïdes, ce qui est différent de nos résultats.

L'analyse phytochimique a permis d'identifier de manière qualitative les substances non nutritives mais biologiquement actives qui sont responsables de la saveur, de la couleur et des autres caractéristiques de la plante.

En effet les flavonoïdes jouent un rôle dans la pigmentation des végétaux (**Ribéreaugayon et Reynaud, 1968**),

Les tanins sont réputés pour conférer une saveur amère aux végétaux. En plus ils permettent d'arrêter les hémorragies et combattre les infections (**Eberhard et al., 2005**),

## VI.2. La teneur en composés phénoliques

Ces résultats montrent que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* contiennent des polyphénols totaux avec une teneur de  $6.92 \pm 0.23 \mu\text{g EAG/g MS}$ . Tandis que, ne renferme que  $3.12 \pm 0.07 \mu\text{g EQ/g MS}$  en flavonoïdes.

Selon notre étude, la teneur en polyphénols totaux des graines de Chia est très faible par rapport à l'étude réalisée par **Rubavathi et al., (2020)** dont la teneur en polyphénols totaux était de  $46,126 \pm 0,027 \mu\text{g/ml}$ .

La quantification des flavonoïdes totaux dans les graines de Chia montre une valeur inférieure à la valeur mentionnée par **Scapin et al., (2016)** qui était de  $1,62 \text{ g EQ/kg MS}$ .

Certains chercheurs ont démontré que la quantité de composés phénoliques est influencée par divers facteurs extérieurs ; les conditions climatiques et les conditions post récolte (**Coelho et Salas-Mellado, 2014**). Donc les variations observées peuvent être attribuées aux différences entre les méthodes d'extraction et les méthodes d'analyses et les facteurs environnementaux

## VI.3. Evaluation de l'activité antioxydante

### VI.3.1. Le piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, dans le but de déterminer la concentration de l'antioxydant permettant d'inhiber la moitié du radical. Cette méthode s'accompagne par le passage du radical DPPH de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à  $517\text{nm}$  (**Prakash et al., 2007**).

Etant donné qu'il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence, comme l'acide ascorbique (vitamine C) (**Alyafi, 2007**).

Les résultats de l'activité du piégeage radical DPPH montrent que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* possède une activité antioxydante avec une valeur  $\text{IC}_{50}$  de  $79,59 \pm 3.43 \text{ mg/ml}$  et l'acide ascorbique possède une activité antioxydante avec une valeur  $\text{IC}_{50}$  de  $0,714 \pm 0,004 \text{ mg/ml}$ . En effet, la valeur de l' $\text{IC}_{50}$  exprime la quantité d'antioxydant requise pour réduire de 50% la concentration du radical libre. Elle est inversement proportionnelle à la

capacité antioxydante d'un composé, et plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante est grande. Sa détermination permet d'évaluer et de comparer le pouvoir antioxydant de nos échantillons.

Le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour l'extrait méthanolique. Alors que les maximas d'inhibition se chiffrent respectivement entre  $72,077 \pm 1,666$  et  $53,197 \pm 2,62$  pour la vitamine C et pour l'extrait méthanolique Par contre, dans l'étude de **Rubavathi et al., 2020** l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* avait un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 100% à une concentration de 100 µg/ml

Les recherches faites sur l'activité antiradicalaire des graines de *Salvia hispanica* sont nombreuses. Ainsi, les résultats sont différents d'une étude à l'autre, cela peut être expliqué par plusieurs facteurs influençant l'efficacité de l'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé.

## **VI.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire *In vitro***

### **VI.1.1. Test de dénaturation l'albumine d'œuf**

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des substances de l'extrait méthanolique étudié, un test d'inhibition de la dénaturation d'albumine a été suivi.

