

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SALAH BOUBNIDER CONSTANTINE 3



FACULTE DE GENIE DES PROCEDES

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE

N° d'ordre :... ..

Série :... ..

Mémoire de Master

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie Chimique

Extraction d'huile à partir de la plante locale *Origanum majorana* (marjoliana) par des méthodes conventionnelles et/ou non conventionnelle. Optimisation du procédé d'extraction par rapport au rendement d'extraction et aux propriétés biologiques de l'extrait

Dirigé par :

Pr. Abdeslam-Hassen MENIAI

Dr. Sarra MELLOUL

Présenté par :

BOUZOUAUCHE Amina

DJAGHROUD Imène

ZOUYED Ahlem

Année Universitaire : 2024/ 2025

Session : juin

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions ALLAH, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à **Pr MENIAI Abdeslam-Hassen**, notre encadrant, pour sa disponibilité, ses conseils avisés, son encadrement rigoureux et sa confiance. Son expertise scientifique et son accompagnement tout au long de ce mémoire ont été déterminants dans l'aboutissement de notre travail.

Nous tenons aussi à remercier **Dr MELLOUL Sarra**, notre Co-encadrante, pour son suivi, orientations et conseils qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Nos remerciements les plus sincères vont également à **Mlle MESTOUR Selma et Dr LARKECHE Ouassila**, pour leurs conseils techniques, leur accompagnement attentif et leur précieuse contribution à l'enrichissement de notre démarche scientifique.

Nous remercions chaleureusement **l'ensemble des enseignants de la Faculté du Génie des Procédés** de l'Université Salah Bounider Constantine 3, pour la qualité de leurs enseignements, leur rigueur pédagogique et leur dévouement, qui ont joué un rôle essentiel dans notre formation tout au long de notre parcours universitaire.

Nous exprimons également notre reconnaissance aux **membres du jury**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Leurs remarques et recommandations seront précieuses pour nos futures orientations académiques et professionnelles.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire, par leur soutien, leurs échanges enrichissants ou leurs encouragements.

Dédicaces

*Louange à **ALLAH**, par Sa grâce s'accomplissent les bonnes œuvres.*

*Je remercie tout d'abord **ALLAH, Le Tout-Puissant**, qui m'a accordée la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail modeste.*

Je dédie ce travail à :

*Celui qui m'a élevée et s'est battu pour moi, à la lumière qui a éclairé mon chemin, à celui dont je porte le nom avec fierté... **mon cher père**, que Dieu le préserve et lui accorde une longue vie.*

*Ma bien-aimée, la prunelle de mes yeux, mon cœur battant, celle dont les prières sincères ont été le secret de ma réussite... **ma chère mère**, que Dieu la protège et la garde en bonne santé.*

*Mon pilier inébranlable : mes frères **Ahmed, Bilal et Ibrahim**, et mes chères sœurs **Asma, Soumia et Meriem**, qui ont toujours été à mes côtés, par leur soutien, leurs encouragements. Qu'**ALLAH** vous accorde le bonheur, qu'il vous protège de tout mal, et qu'il bénisse vos vies et vos œuvres.*

*Et tout particulièrement à **Ahlem**, ma chère amie, qui a toujours été à mes côtés, par ses mots, son attention, et sa sincérité. Sa présence a été un véritable réconfort dans les moments de fatigue et d'angoisse.*

À tous les membres de ma famille, pour leur amour sincère et leur appui constant, qui m'ont apportée force et persévérance tout au long de ce parcours.

À mes amis, compagnons de route dans les moments d'efforts comme dans les instants de joie, source d'espoir et d'énergie positive... Que Dieu les guide et leur accorde la réussite.
À tous mes enseignants, qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours académique et ont semé en moi l'amour du savoir et de la recherche... Que Dieu les bénisse et les récompense pleinement.

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, je vous adresse toute ma gratitude et mes sincères remerciements.

Amina.

Dédicaces

*À travers ces lignes, je dépose humblement le fruit d'un long chemin d'efforts et de rêves,
et c'est avec un cœur rempli de gratitude que je le dédie à ceux qui m'ont portée, soutenue,
inspirée.*

À moi-même,

*Pour avoir tenu bon malgré les épreuves,
Pour ne pas avoir cessé de croire, même lorsque le doute s'installait.*

*À ma tendre mère, lumière de mes jours,
Dont l'amour silencieux et inconditionnel m'a donnée la force d'avancer,
Et dont les prières ont tissé, dans l'ombre, les fils de mes réussites.*

*À mes chers frères, Bilel et Ayoub,
Compagnons de vie, piliers de mon équilibre,
Merci pour votre présence discrète mais précieuse.*

*À ma douce sœur Amani,
Fleur de ma vie, souffle de tendresse et rayon de bonheur,
Ta tendresse m'apaise et ton sourire éclaire mes pas.
Que Dieu vous enveloppe de Sa miséricorde, vous comble de santé, de paix, et de bonheur,
Et vous mène toujours vers la lumière de la réussite, comme vous m'avez offerte, chaque
jour, amour, force et confiance.*

Imène.

Dédicaces

*Louange à **ALLAH**, par Sa grâce les bonnes œuvres s'accomplissent, et par Son soutien le succès devient possible.*

Sans Sa faveur et Son aide, je n'aurais jamais atteint cette étape ni accompli ce travail.

À Lui reviennent les louanges, en tout temps et en toute circonstance, apparentes et cachées.

Je dédie humblement ce travail à :

***Ma chère mère et mon cher père**, piliers de ma vie, source d'amour inconditionnel, de conseils et de prières. Que Dieu vous protège, vous comble de santé et vous accorde une longue vie. Qu'Il vous récompense pour tous vos sacrifices.*

*À ma sœur bien-aimée **Anfal**, et à mes frères chers à mon cœur, **Abdenmour et Wail**, merci pour votre présence constante, votre soutien précieux et votre amour sincère. Vous êtes ma force et ma paix intérieure.*

*À mon amie fidèle et compagne de route **Amina**, qui m'a accompagnée durant toutes les années d'étude avec patience, affection et encouragement. Toute ma gratitude t'est destinée.*

À toute ma famille, pour leur amour, leurs prières, et leurs encouragements constants. Vous avez toujours été une source d'espoir et de motivation.

À mes amis et collègues, pour les moments partagés, les mots gentils et les soutiens sincères dans les hauts comme dans les bas.

À mes professeurs estimés, qui ont semé en moi l'amour du savoir et m'ont transmis, avec générosité, leur temps et leur science. Que Dieu vous récompense et bénisse vos efforts.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Et à vous, chers lecteurs, qui parcourez ces pages et découvrez le fruit de mes efforts.

Ahlem.

Table des matières

LISTE DES TABLAUX	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES ABREVIATIONS	xi
INTRODUCTION GENERALE	1

CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les huiles naturelles et leurs propriétés	5
1.1. Les huiles végétales	5
1.2. Les huiles essentielles	10
2. Techniques d'extraction	13
2.1. Les techniques conventionnelles	13
2.2. Les techniques non conventionnelles	16
3. Présentation de la plante sélectionnée	18
3.1. Description botanique de la famille Lamiacée	18
3.2. Genre <i>Origanum</i>	19
3.3. Espèce (<i>Origanum Majorana</i>)	19
3.4. Différents aspects	20
3.5. Distribution géographique de l' <i>Origanum</i>	20
3.6. Les composés bioactifs	21
3.7. Activités biologiques d' <i>Origanum majorana</i>	22

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

1. Origine botanique et préparation de la matière végétale	26
1.1. Origine	26
1.2. Solvants et réactifs chimiques utilisés	28
1.3. Appareillage et matériel de laboratoire	30
1.4. Méthodes d'extraction utilisées	30
1.5. Activités biologiques	35
1.6. Optimisation par plan d'expériences	38

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

1. Rendements d'extraction	41
1.1. Extraction par Soxhlet	42
1.2. Extraction par macération	52
1.3. Evaluation des activités biologiques	56
CONCLUSION GENERALE	67
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	70

ANNEXES 77

LISTE DES TABLAUX

Tableau I.1	Comparaison entre les techniques d'extraction.....	15
Tableau I.2	Résumé de travaux récents.....	17
Tableau I.3	Appellation de l' <i>Origanum majorana</i>	20
Tableau II.1	Caractéristiques des solvants et réactifs utilisés.....	28
Tableau II.2	Matériel utilisé.....	30
Tableau II.3	Préparation de solutions tampons de phosphate pour différents pH par mélange de NaH_2PO_4 et Na_2HPO_4	38
Tableau II.4	Niveaux des différents facteurs considérés.....	38
Tableau II.5	Matrice d'expérience du plan. Box-Behnken.....	39
Tableau III.1	Taux d'humidité (%) mesuré sur différentes tailles (diamètres) de la plante <i>Origanum majorana</i>	41
Tableau III.2	Résultats des essais expérimentaux selon le plan d'expérience.....	43
Tableau III.3	Table d'ANOVA pour le rendement d'extraction.....	44
Tableau III.4	Résultats de l'étude de la signification des effets des facteurs et leurs interactions sur le rendement.....	45
Tableau III.5	Rendements d'extraction par macération.....	52
Tableau III.6	Résultats du test DPPH en ($\mu\text{g ET/ml}$).....	58
Tableau III.7	Résultats du test ABTS en ($\mu\text{g ET/ml}$).....	62
Tableau III.8	Pourcentages d'inhibition de l' α -amylase.....	65

LISTE DES FIGURES

Figure I.1	Composition courante des huiles végétales.....	7
Figure I.2	Montage d'un Soxhlet.....	14
Figure I.3	La plante <i>Origanum majorana</i>	19
Figure I.4	Aire de distribution du genre <i>Origanum</i>	21
Figure II.1	Étapes de préparation de l' <i>Origanum majorana</i> en vue de l'extraction.....	27
Figure II.2	Analyseur d'humidité.....	28
Figure II.3	Montage d'extraction par Soxhlet.....	31
Figure II.4	Dispositif expérimental pour la macération.....	32
Figure II.5	Prise de prélèvements dans des tubes à essais.....	33
Figure II.6	La filtration des extraits.....	33
Figure II.7	Évaporateur rotatif (Rotavap).....	34
Figure II.8	Structure chimique du radical libre DPPH.....	35
Figure II.9	Structure chimique du cation radical ABTS.....	36
Figure II.10	Image 3D de l'enzyme α -amylase.....	37
Figure III.1	Échantillons des extraits d' <i>Origanum majorana</i> obtenus par extraction Soxhlet.....	42
Figure III.2	Rendement d'extraction des extraits d' <i>Origanum majorana</i> par la méthode Soxhlet (illustré sous forme d'histogramme).....	42
Figure III.3	Effets principaux moyens des facteurs sur le rendement d'extraction.	46
Figure III.4	Effets d'interaction entre les facteurs sur le rendement d'extraction.....	47
Figure III.5	Contours de réponse du rendement d'extraction	48
Figure III.6	Interaction entre le volume de solvant et le diamètre des particules.....	50
Figure III.7	Interaction entre la quantité de matière et le diamètre des particules.....	50
Figure III.8	Interaction entre la quantité de matière et le volume de solvant.....	51
Figure III.9	Optimisation des paramètres d'extraction d' <i>Origanum majorana</i>	51

Figure III.10	Échantillons d'extraits obtenus par macération.....	52
Figure III.11	Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec le méthanol (200 µm).....	54
Figure III.12	Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec le méthanol (400 µm, 50°C).....	54
Figure III.13	Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec l'acétone (200 µm).....	55
Figure III.14	Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec l'acétone (400 µm, 50°C).....	55
Figure III.15	Courbe d'étalonnage de Trolox DPPH.....	56
Figure III.16	Résultats du test DPPH en microplaques.....	57
Figure III.17	Concentration antioxydante des extraits évalués par le test DPPH (µg ET/ml).....	57
Figure III.18	Courbe d'étalonnage de Trolox ABTS.....	60
Figure III.19	Résultats du test ABTS sur microplaques.....	60
Figure III.20	Concentration antioxydante des extraits évalués par le test ABTS (µg ET/m).....	61
Figure III.21	Résultats du test d'inhibition de l'α-amylase sur microplaques.....	64

LISTE DES ABREVIATIONS

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

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

HV : Huile végétale

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

D20 : La densité relative à 20 °C

CG : Corps gras

Ii : Indice d'iode

IS : Indice de saponification

HE : Huile essentielle

SFE : Extraction par fluide supercritique

O. Majorana : Origanum majorana

CMI : Concentration minimale inhibitrice

ARN : Acide Ribonucléique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

BHT : Butyl hydroxy toluène

BHA : Butyl hydroxy anisole

Kg : Kilogramme

g : gramme

ml : millilitre

µm : micromètre

cP : centipoise

min : minute

h : heure

Rotavap : Évaporateur rotatif

R (%) : Rendement réel

me : La masse de l'extrait

HR : Humidité relatif

d : Diamètre des particules

V : Volume de solvant

m : La quantité de matiè

R' (%) : Rendement prédite

R² : Coefficient de détermination

ANOVA : Analysis Of Variance

SCE : Somme des carrées écarts

DDL : Nombre de degrés de liberté

CM : Carré moyen

F : La valeur critique de Fisher

Fobs : F observée

FRAP : capacité de réduction ferrique du plasma (Ferric Réduction Ability of Plasma)

T : Température

Sox : Soxhlet

Mac : Macération

Méth : Méthanol

Acét : Acétone

ET : équivalent de Trolox

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes naturelles ont toujours présenté un intérêt très important pour l'humanité et ce de par les bienfaits générés par les substances bioactives qu'elles renferment et qui interviennent dans diverses applications liées aux activités courantes. A titre d'exemple les huiles naturelles, en particulier les huiles essentielles, sont parmi les composés les plus importants qui suscitent un intérêt croissant dans divers secteurs industriels [1][2], notamment l'alimentaire [3], le cosmétique [4] et le pharmaceutique [5]. Par conséquent les plantes naturelles sont des sources extraordinaires pouvant fournir des produits à utiliser pour le traitement de beaucoup de maladies que l'homme a connu et ce malgré le fait que les procédés de productions de ces substances médicales soient purement traditionnels et très peu développés.

En effet ces huiles essentielles contiennent des composants biologiquement actifs qui leur confèrent de multiples propriétés telles que l'activité antioxydante, antidiabétique et antibactérienne. Par conséquent, elles représentent des alternatives naturelles aux substances chimiques industrielles, contribuant ainsi à la production de produits plus sûrs et plus sains pour le consommateur.

Actuellement le souci majeur concernant le domaine des plantes naturelles est surtout les techniques d'extraction des substances bioactives, qui sont généralement de deux types, selon qu'elles soient conventionnelles ou non conventionnelles, où les premières sont les plus anciennes mais toujours assez utilisées, citant à titre d'exemple l'hydrodistillation, la macération, l'extraction par Soxhlet, etc. Par contre les deuxièmes, non-conventionnelles sont basées sur des technologies plus développées opérant à des pressions très élevées, faisant intervenir des ultrasons, des microondes, etc. Cependant dans tous les cas l'obtention de ces huiles repose essentiellement sur des techniques d'extraction, qui doivent être efficaces, économiques et respectueuses de l'environnement. En ce sens, les techniques d'extraction par Soxhlet et macération se distinguent comme des méthodes traditionnelles pour extraire les composés huileux des plantes. Bien que simples, ces méthodes sont encore largement utilisées en raison de leur capacité à extraire des quantités importantes d'huiles, mais la différence entre elles en termes d'efficacité et de qualité de l'huile extraite nécessite une évaluation et une comparaison scientifiques rigoureuses.

Généralement la composition de l'huile extraite est le facteur le plus influant concernant le type les applications possibles. A titre d'exemples, les antioxydants sont parmi les composés bioactifs les plus importants influençant directement la qualité et la stabilité des

huiles extraites [6]. Ils protègent les huiles contre l'oxydation, ce qui prolonge leur durée de conservation et maintient leurs propriétés physiques et chimiques [7]. Ils jouent également un rôle essentiel dans le domaine médical de par la prévention des maladies liées au stress oxydatif, telles que le diabète, le cancer et les maladies cardiovasculaires [8].

Généralement, l'efficacité du procédé d'extraction est influencée par un ensemble de facteurs tels que la température, la durée de l'extraction, la nature du solvant utilisé et le rapport masse/solvant [9]. L'optimisation de ces variables est essentielle pour augmenter le rendement et garantir la qualité de l'huile obtenue. Dans ce domaine, les plans d'expériences sont utilisés comme un outil méthodologique pour étudier l'effet des différents paramètres et déterminer les conditions optimales d'extraction.

Dans cette étude, il s'agit d'aborder la problématique liée à l'identification des meilleures méthodes pour extraire l'huile essentielle de la plante *Origanum majorana*, en termes de rendement et de qualité. Quelle est la méthode la plus adaptée entre la macération et le Soxhlet pour obtenir un rendement élevé et une bonne qualité ? Quels sont les facteurs qui influencent l'activité antioxydante ? Et comment peut-on utiliser un plan expérimental pour déterminer les meilleures conditions d'extraction ?

Par conséquent, l'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'étude et la comparaison de l'efficacité des deux méthodes d'extraction (Soxhlet et macération) en termes de quantité et qualité. Il vise également à évaluer leur activité antioxydante et antidiabétique à l'aide de tests biologiques appropriés (DPPH, ABTS et essai d'inhibition de α -amylase). Par la suite, un plan expérimental Box-Behnken sera appliqué pour améliorer les conditions d'extraction par soxhlet.

Le manuscrit présentant ce travail comprend trois chapitres principaux. Après une introduction générale qui montre surtout l'intérêt et la portée de ce travail, le premier chapitre a été consacré à une revue bibliographique qui concerne différents aspects du secteur des plantes naturelles considérées comme sources de substances bioactives, focalisant surtout sur les différentes méthodes d'extraction, les propriétés des extraits pouvant être obtenus, particulièrement les activités biologiques, leurs valorisations, leurs différents domaines d'applications, etc. La plante à étudier a été considérée comme système modèle. Finalement l'objectif de ce chapitre est de revoir et comprendre les fondements de ce domaine, la méthodologie à suivre pour bien mener toute étude similaire concernant les plantes naturelles, leurs extraits, les propriétés de ces derniers, leurs valeurs, utilities, les différentes méthodes d'extraction, etc.

Introduction générale

Le deuxième chapitre concerne la description des deux méthodes d'extraction considérées, matériels et les produits chimiques utilisés.

Le troisième chapitre présente tous les résultats obtenus ainsi que leur interprétation et discussion.

Enfin une conclusion générale clôture le manuscrit tout en citant quelques perspectives pour le développer encore plus.

