

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



Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE
 Spécialité : **Biochimie Appliquée**

Par
Latreche Kheira
 &
Boudali Nesrine

Thème :

Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique des graines de Chia *Salvia Hispanica*

Soutenu le 06/06/2024 devant le jury composé de :

Président	REBAI OUAFA	Prof	Université de Mostaganem
Encadreur	BAHLOUL HALIMA AURASS	MCB	Université de Mostaganem
Examineur	SIDHOM WARDA	MCA	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciement

الحمد لله الذي اعاننا على انهاء هذا العمل و سخر لنا القوة لإتمامه فكل التوفيق منه وحده

Avant tout, nous tenons à remercier Allah le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la patience et la chance de réaliser ce modeste travail pour en arriver à ce stade-là.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre encadrant **Mme BAHLOUL Halima** . Pour ses conseils, son orientation et sa grande patience avec nous.

Mes vifs remerciements aux membres de jury, **madame REBAI OUAFAE** qui nous a fait l'honneur de présider le Jury, **madame SIDHOUM WARDA** pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons un très grand et sincère remerciement à **Madames BEDDIAF Mokhtaria, BELMERDJA Rachida** et **HAMMOU Amouria**, ingénieure principale de laboratoire de la Biochimie pour ses efforts et son aide, et ses conseils.

Il est formidable de reconnaître les efforts et les soutiens de ceux qui ont contribué à notre travail , leurs sacrifices méritent toute notre gratitude.

الإهداء

الحمد لله حيا وشكرا وامتنانا على البداء والختام
(وَأَخِرُّ دَعْوَاهُمْ أَنْ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

اهدي تخرجي إلى روح أبي « لطرش جيلالي » الذي لم يشاهدون وأنا أتوج بهذه الشهادة ،فكم كنت أتمني أن تكون بجانبني في هذه اللحظة الجميلة من حياتي، لكن وعد يا أبي سارفع رأسك عاليا بكل عزيمة وإصرار .رحمك الله وأناز قبرك يا أجلي سند وأجلي أبع رحل عن الدنيا.
إلى من جعل الله الجنة تحت أقدامها وأحتضني قلبها قبل يدها وإستلمت لي الشدائد بدعائها إلى القلب الحنون و الشمعة التي كانت لي في ليالي المظلمات نوراً
إلى سر قوتي ونجاتي ومصباح دربي الذي وهب حياتي " أمي " «بج.نسيرة»

إلى خلعي الثابت وأمانني أيامي إلى ملصمي نجابي إلى من شدت عضدي بهم فكانت إلي ينابيع أرتوي
منتها

إلى فترة عيني إخواني « لطرش عبد الرحمن و لطرش إبراهيم » وأخوانتي « لطرش أسماء، لطرش حسنية، لطرش
أمال، لطرش فاطمة»

إلى أصغر عنقودين في العائلة « بن حليلة عبد القادر و بن حليلة جواد»

إلى شريكتي بودالي نسرين التي اجتزنا جميع الصعاب ومررنا بأوقات لا تنسى مع بعضنا

شكر كبير إلى بوديافه مخاطرية،حمو عمورية و بلمرجة رشيدة على مساعدتهم و ووقوفهم معنا في الأوقات
الصعبة .

إلى جميع من أمدوني بالقوة والتوجيه وأمن بي ودعمني في الأوقات الصعبة لأصل إلى ما أنا عليه الآن زملائي
وزميلاتي من دفعة 2024/2019 وفقكم الله وأناز دروبكم.

وأخيرا من قال انا لها " نالها" وأنا لها إن أبت زُعماً عنما أتيت بها

خيرة

Dédicace

Je dédie ce modeste travail
A mes chers parents pour leur soutien, leur patience, leur encouragement tout au long de mon parcours scolaire.

A mes sœurs **BOUDALI Mansoria** et **BOUDALI Ghouziel** ainsi qu'à mon frère **BOUDALI Abdelhamid**

A ma tante **MAKHLOUF Nora** et son mari **BELABASSE kamel**
A mes chers cousins **BELABASSE Mansour** et **BELABASSE Khouloud**.

A mes anges : **KEDADRA Bouchra** et **KEDADRA Maria** .

À mes belles copines **BENSMAN Hafsa** , **BEKADDOUR Aicha** qui ont partagé tous les bons et les mauvais moments avec moi.

À mon binôme **kheira** avec laquelle j'ai partagée les joies et les difficultés au cours de notre travail.

A mes chères técniennes du laboratoire : **BEDDIAF Mokhtaria**,
BELMERDJA Rachida, **HAMMOU Amouria** .

a l'ensemble des étudiants de la promo 2019/2024 en master 2 Biochimie appliquée

À toutes mes connaissances qui m'aiment ♥

NESRINE

Résumé

Salvia hispanica L. est une plante herbacée annuelle largement répandue et utilisée à travers le monde pour ses propriétés culinaire et médicinales. *Salvia hispanica* est riche en composés bioactifs comme les antioxydants et les anti-inflammatoires, ce qui en fait un aliment très bénéfique pour la santé. Le but de notre travail était l'extraction des huiles essentielles des graines de chia par hydrodistillation ainsi que la préparation d'un extrait méthanolique afin d'étudier : le screening phytochimique qui est une méthode générale pour détecter la présence de composés chimiques dans les plantes, déterminer le dosage spécifique des polyphénols et des flavonoïdes, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de nos graines. La dernière partie de notre travail a été consacrée à l'étude de l'effet antagoniste de l'extrait méthanolique de graine de chia *salvia hispanica* sur la croissance de deux bactéries pathogènes ATCC tests. Les résultats indiquent une teneur élevée en polyphénols totaux et en flavonoïdes. L'extrait méthanolique de graines de Chia spanica semble posséder des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires élevés et considérables avec une activité antimicrobienne remarquable via les souches ciblés (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*).

Mots clés : *Salvia hispanica* L, Chia, composés phénoliques, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, activité antimicrobienne, bactéries pathogènes ATCC.

المخلص

سالفيا هيسبانيكا ل. هو عشب سنوي يتم توزيعه على نطاق واسع واستخدامه في جميع أنحاء العالم لخصائصه الطهوية والطبية. سالفيا هيسبانيكا غنية بالمركبات النشطة بيولوجيا مثل مضادات الأكسدة ومضادات الالتهاب ، مما يجعلها غذاء مفيدا جدا للصحة. كان الغرض من عملنا هو استخراج الزيوت الأساسية لبذور الشيا عن طريق التقطير المائي وكذلك تحضير مستخلص الميثانول من أجل دراسة: الفحص الكيميائي النباتي وهو طريقة عامة للكشف عن وجود المركبات الكيميائية في النباتات ، وتحديد الجرعة المحددة للبوليفينول والفلافونويد, تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الميثانول وتقييم النشاط المضاد للالتهابات لمستخلص الميثانول من بذورنا. تم تخصيص الجزء الأخير من عملنا لدراسة التأثير العدائي لمستخلص الميثانوليك من بذور شيا سالفيا هيسبانيكا على نمو اثنين من اختبارات البكتيريا المسببة للأمراض. تشير النتائج إلى وجود نسبة عالية من البوليفينول الكلي والفلافونويد. يبدو أن مستخلص الميثانول من بذور الشيا سبانيكا يمتلك خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات عالية وكبيرة مع نشاط مضاد للميكروبات ملحوظ عبر السلالات المستهدفة (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*)

الكلمات المفتاحية: سالفيا هيسبانيكا إل ، شيا ، مركبات فينولية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للالتهابات ، نشاط مضاد للميكروبات ، بكتيريا مسببة للأمراض.

Abstract

Salvia hispanica L. is an annual herb widely distributed and used throughout the world for its culinary and medicinal properties. *Salvia hispanica* is rich in bioactive compounds such as antioxidants and anti-inflammatories, which makes it a very beneficial food for health. The purpose of our work was the extraction of essential oils from chia seeds by hydrodistillation as well as the preparation of a methanol extract in order to study: phytochemical screening which is a general method to detect the presence of chemical compounds in plants, determine the specific dosage of polyphenols and flavonoids, the evaluation of the antioxidant activity of the methanolic extract and the evaluation of the anti-inflammatory activity of the methanolic extract of our seeds. The last part of our work was devoted to the study of the antagonistic effect of the methanolic extract of chia *salvia hispanica* seed on the growth of two pathogenic bacteria ATCC tests. The results indicate a high content of total polyphenols and flavonoids. The methanolic extract of *Chia spanica* seeds seems to possess high and considerable antioxidant and anti-inflammatory properties with a remarkable antimicrobial activity via the targeted strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*).

Key words: *Salvia hispanica* L, Chia, phenolic compounds, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity, pathogenic bacteria.

Liste des Abréviations

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

µg : Micro-gramme

Abs : Absorbance

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

AFNOR : Association Française de Normalisation

AlCl₃ : Aluminium chloride

ATCC: American Type Culture Collection

E. Coli : *Escherichia coli*

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

Da : Dalton

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl

EMSH : Extrait méthanolique de *Salvia hispanica*

ERO : Espèces réactives dérivées de l'oxygène.

FeCl₃ : Tri chlorure de fer

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

HCL : Chlorure d'hydrogène

HE : Huile Essentielle

IC50: Concentration inhibitrice à 50%.

mg EAG/gMS : Milligramme Équivalent acide gallique par gramme de matière sèche

mg EQ/g MS : Milligramme Équivalent de quercitine par gramme de matière sèche

ml : Milliliters

MS : Matière Sèche

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

nm : Nanomètre

ROS : Espèces réactives oxygénées

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S.hispanica : *Salvia hispanica*

SFME : Solvent free microwave extraction

LISTE DES FIGURES

- **Figure 1:** Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde
- **Figure 2:** Différents organes de la plante de *Salvia hispanica*.
- **Figure 3:** Les graines de *Chia* (*Salvia hispanica*).
- **Figure 4 :** Schéma de la distillation par Entraînement a la vapeur d'eau.
- **Figure 5:** Appareil d'hydrodistillation.
- **Figure 6 :** Montage d'extraction par solvant
- **Figure 7:** Structure du radical stable DPPH
- **Figure 8 :** Facteurs de virulence de *S. aureus*.
- **Figure 9 :** Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger
- **Figure 10 :** Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)
- **Figure 11:** Les concentrations des extraits de *salvia hispanica*.
- **Figure 12:** Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique ((Moyenne \pm SD de trois essais).
- **Figure 13 :** Teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g MS.
- **Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de la Quercétine.
- **Figure 15:** Teneur des flavonoïdes en mg EQ/g MS.
- **Figure 16:** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.
- **Figure 17:** Pourcentage d'inhibition du Acide Ascorbique.
- **Figure 18:** Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par le diclofénac sodique et l'extrait méthanolique.
- **Figure 19 :** L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations(*E.Coli*).
- **Figure 20 :** L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations(*Staphylococcus aureus*).

LISTE DES TABLEAUX

- **Tableau 1** : La classification taxonomique de chia.
- **Tableau 2** : La composition chimiques du Chia .
- **Tableau 3** : Estimation de la sensibilité des souches aux extrait.
- **Tableau 4** : Résultat du rendement d'extraction des graines de *S. hispanica*.
- **Tableau 5** : Résultats de tests préliminaires pour certains métabolites secondaires d'extraits méthanoliques de graines de *Salvia hispanica*.
- **Tableau 6** : IC50 et inhibitions maximales de l'extrait méthanolique déterminés par la méthode de DPPH.
- **Tableau 7** : Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait méthanolique et le contrôle positif (différentes concentrations).
- **Tableau 8** : Diamètre (mm) des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique de *S. hispanica*.

TABLE DES MATIERES

Résumé	5
المخلص	6
Abstract	7
Liste des Abréviations	8
LISTE DES FIGURES	9
LISTE DES TABLEAUX	10
Partie I : Synthèse Bibliographiques	15
Introduction	16
I. <i>Salvia hispanica</i>	20
I.1. Généralité sur <i>Salvia hispanica</i> :	20
I.2. Répartition géographique:	20
I.3. Caractéristiques morphologiques de <i>Salvia hispanica</i> :	21
I.4. La classification taxonomique:	22
I.5. Les synonymes:	22
I.6. Les graines de <i>Salvia hispanica</i>	23
I.6.1. Usage traditionnel	23
I.6.2. Les compositions chimiques	24
I.6.3. Intérêt nutritionnel	24
II. Les huiles essentielles et les composés phénoliques	27
II.1. Huiles essentielles	27
II.1.1. Composition chimique des huiles essentielles	27
II.1.1.1. Les terpénoïdes	27
II.1.1.2. Composés aromatiques	28
II.1.1.3. Composés d'origines diverses	28
II.1.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	28
II.1.3. Utilisation des huiles essentielles	29
II.1.4. Les méthodes conventionnelles d'extraction des huiles essentielles	29
II.1.4.1. Distillation:	30
II.1.4.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau :	30
II.1.4.1.2. Hydrodistillation:	31
II.1.4.2. Expression à froid ou expression mécanique:	32
II.1.4.3. Extraction par solvant organique:	32
II.1.5. Les composés phénoliques:	33
II.1.5.1 Les principales classes de composés phénoliques :	34
II.1.5.1.1. Les phénols :	34
II.1.5.1.2. Les acides phénoliques :	34
II.1.5.1.3. Les flavonoïdes :	34
II. 1.5.1.4. Les tanins:	34

III. Les activités biologiques:	36
III.1 Activité antioxydante	36
III.1.1 Oxidants	36
III.1.1.1. Stress oxydatif	37
III.1.1.2. Définition d'un radical libre	37
III.1.2 Les antioxydants:	37
III.1.3 Activité antioxydante des composés phénoliques:	38
III.1.4 Mécanisme d'action des antioxydants	38
III.1.5 Balance Oxydants /Antioxydants et stress oxydant	38
III.1.6 Méthodes d'évaluations de l'activité antioxydante	39
III.1.6.1 Test de Piégeage du radical 2, 2- diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH-)	39
III.1.6.2. Teste de réduction du fer FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)	40
III.1.6.3. Test de la capacité antioxydant par le test ABTS+:	40
III.1.7. Effet des antioxydants sur la santé humaine	41
III.2. Activité antimicrobienne	41
III.2.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne	42
III.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne:	42
III.2.2.1. Méthode de l'aromatogramme	42
III.2.2.2. Méthode de dilution:	43
III.2.2.3. Méthode de microatmosphère	43
IV. Les Bactéries pathogènes	45
IV.1. Généralités	45
IV.2. L'effet antagoniste des bactéries pathogènes:	45
IV.3. Classification des bactéries pathogènes:	45
IV.3.1. <i>Escherichia coli</i> :	45
IV.3.1.1. Habitat	46
IV.3.1.2. Pouvoir pathogène	46
IV.3.2. <i>Les Staphylococcus aureus</i> :	47
IV.3.2.1. Habitat	48
IV.3.2.2. Pouvoir pathogène	48
Partie II: Expérimentale	49
V. Matériel et méthodes	51
V.1. Objectif du travail	51
V.2. Matériel végétal	51
V.3. Méthodes	51
V.3.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	51
Hydrodistillation	51
Rendement de l'huile essentielle	52
V.3.2. Extraction par macération	53
Les etape de Maceration	53

V.3.3. Analyse qualitative	54
V.3.3.1. Screening Phytochimie	54
Test des Flavonoïdes	54
Test des Tanins	54
Les saponines	54
Test des alcaloïdes	55
Test des Terpénoïdes	55
Les oses et holosides	55
V.3.4. Analyse quantitative	55
V.3.4.1. Dosage des polyphénols totaux	55
Principe	55
Technique	56
V.3.4.2. Dosage des flavonoïdes	56
Principe	56
Technique	56
V.3.5. Activité antioxydante (test DPPH)	56
Principe	56
Technique	57
Calcul des IC50	57
V.3.6. Activité anti-inflammatoire (Test de dénaturation l'albumine d'œuf)	58
Principe	58
Technique	58
V.3.7. L'activité antibactérienne	58
V.3.7.1. Origine et choix des souches	58
V.3.7.2. Milieux de culture utilisés	59
V.3.7.3. Test de l'activité antibactérienne	59
V.3.7.4. Méthode d'aromatogramme	59
Préparation des dilutions de l'extrait méthanolique	59
Ensemencement et dépôt des disques	60
Incubation	60
V.3.7.5. Expression des résultats	60
VI. Résultats	62
VI.1. Rendement	62
VI.2. Analyse qualitative:	62
VI.2.1. Screening phytochimique:	62
VI.3. Analyse quantitative :	63
VI.3.1. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes	63
VI.3.1.1. Teneur en polyphénols	63
VI.3.1.2. Teneur en flavonoïdes	65
VI.4. Activité antioxydante	66

VI.4.1. Le piégeage du radical libre DPPH	66
VI.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :	67
VI.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les bactéries pathogènes	68
VII. Discussion	71
VII.1. Rendement	71
VII.2. Analyse qualitative	71
VII.2.1. Screening phytochimique	71
VII.3. Analyse quantitative	72
VII.3.1. La teneur des polyphénols totaux	72
VII.4. Activité antioxydante	72
VII.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	73
VII.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les bactéries patogène	74
<i>Escherichia coli</i>	74
<i>Staphylococcus aureus</i>	75
Conclusion	76
Références bibliographiques	79

Partie I : Synthèse

Bibliographiques

Introduction

Introduction

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer ...mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé. Par ailleurs, les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle économique considérable dans le secteur des industries de l'agroalimentaire, de la parfumerie, des cosmétiques, ...et de la pharmacie. En effet, les plantes représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, phénols, tanins, vitamines, et huiles essentielles.