La conformation d'une protéine est associée à sa structure secondaire et tertiaire, elle est obtenue grâce à des liaisons ((liaisons hydrogène, électrostatiques, hydrophobes et les ponts disulfures), la dénaturation se produit lorsque les structures quaternaire, tertiaire et secondaire sont altérées sans qu'il y ait de fragmentation de la chaîne peptidique, en raison de divers agents chimiques (comme les acides, les bases et les détergents) ou physiques (comme la chaleur et le pH). (**Karthik et al., 2013**)

Ce test est utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire. La dénaturation d'une protéine peut entraîner l'apparition d'une réaction inflammatoire en produisant des auto-antigènes, qui sont des éléments clés dans le développement d'une inflammation chronique (**Karthik et al., 2013**)

Le but de ce test est mesurer la capacité inhibitrice de l'extrait méthanolique des graines de *S.hispanica* sur la dénaturation thermique des protéines (**Karthik et al., 2013**)



A partir des résultats de taux d'inhibition de la dénaturation d'ovalbumine à différentes concentrations d'extraits méthanoliques des graines *Salvia hispanica*, on constate que le taux d'inhibition augmente significativement avec l'augmentation des concentrations pour l'extrait méthanolique et le diclofénac de sodium (anti-inflammatoire de référence).

L'extrait méthanolique montre un pourcentage d'inhibition de  $73.82 \pm 0.522$  a une concentration de (25mg/ml) tandis que le diclofénac révèle un pourcentage d'inhibition de  $84.94 \pm 0.530$  a une concentration de (25mg/ml).

### **VI.1. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les ferments lactiques :**

Les différentes concentrations faites de l'extrait méthanolique des graines de *salvia hispanica* successivement (20% 40% 60% 80% 100%) testées sur les souches de bactéries lactiques ont démontré qu'il n'y a pas d'effet inhibiteur.

Plusieurs études ont précédemment démontré que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* possède un pouvoir antimicrobien contre les bactéries pathogènes. Dans l'étude de **Motyka et al., (2023)** l'extrait avait une activité antibactérienne et antifongique vis-à-vis différentes souches (*S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ... etc )

On constate que l'extrait méthanolique des graines de chia peut avoir un effet antibactérien sans altérer les bactéries bénéfiques non pathogènes. (les probiotiques) .

# **Conclusion et perspectives**

### Conclusion et perspectives :

Dans cette étude, différentes propriétés biologiques des graines de *Salvia Hispanica* ont été démontrées et évaluées

Les résultats de l'extraction par hydrodistillation n'ont pas donné d'huile essentielle des graines de chia. Il se pourrait que cette méthode n'ait pas été adéquate pour l'extraction des huiles essentielles de *Salvia hispanica*. La quantification des différents composés phénoliques par des méthodes spectrophotométriques nous a permis de déterminer les valeurs de la teneur en polyphénols totaux qui était de 6.92 µg EAG/g MS suivi des flavonoïdes qui était de 3.12 mg EQ/g MS

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* par la méthode de piégeage du radical DPPH est liée proportionnellement à la teneur des composés phénoliques ( flavonoïdes ); puisque la teneur en flavonoïdes est faible donc l'activité antioxydante est insignifiante ; l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* par le test de la dénaturation de l'albumine œuf a révélé une activité anti-inflammatoire .

L'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* n'ont pas un effet inhibiteur sur la croissance des ferments lactique étudiés .

En conclusion et compte tenu des résultats obtenus, il semblerait possible d'utiliser les graines de Chia comme source facilement accessible de composés naturels et antioxydants. Elles peuvent être utilisées à des fins commerciales dans le but de concevoir de nouveaux produits alimentaires, pharmaceutiques et mêmes cosmétiques.. De plus, elles ont la capacité de participer à la prévention, au traitement et à la gestion de diverses maladies non contagieuses et à renforcer le système immunitaire. Les graines de chia peuvent être considérées comme un aliment fonctionnel qui pourrait favoriser l'amélioration de la santé et du mode de vie.

Les perspectives envisageables sont :

- L'extraction de l'huile essentielle des graines de *Salvia hispanica* par la méthode l'extraction assistée par micro-ondes
- L'extraction des composés phénoliques avec d'autres solvants (hexane, acétone, éthanol
- Cette plante a beaucoup de vertus, il est temps d'y prêter attention et de mieux l'étudier

# **Références bibliographiques :**

## Références bibliographiques :

### A

**AFNOR., (2000).** Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2).

**Akagawa M., Suyama K.( 2001).** Amine oxidase-like activity of polyphenols Mechanism and properties. Eur. Journal of Biochemistry, 268: 1953-1963.

**Alyafi Alzhri, G. (2007).** Determination of chemical composition of Prangos and the possibility to use in the applied field, Damascus University.