CHAPITRE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Le présent chapitre concerne une revue bibliographique liée à différents aspects du secteur des plantes naturelles considérées comme sources de substances bioactives, focalisant surtout sur les propriétés des extraits pouvant être obtenus, particulièrement les activités biologiques, leurs valorisations, leurs différents domaines d'applications, etc. Ceci permettra aussi de mesurer l'importance, la valeur et le potentiel de ce secteur, point de vue socio-économique techniques et aussi être une opportunité pour approfondir les connaissances scientifiques concernant les techniques d'extraction des substances bioactives, leur performance, analyse, optimisation, les propriétés des extraits surtout biologiques, les valorisations possibles pour des applications bien ciblées, etc. En d'autres termes l'objectif de ce chapitre est de revoir et comprendre les fondements de ce domaine, la méthodologie à suivre pour bien mener toute étude similaire concernant les plantes naturelles, leurs extraits, les propriétés de ces derniers, leurs valeurs, utilities, les différentes méthodes d'extraction, etc.

1. Les huiles naturelles et leurs propriétés

Depuis l'Antiquité, l'homme utilise des huiles d'une manière continue qui a évolué à travers les âges. De nos jours ces substances bioactives jouent un rôle crucial dans divers domaines secteurs socio-économiques, citant les industries pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires, etc [10]. Principalement deux grandes classes d'huiles peuvent être distinguées : les huiles végétales et les huiles essentielles qui sont décrites comme suit :

1.1. Les huiles végétales

1.1.1. Définition

Elles sont aussi connues sous comme 'huiles non essentielles ou fixes' [11], et sont des substances grasses et épaisses qui sont généralement liquides à température ambiante [10]. Habituellement dérivées de graines végétales (comme l'huile de soja, l'huile de colza, l'huile de sésame, etc.), ou plus rarement d'autres parties des fruits (telles que l'huile d'olive, l'huile de palme, etc.), par simple pression ou par extraction utilisant un solvant. Leur composition chimique est à la fois assez variée et complexe, et est influencée par une multitude de facteurs comme leur provenance botanique, les conditions agronomiques, la

saison et les méthodes de d'extraction utilisées [11].

1.1.2. Composition chimique

- **Triglycérides**

Les triglycérides constituent les principaux composants des huiles végétales, représentant 95 à 98 % de la composition globale, dépendant de la source de l'huile. Le terme « huile » fait ici référence aux triglycérides qui se trouvent à l'état liquide à température ambiante. Les triglycérides sont formés par l'estérification de trois molécules d'acides gras avec une molécule de glycérol, et en fonction du niveau de saturation des acides gras, ils peuvent être classés en trois catégories : acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés. Les propriétés des huiles végétales sont influencées par plusieurs paramètres, notamment : i) la longueur des chaînes des acides gras, ii) le degré d'insaturation et iii) la configuration stéréochimique des doubles liaisons. En outre, des facteurs tels que les conditions climatiques, les pratiques agronomiques et les méthodes culturales peuvent entraîner des variations dans la composition en acides gras des triglycérides [11].

- **Composés mineurs**

En plus des triglycérides, les huiles végétales contiennent une diversité de composés mineurs non triglycériques, représentant moins de 5 % de la composition totale. Bien que présents en faibles proportions, ces constituants jouent un rôle essentiel en raison de leurs propriétés biologiques et de leur importance nutritionnelle, en particulier pour les industries nutraceutiques et pharmaceutiques. Ces composés peuvent être divisés en deux grandes catégories : les glycérolipides, comprenant les monoglycérides, les diglycérides et les phospholipides ; et les composés non Glycéro lipidiques, parmi lesquels on trouve les tocophérols et tocotriénols, les stérols, les acides gras libres, les pigments, les vitamines, les composés phénoliques, les protéines et l'eau [11]. A titre d'illustration, la figure suivante donne une idée sur la composition des différentes espèces pouvant être présentes dans les huiles végétales :

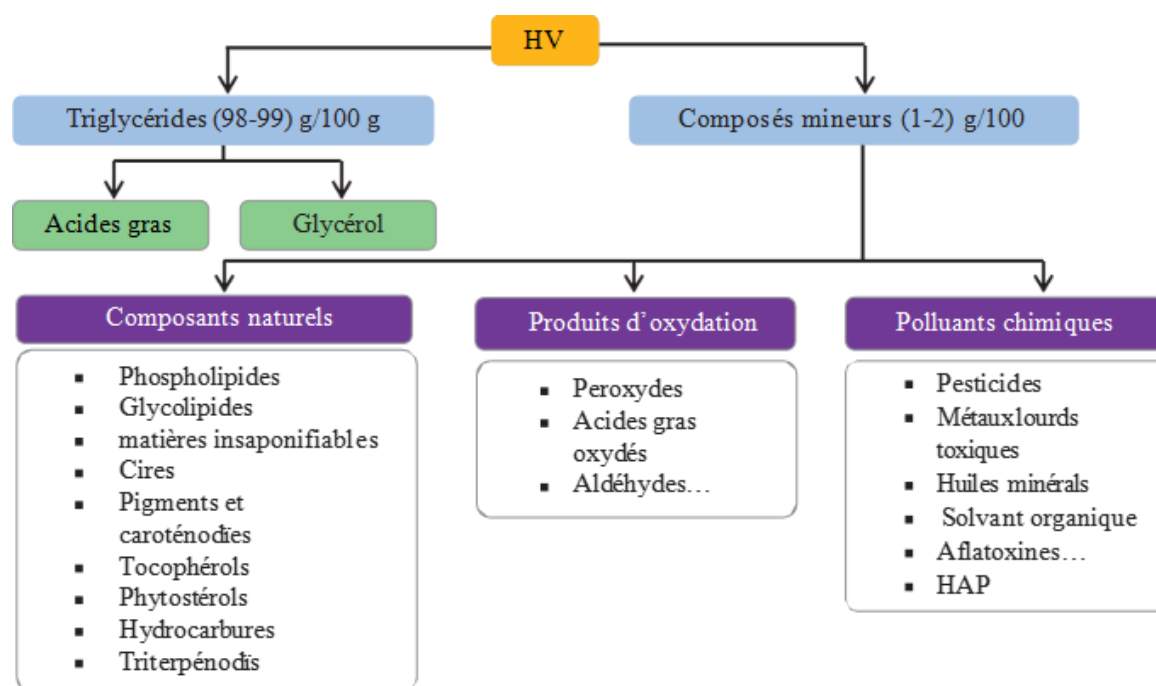


Figure I.1 : Composition courante des huiles végétales [12].

1.1.3. Propriétés physico-chimiques

a. Propriétés physiques

➤ Densité relative à 20°C

On définit la densité relative à 20 °C (D_{20}) d'une huile ou d'un corps gras comme le quotient de la masse d'un volume précis de cette matière, mesuré à une température spécifique (°C), par la masse d'un volume identique d'eau distillée à la température standard de 20 °C [13]. Les huiles végétales présentent une densité variant de 0.915 à 0.964 [14].

➤ Teneur en eau et matières volatiles

La teneur en eau et en matières volatiles d'un corps gras (CG) correspond à la perte de masse subie par un échantillon après un chauffage à 103 ± 2 °C [13][15][16]. Ce processus est réalisé sur une durée suffisamment courte pour éviter l'oxydation, mais assez longue pour garantir l'élimination complète de l'eau [13][15]. Il consiste à chauffer une quantité précisément mesurée d'huile afin de provoquer l'évaporation totale de l'eau et des substances volatiles. Cette perte de masse, exprimée en pourcentage par rapport à la masse initiale de l'échantillon, est un indicateur important de la pureté de l'huile [13].

➤ Viscosité

La viscosité est définie comme étant le coefficient de frottement intramoléculaire d'un fluide, décrivant sa résistance à l'écoulement. Elle est quantifiée par l'évaluation du temps requis pour qu'une bille métallique parcoure un capillaire rempli d'huile, en utilisant un

viscosimètre. L'unité de mesure de la viscosité est le centipoise (cP) [13][15].

➤ Solubilité

Les acides gras ayant plus de 8 atomes de carbone ne se dissolvent pas dans l'eau, mais sont plutôt solubles dans des solvants organiques comme l'éther, le chloroforme, le benzène, etc [14].

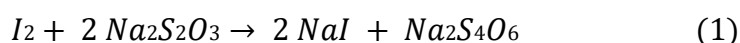
b. Propriétés chimiques

➤ Acidité

Le taux d'acidité libre d'une huile indique la proportion d'acides gras libres, généralement évaluée en termes d'acide oléique [13][15]. Elle illustre le niveau d'hydrolyse des triglycérides et sert de repère pour la détérioration et la qualité des graisses. Elle est définie par titrage à l'aide d'une solution alcoolique de KOH, en présence de phénolphthaléine. L'indice d'acidité, indiqué en mg de KOH par g de matière grasse, sert à classer les huiles et à juger leur niveau d'oxydation [13].

➤ Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras exprime le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif (meq O₂/kg) capables d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. Il reflète le degré d'oxydation primaire de l'huile, lié à la formation de peroxydes sous l'effet de facteurs tels que la lumière, la chaleur ou les traces de métaux. Selon la méthode classique, l'huile est dissoute dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme, puis traitée par une solution de KI. L'iode libéré est titré par du thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) en présence d'amidon comme indicateur, selon la réaction [13][17] :



➤ Indice d'iode

L'indice d'iode (Ii) indique la masse d'iode, exprimée en g, fixée par chaque 100 g de matière grasse. Cela permet d'apprécier le niveau de saturation des acides gras présents. Les huiles végétales peuvent présenter des valeurs importantes, reflétant une concentration élevée en acides gras insaturés [13]. La méthode se base sur la dissolution de l'échantillon dans l'éthanol, puis sur l'incorporation d'iode alcoolique (0.2 N), avant de procéder à un titrage avec une solution de thiosulfate de sodium (0.1 N) [17].

$$Ii = (V_0 - V)/P * 1.269/100g \text{ d'huile} \quad (2)$$

Ii : Indice d'iode.

V₀ : Volume de Na₂S₂O₃ utilisé pour l'essai à blanc (ml).

V : Volume de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilisé pour titrer l'excès d'iode (ml).

0.01269 : nombre de gramme d'iode correspondant à 0.1 ml de thiosulfate de sodium à 0.1 N.

➤ **Indice de saponification**

L'indice de saponification (IS) représente la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH), en milligrammes, nécessaire pour saponifier un gramme de corps gras [13][17]. Il permet d'estimer la masse molaire moyenne des triglycérides et constitue un critère important dans l'industrie, notamment en savonnerie, même sans connaître la composition exacte de l'huile. Contrairement à l'indice d'acidité, il est déterminé à chaud [13]. Le principe consiste à saponifier l'échantillon par une solution alcoolique de KOH (0.5 N) sous réfrigérant à reflux pendant une heure, puis à titrer l'excès de KOH avec de l'acide chlorhydrique (HCl 0.5 N) en présence de phénolphthaléine. L'indice est exprimé par la relation suivante [17]:

$$Is(\text{mgKOH/g}) = N \times Eg \times ((V0 - V1))/p \quad (3)$$

D'où :

Is : indice de saponification (mg KOH/g)

V0 : volume d'HCL pour l'essai à Blanc (ml)

V1 : volume d'HCL pour l'échantillon (ml)

P : prise d'essai (g)

N : normalité d'HCL

Eg : Equivalent gramme de KOH.

1.1.4. Facteurs influençant la qualité d'une huile [14]

Certains facteurs ont montré une certaine influence sur la qualité d'une huile et sont décrits comme suit :

- **Acides gras libres et chlorophylle** : Ils favorisent l'oxydation de l'huile.
- **Degré d'insaturation** : Plus une huile est riche en acides gras insaturés, plus elle est sensible à l'oxydation, ce qui réduit sa durée de conservation.
- **Antioxydants (ex : vitamine E)** : Ralentissent l'oxydation en neutralisant les radicaux libres.
- **Bêta-carotènes** : Ils préservent l'huile en capturant l'énergie de la lumière.
- **Hydroperoxydes** : Leur accumulation indique un début d'oxydation et accélère la dégradation.

- **Lumière** : Favorise la formation de radicaux libres responsables de l'oxydation.
- **Température** : Une conservation à haute température augmente l'oxydation (ex : indice peroxyde de 8 à 100 en 11 semaines à 49°C pour l'huile de soja).
- **Métaux (fer, cuivre)** : Présents dans les récipients, ils catalysent l'oxydation.

1.2. Les huiles essentielles

1.2.1. Définition

Aussi connues sous le nom d'huiles volatiles, les huiles essentielles (HE) sont des liquides aromatiques huileux dérivés du métabolisme secondaire des plantes. Elles sont obtenues à partir de différentes parties des plantes comme les feuilles (Eucalyptus, Thym, Sauge), les zestes (des agrumes), les fleurs (lavande, rose, jasmin), les fruits (agrumes), les graines (sésame), les racines (gingembre) et le bois (santal). Ces substances, bien qu'elles ne soient pas techniquement des huiles, sont caractérisées par une faible solubilité dans l'eau. Elles se distinguent habituellement par une composition impliquant une multitude de composés aromatiques. Durant les dernières décennies, de nouvelles méthodes d'extraction novatrices ont été élaborées pour optimiser l'extraction des huiles essentielles à partir de matières végétales non transformées. Les principaux constituants des HE appartiennent à quatre grandes classes de composés : les terpènes, les phénylpropanoïdes, les composés à chaîne linéaire et d'autres groupes divers [11].

1.2.2. Composition chimique

➤ Terpènes

Les terpènes représentent le groupe de composés le plus important dans les huiles essentielles dérivées des plantes. La biosynthèse de ceux-ci se réalise via la voie de l'acide mévalonique qui se trouve dans le cytoplasme des cellules végétales. Les composés terpéniques se divisent en deux groupes majeurs : les hydrocarbures terpéniques et les composés oxygénés [11].

- **Hydrocarbures terpéniques**

Les huiles essentielles (HE) sont essentiellement composées de terpènes. Ils sont structurés autour d'une unité fondamentale nommée isoprène (C_5H_8), assemblée selon une organisation appelée tête-à-queue. Différentes sortes de terpènes sont distinguées selon le nombre d'unités d'isoprène :

Les monoterpènes (C_{10}) : constitués de deux unités d'isoprène, sont largement présents dans les huiles essentielles et participent grandement à leur parfum.

Les sesquiterpènes (C_{15}) : dérivés de trois unités d'isoprène, montrent une large variation structurale et sont aussi couramment présents dans les huiles essentielles.

Les HE contiennent généralement moins de diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}) et tétraterpènes (C_{40}), mais ces derniers sont souvent présents en plus grande quantité dans les résines végétales.

Les terpènes peuvent présenter diverses structures : elles peuvent être acycliques, cycliques (mono-, bi- ou tricycliques) ou aromatiques. Ces structures ont un impact sur leur capacité de réaction. Par exemple, les terpènes cycliques sont particulièrement vulnérables à l'oxydation due à la chaleur et à l'air, ce qui peut compromettre la qualité de l'huile essentielle. La concentration en terpènes d'une huile essentielle peut varier largement en fonction de la technique d'extraction utilisée (hydrodistillation, extraction au CO_2 supercritique, etc.), influençant à la fois la valeur et le volume des composés extraits [11].

- **Terpénoïdes**

Les terpènes peuvent être modifiés par l'ajout de groupes fonctionnels pour former des composés appelés terpénoïdes. Lorsqu'un monoterpène ou un sesquiterpène est modifié par l'introduction d'un groupe fonctionnel, on parle respectivement de monoterpénoïde ou de sesquiterpénoïde. Le suffixe « -oïde » signifie « **dérivé de** » ou « **semblable à** », le terme « **terpénoïde** » peut donc désigner toutes les molécules dont la structure est semblable à celle des terpènes. Ces composés sont classés selon la nature de leur groupe fonctionnel : acides carboxyliques, alcools, aldéhydes, esters, éthers, cétones, phénols, lactones, oxydes, etc [11].

- **Phénylpropanoïdes**

Cette classe de composés, dérivés du phénylpropène, est synthétisée à partir des acides aminés phénylalanine et L-tyrosine via la voie de l'acide shikimique. Leur nom provient de la présence d'un groupement aromatique phényle et d'une chaîne latérale propène. Cette dernière peut être substituée par des groupes fonctionnels tels qu'hydroxyle ou carboxyle, tandis que le cycle aromatique peut comporter des groupements méthoxy, hydroxyle ou méthylènedioxy. Les phénylpropanoïdes contribuent aux propriétés organoleptiques des plantes, notamment à leur arôme et leur parfum. L'eugénol et la cinnamaldéhyde en sont des exemples représentatifs [11].

- **Composés à chaîne linéaire**

Ce groupe est exclusivement constitué de composés à structure linéaire, sans aucune

branche latérale. Ils vont du n-heptane à des molécules qui contiennent jusqu'à 35 atomes de carbone. L'alcool foliaire (3(Z)-hexen-1-ol) est un exemple typique de cette catégorie ; son odeur intense et herbacée se libère lors de la coupe de l'herbe ou des feuilles vertes [11].

➤ Groupes divers

Ce groupe englobe des composés issus de la dégradation d'acides gras insaturés, de lactones, de terpènes et de glycosides, et comprend des substances contenant du soufre et de l'azote. Le disulfure de diallyle et l'indole en sont des exemples représentatifs de cette classe de composés [11].

1.2.3. Propriétés physico-chimiques [18][19]

- La plupart des huiles essentielles ont une densité plus basse que celle de l'eau et peuvent être transformées en vapeur par entraînement à la vapeur d'eau. Cependant, quelques huiles comme celles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle font exception, car leur densité dépasse celle de l'eau.
- Les huiles essentielles se caractérisent par un indice de réfraction généralement élevé ainsi qu'un pouvoir rotatoire.
- Elles sont constituées de molécules à squelette carboné où le nombre d'atomes de carbone est compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15)
- À température ambiante, elles ont tendance à s'évaporer et se volatiliser facilement.
- Malgré leur faible dissolution dans l'eau, elles lui transfèrent leur parfum distinctif, créant ce qu'on désigne comme une eau distillée florale. Par contre, elles sont solubles dans les huiles fixes, les alcools et la majorité des solvants organiques courants.
- Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C, et varie en fonction du poids moléculaire des constituants tels que :
 - Caryophyllène : 260°C
 - Géraniol : 230°C
 - Citral : 228°C
 - α -pinène : 156°C
- Exposées à la lumière, les huiles essentielles s'oxydent aisément, ce qui entraîne :

- une résinification par absorption d'oxygène,
- une altération de leur odeur,
- une augmentation du point d'ébullition,
- une diminution de leur solubilité.
- Par ailleurs, elles possèdent la capacité d'absorber certains halogènes (chlore, brome, iode), phénomène accompagné d'un dégagement de chaleur.

1.2.4. Facteurs influençant la qualité des huiles essentielles [14]

La composition chimique, la quantité et la qualité d'une huile essentielle extraite sont déterminées par divers facteurs pouvant être :

- **Intrinsèques** : les éléments génétiques, l'emplacement et le niveau de maturité.
- **Extrinsèques** : le climat, l'environnement, la terre.
- **Technologiques** : catégorie de culture, méthode de collecte, technique d'extraction.