Le règne végétal est riche en ressources naturelles essentielles à l'alimentation de l'homme, à son hygiène et sa santé. Afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un immense réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité biologique. Les huiles extraites de plantes sont utilisées aujourd'hui comme méthode alternative de lutte contre les diverses maladies et les insectes nuisibles des denrées stockées.

Les plantes sont une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans plusieurs industries, telle que l'industrie cosmétique, agro-alimentaire et pharmaceutique. La diversité de molécules naturelles qui ne sont pas indispensables à la viabilité des plantes reste une énigme pour les biologistes, qui essaient de décrypter leur rôle dans la nature .

Aujourd'hui encore, diverses maladies sont traitées uniquement par les seuls thérapies naturelles qui font appel non seulement aux plantes aromatiques, mais aussi à leurs huiles essentielles obtenues généralement par hydro-distillation.

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés en composés aromatiques (odorants), volatils. Leur utilisation est connue depuis l'antiquité par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, les huiles essentielles les représentent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications grasses à potentiel thérapeutique et de leurs constituants.

Les points de contrôle à effectuer pour se prémunir de la falsification des huiles essentielles et éviter les confusions entre les différentes espèces concernent les caractéristiques organoleptiques, les propriétés physico-chimiques, et les analyses chimiques. Ce contrôle a pour but de définir et caractériser les huiles essentielles, ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité.

La *Salvia hispanica*, appartenant au genre *Salvia*, le plus abondant parmi la famille des lamiacées, est originaire du nord du Guatemala et du sud du Mexique. Ce genre compte, en effet, environ 900 espèces, réparties sur l'ensemble du territoire de plusieurs régions du monde, y compris l'Afrique australe, l'Afrique centrale, l'Afrique de l'est et l'Afrique de l'ouest, ainsi que l'Amérique du nord, l'Amérique du Sud et l'Asie du sud.

va résumé notre travail a des objectifs principaux dans les points suivants :

- Extraction des huiles essentielle par 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 antagoniste de graine de *chia salvia hispanica* sur la croissance de deux bactéries pathogènes ATCC test .

Chapitre I :

Salvia hispanica (Chia)

I. *Salvia hispanica*

I.1. Généralité sur *Salvia hispanica* :

La *chia* est une plante herbacée annuelle indigène du centre du Mexique et du nord du Guatemala qui appartient à la famille des Lamiaceae (**Abdelhalim et Hanrahan. 2021**).

La *chia* a été classé par le botaniste suédois Carl Von Linné en 1753, qui l'a nommé *Salvia* (sauver ou guérir) *hispanica* (espagnol) qui signifie en latin plante espagnole à guérir ou à sauver (**Sosa.A.2016**).

Cette espèce n'est pas originaire d'Espagne, mais elle a été transportée par Cristobal Colón du Mexique vers ce pays. En langue nahua, le mot *Chian* (aujourd'hui appelé *chia*) signifie huileux, donc les Aztèques ont utilisé le mot *chia* pour désigner toutes les épices du genre *Salvia*, dont la principale caractéristique est leur haute teneur en huile (**Sosa.A. 2016**).

I.2. Répartition géographique:

Le genre *Salvia* représente un assemblage énorme et cosmopolite de près de 1000 espèces présentant une gamme de variation remarquable. Il est distribué dans trois régions principales dans le monde : Amérique Centrale et du Sud (500 espèces), Asie Centrale/Méditerranée (250 espèces), Asie de l'Est (90 espèces) et en Afrique du Sud (30 espèces) (**Figure 1**) (**Walker et al., 2004**):

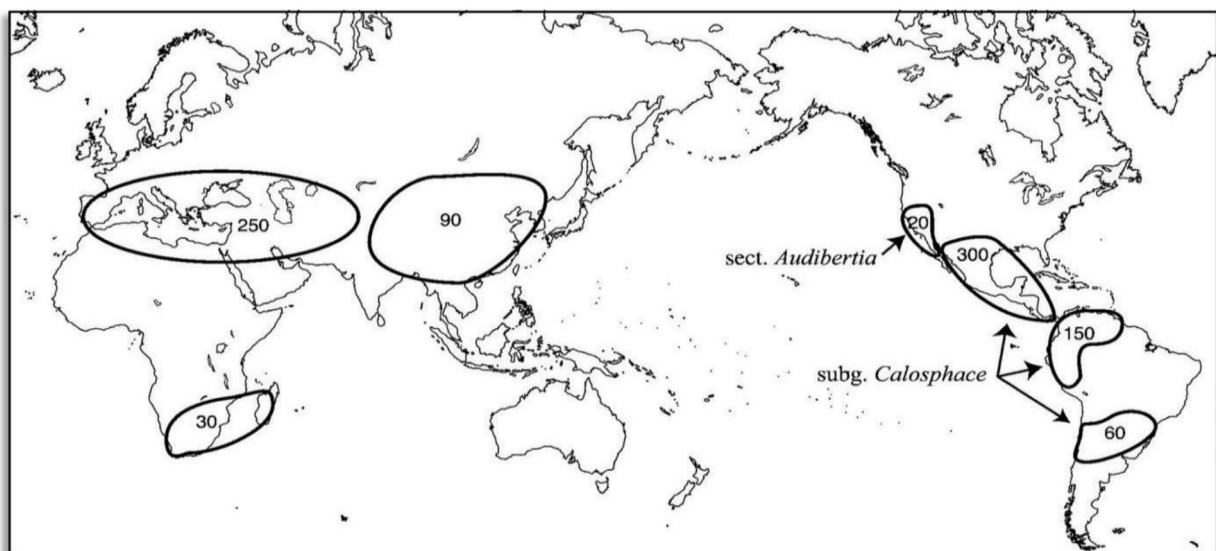


Figure 1: Répartition géographique du genre *Salvia* dans le monde (**Walker et al.,2004**).

I.3. Caractéristiques morphologiques de *Salvia hispanica*:

Salvia hispanica est caractérisée par :

- Des tiges ramifiées de section quadrangulaire et creuse (**figure 2**).
- Des feuilles vert citron ovales sont disposées de manière opposée (**figure 2**) de 80 à 100 mm de longueur et 40 à 60 mm de largeur, portées par un pétiole de 40 mm de long et ont des bords dentelés.
- Les fleurs de *S. hispanica* sont hermaphrodites, de couleur violette, bleue ou blanche (**figure 2**) de 3–4 mm de diamètre, poussant en verticilles à l'extrémité des pousses.
- Fruits indéhiscents ronds, en groupes de quatre grappes ovales monospermiques (**figure 2**) de 1,5 à 2 mm de longueur et de 1 à 1,2 mm de diamètre.
- Les graines sont molles et brillantes, de couleur gris-brun avec des taches brun foncé (**figure 2**) qui peuvent parfois être blanches, elles sont petites et légères ainsi le poids des 1000 graines peut varier de 0,94 et 1,29 g, *S hispanica* L. est une plante autogame, les Insectes sont responsables de la pollinisation croisée, mais la reproduction la plus couramment rencontrée est accomplie grâce aux semences.(**Taiba.Ch et Zeraia.Ch.2021**).

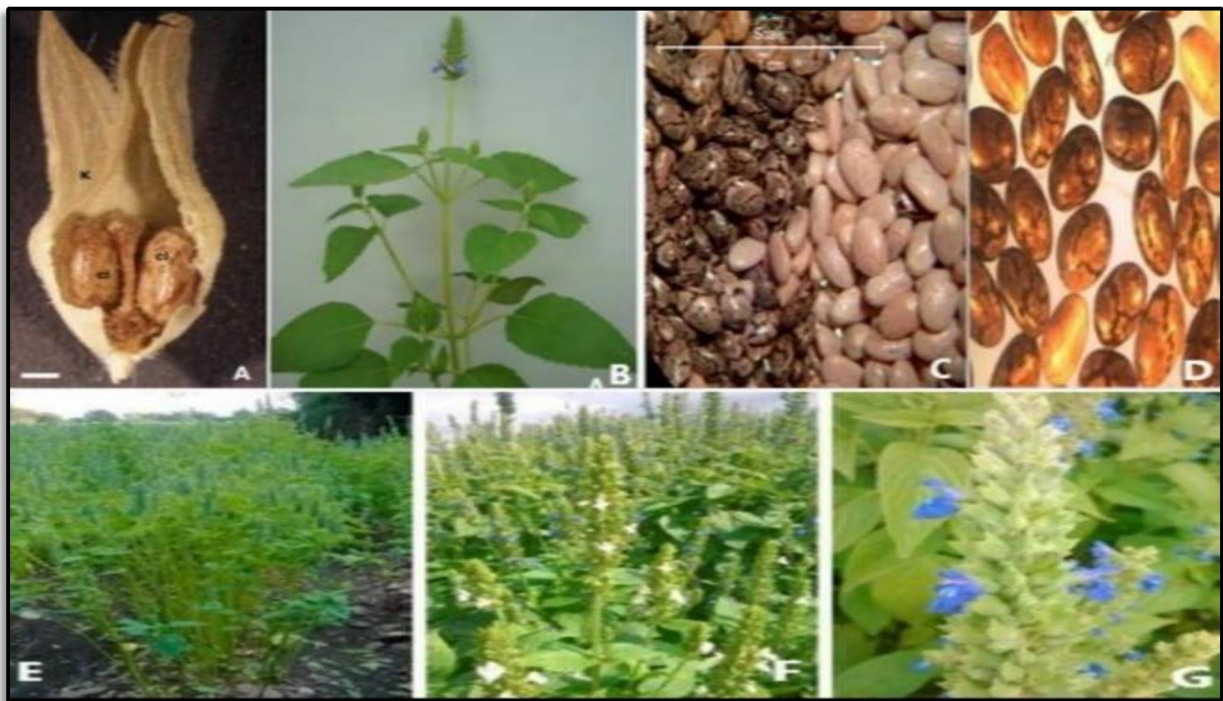


Figure 2: Différents organes de la plante de *Salvia hispanica*. **A:** exo morphologie des fruits ; **B:** aspect général d'un individu adulte ; **C:** graines de *chia* foncées (côté gauche) ,graines de *chia* blanches (côté droit);**D:** graines entières (image approximative);**E:** plante ;**F et G:** fleurs.(**Taiba.Ch et Zeraia.Ch.2021**).

I.4. La classification taxonomique:

La plante de *chia* appartient à la famille des Lamiacées. Sa classification est la suivante (Tableau 1):

Tableau 1 :La classification taxonomique de *chia*.

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

I.5. Les synonymes:

Il existe d'autres noms et classification scientifiques de la *Salvia hispanica* :

- ❖ *Kiosmina hispanica* (L.) Raf.
- ❖ *Salvia chia* Colla.
- ❖ *Salvia chia* Sessé et Moc.
- ❖ *Salvia hispanica* var.
- ❖ *Chionocalyx* Fernald.
- ❖ *Salvia schiedeana* Stapf.
- ❖ *Salvia neo hispanica* Briq.

I.6. Les graines de *Salvia hispanica*

Les graines de *Chia*, comme les graines de sésame, sont relativement petites. Elles sont généralement brunes, plus ou moins foncées, mais certaines variétés sont blanches, beiges ou grisâtres. La couleur du grain n'a pas d'influence sur sa valeur nutritive, mais peut présenter un intérêt pour la coloration de la préparation culinaire. Le *Chia* pâle (ou blanc) a un goût plutôt neutre. Celui des graines brunes (ou noires) est un peu plus prononcé, tout en restant agréable. On peut les manger telles quelles; on peut aussi les mouliner pour les incorporer à des recettes ou les saupoudrer. Après environ 30 minutes dans de l'eau ou du jus, le *Chia*, comme le psyllium, forme un mucilage (liquide visqueux). Les graines craquent moins sous la dent que lorsqu'elles sont sèches : leur texture rappelle alors un peu celle des graines de pavot dans les gâteaux. (Kihal.F et Mokhtari.M.2021).



Figure 3: Les graines de *Chia* (*Salvia hispanica*).

I.6.1. Usage traditionnel

1. La *chia* était utilisée par les Aztèques comme nourriture, mélangé à l'eau et consommé comme boisson, moulu en farine, incluse dans les médicaments, donnée aux oiseaux, et pressée pour l'huile à utiliser comme base pour le visage et le corps peintures et pour protéger les statues et les peintures religieuses des éléments, servi de revitalisant pour les combattants qui sont partis à la guerre, et pour les femmes qui se préparent à l'accouchement (López et al.,2017).

2. L'importance de l'utilisation de la *chia* comme ingrédient dans les boissons et les aliments au Mexique précolombien a été soulignée par plusieurs auteurs. La pratique courante de torréfaction et de broyage des graines pour produire de la farine, connue comme Chianpinolli, qui a été incorporé à tortillas, tamales et plusieurs boissons aztèques connues sous le nom de Chianatoles. Pour les Aztèques, la récolte de *chia* était aussi importante que le maïs, et avec amarante ces cultures étaient très appréciées (Valdivia-López et Tecante.2015).

I.6.2. Les compositions chimiques

Les graines de *chia* sont caractérisées par des concentrations élevées d'acides linoléiques (oméga-6) et α -linoléiques (Ayerza et al .2004).

Tableau 2 : La composition chimiques du *Chia* (Ixtaina et al . 2008).

Éléments	Concentration
Protéines	15-25%
Acides gras	30-33%
Carbohydrates	26-41%
Fibres alimentaires	18-30%
Cendre	4-5%
Minéraux	90-93%
Vitamines	Disponible
Matière sèche	90 a 93 %

I.6.3. Intérêt nutritionnel

1. La *chia* est une culture oléagineuse avec une forte production d'acides gras, particulièrement d'oméga-3, d'oméga-6 et de fibres. (Taiba.ch et Zakaria.Ch.2021).
2. Elle est surtout utilisée pour des intérêts culinaires comme pour la phytothérapie. Les graines à leurs tours, peuvent être consommées entières, après extraction de l'huile, ou moulues comme additif à d'autres ingrédients alimentaires. (Ayerza et Coates.2004).

3. La *chia* peut être incorporé dans l'alimentation humaine pour sa teneur et sa composition en protéines. L'huile extraite de la *chia* peut être utilisée comme assaisonnement. **(Muñoz et al., 2013).**
4. En plus de sa consommation culinaire, la *chia* peut être utilisée comme agent épaississant et stabilisant dans des produits alimentaires comme les conserves, yaourts, mayonnaises etsauces ou pour remplacer les œufs ou l'huile dans les produits de boulangerie **(Bochicchio et al., 2015)**

Chapitre II:
Les huiles essentielles
et les composés
phénolique

II. Les huiles essentielles et les composés phénoliques

II.1. Huiles essentielles

On appelle huile essentielle (ou parfois « essence végétale »), qui sont stockées dans tous les organes végétaux, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits mais également à partir de gommés qui se les écoulent du tronc des arbres.(Magri.Ch.Benzineb.M.2023).

Les huiles essentielles sont des produits d'extraits aromatiques volatils, composants complexes, obtenu à partir de matériel végétal botaniquement défini, ou par distillation à la vapeur, par distillation sèche ou par procédé Mécanique sans chauffage.(Pengelly.A.Bone.K.2020).

II.1.1. Composition chimique des huiles essentielles

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 , 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 .

II.1.1.1. Les terpénoïdes

Ce sont des hydrocarbures de nature terpéniques dont la formule générale est (C₅H₈). Ces terpènes sont très volatils et regroupent : les mono-terpènes (C₁₀H₁₆) et les sesquiterpènes(C₁₅H₂₄). Les monoterpènes sont les plus répandus et ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ-terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, borneol), phénols, esters, aldéhydes et autres.(Bruneton and Poupon. 2016).

II.1.1.2. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment des allyl-et propénylphénols, parfois des aldéhydes.

La biosynthèse par voie phénylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique.

Les phénylpropanoïdes sont moins répondeur dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae : (anis, fenouil, persil, cannelles (eugénole, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde). **(Bruneton. 1999)**.

II.1.1.3. Composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, carbure (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C3 à C10), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones. Dans les concentrations, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante non entraînés à la vapeur d'eau; homologues des phénylpropanes, diterpènes coumarines. **(Magri.Ch.Benzineb.M.2023)**.

II.1.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles végétales. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînés à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Il faut donc un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé.

Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation . Les huiles essentielles sont incolores ou jaune pâle à l'état liquide et a température à ambiante.(Bouddedja.S.2017).