**Amarowicz, R. pegg, R. B . Rahimi. Moghaddan, P . Barl B et weilc, J.A. (2004) ;**Free radical scavenging capacity and antioxydant activity of selected plant spies from the Canadian prairies. Food chemistry, 84:551-562.

**Anoop, M. V., & Bindu, A. R. (2015).** In-vitro anti-inflammatory activity studies on *Syzygium zeylanicum* (L) DC leaves. International Journal of Pharma Research & Review, 4(8), 18-27

**Antoine, J.-M. (2011).** Les ferments lactiques et les laits fermentés : Nature et effets. Phytothérapie, 9(2), 76-81.

**Ayerza R., Coates W. (2004).** Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of south America. Trop. Sci. 44: 131–135.

### B

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M.,(2008).** Biological effects of essential oils--a review. Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc. 46, 446– 475.

**Bayala, B. (2014).** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. . Thèse. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; Université Joseph Ki-Zerbo (Ouagadougou, Burkina Faso),

**Bhandari, L., & Rajbhandari, M. (2015).** ISOLATION OF QUERCETIN FROM FLOWER PETALS, ESTIMATION OF TOTAL PHENOLIC, TOTAL FLAVONOID AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE DIFFERENT PARTS OF RHODODENDRON ARBOREUM SMITH. Scientific World, 12(12), 34-40.

**Boudjema, K., Nahoui, N. E. H., Temmimi, K., Azine, K., Hali, L., & Fazouane, F. (2021).** Screening phytochimique et activités biologiques d'extrait méthanolique obtenu à partir de la plante *Melissa officinalis* L.

**Boukhatem, M.E Nadjib, FERHAT, Amine et KAMELI, Abdelkrim, (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. Une. 2019. Vol. 3, n° 4, pp. 1653-1659.

**Bousmaha-Marroki, L., & Marroki, A. (2015).** Antibiotic susceptibility and heterogeneity in technological traits of lactobacilli isolated from Algerian goat's milk. [journal article]. Journal of Food Science and Technology, 52(8), 4708-4723.

**Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensm. Wiss. Technol. 28

**Bresson JL., Flynn A., Heinonen M. (2009).** Opinion on the safety of Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole Chia seeds, as a food ingredient. J Eur Food Safety Authority 996:1–26.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris, p.1120.

**Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology. 2004. Vol. 94, n° 3, pp. 223-253.

**Bushway, A.A., Belyea, P.R. & Bushway, R.J. (1981).** Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. Journal of Food Science, 46, 1349–1350

## C

**Cahill J (2003).** Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae). Econ Bot 57:604–618

**Chang C, Yang M, Wen H, Chern J (2002)** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Analysis, 10: 178-182

**Charpentier, B., (2008).** [New therapeutic targets for antibodies and recombinant proteins in organ transplantation]. Bull. Académie Natl. Médecine 192, 883–893; discussion 893– 894.

**Chenni, Mohamed. Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale: *Bryonia dioica* Jacq. (2010).** Thèse de doctorat. Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.

**Coelho, MS et Salas-Mellado, MDLM. (2014).** Caractérisation chimique du chia (*Salvia hispanica* L.) destiné à être utilisé dans les produits alimentaires. *Journal of Food and Nutrition Research* , 2 (5), 263-269.

**Cowan, M. M. (1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.

## **D**

**Danie Poiret (2014).** Mr Plantes. (Aliments riches en oméga 3 - Bienfaits, Danger, Posologie, Effets Secondaires. Bienfaits, Danger, Posologie, Effets Secondaires - Plantes médicinales. <https://www.mr-plantes.com/2014/03/aliments-riches-en-omega-3/>

**De Araújo, F. F., de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021).** Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry*, 338, 127535.

**De La Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019).** Phenolic Compounds. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (p. 253-271). Elsevier.

**Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. . Thèse Sciences pharmaceutiques

**Di Sapio, O BUENO, Mirian, B, Hector, Q, Mirta et Cecilia, S, (2012).** Morphoanatomical characterization of *Salvia hispanica* L. (LAMIACEAE) leaf, stem, fruit and seed. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*. 1 mai 2012. Vol. 11, pp. 249-268.

**Dinçoğlu, AH et Yeşildemir, Ö. (2019).** Une source renouvelable comme aliment fonctionnel: la graine de chia. *Current Nutrition & Food Science* , 15 (4), 327-337.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4): 654-660.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J.F., Stocker P. (2007).** Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*. 224: 801–809.