2. Techniques d'extraction

L'extraction solide-liquide est un processus de transfert de matière entre une phase solide renfermant les composés à extraire et un solvant sous forme liquide [20]. Elle a pour principal objectif l'extraction de substances à forte valeur ajoutée, y compris des composés bioactifs contenus dans les plantes naturelles [21]. En raison de leur large éventail d'utilisations dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et de la parfumerie, les huiles essentielles occupent une position significative parmi ces composés [20]. L'extraction de ces huiles est généralement classée en deux principales catégories : les techniques traditionnelles et les techniques non traditionnelles. Chaque méthode combine diverses techniques basées sur des principes physiques et chimiques distincts, ajustés à la nature des matrices végétales et aux propriétés des composés ciblés [22].

2.1. Les techniques conventionnelles

Les techniques conventionnelles sont des méthodes classiques et simples, largement utilisées dans l'industrie, dont les suivantes sont citées à titre d'exemple :

2.1.1. Extraction par hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles est souvent réalisée par la technique traditionnelle de l'hydrodistillation [23]. C'est une méthode d'extraction efficace, très répandue et réputée pour sa facilité d'utilisation, qui préserve certains composés sensibles à la chaleur grâce à l'utilisation de l'eau [24].

2.1.2. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est considérée comme une méthode continue d'extraction par solvant, qui utilise des solvants à pression ambiante et à température d'ébullition, afin d'extraire sélectivement des composés ciblés à partir de matières solides [25].

- **Description de la technique**

L'extracteur de Soxhlet est un appareil utilisé en chimie analytique pour effectuer des extractions par solvant à chaud de solides avec une grande efficacité [26]. La matière végétale est placée dans une cartouche poreuse insérée dans le Soxhlet, tandis que le solvant dans un ballon est porté à ébullition. Le solvant vaporisé se condense grâce à un réfrigérant, s'accumule autour de la cartouche et dissout les composés solubles. Une fois le niveau du siphon atteint, le mélange enrichi retourne dans le ballon. Ce cycle, répété plusieurs fois, assure une extraction complète. Après extraction, le solvant est séparé via un évaporateur rotatif, laissant les extraits concentrés [20].

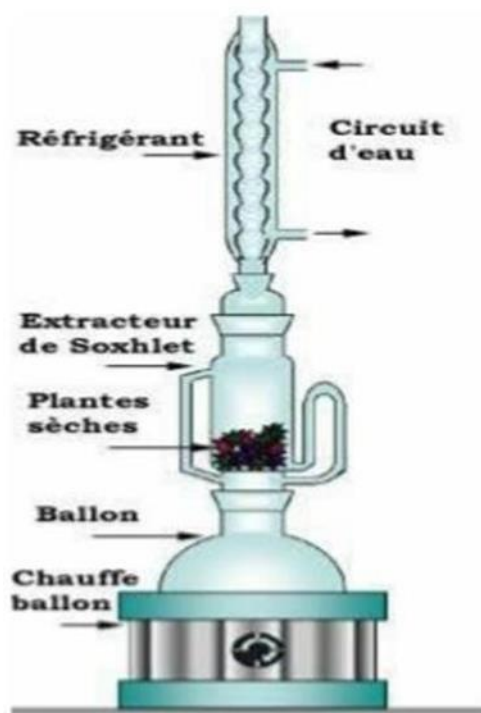


Figure I.2 : Montage d'un Soxhlet [19].

Cette approche offre des avantages tels qu'une extraction performante et absence de filtration après extraction, mais elle présente également des désavantages comme une période d'extraction étendue, le danger de détérioration thermique des composants thermosensibles et une importante utilisation de solvants, engendrant des conséquences économiques et écologiques importantes [27].

2.1.3. Extraction par macération

La macération est la technique d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle implique le contact du matériau végétal avec le solvant, avec ou sans agitation, généralement à température ambiante. Bien que généralement longue et souvent peu productive, cette méthode est surtout utilisée pour l'extraction de molécules sensibles à la chaleur [28].

- **Description de la technique**

Cette technique implique la plongée d'une substance végétale dans un solvant, souvent de l'eau ou tout autre liquide adéquat en vue d'isoler les constituants solubles contenus dans la plante. Cette extraction se réalise à une température ambiante ou légèrement modifiée, tout en assurant un contact prolongé entre la substance végétale et le solvant, généralement avec agitation pour stimuler la diffusion. Après une période déterminée, le mélange est filtré pour extraire le liquide qui contient les extraits. Par la suite, ce liquide est concentré ou transformé en poudre dans une étuve afin de récupérer les composés extraits sous leur forme solide [29].

Cette méthode est simple et efficace pour extraire les composés thermosensibles. Toutefois, elle présente des inconvénients, tels que la saturation du solvant et la grande quantité utilisée, entraînant des pertes économiques importantes. Elle permet néanmoins un contrôle précis de la température et facilite l'utilisation de mélanges de solvants [27].

A titre de comparaison des deux techniques d'extraction (par Soxhlet et par macération) effectivement utilisées dans le présent travail, le tableau ci-dessous montre clairement les différences entre les deux techniques d'extraction, par rapport à certains paramètres bien précis :

Tableau I.1 : Comparaison entre les techniques d'extraction.

Critères	Macération	Soxhlet
Rendement	Généralement faible à modéré	Elevé (grâce à la recirculation continue du solvant chaud)
Temps de procédé	Long (plusieurs heures à plusieurs jours)	Plus court (quelques heures suffisent)
Température	Température ambiante ou légèrement chauffée	Haute température (Solvant en ébullition)

Qualité des extraits	Bonne pour les composés thermosensibles	Peut dégrader certains composés sensibles à la chaleur
Consommation de solvant	Modérée / élevée (selon le volume utilisé)	Optimisée (réutilisation continue du même volume de solvant)

2.2. Les techniques non conventionnelles

Les techniques non conventionnelles sont des méthodes innovantes visant une évolution vers l'implication de procédés plus rapides, sélectifs et non agressifs envers l'environnement. Les principaux sont comme suit :

2.2.1. Extraction par CO₂ supercritique

L'extraction par fluide supercritique (SFE) est une méthode innovante et 'verte' et donc respectueuse de l'environnement. Essentiellement elle exploite les propriétés modulables des fluides à l'état supercritique. Le fluide le plus fréquemment utilisé est le dioxyde de carbone (CO₂), de par sa disponibilité, son faible cout, son inertie chimique, sa non-toxicité et son efficacité pour à extraire des composés spécifiques totalement purs [20].

2.2.2. Extraction assistée par micro-onde

Cette technique est aussi une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles. Elle consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale sans ou en présence d'un solvant, absorbant fortement les micro-ondes. Elle utilise de petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide [21].

2.2.3. Extraction par ultrasons

L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles [24].

De par l'importance actuelle des techniques non-conventionnelles et afin de faire une comparaison avec les méthodes conventionnelles, il a été jugé utile d'insérer le tableau suivant rapportant certains travaux relativement récents liés à ces méthodes extractives :

Tableau I.2 : Résumé de travaux récents.

Année	Titre	Plante	Méthode d'extraction		Réf
			Conditions opératoires	Rendement	
2019	Etude de l'extraction des huiles végétales des noyaux de dattes et graines de sésame par CO ₂ supercritique	Noyaux de dattes et graines de sésame	Extraction par CO ₂ supercritique : m=80g Q=50g/min t=210min Soxhlet avec hexane : m=10g t=6h	5.03% à 13.64% 16.22%	[20]
2020	Etude de la variation de la toxicité et la phytochimie de l'Origanum majorana provenant de deux régions en Algérie	Origanum Majorana	Hydrodistillation: m=50g V=400ml	Blida : 3.53% Tizi-Ouzou :2.15%	[24]
2020	In Vitro Assessment of Antioxidant Activity, Total Phenolic and Flavonoid Contents of Sweet 26Marjoram (Origanum majorana L.) Extract	Origanum Majorana	Macération : Ratio de 1 :5 Ethanol t=24h	8.41%	[30]
2020	Déterpénation de l'huile essentielle d'Origanum Majorana L. et évaluation des activités biologiques	Origanum Majorana	Hydrodistillation : m=300g V=3L d'eau distillée	1.7%	[23]
2022	Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant activities of extracts of urtica dioical. by different extraction	Urtica dioical	Soxhlet : m=50g V=300ml t=6h Macération m=50g V=300ml t=24h	11.96 ± 0.08 % 4.6 ± 0.06% 5.96 ± 0.05 % 2.8 ± 0.07%	[31]

	techniques		solvants : éthanol hexane		
2023	Dynamic Maceration of Acerola (Malpighia emarginata DC.) Fruit Waste: An Optimization Study to Recover Anthocyanins	Acerola (Malpighia emarginata DC.)	Macération : m=1g V=20ml éthanol Agit=5000rpm	48% à 63%	[32]
2023	Extraction des huiles essentielles et hydrolats	1. Rosmarinus Officinalis 2. Lavandula stoechas 3. Eucalyptus globulus	Hydrodistillation par Clevenger Romarin : 2.75 kg Lavande : 0.35 kg Eucalyptus : 0.15 kg V=2/3 L	0.4% 2% 2%	[18]
2024	Étude de certaines activités biologiques d'une plante médicinale appartenant au genre Centaurea	Centaurea pubescens	Macération : m=50g 4 solvants : Méthanol, Butanol, Acétate d'éthyle, Chloroforme. t=3jours	Méthanol : 15.1% Butanol : 5.06% Acétate d'éthyle:2% Chloroforme: 4.41%	[33]
2025	Optimization of short-term dynamic and static maceration of Piper betle L. leaves to maximize extraction yield and anti-Candida albicans activity	Piper betlel	Macération statique : m=10g V=200ml éthanol Macération dynamique : Agit=100rpm	33.44% 29.35%	[34]

3. Présentation de la plante sélectionnée

3.1. Description botanique de la famille Lamiacée

L'ordre des Lamiales constitue un ensemble significatif de plantes à fleurs, comprenant actuellement approximativement 17 800 espèces réparties en 21 familles. Une des familles

les plus emblématiques est la famille des Lamiacées (précédemment nommée Labiées), qui compte près de 258 genres et approximativement 6 970 espèces d'herbes, d'arbustes et d'arbres. Le romarin, le thym, l'origan et la sauge font partie des plantes couramment utilisées en médecine traditionnelle qui appartiennent à cette famille.

Au sein de cette famille se trouve le genre *Origanum*, qui constitue le sujet de notre étude [35].

3.2. Genre *Origanum*

En 1980, J.H. Ietswaart avait totalement réorganisé le genre *Origanum* du point de vue taxonomique. Il avait segmenté cela en trois catégories, incluant dix sections, pour un total de 38 espèces, parmi lesquelles figurent six sous-espèces, trois variétés et 17 hybrides naturels.

La catégorisation suggérée par Ietswaart s'appuie essentiellement sur des caractéristiques morphologiques, comme la longueur de la tige, le nombre de rameaux et le contour des feuilles [36].

3.3. Espèce (*Origanum Majorana*)

La **Figure I.3** montre la *Marjolaine* (*Origanum majorana*) qui est une Plante herbacée à feuilles persistantes, vivace, velue à aspect cendré, ovales et duveteuses. La tige est dressée, ramifiée, haute de 20 à 30cm et large de 0.3cm à 0.9cm.



Figure I.3 : La plante *Origanum majorana* [19].

L'inflorescence très rameuse et située au sommet des tiges, poussant en grappe dense, pédonculée à l'aisselle des feuilles. Les fleurs sont blanches à lèvre supérieure marginée et

à lèvre inférieure trilobée. Le calice est bilabié à lèvre supérieure orbiculaire et à lèvre inférieure plus ou moins bidentée. Les étamines sont divergentes. Les fruits sont des tétrakènes [19].

3.4. Différents aspects

➤ Systématique [19]

La systématique d'*Origanum Majorana* est donnée comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacée

Sous-famille : Népétoïdées

Genre : *Origanum*

➤ Nom [19]

Le tableau suivant donne l'appellation de l'*Origanum majorana* dans les trois langues Arabe, Français et Anglais.

Tableau I.3 : Appellation de l'*Origanum majorana*.

Langue	Nom vernaculaire
Targui ou berbère	Arzema ; M'loul
Arabe	Merdgouch ; المردقوش
Française	Marjolaine a coquille, marjolaine française, Marjolaine vrai, Marjolaine douce
Anglaise	Majorana hortensis Moench, Majorana

3.5. Distribution géographique de l'*Origanum*

Cette plante est actuellement connue seulement à l'état cultivé et est originaire du sud-ouest de l'Asie probablement de la Syrie ou de l'Iran. Elle a été cultivée depuis la plus haute antiquité dans tout le bassin méditerranéen, similairement au genre *Origanum* évoluant dans ce climat, comme montre par la **figure I.4**. Elle est une plante vivace en Afrique et présente annuellement dans les jardins de l'Europe moyenne où elle est cultivée [24].



Figure I.4 : Aire de distribution du genre *Origanum* [23].

3.6. Les composés bioactifs

Une étude phytochimique menée sur la plante médicinale *Origanum majorana* (ou *marjolaine*) a révélé la présence de plusieurs composés bioactifs, notamment des glycosides, des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des stéroïdes [19].

- **Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques largement répandus dans le règne végétal. Ils interviennent dans la composition de nombreux pigments végétaux, en particulier les pigments jaunes et orange (comme chez le calendula), ainsi que certains pigments bleus (comme chez le bleuet, connu pour ses propriétés antispasmodiques, notamment au niveau du visage et des yeux).

Chimiquement, les flavonoïdes sont basés sur une structure de type flavone (et non la coumarine, qui est une autre classe de composés). Ils sont généralement solubles dans l'eau et l'alcool, mais lorsqu'ils sont sous forme aglycone (non liés à un sucre), ils deviennent solubles dans des solvants organiques tels que l'éther ou le benzène.

Les plantes riches en flavonoïdes sont souvent associées à des activités antispasmodiques, en plus de leurs effets antioxydants, anti-inflammatoires et vaso-protecteurs [35].

- **Les tanins**

On trouve des composés phénoliques appelés tanins dans une multitude de végétaux. On les classe principalement en tanins hydrolysables, qui résultent de l'union de l'acide gallique (ou ellagique) avec un sucre, et en tanins condensés, qui sont constitués de flavonoïdes polymérisés.

Une de leurs caractéristiques majeures est leur aptitude à provoquer la précipitation des protéines, y compris la gélatine, ce qui leur confère une propriété astringente. Cette caractéristique est parfois utilisée pour éliminer certains alcaloïdes en les faisant précipiter, cependant leur performance fluctue en fonction du type d'alcaloïde et ils ne sont pas performants contre la morphine, la cocaïne ou la nicotine.

Une consommation excessive de tanins peut causer une irritation de la muqueuse intestinale et mener à une inflammation, sans toutefois libérer systématiquement des toxines précipitées [35].

- **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés organiques contenant de l'azote, qui proviennent des plantes, possédant une structure complexe et une nature alcaline. Malgré leur toxicité fréquente, certaines présentent des effets thérapeutiques significatifs, même à de faibles doses, ce qui les positionne comme des agents actifs importants en pharmacologie.

On recense plus de mille alcaloïdes qui se trouvent dans diverses familles végétales. La morphine, la strychnine, la caféine, la quinine, la colchicine, le curare et l'atropine sont parmi les substances les plus célèbres.

Les alcaloïdes, en raison de leur faible poids moléculaire et de leur solubilité, se laissent aisément percoler lors du processus d'extraction.

Ils influencent essentiellement le système nerveux, en ayant des impacts qui varient sur la conscience, la motricité, la douleur et même le rythme cardiaque, en fonction de leur composition et de leur dosage [35].

3.7. Activités biologiques d'*Origanum majorana*

3.7.1. Activité antioxydante

L'extrait aqueux, l'huile essentielle et l'extrait d'acétate d'éthyle de la partie aérienne d'*O. majorana* ont une activité antioxydante importante. Des propriétés antioxydantes ont également été rapportées à partir d'autres extraits de marjolaine douce, y compris éthanolique, n-hexane et extrait hydro alcoolique. Les composés phénoliques tels que

l'acide hydroxy cinnamique, les flavonoïdes, l'acide ursolique, l'acide carnosique, le carnosol, l'acide rosmarinique et l'acide caféique sont responsables de l'activité antioxydante [37].

3.7.2. Activité antimicrobienne

➤ Activité antibactérienne

Les huiles essentielles tirées des feuilles d'*Origanum majorana* ont prouvé leur action antibactérienne contre plusieurs souches de bactéries, y compris *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, entre autres.

En outre, les fractions éthanoliques et aqueuses de la plante ont montré une action antibactérienne efficace aussi bien contre des bactéries à Gram positif qu'à Gram négatif.

On évalue ces effets en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI), ce qui indique une possibilité d'utilisation en tant qu'agent de conservation naturel dans le secteur alimentaire [37].

➤ Activité antifongique

Les antifongiques sont des composés, généralement naturels, qui ont la capacité de tuer ou d'inhiber spécifiquement le développement de divers champignons pathogènes. Selon le type d'infection, ils peuvent être administrés localement ou de manière systémique.

L'extraction d'huiles essentielles à partir des feuilles de *marjolaine* (*Origanum majorana*) a démontré une notable action antifongique contre les champignons *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*.

De plus, plusieurs extraits de feuilles, y compris ceux dérivés du n-hexane, de l'éthanol aqueux, de l'éthanol pur et de l'ammoniaque, ont été évalués in vitro contre six souches de *Candida* sp. En utilisant la technique de diffusion sur disque. L'extrait à base de n-hexane a démontré l'activité antifongique la plus importante parmi ceux testés [37].

3.7.3. Activité antidiabétique

L'extrait méthanolique des feuilles a montré une activité diabétique chez les souris rendues diabétiques par injection de streptozotocine, à travers divers tests in vitro et in vivo. *O. majorana* a montré un effet significatif sur l'inhibition in vitro des formations du produit final de glycation, un mécanisme clé dans les complications du diabète. L'effet était plus élevé que celui de l'agent standard d'anti-glycation, l'amino- guanidine [37].

3.7.4. Activité anti-inflammatoire

L'hydrate de sabinène et le terpinéol contenu dans l'huile essentielle de *marjolaine* sucrée ont supprimé la production de facteur de nécrose tumorale α (TNF α), d'interleukine 1 β (IL-1 β), d'IL-6 et d'IL-10 inhibé la cyclo oxygénase 2 (COX2) et l'expression du gène NFkB [37].

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

Ce chapitre présente en détails la méthodologie expérimentale suivie dans ce travail, en donnant une description des équipements utilisés, les étapes des protocoles expérimentaux mis en œuvre, les procédures opérationnelles suivies, ainsi que des techniques de calcul utilisées.