II.1.3. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles aident les petites indispositions quotidiennes de l'homme. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que l'organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales.(Bouddedja.S.2017). Parmi les propriétés les plus connues:

- **Le pouvoir antiseptique:** à l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants (mais aussi de plus en plus destructeurs de la flore saprophyte responsable de notre immunité), les huiles essentielles offre une véritable alternative. Les aldéhydes et les terpènes sont connus pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes. Leur efficacité se révèle en effet stable dans le temps et la preuve est faite tous les jours par leur grande efficacité, là où certains antibiotiques échouent désormais.

- **Le pouvoir antibactérien:** Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géranial), etc.

- **Le pouvoir antivirale:** Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolus. Aujourd'hui, les huiles essentielles constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux ou les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques.

- **Le pouvoir antifongique:** Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, avec les huiles essentielles on utilisera les mêmes groupes que ceux cités plus haut, on ajoutera les sesquiterpène et les lactones sesquiterpéniques. Par ailleurs, les mycoses ne se développent pas sur un terrain acide. Ainsi il faut chercher à alcaliniser le terrain.(Bouddedja.S.2017).

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

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle, ce qui

explique leur coût élevé. Cependant, les huiles essentielles sont généralement diluées avant d'être utilisées à cause de leur toxicité à trop fortes concentrations (**Couic-Marinier et al . 2013**).

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate, elle a pour but de capter les produits les plus subtils élaborés par le végétal (**Nogaret-Ehrhart, 2008**). Elle ne doit pas entraîner de changements significatifs dans leur composition moléculaire (**Bonafous. 2013**).

II.1.4.1. Distillation:

De manière générale, la distillation est une technique de séparation qui se base sur la différence de densité entre un liquide et la vapeur engendrée (**Bouedja.S.2017**). Elle implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes. Il existe en effet deux différents procédés utilisant ce principe : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.

II.1.4.1.1. Entraînement à la vapeur d'eau :

Il s'agit d'un procédé d'extraction le plus ancien, il a été apporté par les Egyptiens au IXe siècle (**Lakhdar. 2015**).

Le montage (**Fig. 4**) comprend trois cuves reliées entre elles par des tubes, la première reçoit de l'eau et la seconde les plantes. L'eau est doucement chauffée et la vapeur passe dans la cuve contenant les plantes. La vapeur circule à travers les plantes et se charge de principes actifs formant ainsi un mélange gazeux homogène, celui-ci s'échappe par un long tuyau fin en forme de serpentin qui baigne dans un récipient d'eau froide. La vapeur, ainsi refroidie, se condense en gouttelettes dans le liquide final de la troisième cuve (l'essencier). L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, est récupérée en surface, tandis que l'eau qui se trouve en dessous sera utilisée pour créer des eaux florales appelées aussi hydrolats (eau de rose, eau d'orange) (**Lardry. J. M et al., 2007**).

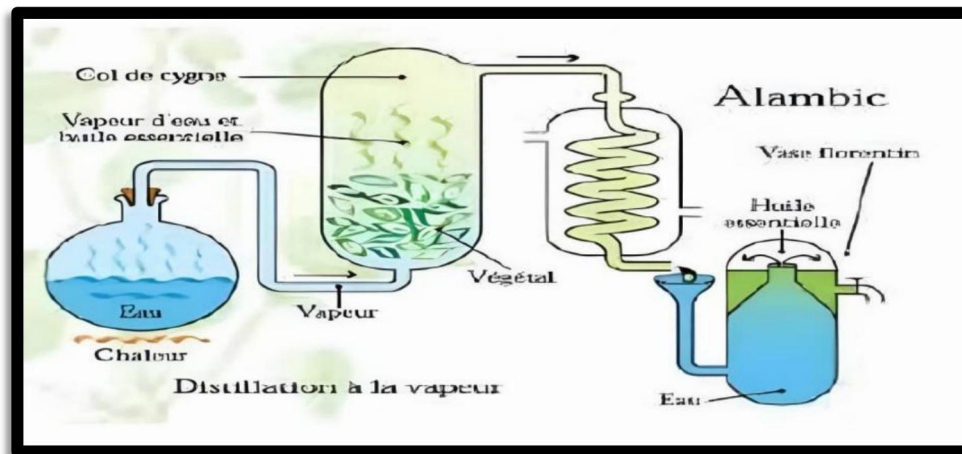


Figure 4 : Schéma de la distillation par Entrainement a la vapeur d'eau.(Ferkous.I.2016).

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par décantation, un procédé physique n'entraînant pas de changements significatifs de sa composition. Cette séparation est déterminée dans une large mesure par le degré de solubilité de l'huile essentielle dans l'eau.

II.1.4.1.2. Hydrodistillation:

L'hydrodistillation vient du mot composé hydro- qui signifie en grec « eau » et -distillation qui vient du latin stilla, « goutte » et de distillare (latin savant), « tomber goutte à goutte ». Ce procédé d'extraction date de l'époque de la révolution industrielle (au XIXe siècle). Dans ce cas, le matériel végétal est en contact direct avec l'eau (**Figure 5**). Le procédé consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé).

dans un récipient rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Parfois un additif ionique est ajouté, il s'agit souvent de NaCl qui permet d'augmenter la force ionique de l'eau et donc d'obtenir un meilleur rendement en huile essentielle (**Pistelli.2015**).

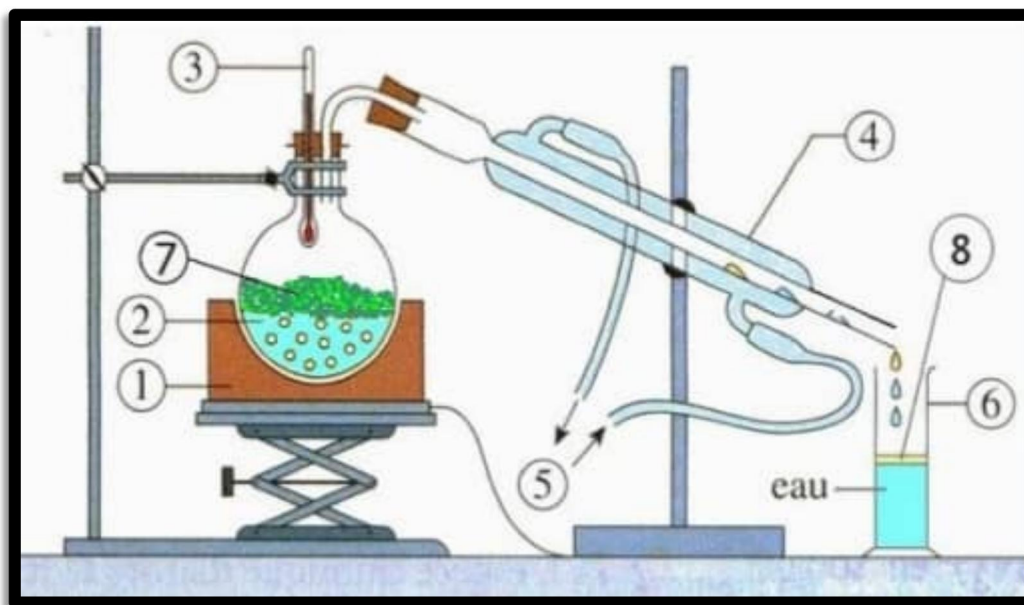


Figure 5: Appareil d'hydrodistillation.(Ferkous.I.2016).

Légende : (1) Chauffe-ballon ; (2) eau en ébullition ; (3) 3-thermomètre ; (4) réfrigérant à eau ; (5) arrivée et sortie d'eau ; (6) éprouvette graduée ; (7) matériel végétal ; (8) huile essentiel ou essence.

Lors de la distillation des huiles essentielles plusieurs phénomènes sont à la base d'échange de matière entre les phases solide, liquide et la vapeur d'eau, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de l'huile essentielle.(Bouedja.S.2017).

II.1.4.2. Expression à froid ou expression mécanique:

Ce procédé est réservé aux variétés de fruits ou plantes comme les agrumes (oranges, citrons, mandarines...). Les huiles essentielles, sont contenues dans de petites glandes contenues dans leur écorce (zestes). Cette méthode se fait sans chauffage : elle consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Celle-ci est réalisée grâce à des machines perfectionnées.

II.1.4.3. Extraction par solvant organique:

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus

pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson. (Bazizi.M.2017).

Appareil SOXHLET

LICKENS-NICKERSON

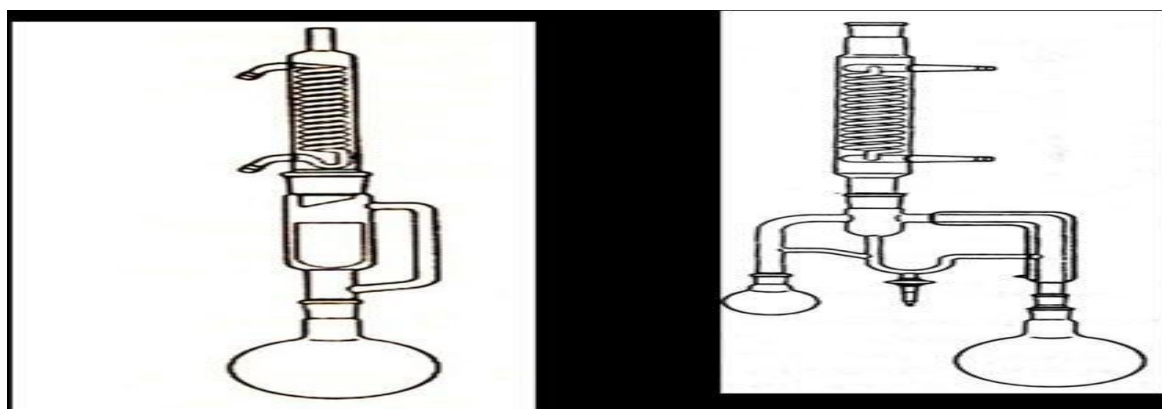


Figure 6 : Montage d'extraction par solvant (Bazizi.M.2017).

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). 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). (Kouroulou.F.2023).

II.1.5. Les composés phénoliques:

Les phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils sont caractérisés par la présence de groupements phénoliques: 1 ou plusieurs cycles aromatique (benzéniques) porteurs de 1 ou plusieurs OH.

Le terme polyphénol a été introduit en 1980, en remplacement au terme ancien de tanin végétal (vegetable tannin). Les polyphénols sont ce que nous connaissions autrefois sous le terme de tannins.

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois). Ils sont synthétisés par les plantes soumises à des

conditions difficiles (infections, blessures, radiation UV, ...) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins.

La distribution des phénols dans les plantes, dans le tissu et les cellules des feuilles n'est pas uniforme. (Labbani.2022).

II.1.5.1 Les principales classes de composés phénoliques :

II.1.5.1.1. Les phénols :

Les phénols simples (C6) sont rares dans la nature, exemple (le catéchol, phloroglucinol...).

II.1.5.1.2. Les acides phénoliques :

Ces substances organiques sont les formes les plus simples des composés phénoliques. Ils possèdent au moins une fonction hydroxyle et une fonction carboxyle. Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque (C6-C1) ou de l'acide cinnamique (C6-C3).

II.1.5.1.3. Les flavonoïdes :

Ils représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal.

Les flavonoïdes sont des substances pigmentaires hydrosolubles végétales responsables de la couleur variée des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 4000 composés différents identifiés dans le règne végétal. Les flavonoïdes ont été mis en évidence en 1936, dans le zeste de citron, par Albert Szent-Györgyi, un Hongrois qui reçut le prix Nobel de Médecine en 1937 pour avoir isolé la vitamine C. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun (diphényle propane) constitués de deux noyaux aromatiques, liés par trois atomes carboniques.

II. 1.5.1.4. Les tanins:

Ce sont des polyphénols polaires d'origine végétale, existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines, leurs poids moléculaire s'étendent de 500 à 3000 Da. (Labbani.2022)

Chapitre III:

Les Activités

Biologique

III. Les activités biologiques:

Les produits naturels et leurs activités biologiques font actuellement l'objet d'un grand intérêt dans les industries pharmaceutiques, diététiques et cosmétiques, et nombre d'études scientifiques dans ce domaine augmentent rapidement (**Ekiert et Szopa. 2020**).

Les plantes médicinales fournissent un large éventail de substances bioactives. C'est la raison pour laquelle de nombreux produits naturels peuvent être utilisés de différentes façons dans la biotechnologie, la pharmacie, l'agriculture et la médecine, car la diversité des voies biosynthétiques dans les plantes a fourni une variété de structures principales qui ont été utilisées dans le développement de médicaments et dont on estime qu'elles représentent plus de 50 % des médicaments actuels. Le règne végétal reste encore un trésor de nouvelles molécules à potentiel thérapeutique (**Bribi. 2018**).

Les plantes médicinales ont présenté à travers de nombreuses études leurs différentes activités biologiques et ont été sélectionnées pour leurs propriétés pharmacologiques intéressantes et variées, à savoir les propriétés antiulcéreuses, antiinflammatoires, anticancérigènes, antiparasitaires, antivirales, antioxydantes, antifongiques et antibactériennes (**Bakli. 2020**).

III.1 Activité antioxydante

Le stress oxydant, les radicaux libres et les antioxydants sont des termes de plus en plus utilisés dans le domaine de la recherche scientifique ou dans le domaine de la santé. Généralement les réactions d'oxydoréduction font intervenir des intermédiaires radicalaires. Ces réactions sont omniprésentes dans le milieu vivant et gouvernent des processus aussi importants que la reproduction des espèces, la mutagénèse, la défense contre les maladies. Ces réactions interviennent dans le vieillissement et dans certaines pathologies. (**Achili.I.2021**).

III.1.1 Oxidants

Les oxydants sont des composés capables de se réduire eux-mêmes et d'oxyder d'autres molécules lors d'une réaction d'oxydoréduction (**Haleng et al., 2007**).

III.1.1.1. Stress oxydatif

L'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries, de la cellule, qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP. Ce métabolisme induit la production d'espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERA) en équilibre avec les systèmes antioxydants (**Roede and Jones. 2010**). Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les substances antioxydantes de notre organisme, en faveur des premières (**Castillo et al., 2005**). Ce ratio peut être altéré par une augmentation des dérivés réactifs à l'oxygène et/ou à l'azote ou par une diminution des mécanismes de défense de notre corps en antioxydants (**Agarwal et al., 2012**).

III.1.1.2. Définition d'un radical libre

Un radical libre est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié (**Halliwell et Gutteridge. 1995**). La principale voie de production des radicaux libres est la rupture homolytique d'une liaison covalente en deux entités possédant chacune un électron, les autres étant l'élimination ou l'addition d'un électron. Ces réactions sont endergoniques. Une fois produits, les radicaux sont souvent instables, donc réactifs et leur durée de vie est très courte (de l'ordre d'une micro à une nano-seconde). De par sa structure particulière, le radical libre a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité ce qui entraîne la création d'un nouveau radical libre et donc l'extension et la prolifération du phénomène, ce qui va engendrer des réactions en chaînes entraînant la destruction ou la mutation cellulaire (**Gardès-Albert. 2003**).

III.1.2 Les antioxydants:

Les antioxydants sont définis par **Halliwell (1999)** comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ils peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine. On divise les antioxydants en deux grandes classes : les antioxydants endogènes (enzymatiques) et les antioxydants exogènes (non enzymatiques), selon qu'ils sont produits ou non par l'organisme. (**Achili.I. 2021**).

- Les antioxydants endogènes se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme telle que le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutestrois présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie.(**Baba et Mcgrath.2008**).
- Les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation. On retrouve le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), le lycopène et les composés phénoliques représentés par les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines et les lignanes. Il y a aussi divers minéraux tels que le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer.(**Achili.I. 2021**).

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. 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.

III.1.4 Mécanisme d'action des antioxydants

Deux principaux mécanismes d'action ont été proposés pour les antioxydants, Le premier est un mécanisme de rupture de chaîne par lequel l'antioxydant primaire donne un électron au radical libre présent dans les systèmes. Le deuxième mécanisme consiste à éliminer les initiateurs d'espèces d'azote ROS (réactives antioxydants secondaires) en éteignant le catalyseur initiateur de la chaîne. Les antioxydants peuvent exercer leur effet sur les systèmes biologiques par différents mécanismes, notamment le don d'électrons, la chélation des ions métalliques, les co-antioxydants ou la régulation de l'expression génétique.(**Magri.Ch.Benzineb.M.2023**).

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.2003**).

la balance Oxydants /Antioxydants est en équilibre dès lors que 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.2002; 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

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer in vitro et in vivo l'activité antioxydant par piégeage de radicaux différents. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydant peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydant de l'échantillon à tester.(Magri.Ch.Benzineb.M.2023).