**Doleyres Y. (2003).** Production en continue du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse de Doctorat. Université Laval, Quebec. 167p

**Duquénois, P., Anton, R., (1968).** [Search for derivatives of anthracene in 2 African Cassia: *Cassia nigricans* Vahl et *Cassia podocarpa* Guill. et Perr]. *Ann. Pharm. Fr.* 26, 607– 614.

## E

**Eberhard T., Robert A. et Annelise L., (2005).** Plantes aromatiques, épices aromates, condiment et huiles essentielles, Tec et Doc, Lavoisier. Paris. France.

**Edwards, S. S. (1819).** *Salvia hispanica*, Spanish sage. *Botanical Register*, 5, 359.

## F

**Fahed, L, (2016).** Diversité chimique et potentiel antimicrobien d'huiles essentielles de plantes libanaises. . PhD Thèse Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdely C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies.* 331: 372-9.

**Farhat, A, (2010).** Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. In : . Avignon. 2010.

**Favier A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr* ; 64: 390-396

**Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J., & Chemat, F. (2006).** An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 121-126.

**Fernandes, Sibeles, PRENTICE, C et SALAS, Myriam, D. L. M , (2021).** Chia Seed (*Salvia hispanica*). In : TANWAR, Beenu et GOYAL, Ankit (éd.), *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*. Singapore : Springer. pp. 285-303

**Fernandez X., Chemat F,(1974).** La chimie des huiles essentielles : tradition et innovation. Editions Vuibert( 2012). 288p

**FLOREALPES :** *Salvia hispanica* / Saugue d'Espagne / Acanthaceae / Fiche détaillée Fleurs des Hautes-Alpes, [en ligne]. [Consulté le 20 mai 2023]. Disponible à l'adresse: [https://www.florealpes.com/fiche\\_salviahispanica.php?PHPSESSID=a1svfm43oc35a0io8dandvnule7](https://www.florealpes.com/fiche_salviahispanica.php?PHPSESSID=a1svfm43oc35a0io8dandvnule7)



**Fuhrman B., Lavy A. and Aviram M., (1995).** Consumption of redwine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation .Am.J.Clin. Nutr. 61 : 549-554p.

## G

**Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102(3), 898-904.

**Garneau, F.X. et Collin, G. J., (2005)** .Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation, le matériel végétal et les huiles essentielles. Chicoutimi, Quebec. 2005 Vol 1.

**Gil M. I., Tomas-Barberan F.A., Hess-Pierce B., Holcroft D. M., Kader A.A. (2000).** Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: 4581-4589.

**Golmakani, M. T., & Rezaei, K. (2008).** Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109(4), 925-930.

**Guignard J-L, (1998).** Biochimie végétale. Dunod, Paris., pp 274.

**Guinoiseau, E, (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. . PhD Thèse. Université de Corse.

## H

**Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N.(2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*.

**Halliwell, B. (2007).** Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions*, 35(5), 1147-1150.

**Hasler CM, Brown AC. (2009).** Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *J Am Diet Assoc*; 109(4): 735-46.

**Hellal, A., Amrouche, L., Ferhat, Z., & Laraba, F. (2012).** Characterization of bacteriocin from *Lactococcus* isolated from traditional Algerian dairy products. [journal article]. *Annals of Microbiology*, 62(1), 177-185

**Hernandez Ochoa, L.R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine “solvant/actif” d’origine végétale.

**Hubert, R. (1992).** Epices et aromates. Edition Tec & Doc, Lavoisier, France.

**Husnu C. B, K. , Buhchbaue,G. (2015).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. 2015. N° Ed. 2.

## **J**

**Jamboonsri, W., Phillips, T. D., Geneve, R. L., Cahill, J. P., & Hildebrand, D. F. (2012).** Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L.—A new  $\omega$ 3 source. Genetic Resources and Crop Evolution, 59(2), 171-178.

**Jovanovic S.V., SteenkenS., Simic M.G. and HaraY., (1998).** Antioxidant properties of flavonoids. AHDIEQ Journal.7: 137-161.

## **K**

**Kaloustian,J et Hadji,M, Francis, (2012).** La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. . Springer.

**Karande , P , Mitragotri, S, (2009).** Enhancement of transdermal drug delivery via synergistic action of chemicals. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 2009. Vol. 1788, n° 11, pp. 2362-2373.