1. Origine botanique et préparation de la matière végétale

1.1. Origine

Les feuilles, les tiges et les fleurs utilisées dans la présente étude proviennent de la plante *Origanum majorana*, d'origine algérienne. Elles ont été acquises en février 2025 auprès d'un herboriste situé dans la nouvelle ville de la wilaya de Constantine, sous forme sèche et pré-broyée.

1.1.1. Préparation de la matière végétale

La granulométrie est l'analyse statistique de la distribution des classes granulométriques en fonction du diamètre, visant à examiner la répartition des dimensions des particules dans un échantillon solide. Le tamisage qui est une des techniques les plus anciennes et fréquemment utilisées, a encore une fois été adopté de par la disponibilité d'un tamiseur. Il offre la possibilité de distinguer les particules et d'établir avec exactitude la répartition de leurs dimensions, en tenant compte de leur passage à travers des mailles de diamètres divers.

Le test de tamisage a été effectué en utilisant une gamme de tamis vibrants (VIBRATOR WQS, INESA), qui présentent des mailles de tailles variant entre 200 μm et 1 mm. La procédure a été réalisée en suivant les étapes ci-après :

- Vérification de l'ordre des tamis en les plaçant dans une colonne selon un diamètre de maille décroissant de haut en bas (le tamis à plus grande ouverture en haut et celui à plus petite ouverture en bas).
- Introduction de la matière végétale à tamiser dans le tamis supérieur, c'est-à-dire celui ayant la plus grande ouverture.
- Réglage des paramètres de tamisage, notamment le temps et la fréquence des vibrations, afin d'assurer une séparation efficace des particules.

- Mise en marche du système de vibration pour permettre la distribution homogène des particules à travers les différents tamis.
- Arrêt du tamisage à la fin du temps imparti.
- Après l'opération de tamisage, les fractions de matière recueillies sur chaque tamis sont soigneusement collectées, puis conservées dans des sachets hermétiques de type congélation, à température ambiante, en vue d'autres analyses.

Trois fractions granulométriques ont été sélectionnées pour l'analyse : 200µm, 400µm et 600µm. La **figure II.1** illustre les différentes étapes de préparation de la plante pour l'extraction.

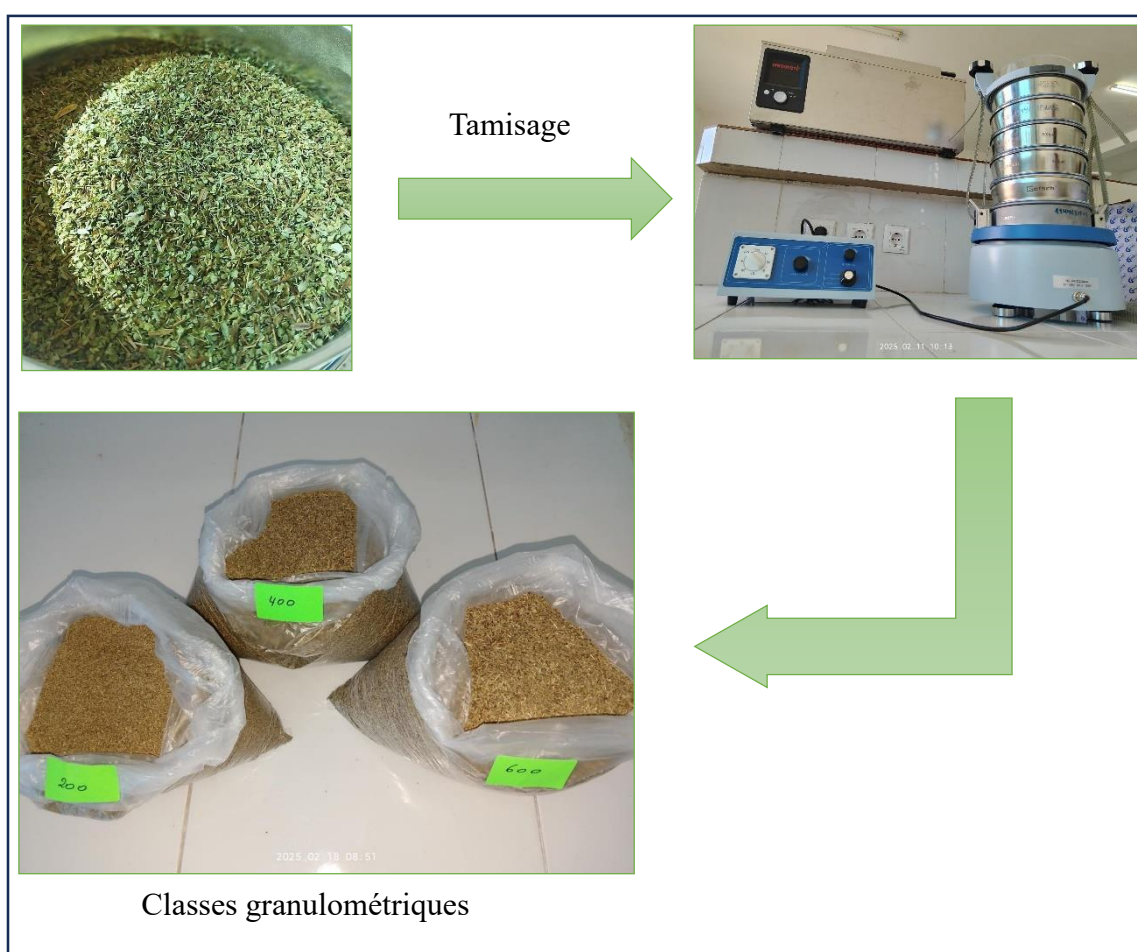


Figure II.1 : Étapes de préparation de l'*Origanum majorana* en vue de l'extraction.

➤ Mesure de l'humidité

Le niveau d'humidité a été mesuré à l'aide d'un analyseur d'humidité, aussi connu sous le nom de dessiccateur infrarouge, modèle IR 60 (DENVER INSTRUMENT), en plaçant un échantillon de masse précise dans une coupelle en aluminium, puis inséré dans

l'appareil. La température a été réglée à 105°C et, après un certain temps, l'appareil indique le taux d'humidité.

Noter que pour chaque classe granulométrique (taille de particules), un volume optimal d'échantillon est dosé de façon à remplir la coupelle de manière homogène, évitant tout défaut de compaction et permettant une détermination fiable du taux d'humidité.



Figure II.2 : Analyseur d'humidité.

1.2. Solvants et réactifs chimiques utilisés

Les produits chimiques utilisés dans le cadre du le travail expérimental ainsi que leurs caractéristiques et spécifications sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau II.1 : Caractéristiques des solvants et réactifs utilisés.

Solvants	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Densité (kg/m ³)
Méthanol	32.04	≥ 99	792
Acétone	58.08	≥ 99	784
Eau	18	≥ 99	1000
Produits	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Formule brute
2,2-diphényl 1- picrylhydrazyle (DPPH)	394.32	/	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆

Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline 6-sulphonique) (ABTS)	514.62	/	$C_{18}H_{24}N_6O_6S_4$
BHA	180.24	/	$C_{11}H_{16}O_2$
BHT	220.35	/	$C_{15}H_{24}O$
Quercetine	302.24	/	$C_{15}H_{10}O_7$
α -tocopherol	430.71	/	$C_{29}H_{50}O_2$
Persulfate de potassium	270.32		$K_2S_2O_8$
α -amylase (origine bactérienne)	50000 - 70000	/	$C_{1989}H_{3040}N_{531}S_{16}$
Acide chlorhydrique	36.46	/	HCl
Iodure de potassium	166	/	KI
Iodure (I^-)	126.9	/	I
Chlorure de sodium	58.44	/	NaCl
Dihydrogénophosphate de sodium	119.98	/	NaH_2PO_4
Hydrogénophosphate de sodium	141.96	/	Na_2HPO_4

1.3. Appareillage et matériel de laboratoire

Tout le matériel nécessaire utilisé dans le cadre de cette étude, qu'il soit de verrerie ou petit matériel expérimental est montré par le tableau suivant :

Tableau II.2 : Matériel utilisé.

Matériel en verre	Matériel de mesure et de manipulation	Appareils et équipements
Verres de montre Ballons (simples et à deux cols), Bêchers, Cristallisoirs Éprouvettes graduées (100 ml), Tubes à essai, Entonnoir, Pipette graduée (1 ml), Micropipettes (100 µL et 1000 µl), Embouts (jaunes et bleus), Microplaques à 96 puits, Boîtes de Pétri, Eppendorfs (1.5 ml), Papier filtre	Balance de précision Thermomètre Spatule Barreaux magnétiques	Extracteur de Soxhlet Condenseur Pompe à eau Chauffe-ballons Agitateur magnétique chauffant Spectrophotomètre

1.4. Méthodes d'extraction utilisées

Deux techniques d'extraction distinctes ont été utilisées pour isoler les composés bioactifs de l'*Origanum majorana* : l'extraction par solvant à l'aide d'un appareil Soxhlet et la macération dynamique.

La méthode Soxhlet est une technique traditionnelle garantissant une extraction complète des composés solubles par le biais d'un cycle continu de solvant chauffé. Elle est particulièrement performante pour l'obtention de composés concentrés et purs.

En ce qui concerne la macération dynamique, elle implique un contact prolongé entre les composants végétaux et le solvant à température ambiante ou régulée, facilitant l'extraction graduelle des composés actifs tout en minimisant la décomposition liée à la chaleur.

Les protocoles expérimentaux détaillés pour chaque méthode sont présentés ci-dessous afin de garantir la reproductibilité et l'optimisation des conditions d'extraction.

1.4.1. Extraction par Soxhlet

La technique d'extraction a été effectuée en utilisant le méthanol comme solvant, pendant trois heures. Les expériences ont été exécutées en suivant un plan expérimental Box-Behnken, qui prend en considération trois facteurs : le volume du solvant [150-250 mL], la quantité de matière végétale [6-10 g] et la taille des particules [200-600 μm]. La matière végétale avait été préalablement tamisée selon les granulométries souhaitées, puis introduite dans une cartouche d'extraction placée à l'intérieur du dispositif d'extraction Soxhlet muni d'un condenseur à reflux. Dès que le méthanol atteint son point d'ébullition (environ 65 °C), il se convertit en vapeur qui se condense à l'aide d'un condenseur où elle se retransforme en liquide, puis revient sous forme de gouttes sur la matrice de la plante. Le solvant pénètre à travers l'échantillon solide, emportant avec lui les substances solubles. Quand la chambre d'extraction est pleine, le siphon s'active automatiquement, déversant le solvant extrait dans le récipient inférieur. Ce processus est un cycle d'extraction qui se répète de façon automatique tout au long du processus, permettant une extraction continue et efficace des composés désirés.

Le dispositif expérimental est montré par **figure II.3** suivantes :



Figure II.3 : Montage d'extraction par Soxhlet.

1.4.2. Extraction par macération

L'extraction par macération dynamique a été réalisée à deux températures (25 et 50 °C), en utilisant le méthanol, l'acétone et un mélange de solvant (50 % méthanol + 50 % eau) pour le diamètre 400 μm .

Un échantillon de 5 g de différents diamètres (200 ; 400 ; 600 μm) a été introduit dans un ballon à deux cols de 500 ml, puis 100 ml de solvant ont été ajoutés. La température du ballon a été maintenue à la valeur souhaitée en le plaçant dans un bain-marie thermostatique. L'extraction a été effectuée en utilisant une agitation constante de 250 rpm pendant une heure. La température du bain-marie est régulièrement contrôlée à l'aide d'un thermomètre afin de garantir la stabilité des conditions expérimentales. Le dispositif expérimental est montré par la **figure II.4** suivante :

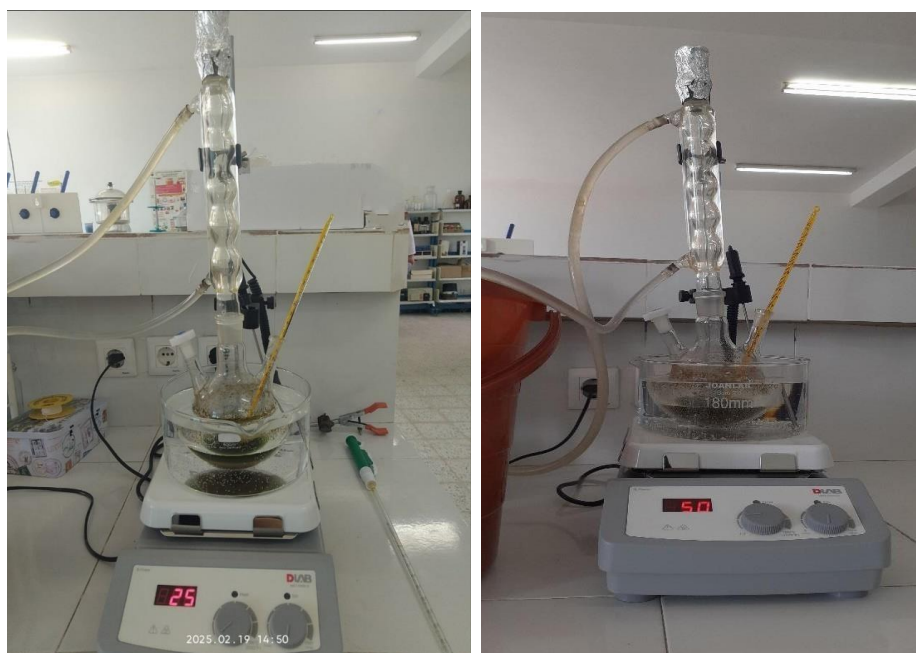


Figure II.4 : Dispositif expérimental pour la macération.

Pendant l'extraction, des prélèvements réguliers de 2 ml ont été effectués. Avant chaque prélèvement, l'agitation est arrêtée et le mélange est laissé au repos pendant deux minutes afin de permettre la décantation des particules solides. Les échantillons prélevés ont été placés dans des tubes à essai propres et identifiés, comme le montre la **figure II.5**, et prêts à être utilisés pour étudier la cinétique d'extraction.

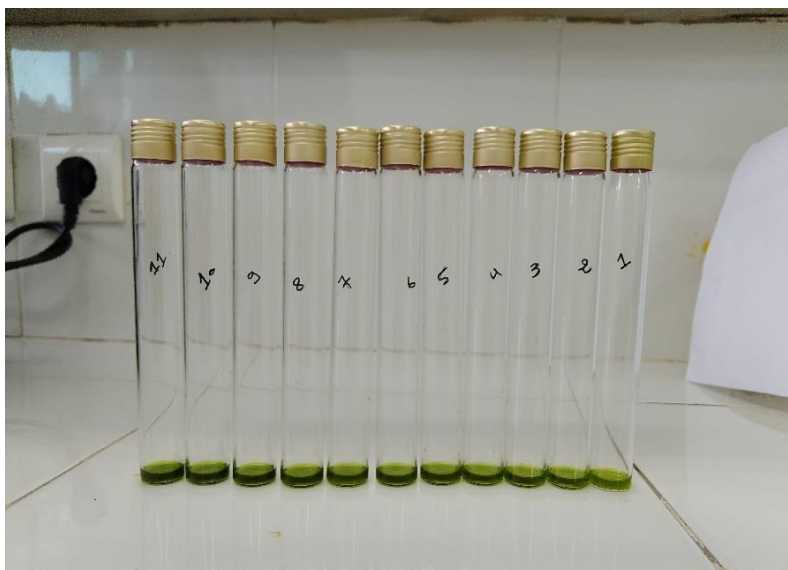


Figure II.5 : Prise de prélèvements dans des tubes à essais.

L'extrait obtenu lors de chaque expérience a été filtré à l'aide d'un papier filtre pour éliminer d'éventuelles impuretés, comme montré par la **figure II.6**.



Figure II.6 : La filtration des extraits.

- **Procédé de séparation**

Pour séparer l'huile du solvant, la solution a été concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif (IKA® HB digital) montré par la **figure II.7**. Ce dernier est un appareil utilisé dans les laboratoires chimiques pour éliminer efficacement et doucement les solvants des échantillons par évaporation. Le Rotavap fonctionne en augmentant la vitesse d'évaporation du solvant en :

- 1) Réduisant la pression pour abaisser le point d'ébullition du solvant ;

- 2) Agitant par rotation l'échantillon pour augmenter la surface d'échange ;
- 3) Chauffant la solution [38].

La séparation se fait selon les étapes suivantes :

- Placer la solution dans le ballon d'évaporation de l'évaporateur rotatif.
- Procéder à l'évaporation du solvant sous pression réduite (vide partiel), ce qui abaisse son point d'ébullition.
- Effectuer l'évaporation à une température contrôlée de 55 °C afin d'éviter toute dégradation des constituants actifs et garantir l'élimination complète du solvant.
- Le solvant évaporé est condensé et récupéré séparément, tandis que l'huile reste dans le ballon de récupération.
- Retirer le ballon, le laisser refroidir, puis le peser afin de calculer le rendement d'extraction.
- Récupérer la matière résiduelle (extrait) avec quelques gouttes du solvant.
- Transférer l'extrait obtenu dans une boîte de pétri pour les étapes suivantes.



Figure II.7 : Évaporateur rotatif (Rotavap).

- **Rendement d'extraction**

Le rendement de l'extraction a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{me}{m(1-HR)} \times 100 \quad (4)$$

1.5. Activités biologiques

1.5.1. Evaluation de l'activité antioxydante

a. Test de piégeage du radical libre DPPH

La méthode utilisant le DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyle) est largement appliquée pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante. Ce test repose sur la mise en contact du radical DPPH (**Figure II.8**), une molécule stable sous forme radicalaire libre et de couleur violette, avec des composés antioxydants susceptibles de le réduire. Cette réduction entraîne une perte progressive de la coloration violette au profit d'une teinte jaune, traduisant la formation de la forme réduite du DPPH. Ce changement de couleur s'accompagne d'une diminution de l'absorbance mesurée à une longueur d'onde spécifique de 517 nm, permettant ainsi d'évaluer la capacité antioxydante des molécules testées [39].

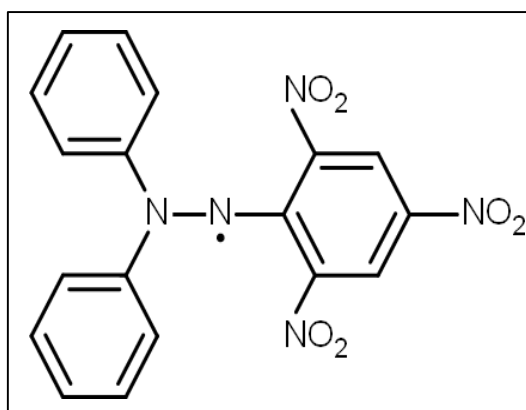


Figure II.8 : Structure chimique du radical libre DPPH [40].

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois 1958), le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme antioxydants standards.

- **Préparation de DPPH**

La préparation du DPPH démarre par la dissolution de 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol. Le radical DPPH dissous dans le méthanol est gardé à -4°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (à 517 nm) dans le spectrophotomètre.