III.1.6.1 Test de Piégeage du radical 2, 2- diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH-)

Le DPPH est un radical libre, stable, employé pour évaluer l'activité antioxydant des composés purs ou de mélange complexe. La méthodologie est basée sur la décroissance de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH suite à l'addition de l'antioxydant. L'activité antiradicalaire de nos produits a été évaluée par la méthode de DPPH. Une solution méthanolique de DPPH (2-2-diphényl-1-picrylhydrazyl) présente une coloration violette

sombre, en présence d'un antioxydant, la forme réduite de DPPH-H confère à la solution une coloration jaune et par conséquent une diminution de l'absorbance. Le changement de la couleur de la solution méthanolique de DPPH en présence de chacun des produits flavoniques à tester a été mesuré à 517 nm (Ionita. 2005) .

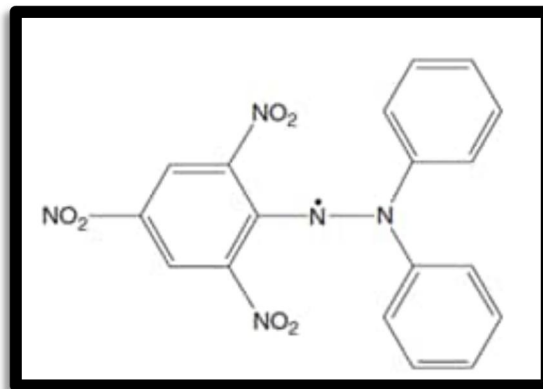


Figure 7: Structure du radical stable DPPH

III.1.6.2. Teste de réduction du fer FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)

Le test de FRAP est basé sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)₂] de couleur jaune en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)₂] de couleur bleue par un antioxydant à un pH de 3,6 (pour maintenir la solubilité du fer), et avec un maximum d'absorption à 593 nm.m (Michel. 2011).

Cette méthode possède plusieurs avantages, elle est utilisée pour mesurer le potentiel antioxydant du plasma sanguin et ii est aussi adéquate pour mesurer le potentiel de composés purs. De plus, cette méthode est simple, rapide et peu coûteuse (Benzie and Strain.1996) .

III.1.6.3. Test de la capacité antioxydant par le test ABTS-+:

Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le ABTS-+ est un radical cationique obtenu par la réduction de l'ABTS avec un oxydant (généralement le persulfate de potassium K₂S₂O₈) pour donner une solution d'une couleur bleu intense, qui est mesurée par spectrophotométrie à 645-734 nm . La capacité antioxydant de solution obtenue à partir de l'ABTS est comparé par un antioxydant de référence, le Trolox (acide 6-

hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique) dont la structure moléculaire cyclique est similaire à celle de la vitamine E sans la chaîne aliphatique (**Benzie and Strain. 1996**).

Cette méthode possède plusieurs avantages qui sont sa simplicité à mettre en œuvre et sa rapidité. De plus, la solution d' ABTS est soluble dans l'eau et dans les solvants organiques et n'est pas affectée par la force ionique, elle peut donc déterminer la capacité lipophile et hydrophile (**Awika et al., 2003**).

III.1.7. Effet des antioxydants sur la santé humaine

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances antioxydants pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et des enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisées. De plus, Ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante : celui d'un filtre solaire et celui d'antioxydant vis à vis des radicaux libres produits par les radiations. Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou des produits dérivés de ceux-ci. Il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardio-vasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus anti-âge et leurs implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif (**Cao et al., 1996 ; Rice-Evans and Miller. 1996**).

III.2. Activité antimicrobienne

L'émergence de microorganismes pathogènes, pose actuellement un problème de santé publique particulièrement préoccupant. En effet, la résistance des germes aux antibiotiques rend quelques fois le traitement thérapeutique inefficace et impose la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. (**Benkherara et al., 2011**).

L'activité antimicrobienne fait référence à la capacité d'une substance à inhiber ou tuer la croissance de micro-organismes tels que les bactéries, les champignons ou les virus. Il existe de nombreux exemples de substances ayant une activité antimicrobienne, y compris les antibiotiques, les antifongiques et les antiviraux. (**Magri.Ch.Benzineb.M.2023**).

III.2.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (**Ahmad et al., 2006**).

Ces aperçus édités prouvent qu'il n'y a pas une seule méthode qui est employée par tous les chercheurs pour déterminer quelle est la meilleure méthode pour des analyses in vitro.

III.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne:

III.2.2.1. Méthode de l'aromatogramme

La méthode de diffusion sur disque, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme ou technique de l'antibioaromatogramme (**Bekhechi et al., 2008**).

Elle est particulièrement adaptée à l'étude de l'action antibactérienne. Elle permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée. Elle peut être aussi adaptée pour tester d'autres agents antimicrobiens. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable (10-25mL), déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre, papier buvard ou Wattman+ (6-8mm), préalablement imprégnés de quantités connues d'HE (5-30µL), sont alors placés en surface de la gélose (**Wilkinson. 2006**).

Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (**Choi et al., 2000 ; Andrews. 2001; Wilkinson. 2006**).

La sensibilité aux différentes huiles essentielles est mesurée en fonction des diamètres des zones d'inhibition comme suit : non sensible (-) pour le diamètre moins sensible de 6 mm ; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (**Ponce et al., 2003**).

III.2.2.2. Méthode de dilution:

La méthode par dilution a pour but d'évaluer des concentrations minimales inhibitrice Elle consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Oussou et al., 2008 ; Derwich et al., 2009**).

L'efficacité de l'huile essentielle testée est évaluée par la mesure de 2 concentrations : La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle : bactériostatique ou bactéricide (**Magri.Ch.Benzineb.M.2023**).

III.2.2.3. Méthode de microatmosphère

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'HE sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance (**Beylier. 1976**).

Chapitre IV :
Les Bactéries
Pathogènes

IV. Les Bactéries pathogènes

IV.1. Généralités

Les bactéries pathogènes sont les bactéries susceptibles d'entraîner des maladies, les TIA (toxi-infection alimentaires), ou intoxications, qui apparaissent lorsque ces bactéries produisent des toxines: botulisme. Les MIA (maladies infection alimentaires) qui sont dues au développement des bactéries dans l'organisme, après ingestion d'un aliment contaminé: gastro-entérites, listérioses, fièvres typhoïdes, brucellose....etc.(Belabbes.S.2017).

La plupart des aliments contiennent toujours une certaine quantité de germes qui restent bénins tant qu'ils ne se développent pas de façon importante.(Belabbes.S.2017).

Les organismes pathogènes peuvent facilement se développer chez les êtres vivants, soit par transmission de la mère, soit par contact direct avec l'environnement.(Mari .B.2011).

IV.2. L'effet antagoniste des bactéries pathogènes:

L'effet antagoniste des bactéries pathogènes est un phénomène fascinant qui implique la capacité de certaines bactéries à inhiber la croissance ou la survie d'autres bactéries pathogènes. Ces interactions microbiennes jouent un rôle crucial dans de nombreux environnements, y compris dans le sol, l'eau et le microbiote humain.

Parmi les fermes pathogènes éventuellement rencontrées dans les aliments, on peut citer : *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsciella*, *Salmonella*, *Enterobacter*.....etc. (Belabbes.S.2017).

IV.3. Classification des bactéries pathogènes:

IV.3.1. *Escherichia coli*:

Théodor *Escherichia*, médecin Allemand fut en 1885 l'inventeur d'une bactérie particulière *Bacterium coli* commune qui sera appelée plus tard *Escherichia coli*. (Guiraud. J.P.1998).

Depuis plus d'un siècle, il est connu que *Escherichia coli* est un hôte normal de la flore digestive de l'homme et de nombreuses espèces animales souvent retrouvés en petits nombres dans les urines saines, c'est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur; elle ne

semble cependant pas pouvoir y mener une vie saprophyte authentique : sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente. (Belaidouni.N. W.2017).

Elle fait partie du groupe des Entérobactéries. Cette bactérie constitue une espèce aérobie quantitativement la plus importante à raison de 107 à 109 corps bactériens par gamme dans le caecum ou le rumen. (Belaidouni.N. W.2017).

Elles sont largement utilisées en génie génétique, Des travaux ont permis d'insérer l'ADN d'organismes étrangers dans ses plasmides et ses bactériophages. (Belaidouni.N. W.2017).

IV.3.1.1. Habitat

Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif, de la partie distale de l'iléon et du colon de l'homme et de la plupart des animaux à sang qu'ils colonisent dès les premières heures de la naissance. (Goro .A.A.M.2020).

La présence de cette bactérie dans le sol, l'eau et/ou les aliments témoignent d'une contamination fécale et suggère la possibilité que d'autres bactéries ou virus d'origine digestive s'y trouvent. On considère que leur présence rend l'eau ou les aliments impropres à l'utilisation ou à la consommation. (Cristian .C.2008).

IV.3.1.2. Pouvoir pathogène

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes). Les infections à *E. coli* sont de deux types : infections intestinales à type de diarrhée et infections extra-intestinales. (Goro .A.A.M.2020).

Les *E. coli* entériques ou intestinaux sont responsables de gastro-entérites infantiles ou de diarrhée des voyageurs. (Cristian .C.2008).

On distingue six pathovars entérovirulents :

- Les ECEP : *E. coli* entéropathogènes responsables de gastro-entérites infantiles. Elles ne sont ni invasives ni toxiques mais peuvent adhérer aux membranes des entérocytes et provoquer la destruction de leurs microvillosités. S'ensuit une diarrhée aqueuse importante mais autolimitée. (Cristian .C.2008), (Denis et al., 2007).

- Les ECET : *E. coli* entérotoxigènes sont une cause fréquente de diarrhée chez les enfants dans les pays en voie de développement. Ils sont aussi régulièrement responsables de la diarrhée du voyageur. **(Singleton. P.2005).**
- Les EIEC : *E. coli* entéro-invasifs encore appelés *Escherichia coli* shigella-like, responsables de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale **(Goro .A.A.M.2020).**
- Les EHEC : *E. coli* entérohémorragiques responsables d'épidémies de diarrhées sanglantes d'origine alimentaire pouvant se compliquer de syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant par production de Shiga toxines. **(Denis et al.,2007).**
- Les ECEA : *E. coli* entéroaggrégatifs provoquent une diarrhée persistante chez les enfants, particulièrement dans les pays en voie de développement. **(Denis et al.,2007).**
- Les ECAD : *E. coli* à adhésion diffuse qui seraient responsables de diarrhées aqueuses chez l'enfant. **(Denis et al.,2007).**

Les *E. coli* extradiigestifs (extra-intestinaux), sont responsables d'infections urinaires (*E. coli* uropathogènes), de septicémies, prostatites, méningites... Ces germes ne produisent pas d'entérotoxines et n'entraînent pas l'apparition de diarrhées. **(Cristian. C.2008).**

IV.3.2. Les *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est une bactérie de la famille des Micrococcaceae . **(Belabbes.S.2017).**

C'est une bactérie en forme de coque, immobile sphérique, Gram positif, associée par groupes en amas (grappe de raisin) ou en chaînes. D'environ 1 micromètre de diamètre, aéroanaérobie facultative, thermosensible, qui requiert des températures de croissance comprises entre 6 et 46°C (avec optimum à 37°C). C'est une bactérie neutrophile (croissance entre pH 4 et 9,8) qui survit dans les aliments déshydratés et/ou congelés, sa croissance peut être inhibée par la présence de flores de compétition présentes dans les aliments. **(Belaidouni.N. W.2017).**

Le genre *Staphylococcus* comporte deux espèces :

- *Staphylococcus aureus* (le *staphylocoque* à coagulase positive) qui possède un potentiel de pathogénicité important, impliqué dans les infections communautaires et nosocomiales.
- *Staphylocoques* à coagulase négative : pathogènes opportunistes impliqués dans les infections nosocomiales.

IV.3.2.1. Habitat

S.aureus est un germe ubiquitaire habituellement retrouvé dans l'environnement et chez les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement. L'Homme représente l'une des niches écologiques les plus favorisées pour ces germes qui vivent à l'état commensal. Le site de colonisation préférentielle de *S. aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale. Il colonise les territoires cutanés, en particulier les zones humides (le périnée, le vagin et le pharynx) et les mains. La densité de colonisation est plus importante au niveau des zones humides comme la partie antérieure des narines, les creux axillaires et le périnée. (Mouatasseem .B.2018)(Timother.J.F.2004).

IV.3.2.2. Pouvoir pathogène

Le *S. aureus* est l'un des principaux pathogènes associés aux infections nosocomiales. Il est l'agent le plus fréquemment impliqué dans les bactériémies, responsable de nombreuses infections de site chirurgical et d'un nombre considérable de pneumonies nosocomiales. Les constituants de la paroi des *staphylocoques*, les substances enzymatiques et toxiques produites, hydrolysant différents constituants cellulaires contribuent à la pathogénie des *staphylocoques* (figure 8).(Gribi. K.2016).

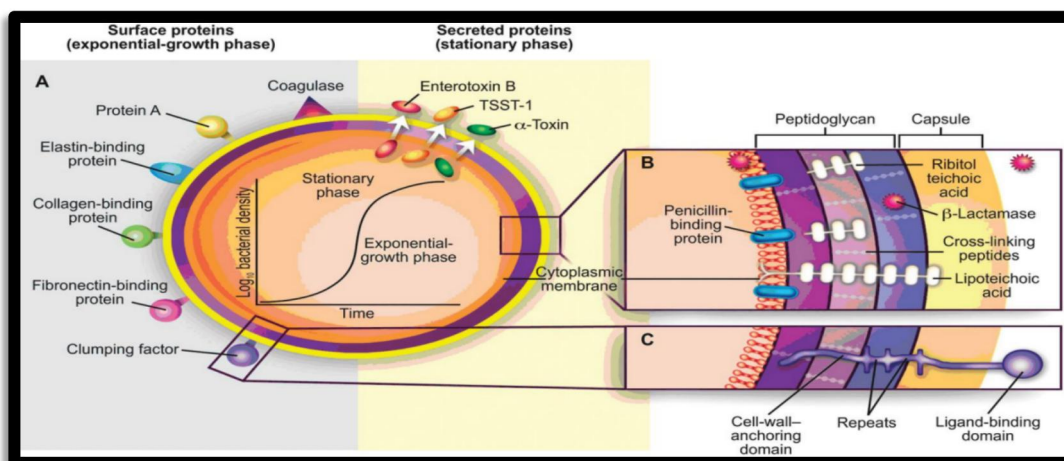


Figure 8 : Facteurs de virulence de *S. aureus*.(Mouatasseem .B.2018).

Partie II:

Expérimentale

Chapitre V :

Matériel et méthodes

V. Matériel et méthodes

V.1. Objectif du travail

Dans le cadre de la réalisation de mémoire de fin d'étude Master 2 Biochimie Appliquée, notre travail a été effectué au laboratoire de biochimie et au laboratoire de microbiologie de l'université de Abd el Hamid Ibn Badis Mostaganem, le but de notre travail est d'étudier l'effet antagoniste de graine de *chia salvia hispanica* sur la croissance de deux bactéries pathogènes ATCC test

V.2. Matériel végétal

La plante *salvia hispanica* qui a fait l'objet de notre étude, a été prélevée le 19 Février 2024 chez un herboriste de la Wilaya de Mostaganem, sous forme de graine.

Les graines sont soigneusement lavées et conservées dans un récipient en plastique à température ambiante dans un endroit sec à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à leur utilisation.

V.3. Méthodes

Nous avons mené l'étude de deux techniques d'extraction différentes qui ont permis d'extraire des molécules naturelles des graines de *chia*. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation et les composés phénoliques sont obtenus par macération.

V.3.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

- **Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est la principale méthode permettant d'obtenir des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Dans notre étude, l'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire à l'aide d'un système de type « Clevenger »(figure 9).

Cette technologie repose sur la capacité de la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. Une quantité de graines de *chia* pré-moulues (150 grammes) est placée dans une boule de verre, et la boule contient une quantité d'eau distillée s'élevant à 2 litres. Le mélange est chauffé jusqu'à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. La vapeur chargée en huiles

essentielle est dirigée à travers un tube vertical vers le condenseur, où les gouttelettes formées sont captées dans le tube pré-rempli d'eau distillée. En raison de leurs densités différentes, les huiles essentielles s'accumulent à la surface de l'eau. Ce processus se poursuit pendant 3 heures à une température de 100°C.