**Karthik, K., Bharath, R.P., Venu Priya, R., Sunil Kumar, K., Ranjith Singh, B., Rathore. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *canthium parviflorum* by in-vitro method. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology 2320 – 3471.

**Karumi, Y. O. V. O., Onyeyili, P. A., & Ogugbuaja, V. O. (2004).** Identification of active

**Kayser, E. (1921).** La fermentation lactique. Le Lait, 1(4), 184-191.

**Knez Hrnčič M, Ivanovski M, Cör D, & Knez Ž. (2020).** Chia Seeds (*Salvia Hispanica* L.): An Overview—Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules*, 25(1), 11

**Koehilin-Ramonatxo C., (2006).** Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or another way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*, Vol. 20, p.p. 165-177.

**Kohen R. and Nyska A. (2002).** Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *Toxicol. Path*; 30: 620-650.

## **L**

**Laurent, S. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Poly technica Paris. 307 pages

**Leveau J.Y., Boiux M. et De Roissart H.B. (1991).** La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. 2e Ed., Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 3: 240P.

**Li, C., Oldham, C.D., May, S.W.N. (1994).** N-Dimethyl-1,4-phenylenediamine as an alternative reductant for peptidylglycine. Alpha-amidating mono oxygenase catalysis. *Biochem. J*, 300: 31-36

**López X., Huerta A.G., De la Cruz Torrez A., Sangerman-Jarquín E., Ma.D., De Rosas Guillermo O., Arriaga Martin R. (2017).** Chía (*Salvia hispanica* L.) situación actual y tendencias futuras. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8 (7): 1619-1631.

**Lucchesi, M. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. . PhD Thèse. Université de la Réunion.

**Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004).** Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323-327.

## **M**

**Macheix, J, J., Anine, F., Christian, J, A. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.

**Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R., (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranien Journal of Pharmaceutical Research*. 77-82.

**Makhloufi , A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru Thèse de doctorat.

**Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L . (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79 (5): 727-747.

**Marcinek K., Krejpcio Z. (2017).** Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications – A REVIEW. *Rocz Panstw Zakl Hig* 68(2):123-129.

**Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.

**Minichini F., Tundis R. (2011)** Phytochemical profile, antioxydant, ant-inflammatory and hypoglycemic potential of hydroalcoholic extracts from *Citrus media* L. cv diamante flowers, leaves and fruits at two maturity stages; *Food and chemical Toxicology*; 49: 1549- 1555.

**Mohd Ali, (2012).** The Promising Future of Chia,*Salvia hispanica*L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1–9

**Motyka, S., Kusznierevicz, B., Ekiert, H., Korona-Głowniak, I., & Szopa, A. (2023).** Comparative Analysis of Metabolic Variations, Antioxidant Profiles and Antimicrobial Activity of *Salvia hispanica* (Chia) Seed, Sprout, Leaf, Flower, Root and Herb Extracts. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(6), 2728.

**Muñoz LA, Cobos A, Diaz O, et Aguilera, JM. (2013).** Graine de chia (*Salvia hispanica*): un grain ancien et un nouvel aliment fonctionnel. *Food reviews international*, 29 (4), 394-408.

**N**

**N’Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).

**NATURELLE, Mnational d’Histoire, *Salvia hispanica* L., (1753) - Chia.** Inventaire National du Patrimoine Naturel. [en ligne]. [Consulté le 20 mai 2023]. Disponible à l’adresse: [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/976470](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/976470)

**Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M., Calapai, G. (2015).** Citrus bergamia essential oil: from basic research to clinical application. *Frontiers in Pharmacology* 6, 1–7.

**Nielsen D.S., Jacobsen T., Jespersen L., Koch A.G., Arneborg N. (2008).** Occurrence and growth of yeasts in processed meat products -Implications for potential spoilage. *Meat Science*, vol. 80, p. 919-926.

**Nogaret O, E, Anne, S, (2003).** La phytothérapie: se soigner par les plantes. Eyrolles. France. 2003. pp. 191. principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4(3), 179-182.

## O

**Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., & Stashenko, E. (2010).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 568-574.