- **Procédure**

160µl (DPPH) + 40 µl (extrait) + lecture à 517nm.

b. Test de piégeage des radicaux-cationiques ABTS

Cette méthode est basée sur le transfert de protons et de la capacité des composés à piéger le radical-cationique ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis 3-éthylbenzothiazoline- 6-sulfonique), qui présente un spectre d'absorption dans le visible à 734 nm. En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS dont la formule développée est montrée par la **figure II.9**, forme le radical chromophore ABTS^{•+}, de couleur bleue à verte. L'ajout d'un antioxydant va réduire ce radical et provoquer la décoloration du mélange par transfert d'électrons pour redonner l'ABTS incolore [41].

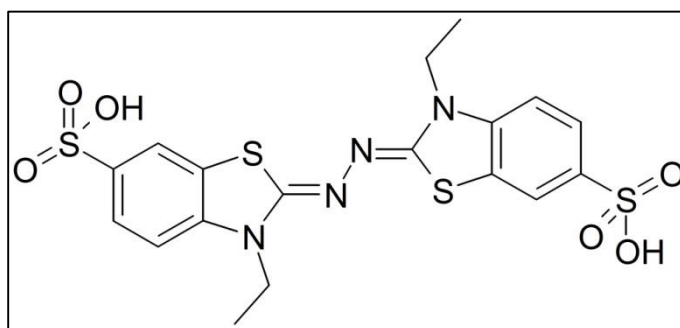


Figure II.9 : Structure chimique du cation radical ABTS [42].

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et al. (1999) et est comme suit :

- **Préparation de l'ABTS**

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium K₂S₂O₈: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H₂O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

(ABTS⁺) → 19.2 mg (7 mM) ABTS + 5 ml H₂O + 3.3 mg (2.45 mM) (K₂S₂O₈) +5 ml H₂O + attendre 16heure à l'abri de la lumière.

- **Procédure**

160µl (ABTS⁺) + 40 µl (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm.

1.5.2. Evaluation de l'activité antidiabétique

a. Test de l'activité inhibitrice de l' α amylase

L'enzyme amylase est de nature digestive pouvant catalyser la dégradation de l'amidon. Elle joue un rôle important dans certaines maladies comme la pancréatite, le diabète et le cancer. Elle peut être obtenue à partir de sources végétales, animales ou microbiennes, et possède de nombreuses applications industrielles et biotechnologiques. Chez l'être humain, les amylases salivaires et pancréatiques sont de type alpha-amylase, comme montré par la **figure II.10**. Cette enzyme, qui nécessite la présence de calcium pour fonctionner, est la plus importante du système digestif humain. Les alpha-amylases issues de différentes sources sont largement utilisées dans l'industrie biotechnologique [43].

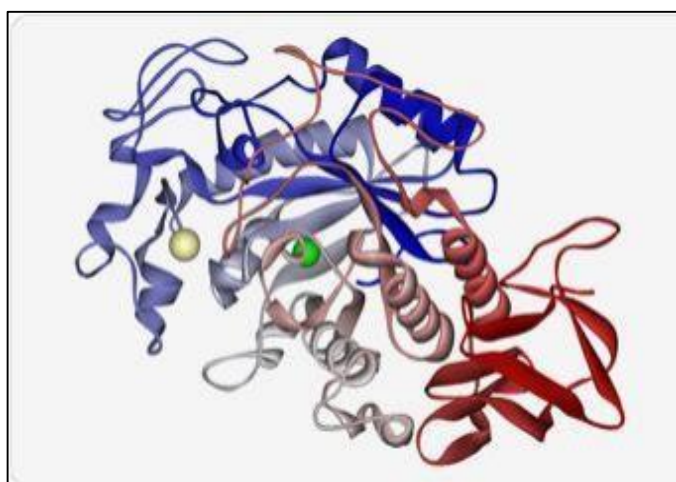


Figure II.10 : Image 3D de l'enzyme α -amylase [44].

L'activité inhibitrice de l' α -amylase a été réalisée en utilisant la méthode à l'iode/iodure de potassium (IKI) (G. Zengin et al., 2014) avec quelques modifications.

• Procédure

25 μ l extrait + 50 μ l (solution α amylase 1U) : incubation pendant 10 min à 37 °C + 50 μ l d'amidon 0.1% : incubation pendant 10 min à 37 °C + 25 μ l HCl (1M) + 100 μ l IKI + lecture à 630 nm.

➤ Solution tampon

Tampon phosphate (PH 6.9) avec 6 mM NaCl (35.1 mg NaCl pour 100 ml de tampon)

1. 8.890 g de ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$) + 500 ml de H_2O $\rightarrow$ V1

2. 1.56 g de ($\text{NaH}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$) + 100 ml de H_2O $\rightarrow$ V2

V1 + V2 $\rightarrow$ Solution Tampon comme le montre le tableau suivant

On ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH

Tableau II.3 : Préparation de solutions tampons de phosphate pour différents pH par mélange de NaH_2PO_4 et Na_2HPO_4 .

PH	5.8	6.2	6.4	6.6	6.8	7	7.2	7.4	7.6	7.8	8
NaH₂PO₄ (ml)	92	81.5	73.5	62.5	51	39	28	19	13	8.5	5.3
Na₂HPO₄ (ml)	8	18.5	26.5	37.5	49	61	72	81	87	91.5	94.5

➤ **Amidon 0.1%**

Mettre la solution dans la microonde à plusieurs cycles de 15 s.

➤ **HCl 1M**

Ajouter doucement à 45.83 ml d'eau, un volume de 4.17 ml d'HCL pure.

➤ **Solution IKI**

✓ Dissoudre 3 gr de KI dans 100 ml d'eau ;

✓ Ajouter 127 mg d'iode (5mM), agiter jusqu'à dissolution complète.

• **Calcul de pourcentage d'inhibition**

$$\%INH = 1 - [(A_c - A_e) - (A_s - A_b)] / (A_c - A_e) \quad (5)$$

A_c = Absorbance [Amidon + IKI + HCl + Vol de solvant d'extrait + Vol tampon Enzyme]

A_e = Absorbance [Enzyme + Amidon + IKI + HCL + Vol de solvant d'extrait]

A_s = Absorbance [Enzyme + Extrait + Amidon + IKI + HCl]

A_b = Absorbance [Extrait + IKI + 125µl de tampon]

1.6. Optimisation par plan d'expériences

Dans le but de déterminer les conditions optimales pour maximiser le rendement et d'évaluer l'influence des paramètres opératoires, un plan de surface de réponse Box–Behnken a été mis en place, portant sur trois facteurs : le diamètre des particules de plante, le volume de solvant (Méthanol) et la quantité de matière.

Les niveaux de chacun de ces facteurs sont définis dans le **Tableau II.4**.

Tableau II.4 : Niveaux des différents facteurs considérés.

Facteurs	Niveau (-1)	Niveau (0)	Niveau (+1)
Diamètre (µm) d	200	400	600
Volume de solvant (ml) V	150	200	250
Quantité de matière (g) m	6	8	10

La matrice d'expérience construite par le logiciel Minitab 17 est montrée sur le Tableau suivant :

Tableau II.5 : Matrice d'expérience du plan Box-Behnken.

Exp	Valeurs codées			Valeurs réelles		
	d (μm)	V (ml)	m (g)	d (μm)	V (ml)	m (g)
1	-1	-1	0	200	150	8
2	+1	-1	0	600	150	8
3	-1	+1	0	200	250	8
4	+1	+1	0	600	250	8
5	-1	0	-1	200	200	6
6	+1	0	-1	600	200	6
7	-1	0	+1	200	200	10
8	+1	0	+1	600	200	10
9	0	-1	-1	400	150	6
10	0	+1	-1	400	250	6
11	0	-1	+1	400	150	10
12	0	+1	+1	400	250	10
13	0	0	0	400	200	8
14	0	0	0	400	200	8
15	0	0	0	400	200	8

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

Ce chapitre présente tous les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ainsi que leurs discussions, démarrant de la première partie qui concerne l'extraction à partir de la plante de l'*Origanum majorana* (Marjolaine) et ce par le biais de deux méthodes conventionnelles : extraction par Soxhlet et la macération. L'optimisation utilisant un plan d'expérience et la détermination des conditions opératoires donnant des rendements d'extraction optimaux des substances bioactives par la méthode Soxhlet sont aussi incluses dans cette première partie. Les parties suivantes sont plutôt consacrées à l'analyse des résultats en focalisant surtout sur l'évaluation des activités biologiques (antioxydants et agents anti-production) des extraits obtenus à partir des deux techniques d'extraction décrites précédemment, et ce afin de jauger le potentiel biologique correspondant.

1. Rendements d'extraction

Le rendement d'extraction quantifie l'efficacité du solvant à isoler les composants spécifiques du matériau d'origine. Il constitue un indicateur clé du potentiel d'extraction de la plante étudiée selon diverses conditions expérimentales [45]. Les résultats correspondants sont présentés dans les **tableaux III.2** et **III.5**.

Le taux d'humidité a été pris en compte dans cette étude, en raison de son influence sur la qualité des extraits. Les valeurs obtenues pour chaque échantillon sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.1 : Taux d'humidité (%) mesuré sur différentes tailles (diamètres) de la plante *Origanum majorana*.

Diamètre (µm)	200	400	600	1000
HR (%)	7.25	6.98	6.78	6.88

1.1. Extraction par Soxhlet

La figure suivante montre quelques échantillons d'extraits issus de *l'Origanum majorana* et obtenus par extraction par Soxhlet où l'influence des paramètres opératoires peut être aisément constatée par les changements de couleurs et de quantités d'huile extraite.

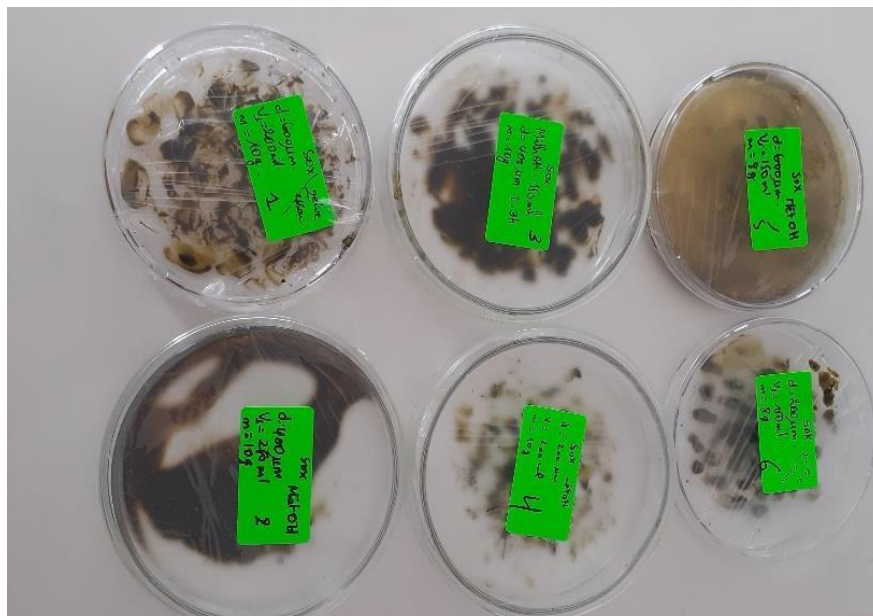


Figure III.1 : Échantillons des extraits d'*Origanum majorana* obtenus par extraction Soxhlet.

Les rendements obtenus via la méthode d'extraction Soxhlet sont exposés dans la figure ci-dessous :

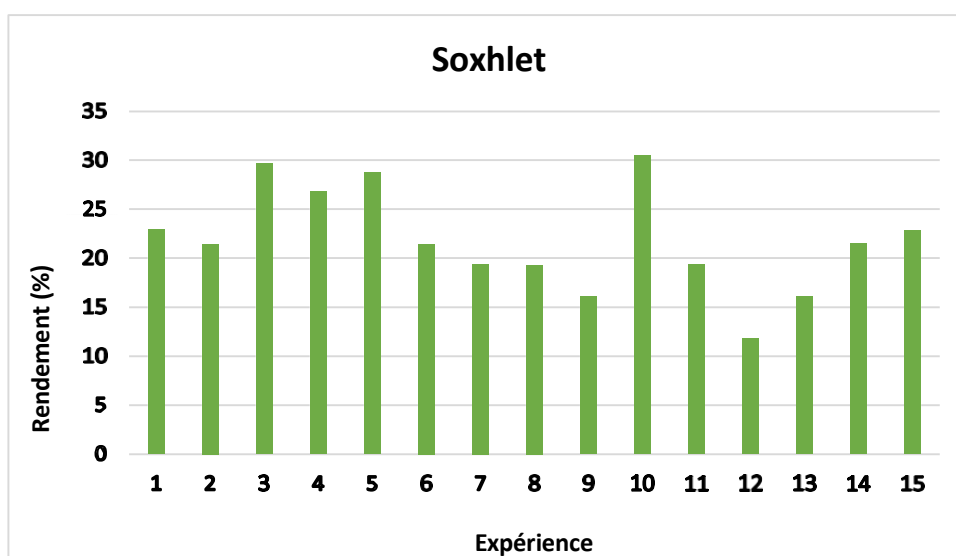


Figure III.2 : Rendement d'extraction des extraits d'*Origanum majorana* par la méthode Soxhlet (illustré sous forme d'histogramme).

Le graphique ci-dessus de la **figure III.2** montre les rendements d'extraction obtenus grâce à la méthode Soxhlet, en fonction de diverses configurations expérimentales établies

par un design Box-Behnken. Les variations du rendement vont de 11.82 à 30.46 %, soulignant l'impact majeur des paramètres opératoires.

Un rendement maximal de 30.46 % a été enregistré en utilisant une taille de particules de 400 μm et un ratio matière/solvant de 0.024. Cela signifie qu'un équilibre adéquat entre la surface de contact, le volume du solvant et la quantité de matière contribue à une extraction efficace [46]. En revanche, le rendement le plus faible de 11.82 % a été constaté avec une charge importante de 10 g, ce qui peut conduire à la saturation du solvant ou à une altération de la texture du matériau, diminuant ainsi sa perméabilité et donc la diffusion de l'extrait [47].

L'optimisation du rendement semble dépendre principalement du rapport matière/solvant, avec un diamètre constant, la diminution du ratio entraîne aussi une amélioration de l'efficacité. Ainsi, le rendement optimal a été obtenu pour la plus petite valeur de ratio testée de 0.024.

En général, les résultats optimaux ont été observés avec une taille de particule inférieure à 600 μm , une grande quantité de solvant (250 ml) et une et une quantité modérée de substance de 6 à 8 g, ce qui indique un bon équilibre entre les processus de diffusion [48], de solubilisation [49] et l'efficacité du procédé d'extraction.

Résultats du plan de Box–Behnken

Les valeurs réelles des trois facteurs (taille des particules, volume du solvant et quantité de la matière) ainsi que la réponse (rendement de l'extrait) de chaque essai sont présentées dans le **Tableau III.2** suivants :

Tableau III.2 : Résultats des essais expérimentaux selon le plan d'expérience.

Exp	d (μm)	V (ml)	m (g)	R (%)	R' (%)	R-R'	Ratio
1	200	150	8	22.911	23.992	1.081	0.053
2	600	150	8	21.455	21.792	0.337	0.053
3	200	250	8	29.65	29.412	0.238	0.032
4	600	250	8	26.818	25.852	0.966	0.032
5	200	200	6	28.751	28.868	0.117	0.03
6	600	200	6	21.455	22.388	0.933	0.03
7	200	200	10	19.407	18.58	0.822	0.05
8	600	200	10	19.309	19.3	0.009	0.05
9	400	150	6	16.126	15.008	1.118	0.04
10	400	250	6	30.459	30.668	0.209	0.024

11	400	150	10	19.351	19.24	0.111	0.067
12	400	250	10	11.825	13.06	1.235	0.04
13	400	200	8	16.126	20.212	4.086	0.04
14	400	200	8	21.501	20.212	1.289	0.04
15	400	200	8	22.845	20.212	2.633	0.04

Le recours au plan d'expérience de Box-Behnken permet de mettre en relation les résultats expérimentaux pour ainsi en faire un modèle mathématique sous forme de polynôme quadratique avec interactions binaires et présenté par l'équation suivante :

$$R = -44.5 - 0.1148d + 0.317V + 14.84m - 0.000034d \times V + 0.00450d \times m - 0.0546V \times m + 0.000098d^2 + 0.000452V^2 - 0.462m^2 \quad (6)$$

➤ Analyse statistique

Dans le but de jauger la qualité de l'ajustement du modèle et de révéler des facteurs significatifs sur le rendement d'extraction, une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée. Le modèle est jugé pertinent au moyen du coefficient de détermination (R^2) ainsi que de l'observé dans la valeur de F. Le tableau d'ANOVA relatif aux rendements d'extraction est donné dans le **Tableau III.3**.

Tableau III.3 : Table d'ANOVA pour le rendement d'extraction.

Variation due à	SCE	DDL	CM	Validation du modèle
Liaison	362.593	9	40.288	$R^2=91.91\%$ $R^2(\text{ajusté})=77.35\%$ $F(\text{observe})=6.31$
Résidu	31.911	5	6.382	
Total	394.504	14	28.179	

Les données qui sont présentées dans le tableau affichent que le coefficient de détermination R^2 est égal à 91.91 %, ce qui atteste d'une bonne qualité d'ajustement du modèle aux données expérimentales. D'autant plus que la valeur de F observée ($F_{\text{obs}} = 6.31$) est supérieure à la valeur critique de Fisher ($F_{\text{critique}} = 4.77$) (Annexe 1) et à la valeur de P ($P\text{-value} = 0.028$) qui est inférieure au seuil de 0.05. Ces derniers résultats témoignent de la validité, de la significativité et du caractère linéaire du modèle sur la plage des variables étudiées.

De ce fait, un comparatif des valeurs expérimentales à celles du rendement d'extraction prédites (R') a été établi. Les résultats montrés dans le **Tableau III.2** montrent une bonne concordance entre les deux séries de valeurs résultant de l'expérimentation, ce qui est à mettre sur le compte de la capacité du modèle mathématique proposé à mettre en bonne adéquation l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus.

➤ Analyse de la signification des effets des facteurs et de leurs interactions

L'évaluation de l'influence des facteurs et des interactions sur le rendement d'extraction repose sur l'interprétation des coefficients du modèle statistique. Un facteur ou une interaction est considéré(e) comme significatif(ve) si son influence sur la réponse est avérée. À cette fin, un test bilatéral de Student est mis en œuvre selon le principe suivant :

- Si $t_i |T_{\text{value}}| > t_{\text{critique}}$ l'effet est significatif
- Si $t_i |T_{\text{value}}| < t_{\text{critique}}$ l'effet est non significatif

Dans le présent cas, avec un niveau de risque $\alpha = 0.05$ et un nombre de degrés de liberté $DDL = n - p = 5$, la valeur critique de la table de Student est

$$t_{\text{critique}} = 2.57 \text{ (Annexe 2).}$$

Les résultats relatifs à la signification des effets des facteurs et de leurs interactions sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III.4 : Résultats de l'étude de la signification des effets des facteurs et leurs interactions sur le rendement.