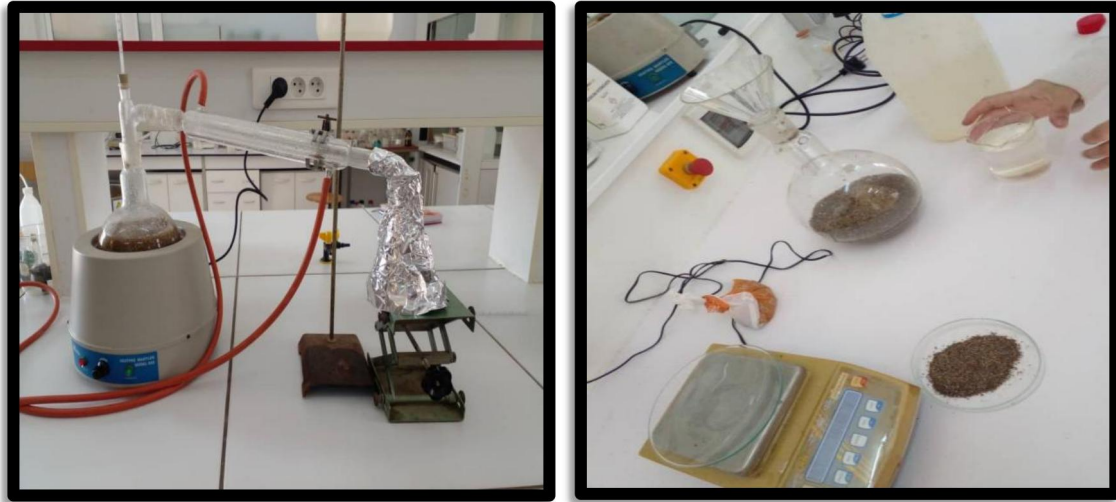


Figure 9 : Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger (Original, 2024).

- **Rendement de l'huile essentielle**

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de graine à traiter . Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (PB / PA) \times 100$$

R%: Le rendement en huile essentielle

PB: la masse d' huile essentielle obtenue.

PA: la masse de la matière végétale sèche.

V.3.2. Extraction par macération

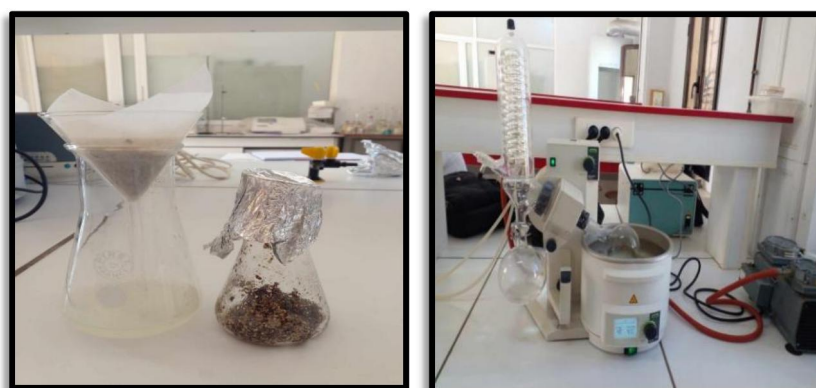
La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Hamia et al., 2014), avec quelques modifications.

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque graine a été introduite dans un ballon contenant 100 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures à la température ambiante. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C.

- **Les etape de Maceration**



Agitation magnétique



Filtration

Evaporateur

Nous pouvons déterminer le rendement en extrait sec en calculant la perte de poids en pourcentage de la matière sèche de départ :

$$\text{Rdt (\%)} = [P1 - P2 / P3] \times 100$$

où :

P1 : Poids du ballon après évaporation

P2 : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide)

P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ.

V.3.3. Analyse qualitative

V.3.3.1. Screening Phytochimie

Le screening phytochimique a été réalisé sur l'extrait aqueux par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classique (**Bruneton. 2009**).

Les différentes techniques de détection utilisables pour un screening des composés actifs doivent être simples, rapides, reproductibles et sensibles. Ces méthodes sont donc qualifiées à la détection de quelques groupes chimiques (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponines, terpènes, composés réducteurs,...). Elles n'ont d'ailleurs qu'une valeur indicative, et une affirmation ultérieure par des méthodes plus précises et plus sélectives est indispensable (**Wagner et Blatt. 1996**).

- **Test des Flavonoïdes**

Dans un tube à essai, 1ml de l'extrait méthanolique a été mélangé avec 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge orangé ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Harborne. 1998**).

- **Test des Tanins**

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'EM, 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique ($FeCl_3$) diluée à 0,1%. L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence des tanins condensés ou bleu vert indique la présence des tanins hydrolysables (**Harborne. 1998**).

- **Les saponines**

5ml de l'EM + 10 ml d'eau distillée puis introduits dans un tube à essai. Ce dernier est agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieure à 1cm) stable, persistante pendant 1h indique la présence abondante de saponines (**Bose and Sarma. 1975**).

- **Test des alcaloïdes**

Dans deux tubes à essai, on place 1ml d'EM et on ajoute 2ml HCl à 1%. L'extrait est divisé en deux volumes : on ajoute 1ml de réactif de Mayer (5g d'iodure de potassium KI + 1,358g I₂ +100 ml d'eau distiller) dans le premier tube et 1ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1,27 g d'iode I₂ +100 ml d'eau distiller) dans le deuxième tube. L'apparition d'un blanc ou brun indique la présence des alcaloïdes.(Elhomri .R.2022)

- **Test des Terpénoïdes**

On ajoute 0,5 ml de chloroforme et 0,7 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 1 ml de l'EM. La couleur verte-bleue révèle la présence des hétérosides stéroïdiens et la couleur verte-violette révèle la présence des hétérosides terpéniques. (Benhamdi .A.E. 2023).

- **Les oses et holosides**

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

V.3.4. Analyse quantitative

V.3.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique de Folin Ciocalteu selon la méthode cité par (Juntachote et al., 2006).

- **Principe**

Le principe de cette méthode est basé sur la réduction du réactif Folin qui est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique par des composés phénoliques en milieu alcalin (grâce à l'ajout du carbonate de sodium), qui entraîne la formation d'un mélange de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) de couleur bleu, dont l'absorption maximale à 765 nm est proportionnelle aux taux de polyphénols présents dans l'extrait (Enneb et al., 2015).

- **Technique**

Un volume de 200µl d'extrait a été ajouté à 500µl de réactif de Folin-Ciocalteu à 10%. Après 5 mn, 1500 µl de carbonates de sodium 7,5% (Na₂CO₃) ont été additionnés. Après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 30 min, puis la lecture a été faite à 765 nm par un spectrophotomètre UV/V (**Beretta et al., 2005**) .avec petite modification.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.(**Mahmoudi .S.Al. 2013**).

V.3.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par (**Djeridane et al., 2006**) ainsi que est utilisé pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait.

- **Principe**

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexes flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium utilisé sous forme de chlorures d'aluminium (AlCl₃). La liaison des atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes forme avec les chlorures d'aluminium des complexes jaunâtres (**Magri .C. Benzineb .M.2023**).

- **Technique**

1 ml d'extrait est ajouté à 1 ml de solution méthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl₃ à 2%), le mélange est vigoureusement agité, puis l'ensemble sont incubée une 10 min à température ambiante à l'obscurité. Effectuer la même opération pour le standard (quercétine) à différentes concentrations, l'absorbance est lue à 460 nm.(**Saouli .S et Abdennebi . B.2020**).

V.3.5. Activité antioxydante (test DPPH)

- **Principe**

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH• (2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par (**Mansouri et al., 2005**).

Le test consiste à placer agressif DPPH (violet), en présence de molécules dites antioxydantes, pour mesurer leur réduire sa capacité. Forme réduite (2,2-diphényl-1-picrylhydrazino: jaune) (**Figure 10**) N'absorbant plus à 515 nm, son intensité de couleur est inversement proportionnelle à directement proportionnel à la capacité antioxydante (**Sanchez-Moreno. 2002**).

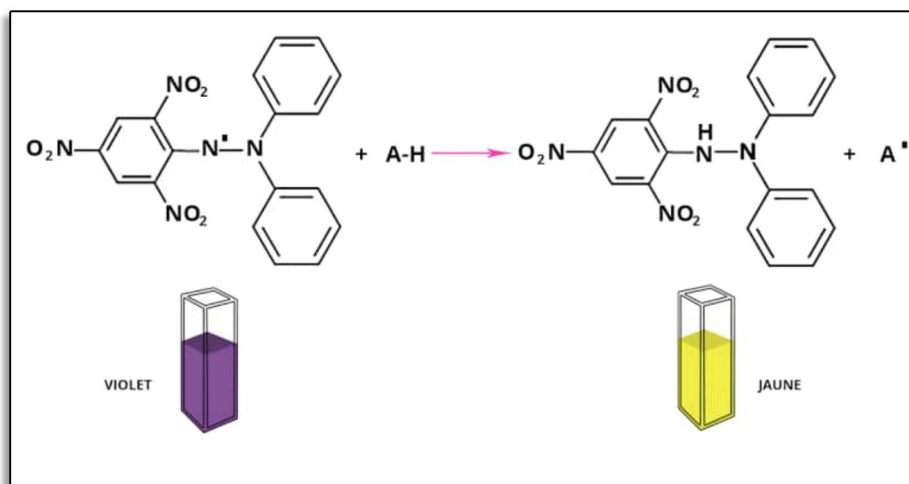


Figure 10 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl) (**Alam et al., 2013**).

● Technique

Une quantité de 200µl de l'EM +2ml de méthanol de différentes concentrations ont été ajoutée à 2,5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%=0,004mg+160ml méthanol).Le control DPPH sous EM. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à une température ambiante.Effectuer la même opération pour le standard (acide ascorbique) à différentes concentrations. L'absorbance a été lue à une longueur d'ondes 517 nm.avec petite modification.

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par (**Brand-William et al., 1995**).

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = \left[\frac{A_c - A_t}{A_c} \right] \times 100$$

A_c : Absorbance du contrôle.

A_t : Absorbance d'extrait ou standard.

● Calcul des IC50

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les valeurs d'IC50 sont calculées par la

méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f (concentrations)].(Nurul et al.,2017).

V.3.6. Activité anti-inflammatoire (Test de dénaturation l'albumine d'œuf)

● Principe

Afin d'évaluer l'activité anti inflammatoire des extraits de graine, nous avons appliqué le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines décrit par (Kandikattu .2013). Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du PBS, provoquée par la chaleur 72°C, par les extraits de plantes.

● Technique

Une solution de 5mL, composée de 0,2mL d'albumine d'œuf, 2,8mL de solution saline de tampon phosphate (PBS, pH 6,4) et (200ul EM +1,8mL de méthanol) aux différents concentrations a été préparée préalablement. Le diclofénac a été utilisé comme médicament de référence aux différents concentrations(control positive). Le sérome sale comme control négative. Les mélanges sont incubés à 37±2°C pendant 15 min puis chauffé à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660 nm.(Fetni et Bertella .2020).avec petit modification.

Le % d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 \times [Vt/1-Vc]$$

Vt = absorbance de l'échantillon d'essai

Vc = absorbance de contrôle.

Le résultat obtenu est la moyenne de trois répétitions. La concentration (CI50) de l'extrait pour une inhibition de 50% est déterminée par la courbe dose-réponse.(Fetni et Bertella .2020)

V.3.7. L'activité antibactérienne

V.3.7.1. Origine et choix des souches

La bactérie qui a été testé pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique de *salvia hispanica* est (*Escherichia coli* de gram négatif, *Staphylococcus*

aureus de gram positif obtenue au ATCC. *E. coli* ATCC et *S. aureus* ATCC peuvent être utilisés pour le contrôle de l'inhibiteur et ses résultats sont précis.

V.3.7.2. Milieux de culture utilisés

Nous avons utilisé trois milieux de culture : Gélose Nutritive, Gélose Mueller Hinton et Bouillon nutritif.

V.3.7.3. Test de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* est réalisée par la méthode d'aromatogramme des disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries.

V.3.7.4. Méthode d'aromatogramme

Cette méthode nous a permis de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* sur les bactéries, ainsi que la détermination de la résistance ou la sensibilité de ces bactéries vis-à-vis de cet extrait.

- **Préparation des dilutions de l'extrait méthanolique**

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés, sont dilués dans méthanol à des taux variables de T-, 10, 20, 40, 60, 80 et 100%, respectivement, (**Figure 11**):

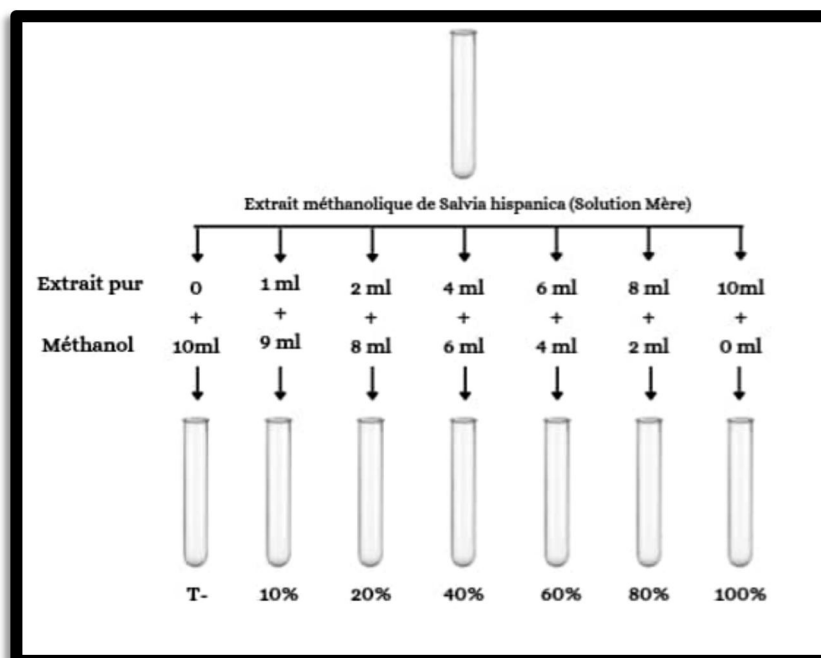


Figure 11: Les concentrations des extraits de *salvia hispanica*. (Original, 2024).

- **Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement se fait par écouvillonnage sur boîtes Pétri, un écouvillon est plongé dans la suspension bactérienne, puis appuyez fermement sur la paroi interne du tube, l'écouvillon est frotté sur toute la surface gélosée de haut en bas par petites stries. Cette opération a été répétée deux fois en faisant tourner la boîte de 60° à chaque fois.

L'ensemencement a été déterminée en passant un dernier écouvillon sur toute la surface de la gélose, l'écouvillon est rechargé à chaque ensemencement des boîtes de Pétri, les disques ont été imbibées de 15 µl d'extrait, déposées soigneusement au-dessus de la gélose ensemencée avec des pinces stériles.

- **Incubation**

Les boîtes ont été incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

V.3.7.5. Expression des résultats

La lecture (**Tableau 3**) se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait végétal (**Ponce et al., 2003**).

Tableau 3 : Estimation de la sensibilité des souches aux extrait (**Ponce et al., 2003**).

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité des souches
$D \leq 6$	Résistantes
$D \leq 8$	Légèrement inhibitrice
$9 \leq d \leq 14$	Modérément inhibitrice
$15 \leq d \leq 19$	Fortement inhibitrice
$D \geq 20$	Très fortement inhibitrice

Chapitre VI

Résultats et discussion

VI. Résultats

VI.1. Rendement

Après extraction des huiles essentielles de graines de *S. hispanica* et récupération des extraits méthanoliques, le rendement de chaque extrait a été déterminé et représenté dans le **tableau 4**:

Tableau 4 : Résultat du rendement d'extraction des graines de *S. hispanica*.


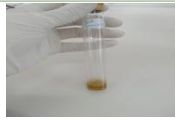

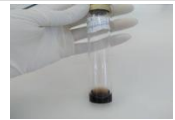
La méthodes	Hydrodistillation Par Clevenger	Macération
Le rendement en (%)	0 %	13,02%



VI.2. Analyse qualitative:

VI.2.1. Screening phytochimique:

Les résultats de détection de certains métabolites secondaires (flavonoïdes, tanins, saponines, terpènes, alcaloïdes et Oses et holosides) dans l'extrait méthanolique sont regroupés dans le tableau suivant:

Tableau 5: Résultats de tests préliminaires pour certains métabolites secondaires d'extraits méthanoliques de graines de *Salvia hispanica*.

Métabolites	Extrait méthanolique	Les photos de resultat
Flavonoïde	+	
Tanins	++	
Saponines	+	
Terpénoïdes	+	

Alcaloïdes	++	
Oses et holosides	-	

(-) : Absence.

(+) : Présence en faible quantité.

(++) : Présence en quantité moyenne.

(+++): Présence en quantité importante.

VI.3. Analyse quantitative :

Pour caractériser l'extrait méthanolique préparé à partir de graines de *chia*, les composés phénoliques ont été quantifiés en mesurant les polyphénols et les flavonoïdes totaux. Par conséquent, deux courbes d'étalonnage ont été tracées.

Les teneurs sont indiquées en μg équivalents des standards utilisés en g MS et déterminées à l'aide de l'équation standard : $Y = aX + b$.

VI.3.1. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des graines de *chia* un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydante des plantes sont attribués par ces métabolites secondaires.

VI.3.1.1. Teneur en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Wong et ses collaborateurs (2006)** avec le réactif de Follin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg Équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (**mg EAG/gMS**), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 12**).