## P

**Pękal A., Pyrzynska K. (2015).** Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 66(1) : 58-62.

**Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. (2003).** Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *In Vitro* assays. *Nutrient Requirements. Journal of Nutrition*, 133: 2812–2819.

**Porrás-Loaiza, P., Jiménez-Munguía, M. T., Sosa-Morales, M. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2013).** Physical properties, chemical characterization and fatty acid composition of Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(2), 571–577

**Prakash, D., Upadhyay, G., Singh, B. N., & Singh, H. B. (2007).** Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*). *Food chemistry*, 104(2), 783-790.

**Prescott L M., J P Harley and D A Klein. (2003).** *Microbiologie*. De Boeck Supérieur. pp:1137

## R

**Rahman I., Biswas S. K., et Kirkham P. A. (2006).** Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol*, 72 : 1439-1452.

**Ribéreau-Gayon P (1968)** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris 254 pp

**Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., Pérez-Rojas, J. M., KumarPassari, A., Diaz-Ruiz, G. and Rivero-Cruz, B. E. (2020).** Phytochemical Constituents, Antioxidant, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of the Ethanolic Extract of Mexican Brown Propolis. *Antioxidants*, 9(1), 70.

**Rubavathi, S., Ayyappadasan, G., Sangeetha, N., Harini, T., Saranya, D., & Harshapradha, P. (2020).** Studies on antioxidant and anti-obesity activity of *Salvia hispanica* (Chia) seeds extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3-s), 98-106.

**Ruberto, G., Baratta, M.T., (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 69, 167–174..

**Rupasinghe, H. V., Nair, S. V., & Robinson, R. A. (2014).** Chemopreventive properties of fruit phenolic compounds and their possible mode of actions. *Studies in natural products chemistry*, 42, 229-266

## S

**Salzer U.J., (1977).**- The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- a critical review. *C.R.C Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*. 9: 345-373.

**Samartha, Dr. R., Samartha, M., Kumar, M., Soni, A., & Kumar, M. (2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activity of certain radioprotective plant extracts. *Food Chemistry*, 106, 868-873.

**Scapin, G., Schmidt, M. M., Prestes, R. C., & Rosa, C. S. (2016).** Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. *International Food Research Journal*, 23(6).

**Schauenberg P. et Paris F., (2006).** Guides des plantes médicinales analyse, description et utilisation de 400 plantes. Edition delachaux et niestlé, Paris, pp 33-34.

**Sherwin E.R., (1976).** Antioxidants for vegetable oils. *Journal of American Oil Chemical Society*, Vol. 53, p.p. 430- 436.

**Sohal R. S., Mockett R. J. and Orr W. C. (2002).** Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radical Biol. Med*; 33: 575-586. antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem.* 91: 621-632.

**Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., & Zhang, H. (2014).** Phylogenesis and Evolution of Lactic Acid Bacteria. In H. Zhang & Y. Cai (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Fundamentals and Practice* (pp. 1- 101).

## T

**Talbi H., Boumaza A., El-mostafa A K., Talbi J. et Hilali A.(2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science.*, 6 (4) : 1111-1117.

**Tanwar A, Beenu et Goyal, Ankit, (2021).** *Oilseeds: health attributes and food applications.* Springer.

**Tomi, F., Bradesi, P., Bighelli, A. & Casanova, J. (1995).** Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Analysis*, 1, 25–34.

**Toure, Daouda, (2015).** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de côte d'ivoire. Thèse Université Felix Houphoet Boigny, Côte d'Ivoire.

## U

**Uullah R., Nadeem M., Ayaz M., Imran M., Tayyab M. (2016).** Fructionation of Chia oil for enrichment of Omega 3 and 6 Fatty Acids and Oxidative Stability of Fractions. *Food Sci. Biotechnol.*, 25 (1) :41-47.

## V

**Valdivia-lopez, Ma. Ángeles et Tecante, Alberto, (2015).** Chia (*Salvia hispanica*). In : *Advances in Food and Nutrition Research.* Elsevier. pp. 53-75.

**Victor R , Preedy RW , Vinood B. (2011).** *Nuts and seeds in health and disease prevention,* Acadimec Press, 1226.

## W

**Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., & He, H. (2006).** Improved solventfree microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102(1), 11-17

**Winston, G. W., Regoli, F., Dugas, A. J., Fong, J. H., and Blanchard, K. A. (1998).** A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biol. Med.* 24, 480–493.