Coded Coefficients

Term	Effect	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant		20,16	1,46	13,82	0,000	
d	-2,921	-1,460	0,893	-1,63	0,163	1,00
v	4,727	2,364	0,893	2,65	0,046	1,00
m	-6,725	-3,362	0,893	-3,76	0,013	1,00
d*d	7,84	3,92	1,31	2,98	0,031	1,01
v*v	2,26	1,13	1,31	0,86	0,429	1,01
m*m	-3,70	-1,85	1,31	-1,41	0,219	1,01
d*v	-0,69	-0,34	1,26	-0,27	0,796	1,00
d*m	3,60	1,80	1,26	1,42	0,214	1,00
v*m	-10,93	-5,46	1,26	-4,33	0,008	1,00

D'après les résultats figurant dans le **Tableau III.4**, il est constaté que les facteurs volume de solvant (v) et masse de matière (m), ainsi que les interactions d*d et v*m, sont statistiquement significatifs. En effet les T |T-value| de ces termes sont supérieurs à la valeur seuil (2.57), et les P (P-value) sont inférieurs au seuil de signification de 0.05.

A l'inverse, d'autres termes, tel que le diamètre (d) et les autres interactions ne sont pas significatifs, T-values étant inférieurs à 2.57 et P-values supérieures au seuil de 0.05, indiquant que le facteur (d) ici n'a pas d'effet significatif sur le rendement d'extraction dans les conditions considérées.

Il convient de relever que la signification statistique du facteur et des facteurs interagissant est très dépendante de plusieurs paramètres : rapport matière/solvant, méthode d'extraction, interactions. Cela montre qu'une approche multifactorielle doit être appliquée pour optimiser le procédé.

➤ Analyse graphique du modèle

Plus particulièrement, l'utilisation de graphiques est un support fondamental pour présenter les résultats de manière claire et visuelle, afin de rehausser l'interprétation statistique. La présente section s'attache à analyser les données du plan d'expérience utilisé, sous forme de graphiques, pour tenter d'identifier au moins qualitativement les résultats obtenus et définir les conditions optimales du procédé examiné.

• Les effets principaux

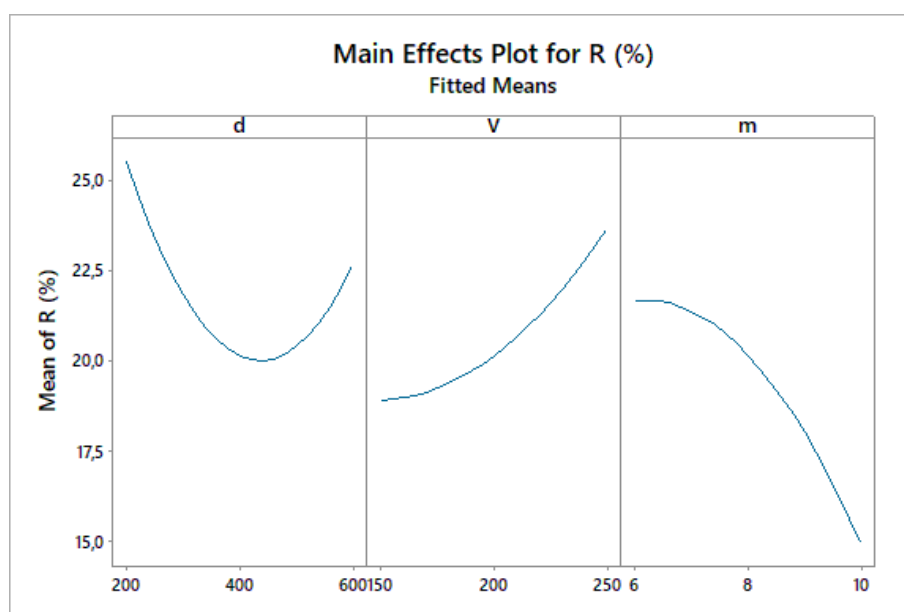


Figure III.3 : Effets principaux moyens des facteurs sur le rendement d'extraction.

La **figure III.3** représente les effets principaux moyens de trois facteurs, à savoir le diamètre des particules (d), le volume de solvant (V) et la masse de matière (m), sur le rendement d'extraction (%). Ces courbes permettent de rendre compte de l'effet isolé de chaque facteur, en gardant les autres constants.

- ✓ L'effet du volume de solvant (V) est positif : le rendement croît presque linéairement avec l'augmentation du volume, ce qui pourrait indiquer qu'un meilleur apport en solvant facilite le transfert de matière et l'efficacité de l'extraction (ou du moins l'optimise).
- ✓ D'autre part, la masse de matière (m) a un effet négatif très important, puisque le rendement diminue lorsque la quantité de matière augmente, ce qui peut s'expliquer par un solvant saturé ou le déséquilibre entre solvant et matière, et un transfert de matière limité.
- ✓ Le diamètre des particules (d) présente un effet non linéaire surprenant : lorsque le diamètre passe de 200 μm à environ 400 μm , le rendement décroît puis s'améliore légèrement au-delà. Ceci témoigne de l'existence d'un diamètre critique au-delà duquel le rendement commence à croître, probablement en raison d'un compromis entre la surface de contact et la résistance à la diffusion.

Concernant l'importance relative des effets :

La masse de matière (m) a l'effet le plus marqué, suivie du volume de solvant (V), alors que le diamètre des particules (d) a un effet modéré.

- **Les effets d'interactions**

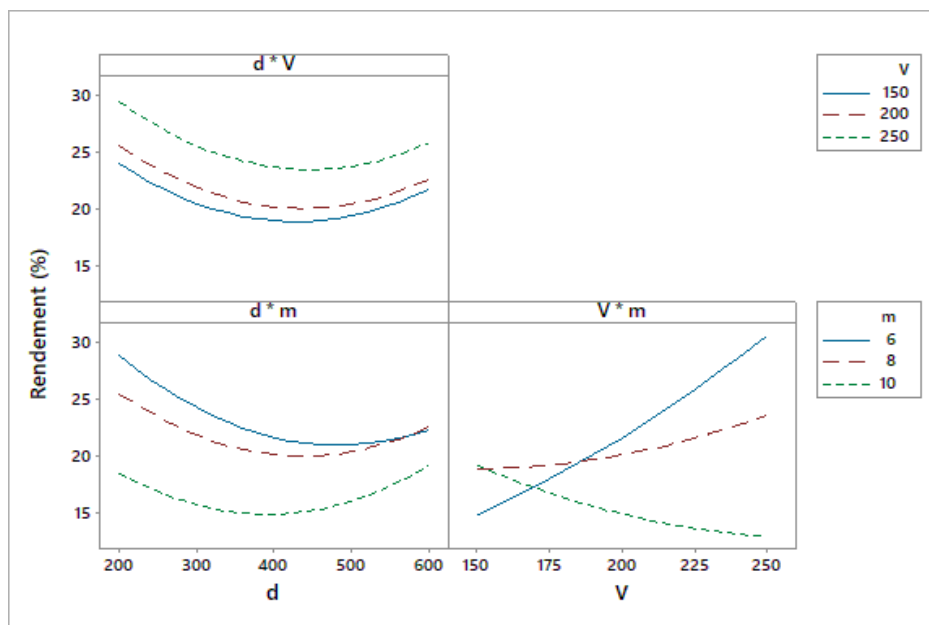


Figure III.4: Effets d'interaction entre les facteurs sur le rendement d'extraction.

La **Figure III.4** met en évidence les interactions entre les différents facteurs expérimentaux considérés et leur incidence sur le rendement d'extraction. L'examen des courbes permet de tirer les conclusions suivantes :

Interactions $d \times V$: les courbes correspondant aux différents volumes de solvant (150, 200 et 250 ml) sont quasiment parallèles : il n'y a donc pas ou très peu d'interaction entre le diamètre des particules et le volume de solvant.

Interactions $d \times m$: les courbes associées aux différentes masses de matière (6, 8 et 10 g) montrent un léger écart. L'interaction entre diamètre des particules et masse de matière est donc modérée.

Interactions $V \times m$: on observe un fort écart entre les courbes correspondant aux différentes valeurs de m , ce qui traduit l'existence d'une forte interaction entre le volume de solvant et la quantité de matière. L'effet du volume de solvant sur le rendement dépend fortement de la masse de matière pour laquelle il est mis en œuvre, ce qui est le signe d'une interaction forte.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de l'analyse de variance (ANOVA) qui indique que seule l'interaction $V \times m$ est significativement influente contrairement aux autres interactions.

- **Courbe de niveau**

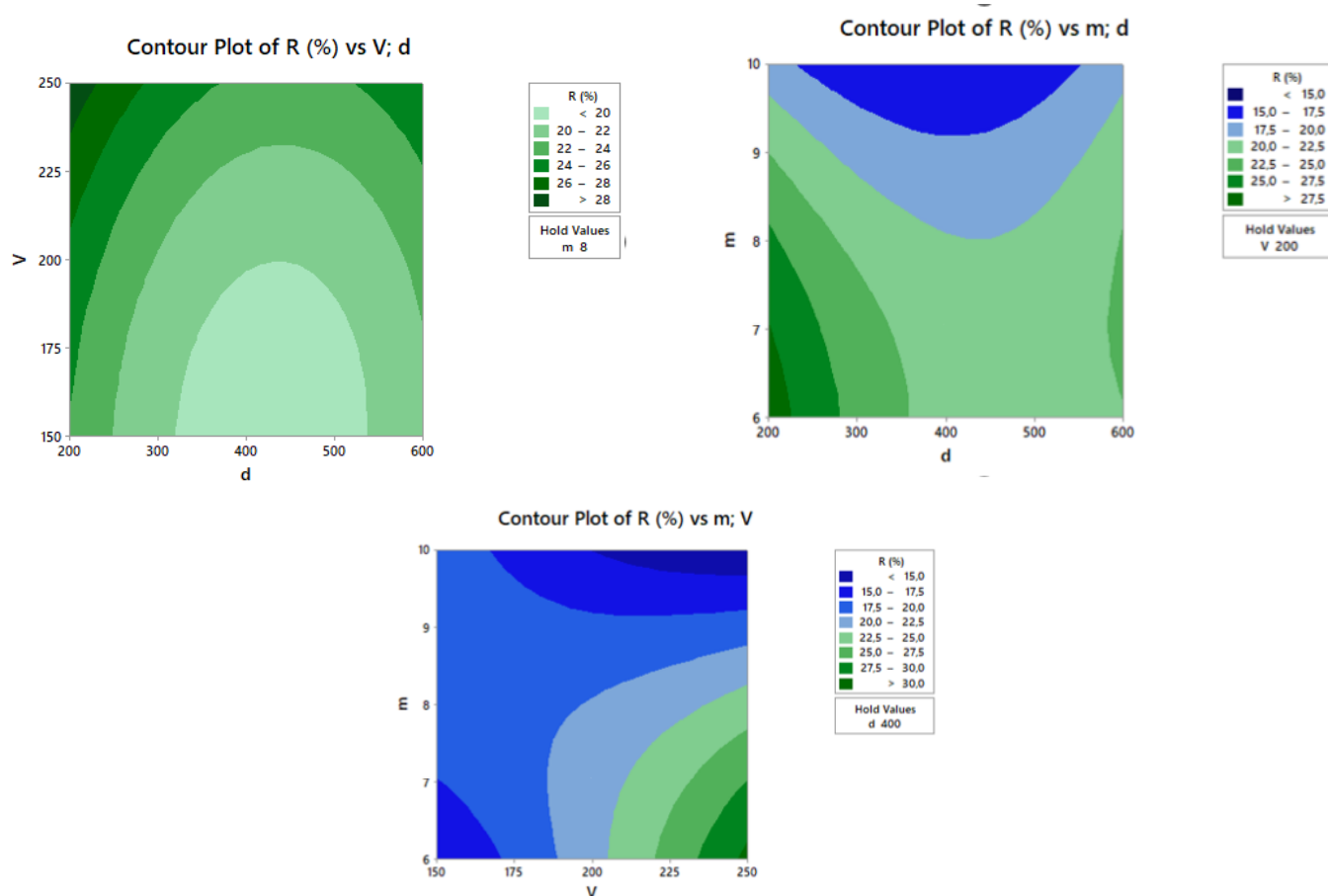


Figure III.5 : Contours de réponse du rendement d'extraction.

La **figure III.5** d'analyse représente les courbes de niveau retraçant l'influence des interactions des paramètres expérimentaux au rendement d'extraction. Cette étude des graphiques révèle les observations suivantes :

Globalement le rendement varie entre 15 et 30 % sur la totalité des combinaisons,

Le rendement s'avère minimal (inférieur à 15 %) lorsque le volume de solvant est inférieur à 250 ml, que le diamètre des particules est de 320-540 μm , que la quantité de matière est d'environ 10 g.

Le rendement s'avère maximal (supérieur à 30 %) lorsque le volume de solvant est supérieur ou égal à 240 ml, que le diamètre des particules est réduit (200-220 μm) et que la masse de matière est inférieure à 6 g.

Ces résultats montrent que :

L'augmentation du volume de solvant, La réduction de la masse de matière et la baisse de la taille des particules favorisent le rendement d'extraction ; cette amélioration peut être reliée à une meilleure surface de contact entre les deux phases et à un meilleur transfert de matière.

- **Surface de réponse**

La **figure III.6** illustre l'effet de l'interaction entre le volume de solvant et le diamètre des particules sur le rendement. On observe que :

- ✓ Pour des diamètres de 200 μm et 600 μm , une légère augmentation du rendement est constatée lorsque le volume de solvant augmente.
- ✓ L'effet du diamètre des particules sur le rendement n'est pas linéaire : R diminue initialement entre 200 μm et 400 μm , puis augmente à nouveau jusqu'à 600 μm .

Une zone lumineuse visible sur la figure suggère l'existence d'une région optimale, dans laquelle le rendement atteint un minimum local. Cette zone pourrait indiquer une interaction défavorable entre certains volumes de solvant et diamètres spécifiques.

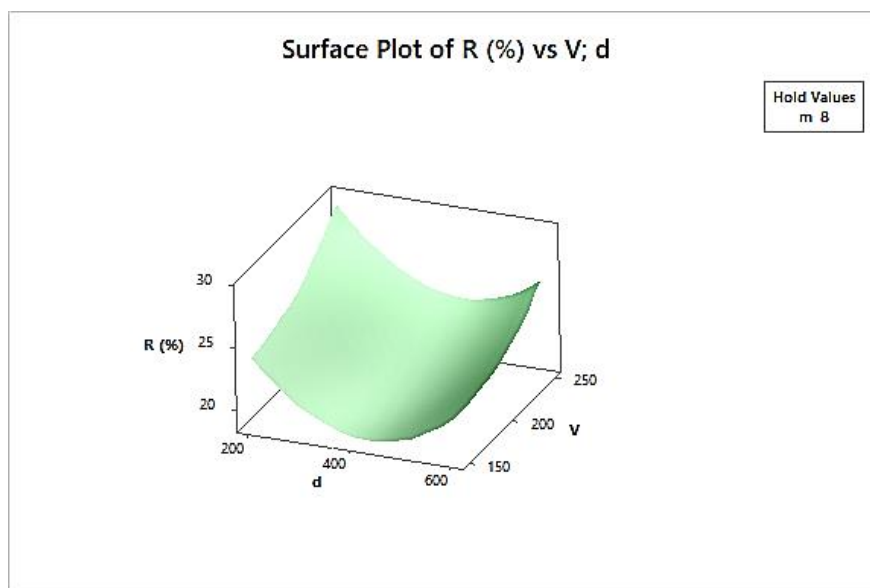


Figure III.6 : Interaction entre le volume de solvant et le diamètre des particules.

La **figure III.7** illustre l'effet conjugué de la quantité de matière (m) et du diamètre des particules (d) sur le rendement (R). On constate que :

- ✓ A $d = 200 \mu\text{m}$, le rendement R diminue avec l'augmentation de m.
- ✓ Pour $d = 600 \mu\text{m}$, lorsque m varie de 6 g à 7.5 g, R augmente légèrement, puis se stabilise à environ 17 %.
- ✓ A $m = 6 \text{ g}$, R diminue entre $d = 200 \mu\text{m}$ et $400 \mu\text{m}$, puis reste presque constant jusqu'à $600 \mu\text{m}$.
- ✓ A $m = 10 \text{ g}$, R diminue entre $200 \mu\text{m}$ et $400 \mu\text{m}$, puis augmente légèrement au-delà.

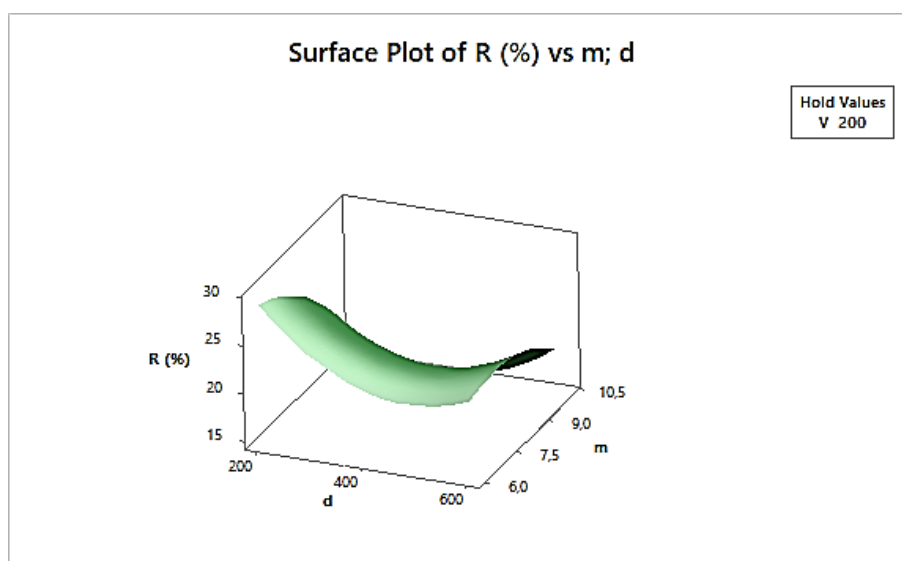


Figure III.7 : Interaction entre la quantité de matière et le diamètre des particules.