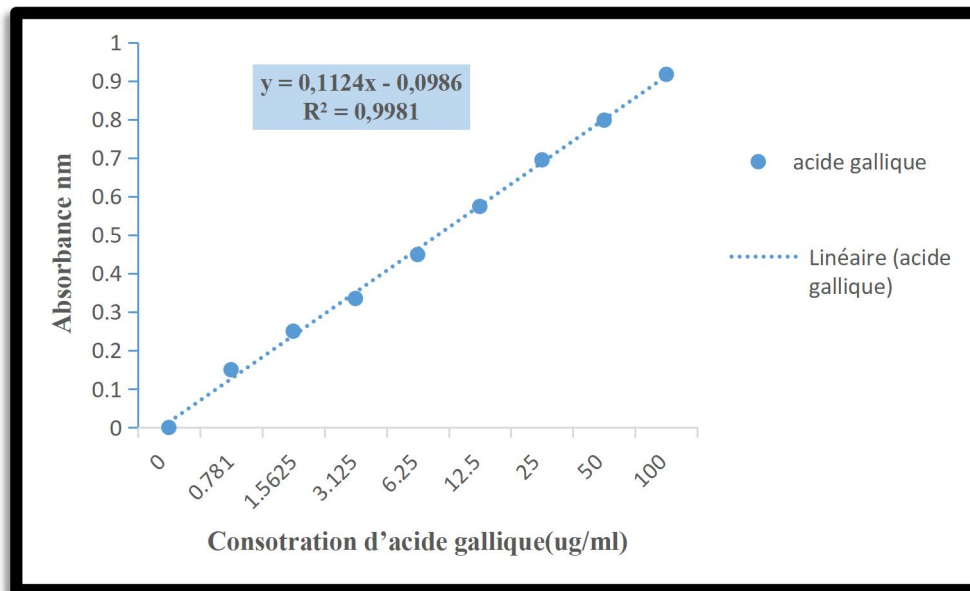


Figure 12: Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique ((Moyenne \pm SD de trois essais).(Original, 2024).

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9981$ figure (12).

Valeur: De teneur en polyphénols de l'extrait méthanolique de *chia* : $7,03 \pm 0,08$ mg EAG/gMS.

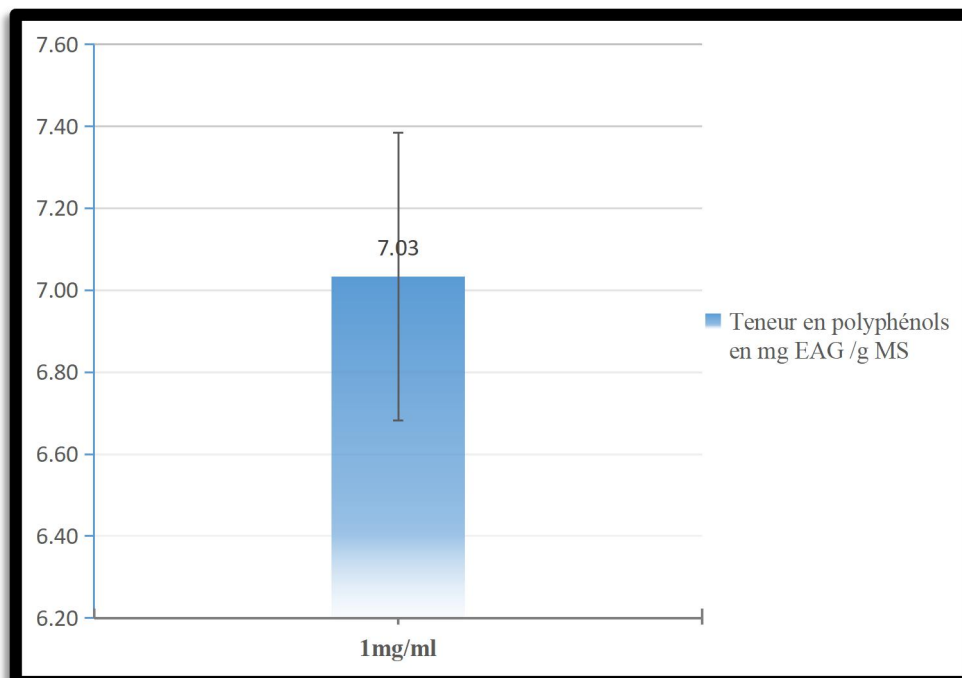


Figure 13 : Teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g MS.(Original, 2024).

VI.3.1.2. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium et l'étalon a été la quercétine.

La courbe d'étalonnage établie par des différentes concentrations de quercétine et la teneur en flavonoïdes est illustré dans la **figure (14)** ci-dessous:

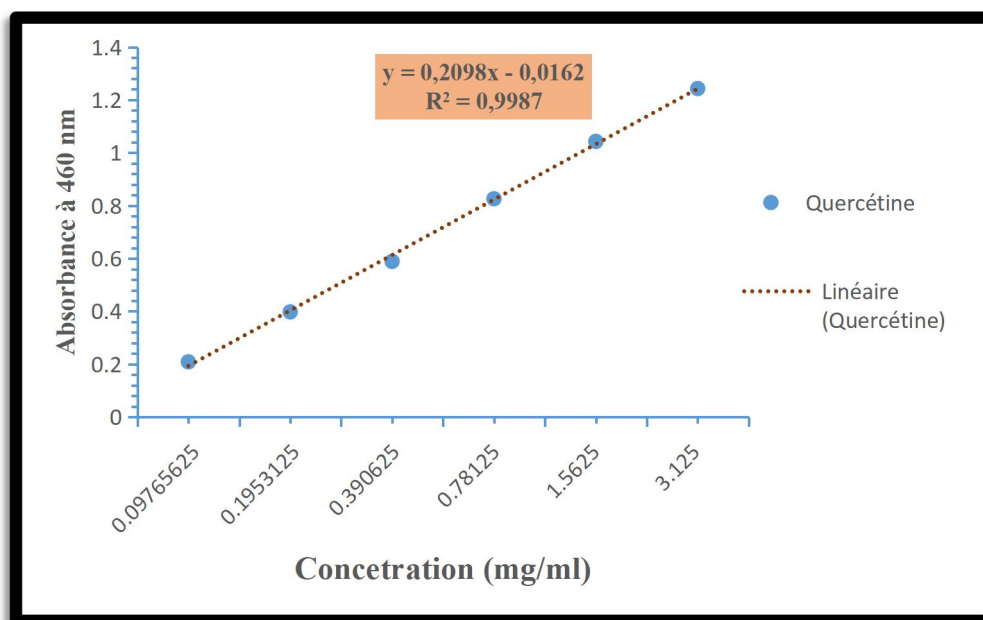


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.(Original, 2024).

Valeur : Teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *chia* : $1,69 \pm 0,09$ mg EQ/g MS.

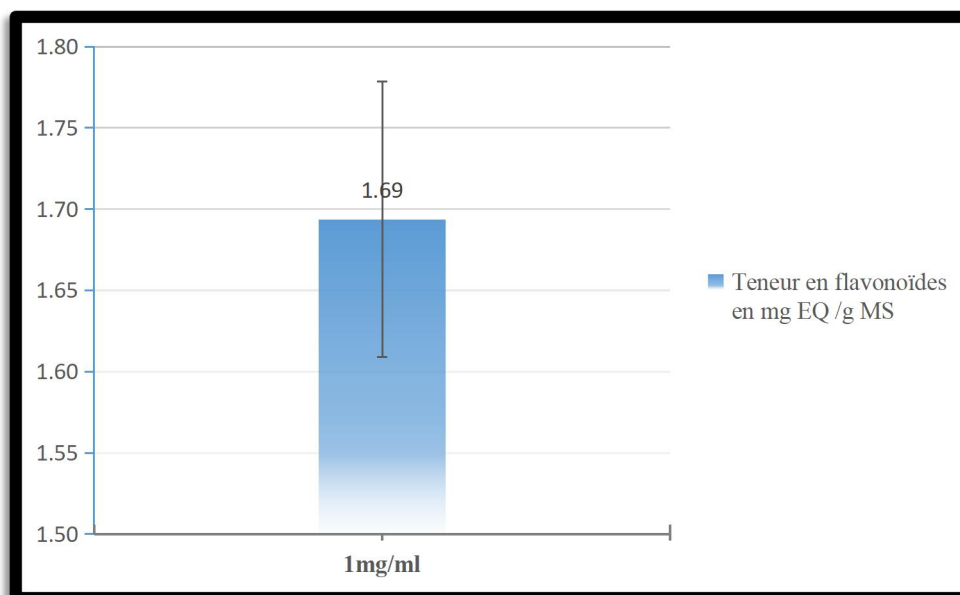


Figure 15: Teneur des flavonoïdes en mg EQ/g MS.(Original, 2024).

La courbe d'étalonnage du standard est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9987$ Figure (14).

VI.4. Activité antioxydante

La capacité antioxydante des extraits de graine a été vérifiée grâce à la technologie de capture des radicaux DPPH.

VI.4.1. Le piégeage du radical libre DPPH

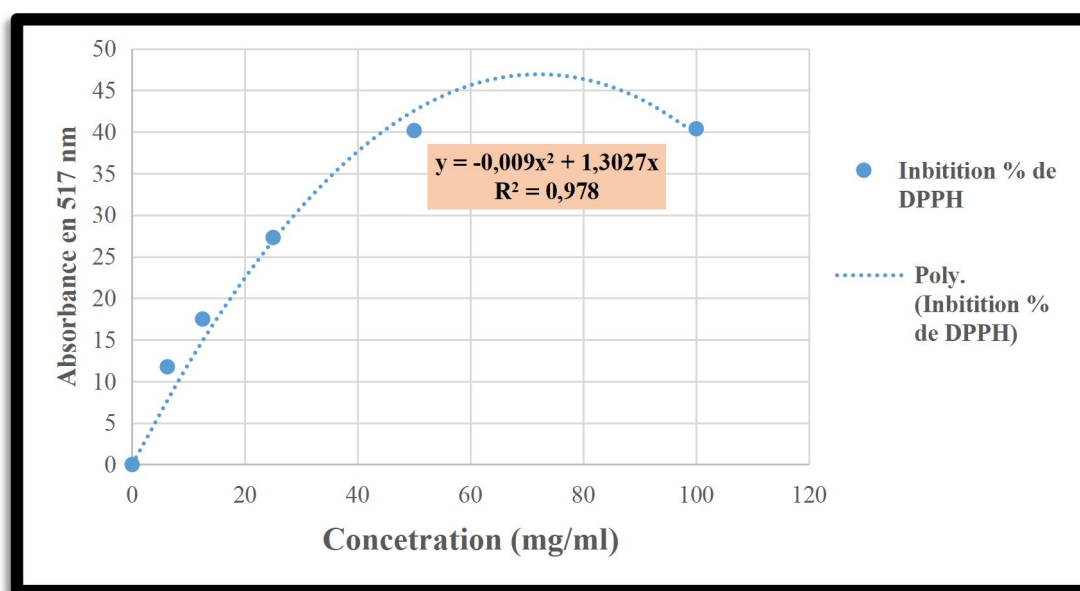


Figure 16: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH.(Original, 2024).

Tableau 6 : IC₅₀ et inhibitions maximales de l'extrait méthanolique déterminés par la méthode de DPPH

Échantillon	I _{max} (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)
L'extrait méthanolique	40.383 ± 4.376	59 ± 9.53
L'acide ascorbique	77.628 ± 0.946	60.1 ± 1.44

La courbe d'étalonnage du standard Acide ascorbique est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9972$ Figure (17).

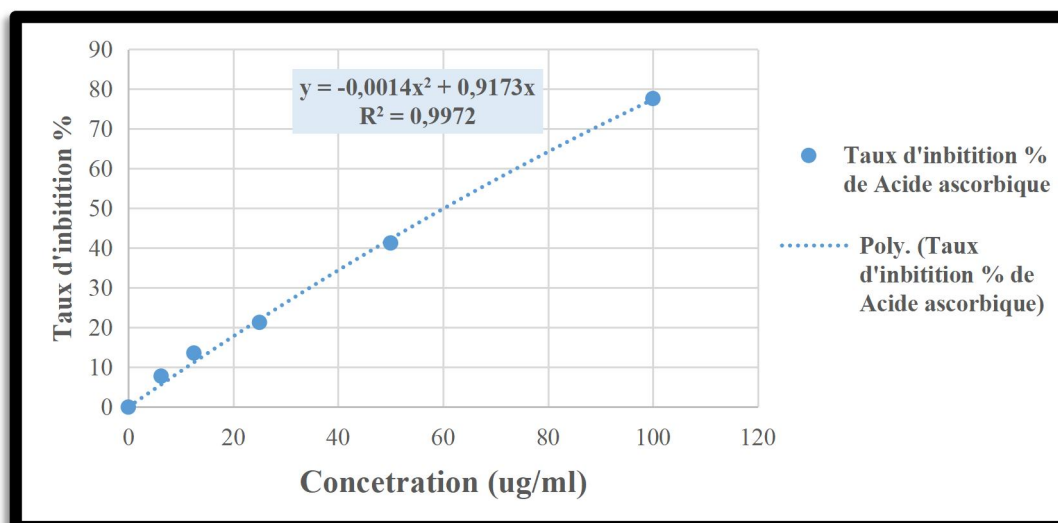


Figure 17: Pourcentage d'inhibition du Acide Ascorbique.(Original, 2024).

VI.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

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

Le **Tableau (7)** et le **figure (18)** représentent le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines en fonction de différentes concentrations d'extrait méthanolique. Ces résultats ont été comparés à ceux enregistrés pour le contrôle positif (diclofénac sodique).

Tableau 7 : Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines par l'extrait méthanolique et le contrôle positif (différentes concentrations).

Concentration	10	20	50	100	150
Abs extrait methanolique	0,491	0,496	0,571	0,652	0,719
Abs diclofenac	0,541	0,557	0,639	0,646	0,662
%Inhibition EM	51,79	52,32	60,23	68,77	75,84
%Inhibition de diclofenac	57,06	58,75	67,40	68,14	69,83

Les valeurs représentent la moyenne de trois essais \pm SD

Valeur :- Imax de % Inhibition EM : **75,84 \pm 0,002 (mg/ml)**

- Imax de % Inhibition de diclofenac : **69,83 \pm 0,005 (mg/ml)**

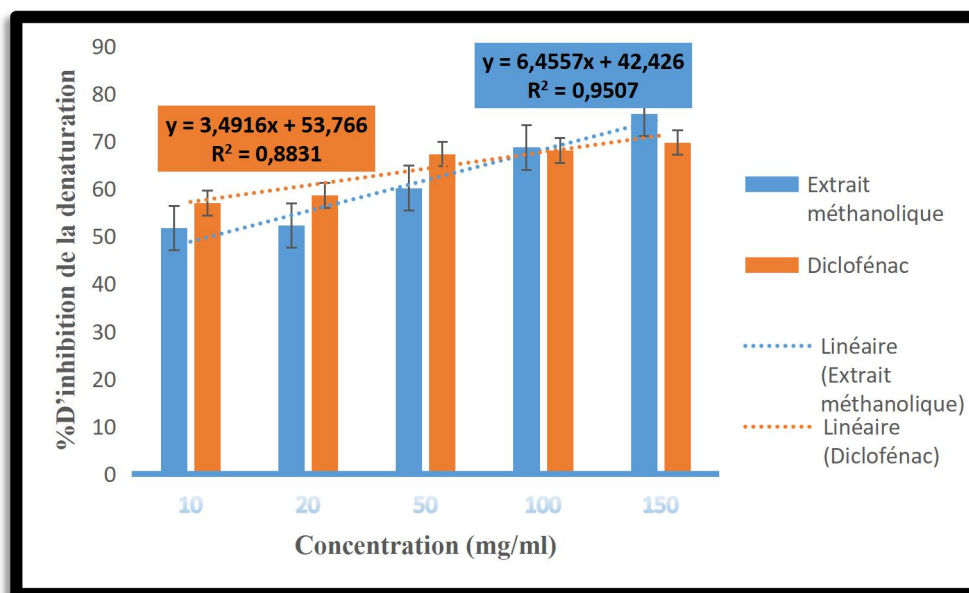


Figure 18 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine par le diclofénac sodique et l'extrait méthanolique.(Original, 2024).

VI.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les bactéries pathogènes

L'effet des extraits méthanoliques de graines de *chia* contre les bactéries pathogènes a été évalué par la méthode de diffusion en milieu solide. Le test a permis de juger qualitativement l'activité des extraits méthanoliques en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques. Contient différentes concentrations d'extrait de méthanol. Les valeurs des zones d'inhibition pour les différents tests sont regroupées dans le **Tableau (8)**.

Tableau 8 : Diamètre (mm) des zones d'inhibition de l'extrait méthanolique de *S. hispanica*.

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Bactéries Pathogène	Doses (mg/ml)		
	10%	Légèrement inhibitrice	Modérément inhibitrice
	20%	Légèrement inhibitrice	Modérément inhibitrice
	40%	Légèrement inhibitrice	Fortement inhibitrice
	60%	Légèrement inhibitrice	Fortement inhibitrice
	80%	Modérément inhibitrice	Très fortement inhibitrice
	100%	Fortement inhibitrice	Très fortement inhibitrice

L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations de l'extrait est illustré dans la **Figure (18)** ci-dessus :

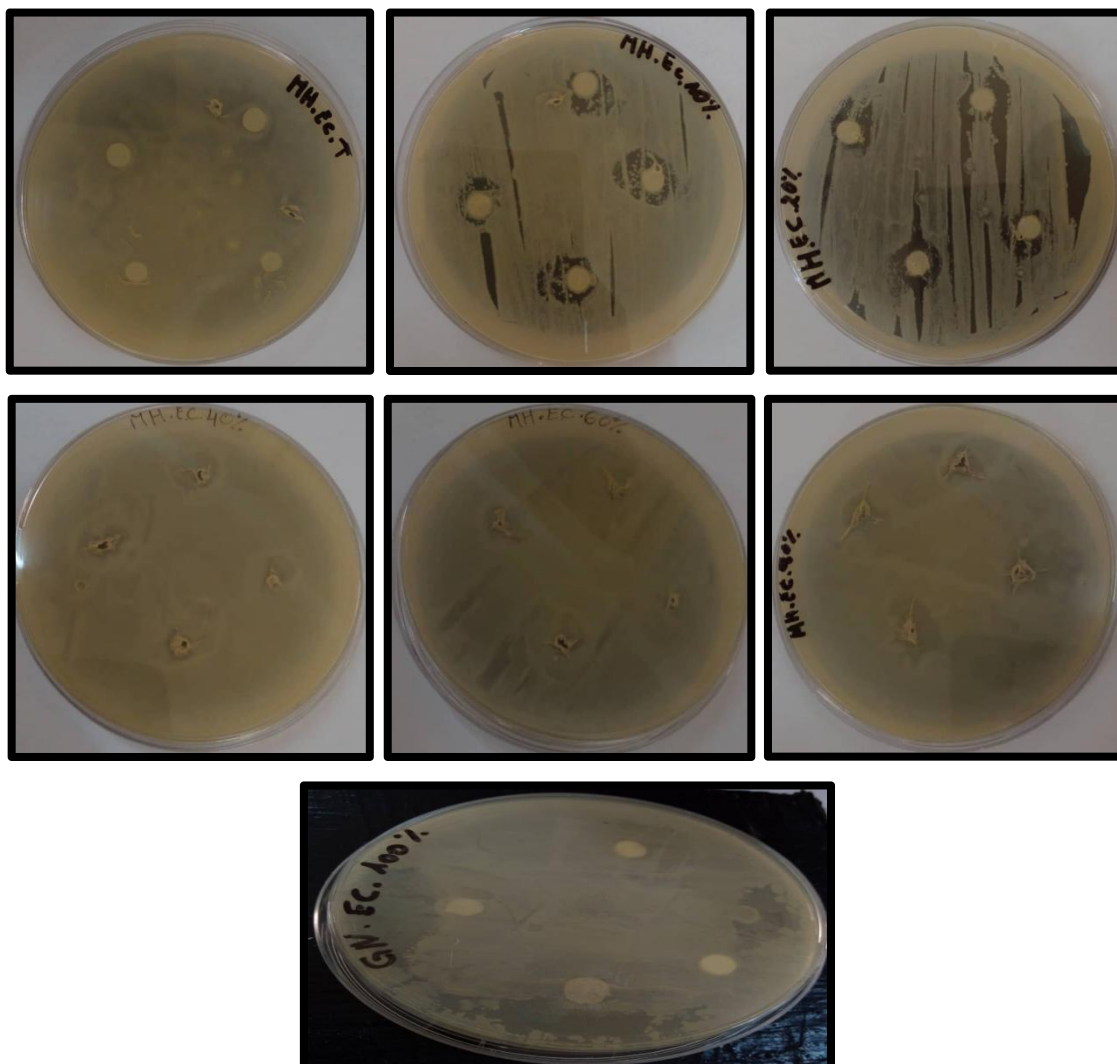
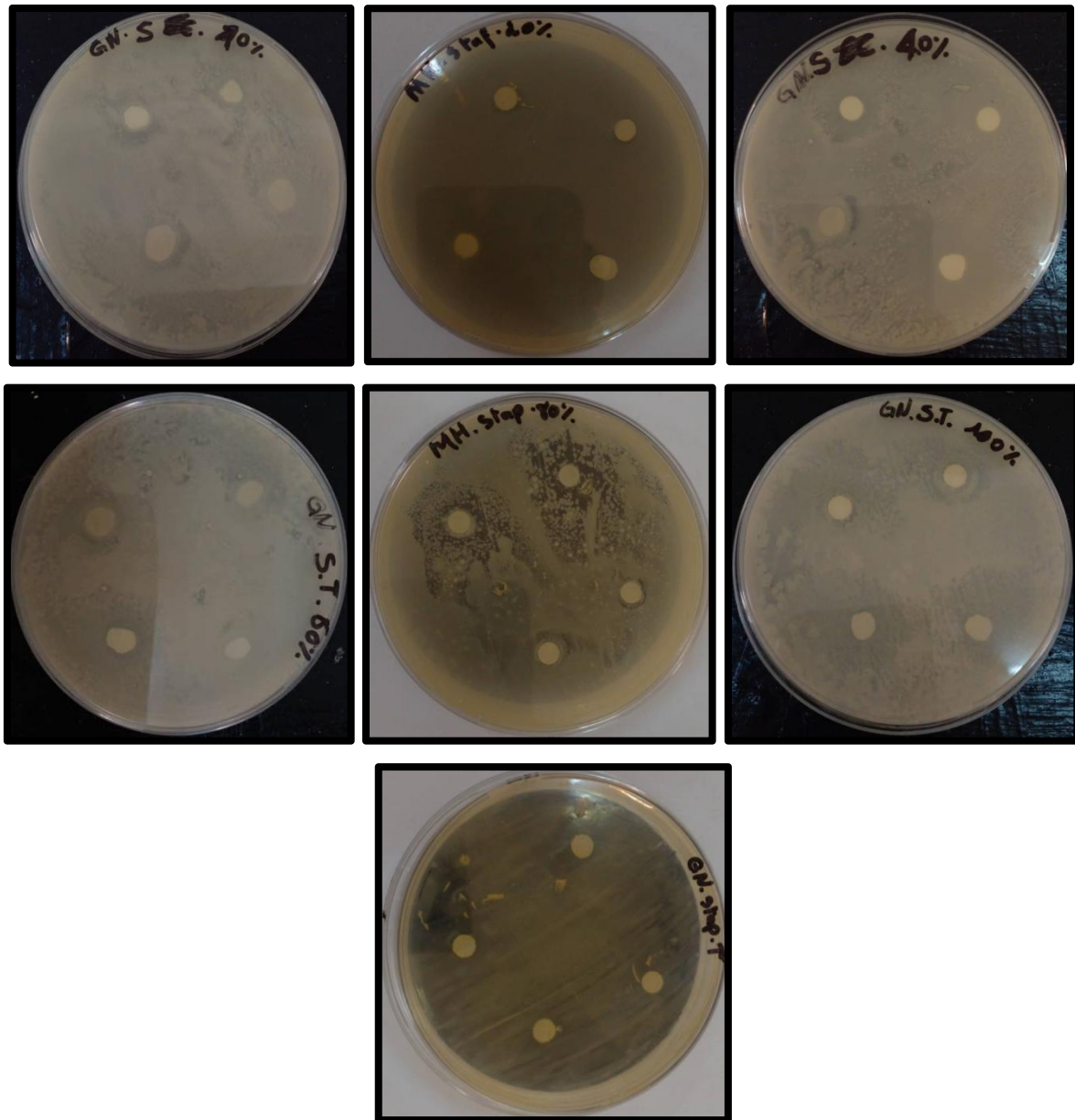


Figure (19) : L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations(*E. Coli*).**(Original, 2024).**



➤ **Figure (20) :** L'effet de l'extrait méthanolique sur les différentes souches à différentes concentrations(*Staphylococcus aureus*).**(Original, 2024).**

VII. Discussion

VII.1.Rendement

Pour évaluer les activités biologiques de notre graine , nous nous sommes appuyés sur deux méthodes d'extraction différentes (hydrodistillation et la macération). Après avoir comparé les deux méthodes, nous avons constaté que la méthode de macération surpassait la méthode de hydrodistillation en efficacité. Sur la base des résultats résumés dans le tableau (5), le rendement d'extrait méthanolique de graines de *chia* en utilisant la méthode de macération était significativement plus élevé ou inférieur de 13,02% par rapport aux huiles essentielles. Cependant, aucune huile essentielle n'a été obtenue par hydrodistillation aqueuse à 0%.

Nous avons entrepris des travaux pour comprendre l'effet stimulant des graines de *chia* sur des Bactéries Pathogène. Nous avons également tenté d'évaluer la teneur en composés phénoliques des graines de *chia* et de révéler leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

VII.2. Analyse qualitative

VII.2.1. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique des graines de chia Permettez-nous de souligner la présence de quelques métabolites secondaires.. Ceux-ci incluent : les tanins, les flavonoïdes , les terpènes, les saponines et d'alkaloïdes. De plus, il ne contient pas les oses et les holosides .Nos résultats sont cohérents avec les résultats de **(Rubavathi et al., 2020)**.

L'analyse phytochimique permet la détermination qualitative de substances non nutritives mais biologiquement actives responsables de la saveur, de la couleur et d'autres propriétés de la plante.

En effet flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent **(Chevallier. A. 2001)**.

Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines vanqueuses, pour

drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (**Chevallier. A. 2001**).

VII.3. Analyse quantitative

VII.3.1. La teneur des polyphénols totaux

Ces résultats montrent que l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* contiennent des polyphénols totaux avec une teneur de $7,03 \pm 0,08$ mg EAG/g MS. Tandis que, ne renferme que $1,69 \pm 0,09$ mg EQ/g MS en flavonoïdes.

Grâce à notre étude, la teneur totale en polyphénols des haricots de *chia* est très fiable par rapport à l'étude menée par eux (**Rahman et al., 2017**) la teneur en polyphénols totaux était $14,22 \pm 0,44$ mg GAE/ g d'échantillon.

D'après les résultats on note que la teneur en flavonoïdes totaux de (**Rahman et al., 2017**) obtenue à l'aide de solvant méthanolique est $8,45$ g/kg EQ la plus élevée par rapport à la teneur en flavonoïdes totaux dans nos résultats, où elle est estimée à $1,69 \pm 0,09$ mg EQ/g MS.

Les composés phénoliques dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont beaucoup moins fréquents que les terpènes mais les polyphenols jouent un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante. Les composés phénoliques sont beaucoup moins fréquents que les terpènes (**Bouedja.S.2017**).

VII.4. Activité antioxydante

Le DPPH (1,1-Diphényle-2-picrylhydrazyl) est considéré comme un radical libre relativement stable à température ordinaire et soluble dans le méthanol. Ce composé chimique possède un électron non apparié sur un atome d'azote, cette délocalisation empêche la dimérisation de ce radical et provoque aussi sa couleur violette. Le DPPH est capable de réagir avec les groupements hydroxylés des molécules antioxydantes (gagne un atome d'hydrogène) provoquant une diminution de la coloration violette qui est mesurable à 517 nm par le spectrophotomètre (**Brand-Williams et al., 1995**).

Comme 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) (Molyneux. 2004).

L'activité antioxydante des extraits méthanolique de Grain de *chia salvia Hispanica* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre possède une activité antioxydante avec une valeur IC50 de $59 \pm 18,25$ mg/ml et l'acide ascorbique possède une activité antioxydante avec une valeur IC50 de $60,1 \pm 1,44$ mg/ml. Les valeurs IC50 déterminées en mg/ml exprimant la concentration efficace de l'extrait antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% de moles de DPPH en dissolution dans du méthanol.

Il semble y avoir une corrélation positive entre l'augmentation de la concentration de vitamine C ou d'extrait méthanolique et le pourcentage d'inhibition du radical libre. Les valeurs maximales d'inhibition sont de $77,684 \pm 0,946$ pour la vitamine C et de $40,383 \pm 4,376$ pour l'extrait méthanolique.

Dans l'étude de (Rubavathi et al., 2020), l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* a démontré une inhibition de 97 % du radical libre DPPH à une concentration de 100 µg/ml.

Il est vrai que les recherches sur l'activité antiradicalaire des graines de *chia* sont nombreuses, et les résultats peuvent varier d'une étude à l'autre. Cette variation peut être attribuée à divers facteurs, tels que les méthodes d'extraction, la nature et le volume des solvants utilisés.

VII.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

Le test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine est couramment utilisé pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des substances. Il mesure la capacité des composés à prévenir la dénaturation de l'albumine, qui est souvent associée à des processus inflammatoires.

Les structures spatiales des protéines (conformation) sont sensibles à l'environnement (chaleur, pH, force ionique, solvants etc.) et changent alors de façon irréversible de forme : dénaturation. L'albumine de l'œuf est une protéine de réserve, globulaire, soluble dans l'eau. Elle est sensible à l'élévation de la température (coagulation thermique). (Ammouri.N.Kasdi.I.2016).

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. La **Figures (18)** représentent les pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines (blanc d'œuf) en fonction des différentes concentrations de l'EM (10,20, 50,100 et 150 µg/ml). Ces résultats sont comparés à ceux enregistrés pour le contrôle positif (diclofénac sodique).

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**).

Il semble que les extraits méthanoliques des graines de *Salvia hispanica* montrent une augmentation significative du taux d'inhibition de la dénaturation de l'ovalbumine à mesure que leur concentration augmente, ce qui est similaire à l'effet observé avec le diclofénac de sodium, un anti-inflammatoire de référence.

L'extrait méthanolique a montré une inhibition de $60,23 \pm 0,571$ pour cent à la concentration (50 mg/ml), tandis que le diclofénac a montré une inhibition de $67,40 \pm 0,639$ pour cent à la concentration (50 mg/ml).

VII.6. Évaluation de l'activité de l'extrait méthanolique sur les bactéries patogène

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique, nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme (**Bendjelali.B et al .1986**).

Les souches testées ont montré des sensibilités différentes à l'extrait méthanolique. Le méthanol a été testé comme solvant (contrôle négative), les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des toutes souches microbiennes.

- ***Escherichia coli***

La lecture de ces résultats révèle que l'extrait méthanolique utilisée, présente un fort effet antibactérien contre *Escherichia coli*. Par contre un effet moyen de l'extrait méthanolique de *chia* de l'ordre de 10 mm à dilution 10%, et d'ordre de 8 mm à dilution 20%,40%et 60% . Et que la dilution 80% présent une zone d'inhibition de l'ordre de 11 mm, par rapport à la dilution 100% qui présentent un effet antibactérien puissant avec des zones

d'inhibitions de 17 mm. Nos résultats concordent avec les travaux de **Güzel et al., (2020)**, qui ont démontrés la présence d'activité antibactérienne contre des souches Gram+et Gram-.

- ***Staphylococcus aureus***

Nos résultats révèle que l'extrait methanolique utilisée, présente un fort effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus* . Par contre un effet moyen de l'extrait methanolique de *chia* de l'ordre de 9 mm à dilution 10%, Et que la dilution 20% présent une minimale zone d'inhibition de l'ordre de 5 mm et d'ordre 15 mm à dilution 40% et 16 mm dans dilution 60% , À une dilution de 80 à 100 %, il procure un fort effet antibactérien avec des zones d'inhibition allant de 20 à 24 mm. Nos résultats concordent avec les travaux de **Güzel et al., (2020)**, qui ont des montrés la présence d'activité antibactérienne contre des souches Gram+et Gram-.

Les huiles essentielles ont une forte action antibactérienne vis-à-vis des bactéries Gram+ par rapport aux bactéries Gram- parce que les bactéries Gram- sont protégées grâce à leur membrane externe riche en lipopolysaccharides autour de leur paroi cellulaire (**Wan, 1998**). Aussi, la charge négative sur la surface de cette dernière empêche la diffusion des molécules hydrophobes (**Delamare et al.,, 2007**). Alors, l'activité antibactérienne se traduit par la lyse de la membrane bactérienne.

Daroui-Mokaddem (2012) montre que l'activité antibactérienne dépend non seulement de l'espèce microbienne testée, mais aussi de la composition chimique de l'huile essentielle et précisément la nature de son composé majeur.

Un travail effectué sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* contre *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode de l'antibiogramme et celle de l'aromatogramme a montré qu'*Escherichia coli* est plus sensible à l'huile essentielle qu'aux antibiotiques tels que la Vancomycine et l'Erythromycine. Ainsi, les antibiotiques utilisés sont plus efficaces face à *Staphylococcus aureus* que l'huile essentielle.

Par contre, l'étude de **Tunçil et Çelik, (2019)**, ont montré que la solution aqueuse des graines de *Salvia hispanica* ne présentait aucune activité antibactérienne contre des souches telles que *S. aureus* et *E. coli*.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

L'objectif de ce travail a été consacré à la détermination du rendement de l'extrait de la *Salvia officinalis* (extrait méthanolique) ainsi la teneur de l'extrait en polyphénols et flavonoïdes, l'évaluation de l'activité antioxydante, l'étude de l'activité anti-inflammatoire et l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique sur deux souches de référence *Staphylococcus aureus* ATCC et *Escherichia coli* ATCC. .