La **figure III.8** illustre l'effet conjugué de la quantité de matière (m) et du volume de solvant (v) sur le rendement (R). Les observations suivantes peuvent être formulées :

- ✓ A volume de solvant constant ($V = 150$ ml), le rendement R augmente avec l'augmentation de la quantité de matière. En revanche, à $V = 250$ ml, une augmentation de la quantité de matière entraîne une diminution du rendement.
- ✓ A quantité de matière constante ($m = 6$ g), le rendement R augmente avec l'augmentation du volume de solvant v . À l'inverse, pour $m = 10$ g, le rendement diminue lorsque le volume de solvant augmente.

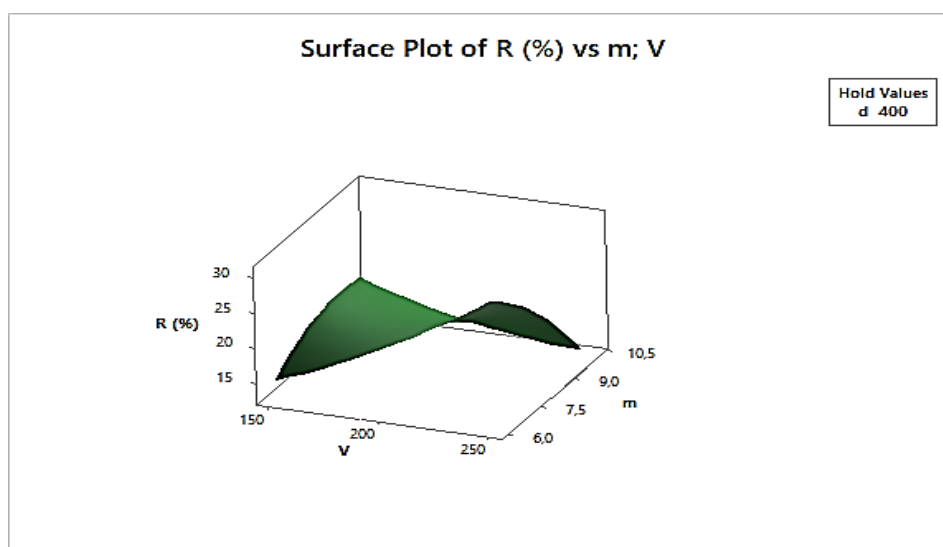


Figure III.8 : Interaction entre la quantité de matière et le volume de solvant.

• Détermination des paramètres optimaux

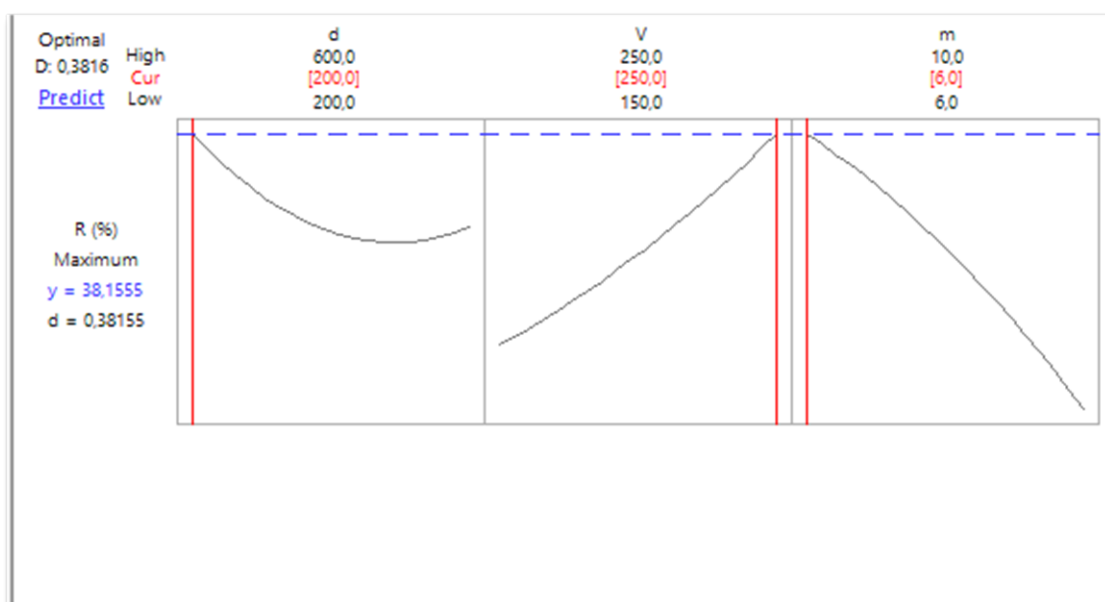


Figure III.9 : Optimisation des paramètres d'extraction d'*Origanum majorana*.

Pour cette plante étudiée, les conditions opératoires ont été optimisées en utilisant le logiciel **Minitab 17**.

Les résultats de la **figure III.9** montrent qu'un rendement de 38.15 % peut être obtenu avec un diamètre des particules de 200 μm , un volume de solvant de 250 ml et une quantité de matière de 6 g.

1.2. Extraction par macération

Les résultats suivants concernent l'extraction par macération où la **figure III.10** montre quelques échantillons d'extraits qui similairement au cas de l'extraction par Soxhlet montrent l'influence des paramètres opératoires tels que la température et la taille des particules.

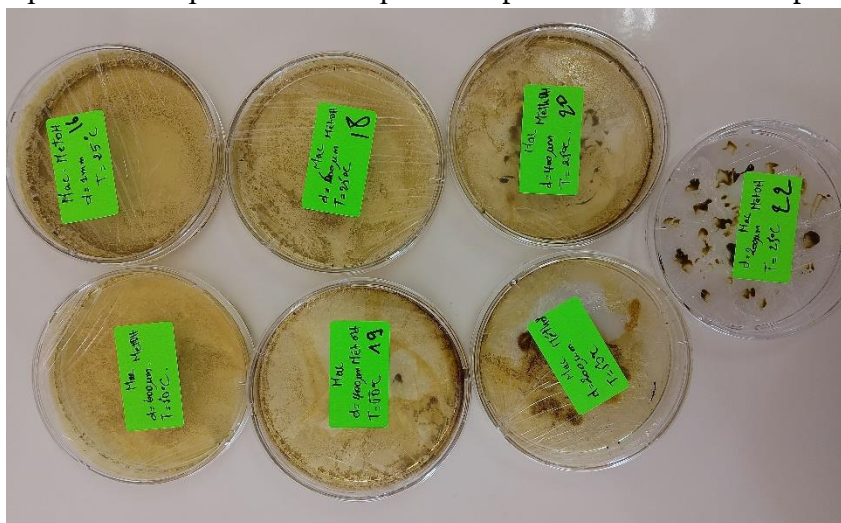


Figure III.10 : Échantillons d'extraits obtenus par macération.

Les résultats des rendements d'extraction par macération sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.5 : Rendements d'extraction par macération.

Solvant/diamètre	R (%)					
	d = 200 μm		d = 400 μm		d = 600 μm	
	25°C	50°C	25°C	50°C	25°C	50°C
Méthanol	18.456	21.796	10.540	18.929	9.341	10.472
Acétone	6.702	13.374	4.676	4.449	11.628	17.634

Le tableau ci-dessus montre les rendements d'extraction pour *Origanum majorana* par macération en fonction du diamètre des particules (200, 400, 600 μm) en utilisant deux solvants (Méthanol et Acétone) à deux températures (25 °C et 50 °C).

- **Influence du solvant** : Les rendements d'extraction sont plus élevés avec du

méthanol par rapport à l'acétone, ce qui peut être aisément expliqué par une polarité plus importante pour le méthanol, donc ayant une affinité et solubilisation plus grandes des composés polaires présents dans la plante.

- **Effet de la taille des particules :** On observe une relation inverse le rendement d'extraction et la taille des particules pour les deux solvants étudiés. En abaissant la granulométrie, la surface spécifique augmente. Cela favorise le transfert de matière entre la matrice végétale et le solvant [46]. Par exemple, pour le méthanol à 25 °C, en réduisant la taille des particules de 1 mm à 200 µm, le rendement a plus que doublé passant de 7.835 à 18.456 %.
- **Effet de température :** L'élévation de la température de 25 à 50 °C entraîne une amélioration significative des rendements d'extraction, quelle que soit la nature du solvant utilisé. Cette amélioration est due essentiellement à une solubilité plus importante avec la température des composés bioactifs et à une meilleure diffusion à travers la matrice végétale [50].

Le rendement le plus élevé est atteint à 50 °C avec des particules de 200 µm en utilisant le méthanol, soit 21.796 %. À l'opposé, le rendement le plus faible est noté en utilisant l'acétone à 50 °C pour des particules de 400 µm (4.449 %).

Par ailleurs, une expérience complémentaire a été effectuée avec un mélange binaire composé à parts égales de méthanol et d'eau (50/50, v/v), avec de grosses particules de 400 µm, aux températures de 25 et 50 °C. Ce mélange a été plus performant à 50 °C, avec un rendement de 23.9948 % supérieur aux valeurs obtenues avec les solvants purs. Ce résultat atteste de l'effet synergique du solvant binaire pour l'extraction des composés les plus polaires. Ceci peut aussi être expliqué par le caractère de la molécule d'eau qui est dipolaire et donc va certainement agir sur la polarité globale du mélange Eau/ Méthanol.

Les résultats ci-après illustrent la cinétique d'extraction par macération réalisée à partir de prélèvements réalisés à intervalles réguliers :

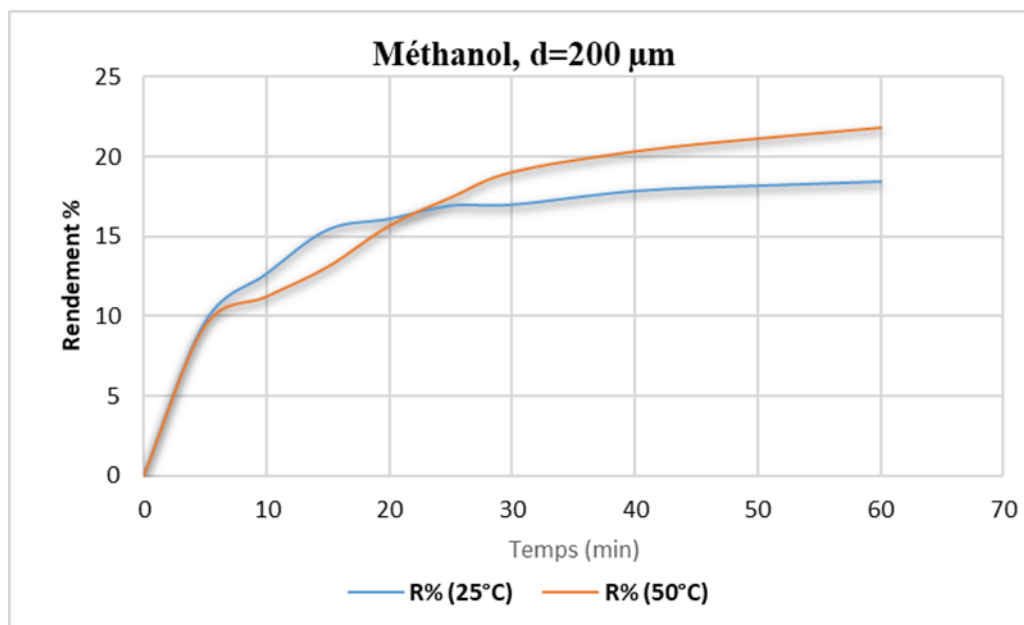


Figure III.11 : Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec le méthanol (200 µm).

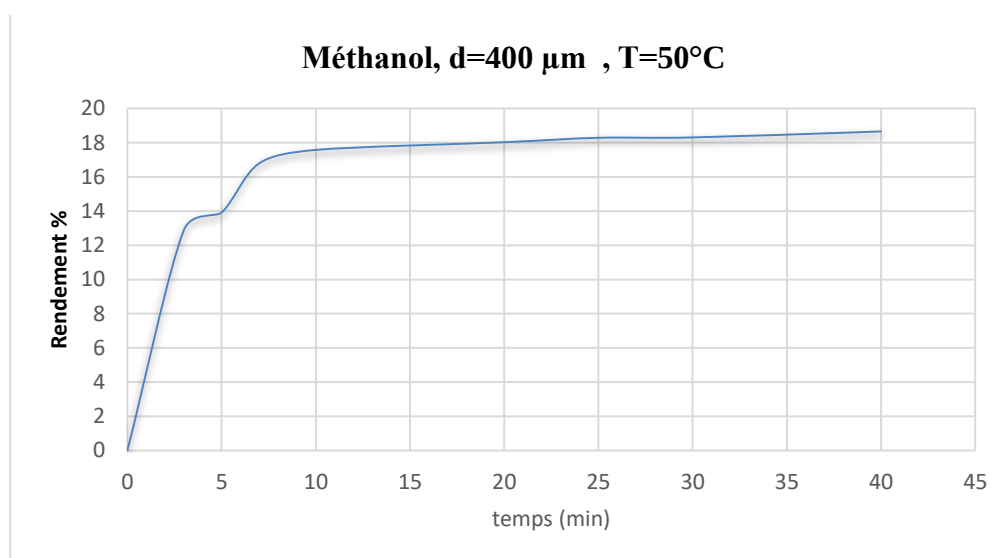


Figure III.12 : Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec le méthanol (400 µm, 50°C).

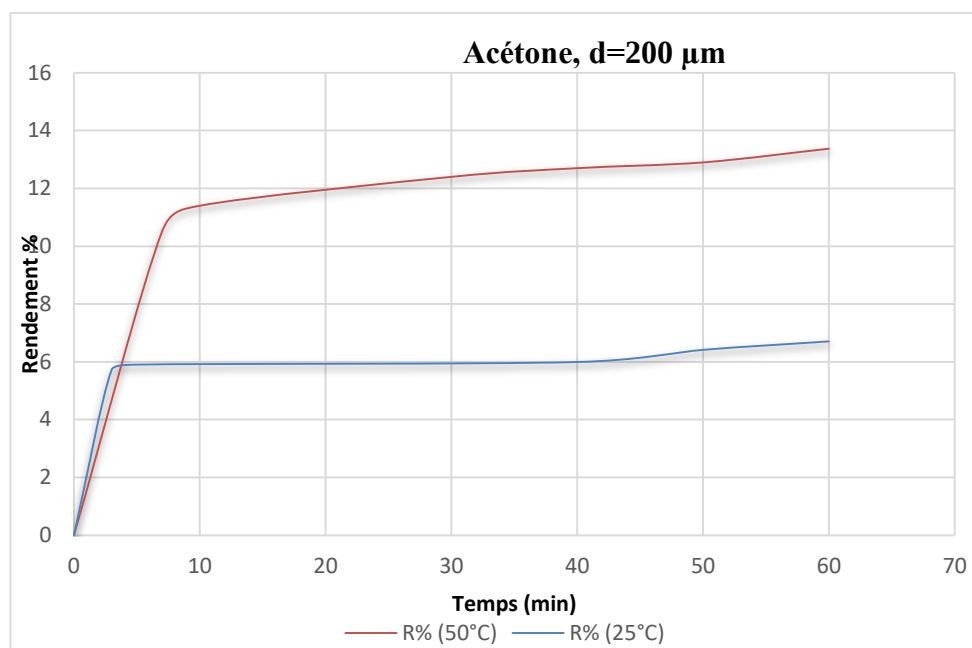


Figure III.13 : Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec l'acétone (200 µm).

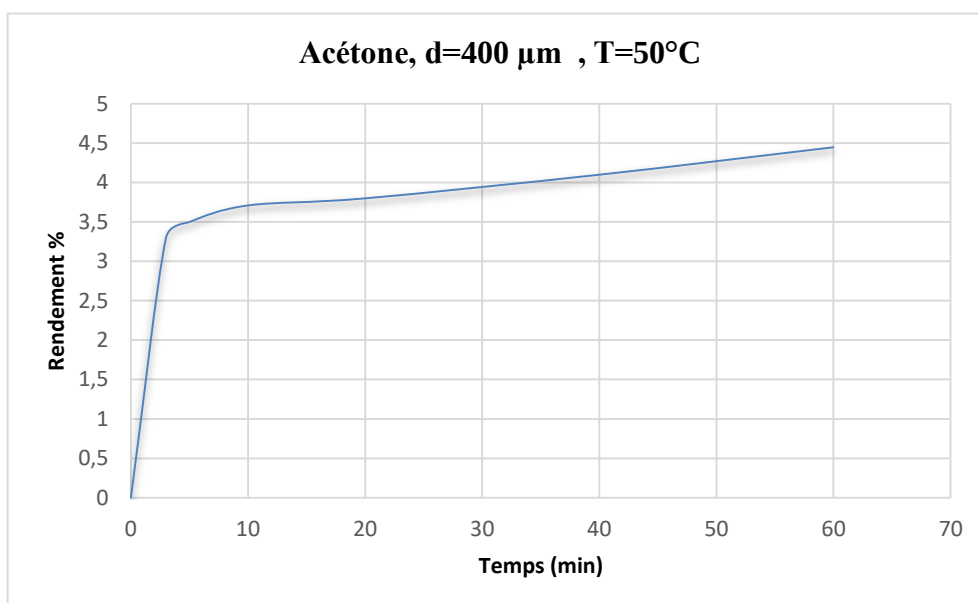


Figure III.14 : Évolution du rendement en fonction du temps d'extraction avec l'acétone (400 µm, 50°C).

Les courbes représentant les cinétiques d'extraction et obtenues pour les deux solvants méthanol et acétone ont montré plus ou moins une même tendance typique des courbes de saturation avec une première phase au démarrage assez rapide mais qui devient plus lente avec le temps pour atteindre un 'plateau' comme deuxième phase. Les résultats montrent clairement

l'influence de la température et de la taille des particules sur la pente des courbes cinétiques qui sont directement liées au flux de diffusion de la substance bioactive dans le solvant.

1.3. Evaluation des activités biologiques

1.3.1. L'activité antioxydante

Pour apprécier l'activité antioxydante des extraits de *l'Origanum majorana*, deux techniques ont été privilégiées : le test de piégeage du radical libre DPPH et le test de piégeage du cation radical ABTS en utilisant le Trolox comme étalon de référence.

Le Trolox, dérivé hydrosoluble de la vitamine E, est un des étalons chimiques le plus couramment utilisé pour quantifier la capacité antioxydante de diverses matrices. Il permet d'apprécier le pouvoir réducteur (tests FRAP, CUPRAC) et la capacité de piégeage des radicaux libres (tests ABTS, DPPH) et sa solubilité dans des solvants polaires en fait un standard incontournable en ce qui concerne ces analyses [51].

a. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits a été déterminée par lecteur de plaque à une longueur d'onde de 517 nm, en mesurant la capacité de réduction du radical libre DPPH⁺. Cette réduction se manifeste par un changement de couleur, passant du violet au jaune. La quantification a été réalisée selon la courbe d'étalonnage, établies sur la base de la relation linéaire ($y = ax + b$) entre les concentrations de Trolox ($\mu\text{g ET/ml}$) et l'absorbance correspondante [51]. Une diminution de l'absorbance traduit une concentration plus élevée en composés antioxydants dans l'extrait, indiquant ainsi une meilleure efficacité antiradicalaire.