La détermination du rendement des extraits a montré un bon rendement de l'extrait méthanolique avec un pourcentage de 13.02%.

L'étude screening phytochimique montre la présence des tanins, des saponines, des alcaloïdes, des Flavonoïde et des terpenoïdes avec une absence totale des oses et des holosides.

L'analyse quantitative des polyphénols totaux à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu a permis d'extraire des teneurs significatives de l'ordre des polyphénols totaux ($7,03 \pm 0,08$ mg EAG/g MS). L'analyse quantitative des flavonoïdes par la méthode $AlCl_3$ a révélé que l'extrait méthanolique de *chia* contient une faible quantité de flavonoïdes ($1,69 \pm 0,09$ mg EQ/g MS).

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la graine étudié est évaluée par la méthode de DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait méthanolique est douée d'un pouvoir antioxydant très important avec une IC_{50} de 59 ± 9.53 mg/ml et l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique des graines de *Salvia hispanica* par la méthode de dénaturation de l'albumine œuf a révélé une activité anti-inflammatoire avec une I_{max} égale à $75,84 \pm 0,002$ mg/ml .

Les résultats de l'activité antimicrobienne indiquent que l'extrait méthanolique de *Salvia hispanica* possède une activité antimicrobienne remarquable sur les souches ciblées (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*).

Références bibliographique

Références bibliographiques

A

Abdelhalim. A et Hanrahan. J. (2021). Biologically Active Compounds from Lamiaceae Family: Central Nervous System Effects. In Studies in Natural Products Chemistry, 68, 255-315. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819485-0.00017-7>

Aguis. I.(2023).Synthèse de différents matériaux à base d'HDL. Application à la rétention de Terbium Tb (III) et à l'activité antimicrobienne.These de Master ,Spécialité:Chimie inorganique .Université MOULAY Tahar, Saida.122p.

Ahmad. A. Khokhar. I. Ahmad. I. Kashmiri, M. Adnan. A. Ahmad. M. (2006). Study of antimicrobial activity and composition by GC/MS spectroscopic analysis of the essential oil of *Thymus serpyllum* 5.56-60p.

Alam. M.N. Bristi. N.J. Rafiquzzaman. M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharm. J. SPJ Off. Publ. Saudi Pharm. Soc. 21, 143–152p.<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>

Ayerza. R et Coates. W. (2004). Composition of Chia (*Salvia Hispanica*) Grown in Six Tropical and Subtropical Ecosystems of South America. Tropical Science, 44(3), 131-135p. <https://doi.org/10.1002/ts.154>.

B

Baatouche .A et Maadadi .L. (2021).Synthese Bibliographique Sur Caracteres Et Methodes Bacteriologiques Horizontales Pour Denombrement Des Especies Listeria Monocytogenes Dans Les Denrees Alimentaires.These de Master ,spécialité:Microbiologie appliquée.Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-B.B.A.30p.

Références bibliographiques

- Bakli. S.(2020).** Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques des quelques plantes médicinales locales. Thèse de doctorat : biologie microbiologie. Setif 1 : Université Ferhat Abbas, 216p.
- Bazizi.M. (2017).** Extraction d'huile Essentielle De l'Espece Vegetale Salvia Officinalis L. Par Hydrodistillation : Caracterisatio Physicochimique Et Modelisation Parametrique.Badjimokhtar Annabauniversity Universite Badji Mokhtar Annaba.Faculté des Sciences de l'Ingéniorat Département de Génie des Procédés.96p.
- Bekhechi. C. Atik-Bekkara. F. delouahid. D.E. (2008).** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'Origanum glandulosum d'Algérie. *Phytothérapie* 6, 153–159p.
<https://doi.org/10.1007/s10298-008-0310-6>
- Belabbes.S.(2009).** Antagonisme entre les bactéries mésophiles et les bactéries lactiques du genre *Lactococcus* isolées du lait de jument et recherche des bactériocines.These de Master ,spécialité:Microbiologie. Université Abou bakr Belkaid.43p
- Bendjelali. B. Tantaoui. E.A. EsmailiAlaoui. M. (1986).**Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes Médicinales et Phytothérapie* 20. 155-167p.
- Benhamdi. A.E. (2023),**Etude Phytochimique et activités antioxydante et antiinflammatoire de la *Withania frutescens*,Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem,59p.
- Benkherara. S. Bordjiba. O. Boutlelis Djahra. A. (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Saugue officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. *Synthèse* 17, 72–80p.
- Benzie.I.F.F. Strain. J.J.(1996).** The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–76p.

Références bibliographiques

- Beretta. G. Granata. P. Ferrero. M. Orioli. M. Facino. R.M. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal. Chim. Acta* 2, 185–191p.
- Beylier. M. (1976).** Activite Bacteriostatique De Certaines Matieres Premieres De Parfumerie. *Ital.Vol.58.N 5.283-286p.*
- Bochicchio. R. Philips. T. D. Lovelli. S. Labella.R.. Galgano.F. Di Marisco. A. & Amato. M. (2015).** Innovative crop productions for healthy food: the case of chia (*Salvia hispanica* L.). The sustainability of agro-food and natural resource systems in the Mediterranean basin, 29-45p.
- Bonnafous .C. (2013).**Traité scientifique Aromathérapie- Aromatologie et aromachologie, Ed Dangles, p 62.
- Bose. K.S. Sarma. R.H. (1975).** Delineation of the intimate details of the backbone conformation of pyridine nucleotide coenzymes in aqueous solution. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 66, 1173–1179p.
- Bouedja.S.(2017).** Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques de deux huiles essentielles (*Salvia officinalis*, *Mentha piperita*).Universite Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou .65p.
- 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, 1653- 1659p.
- Brand-Williams. W. Cuvelier. M. E. & Berset. C. L. W. T. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Références bibliographiques

Brand-Williams. W. Cuvelier. M. E. Berset. C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. Vol. (28) :25-30p.

Bribi .N. (2018).Pharmacological activity of Alkaloids: AReview. *Asian Journal of Botany*,1(1) : 1-6p.

Bruneton .J. (1999). Pharmacogonie, phytochimie, plantes médicinales, 3eme éd. Lavoisier, Paris.1120 P.

Bruneton .J. (2009).Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Lavoisier Tec & Doc (4eme Ed.), Paris, 1268 p.

Bruneton. J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie.plantes médicinales. 3ème éd. Tec & doc Lavoisier. médicales internationales, Paris Cachan.1392P

Bruneton.J. Poupon. E. (2016). Pharmacognosie. Phytochimie. plantes médicinales.5ème éd. Lavoisier Tec & doc. Paris.1392P

C

Chevallier. A. (2001). Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd eds) Dorling Kindersiey Limited.

Choi. H.S. Song. H.S. Ukeda. H. Sawamura. M.(2000). Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4156–4161p. <https://doi.org/10.1021/jf000227d>

Couic-Marinier .F. Lobstein .A. (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine, actualités pharmaceutiques.18-21P

Cristian. C. (2008). Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC DOC Lavoisier, Paris. 6 -86p.

D

Références bibliographiques

Daroui-Mokaddem .H.(2012). Etude phytochimique et biologique des especes *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolumolusatrum* (Apiaceae), *Asteriscusmaritimus* et *chrysanthemumtrifurcatum* (asterarceae).Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba. P8,14,28 de Montpellier 3:584–5.

Delamare. A.P.L.. I.T. Moschen-Pistorello. L. Artico. L. Atti-Serafini, and Echeverrigaray S.(2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.*, vol 100, p.p. 603-608.

Denis. F. Ploy .M.C Martin.C. Bingen.E. Et Quentin.N. (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS.335-401p.

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 : 654-660p.

E

Ekiert .H.M. Szopa .A. (2020).Biological Activities of Natural Products. *Molecules*, 25(23) 5769.1-7P.

Elhomri .R.(2022). Screening phyto-chimique , activité antioxydante et antiradicalaire des polyphenols de l'écorce de la clémentine,Université Aboubekr Belkaid– Tlemcen,53p.

Enneb. H. Belkadhi. A. Cheour. F. Ferchichi. A. Zaouchi. Y. (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *J. New Sci.* 20.

F

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

Références bibliographiques

Fetni.S. Bertella.N. (2020). Etude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L. (Rosacées) .In vitro study of anti-inflammatory properties of methanolic extract fruits from *Rosa canina* L. (Rosaceae).Nutr. Santé,Vol. 09, N°02:117-125p.

G

Gardès-Albert .M. Bonne font-Rousselot .D. Abedinzadeh .Z. Jore .D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. L'actualité Chimique, 91-95p.

Goro.A.A.M. (2020). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à Bamako de janvier 2020 à juin 2020.Universite Des Sciences, Des Techniques Et Des Technologies De Bamako (u.s.t.t.b).Faculte De Pharmacie.90p.

Gribi .K. (2016). Isolement et caractérisation de bactéries pathogènes nosocomiales dans deux milieux hospitaliers Chlef et Batna.These de Master ,spécialité:Microbiologie appliquée.Université Hassiba Ben Bouali - Chlef -.35p.

Guiraud. J.P.(1998). Microbiologie alimentaire. Ed : Dunod, Paris, 88-89p.

Güzel. S. Ülger. M. & Özay. Y. (2020). Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. International Journal of Secondary Metabolite, 7(3), 174–180

H

Halliwell .B. Gutteridge .J.M.C. (1995). The definition and measurement of antioxidants in biological systems. Free Radical Biology & Medicin, 18(1).125–126p.

Hamia C. Guergab A. Rennane N. Birache M. Haddad M. Saidi M et yousfi M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. Annales des sciences et technologie. Vol 6. N° 1.33-39p.

Références bibliographiques

Harborne .J. B.(1998). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of Plant analysis, Third Edition, Springer, Netherlands, 302p.

I

Ionita. P. (2005). Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?Chem. Pap.59(1).11-16p.

Ixtaina .V. Y. Nolasco. S. M. Tomas. M. C. (2008). Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. Industrial Crops and Products, 28(3): 286–293p.

J

Jadid.N. Hidayati. D. Hartanti. S. R. Arraniry.B. A.Rachman. R. Y. & Wikanta.W. (2017). Antioxidant activities of different solvent extracts of Piper retrofractum Vahl. using DPPH assay. In AIP conference proceedings (Vol. 1854, No. 1). AIP Publishing.

K

Kandikattu. K. Bharath Rathna Kumar, 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, 1:5,729-730p.

Kandikattu. K. Kumar. P. B. R. Priya. R. V. Kumar. K. S. & Rathore. R. S. B. (2013). Evaluation of anti-inflammatory activity of Canthium parviflorum by in-vitro method. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology, 1(5), 729-731p.

Kihal .F et Mokhtari.M .(2021).Valorisation de l'espèce *Salvia hispanica* L (Chia) : Etude Théorique.Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.59P

Références bibliographiques

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.

Kulczynski. B. Kobus-cisowska. J. Taczanowski. M. Kmiecik. D. & GramzaMichalowska. A. (2019). The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds-Current State of Knowledge. Nutrients, 11(6), 1242.

Kouroulou.F. (2023). Caractérisation et valorisation des huiles essentielles des graines de chia « *Salvia hispanica* » et leur effet stimulateur sur la viabilité de quelques ferments lactiques. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. 80p.

L

Labbani.(2022). Composés phénoliques L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale. 1-28P

Lakhdar .L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Faculté de médecine dentaire de Rabat, centre d'étude doctorale des sciences de la vie et de la santé. 183P

Lardry. J. M. & Haberkorn. V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinésithérapie, la revue, 7(61), 14-17P.

M

Maghri .Ch. Benzineb.M.(2023). Evaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits issus d'une plante médicinale la sauge : *Salvia officinalis*. Université De Medea Faculté Des Sciences. 70p.

Références bibliographiques

- Magri .Ch . Benzineb . M. (2023).**Evaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits issus d'une plante médicinale la sauge : *Salvia officinalis*.UNIVERSITE DE MEDEA FACULTE DES SCIENCES.90P
- Mahmoudi .S. Khali .M. Mahmoudi .N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*),*Nature & Technology, Algeria*,N 9,35-4
- Mansouri. A. Embarek. G. Kokkalou. E. Kefalas. P.(2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.* 89, 411–420p.<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.051>
- Mari .B.(2011).** Recherche Des Effets De l'Activité Antibactérienne Des Bactéries Lactiques Sur Le *Staphylococcus aureus* Résistant à La Méthicilline (Sarm).These de Master .Spécialité : Biologie.Université Du Québec à Montréal.38p.
- Michel. T.(2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*).Université d'Orléans.286p.
- Molyneux. P.(2004).** The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*26 (2), 211-219p
- Mouatassef .B.(2018).**Identification des *Staphylococcus aureus* Porteur du gène *pvl*.Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.32p.
- Munoz. A. Harries. E. Contreras-Valenzuela. A. Carmona. L. Read. N. D. & Marcos. J.F. (2013).** Two functional motifs define the interaction, internalization and toxicity of the cell-penetrating antifungal peptide PAF26 on fungal cells. *PLoS One*, 8(1), e54813. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054813>.

N

Références bibliographiques

Nogaret-Ehrhart .A.S. (2008).La phytothérapie : se soigner par les plante, Ed Eyrolles,Paris.192P

O

Oussou. K.R. Yolou. S. Jean Brice. B. Guessennd. N. Kanko. C. Ahibo. C. Casanova. J. (2008). Etude chimique et activité antidiarrheique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne.24(1).94-103p.

P

Pengelly. A. Bone. K. (2020). The Constituents of Medicinal Plants: An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine.1st ed. Routledge. 184p.

<https://doi.org/10.4324/9781003117964>.

Pistelli.L. (2015). Comparaison des systèmes d'extraction des huiles essentiellles avec une référence particulière aux liquides ioniques (IL). Université de Piz, Italy.15p.

Ponce. A.G. Fritz. R. Del valle. C. Roura. S.I. (2003). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard.Society of Food Science and Technology (Elsevier), 36: 679-684p.

Ponce. A.G. Fritz. R. Valle. C. del. Roura. S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT - Food Sci. Technol. 7, 679–684p. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)

R

Rahman, M. J. de Camargo. A. C.& Shahidi.F. (2017). Phenolic and polyphenolic profiles of chia seeds and their in vitro biological activities. Journal of Functional Foods, 35, 622-634p.

Rana .H. (2006). Implication du PTS dans la régulation de PrfA, activateur transcriptionnel des gènes de virulence de *Listeria monocytogenes*.Thèse de doctorat,sécialité:

Références bibliographiques

microbiologie et génétique moléculaire. Université Paris-Sud. Thèse de doctorat en biologie des cellules. France. 139p.

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.

S

Sanchez-Moreno. C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Sci. Technol. Int.* 8, 121–137p.
<https://doi.org/10.1177/1082013202008003770>

Saouli .S et Abdennebi .B. (2020). Contribution à l'étude des caractéristiques phytochimiques de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* L. Université Mohamed Khider de Biskra. 26p.

Singleton. P.(2005). Bactériologie pour la médecine et les biotechnologies. 6e édition, Dunod, Paris. p.327-328.

Sosa. A. (2016). Chia Crop (*Salvia Hispanica* L): Its History and Importance as a Source of Polyunsaturated Fatty Acids Omega-3 Around the World: A Review. *JCRF*, 1(1), 1-4p.

T

Taiba. Ch et Zeraia. Ch. (2021). Les propriétés de *Salvia hispanica* L. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy B.B.A. 21p.

Timothy. J.F.(2004). The *Staphylococcus aureus* "superbug". *The journal of Clinical Investigation*. Ireland. Vol. 114, N° 12. 1693-1696p.

Références bibliographiques

Tunçil, Y. E., & Çelik, Ö. F. (2019). Total phenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) having different coat color. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(1), 113-120.

W

Wan. J. Wilcock. A. Coventry. M J. (1998).The effect of essential oils of basil of the growth *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*l, *J. Appl. Microbiol.* 84: 152-158

Wagner .H. Blatt S. (1996). Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer Science & Business Media.

Walker. J. B. Sytsma. K. J. Treutlein. J. & Wink. M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe *Mentheae*. *American Journal of Botany*, 91(7), 1115-1125p.

Wika. J.M. Rooney. L.W. Wu. X. Prior. R.L. Cisneros-Zevallos.L. (2003). Screening Methods To Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6657–6662p. <https://doi.org/10.1021/jf034790i>

Wilkinson. J. (2006). Methods for testing antimicrobial activity of extracts, in: Owais, M.O.M. (Ed.), *Modern Phytomedicine*. John Wiley & Sons, Germany,157–198p.

Wong. C. C. Li. H. B.Cheng.K.W. et Chen.F.(2006). A systematic survey of antioxidantactivity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay.*Food Chemistry*, 97:4,705-711p.