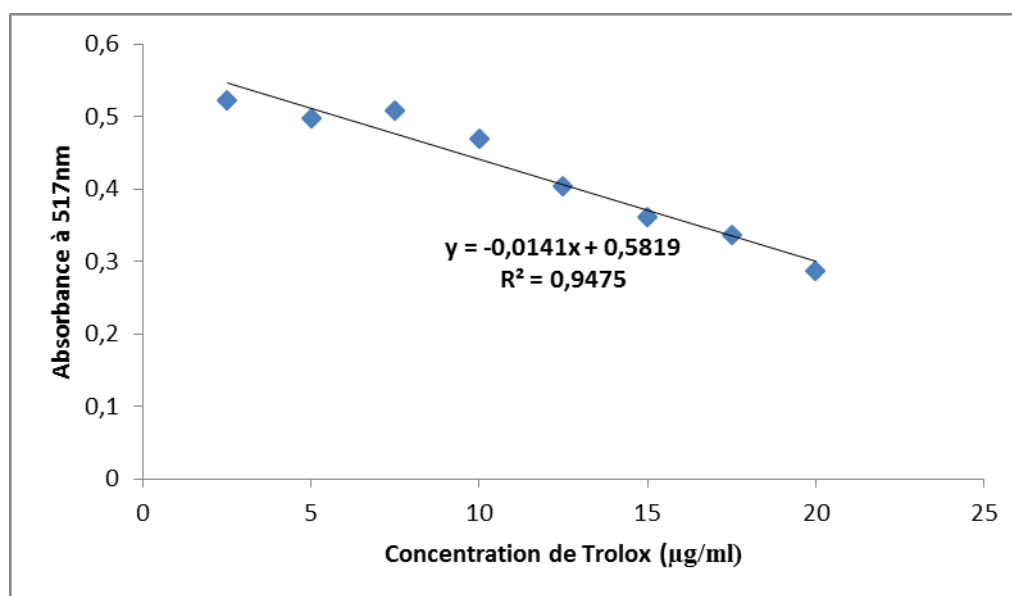


Figure III.15 : Courbe d'étalonnage de Trolox DPPH.

Les résultats issus des microplaques sont visualisés dans la **figure III.16**.



Figure III.16 : Résultats du test DPPH en microplaques.

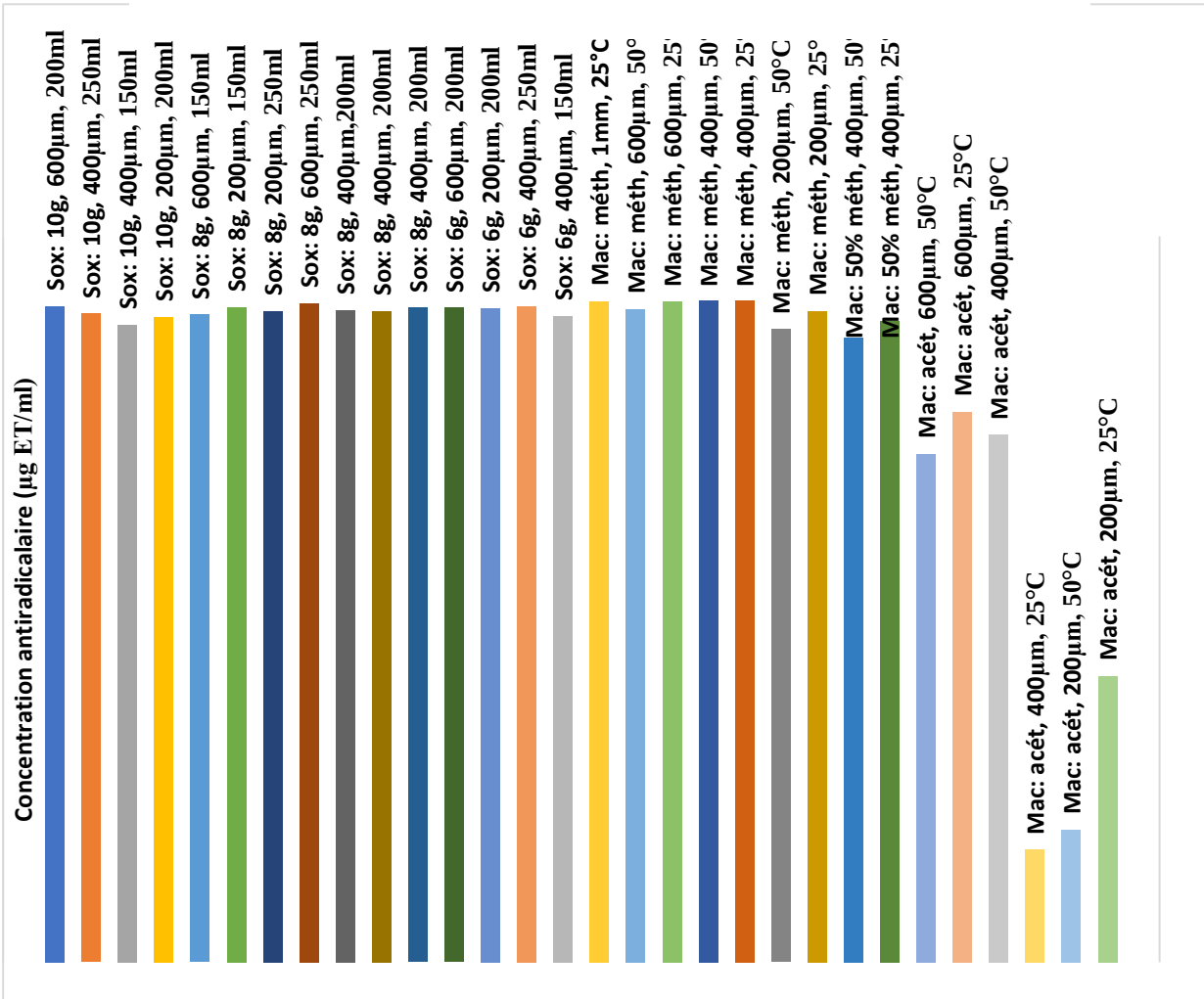


Figure III.17 : Concentration antioxydante des extraits évalués par le test DPPH (µg ET/ml).

La **Figure III.17** présente un histogramme illustrant la répartition des valeurs d'activité antioxydante (DPPH) des extraits d'*Origanum majorana* obtenus par deux méthodes d'extraction : Soxhlet et macération, en fonction de différents paramètres opératoires.

Par rapport aux extraits obtenus par la méthode de soxhlet, on observe que les valeurs d'activité antioxydante sont globalement très proches, la valeur maximale atteint 72.6099 $\mu\text{g ET/ml}$, obtenue dans un ratio de 0.032 et un diamètre de particules de 600 μm . À l'inverse, la plus faible activité pour cette méthode est 70.1985 $\mu\text{g ET/ml}$, correspondant à 400 μm de granulométrie, dans un ratio de 0.067.

Concernant la macération, la méthode présente une plus grande variabilité des résultats, avec une valeur maximale de 72.9881 $\mu\text{g ET/ml}$, obtenue avec des particules de 400 μm dans le méthanol aux deux températures adoptées, tandis que la valeur minimale est nettement inférieure (12.4208 $\mu\text{g ET/ml}$), constatée avec l'utilisation de l'acétone, pour des particules de 600 μm à 50 °C.

Les extraits obtenus par Soxhlet présentent une activité antioxydante généralement plus élevée, probablement à l'effet du chauffage et du recyclage continu du solvant, facilitant la libération des antioxydants. En comparaison, la macération, bien qu'étant une méthode plus douce, montre une plus grande variabilité des résultats en fonction des paramètres opératoires.

Tableau III.6 : Résultats du test DPPH en ($\mu\text{g ET/ml}$).

Sox 10g 600μm 200ml	Sox 10g 400μm 250ml	Sox 10g 400μm 150ml	Sox 10g 200μm 200ml	Sox 8g 600μm 150ml	Sox 8g 200μm 150ml
72.326	71.475	70.199	71.144	71.381	72.184
Sox 8g 200μm 250ml	Sox 8g 600μm 250ml	Sox 8g 400μm 200ml	Sox 8g 400μm 200ml	Sox 8g 400μm 200ml	Sox 6g 600μm 200ml
71.806	72.610	71.853	71.759	72.137	72.137

Sox 6g 200µm 200ml	Sox 6g 400µm 250ml	Sox 6g 400µm 150ml	Mac Méth 1mm 25°C	Mac Méth 600µm 50°C	Mac Méth 600µm 25°C
72.043	72.326	71.191	72.799	71.948	72.846
Mac Méth 400µm 50°C	Mac Méth 400µm 25°C	Mac Méth 200µm 50°C	Mac Méth 200µm 25°C	Mac 50% Méth 400µm 50°C	Mac 50% Méth 400µm 25°C
72.988	72.988	69.773	71.759	68.827	70.671
Mac Acét 600µm 50°C	Mac Acét 600µm 25°C	Mac Acét 400µm 50°C	Mac Acét 400µm 25°C	Mac Acét 200µm 50°C	Mac Acét 200µm 25°C
56.061	60.648	58.142	12.421	14.596	31.522

b. Test de piégeage des cations radical ABTS

En présence d'un antioxydant, le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est réduit en ABTSH^+ par capture d'un radical hydrogène ($\text{H}^{\bullet}$), ce qui se traduit par un changement de couleur allant du bleu turquoise à l'incolore. Cette réaction est suivie par une mesure de l'absorbance à 734 nm. L'activité antiradicalaire est quantifiée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec le

Trolox comme référence, et les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents Trolox par millilitre ($\mu\text{g/ml}$).

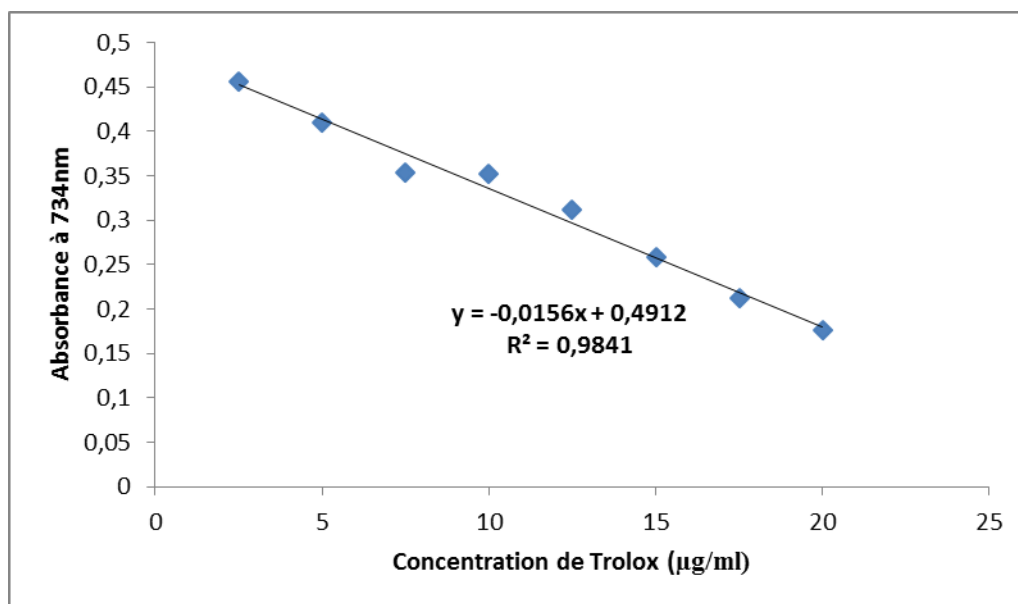


Figure III.18 : Courbe d'étalonnage de Trolox ABTS.

Les résultats issus des microplaques sont visualisés dans la **figure III.19**.

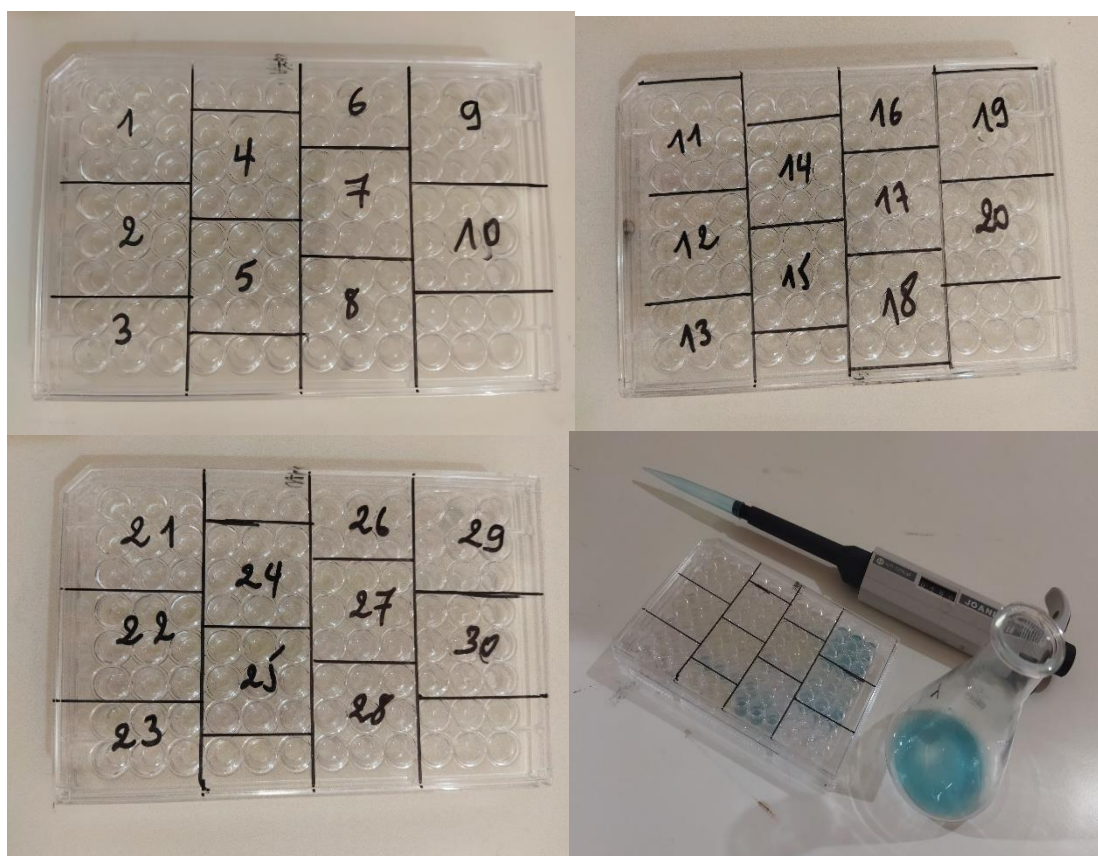


Figure III.19 : Résultats du test ABTS sur microplaques.

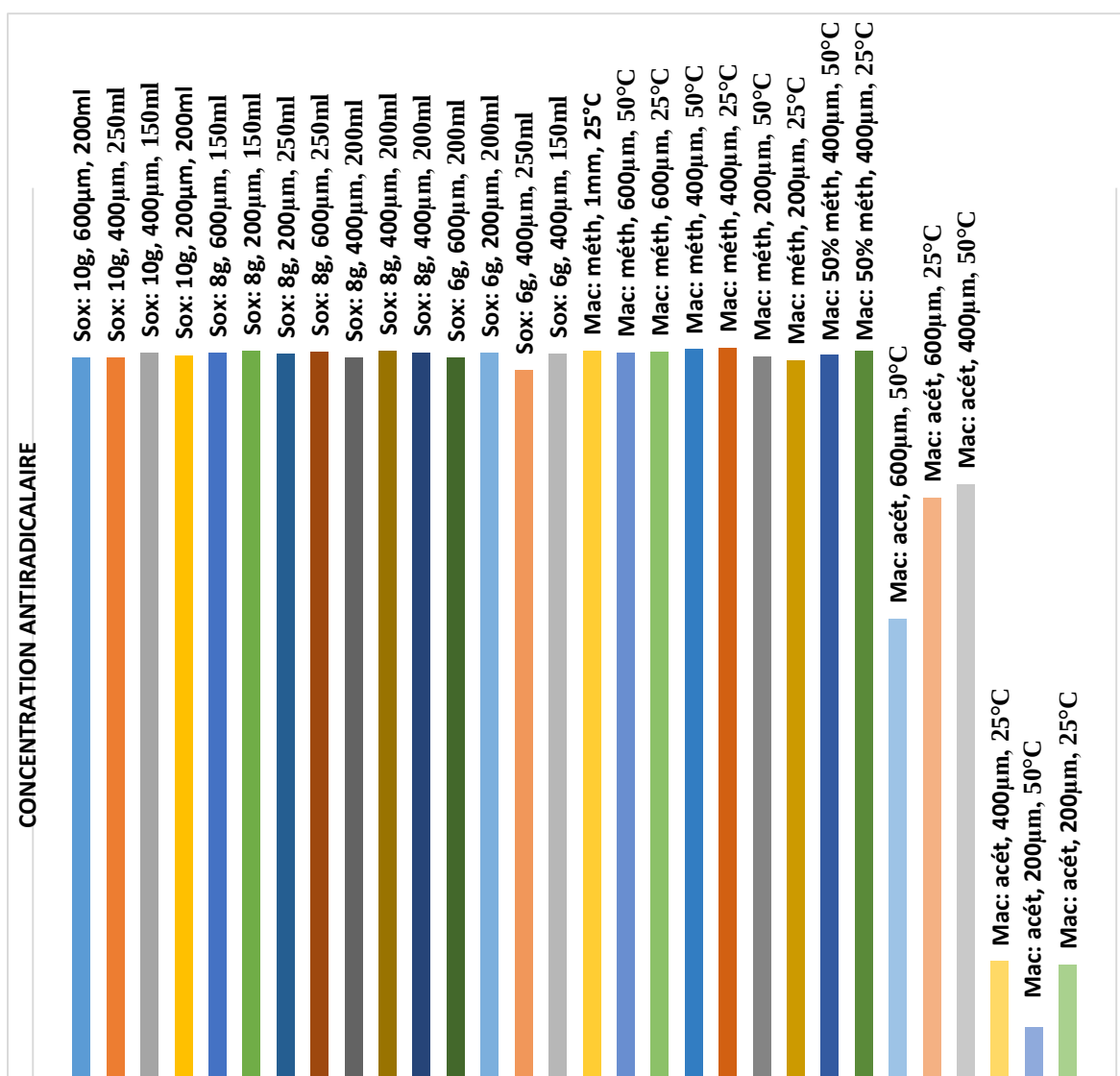


Figure III.20 : Concentration antioxydante des extraits évalués par le test ABTS ($\mu\text{g ET/ml}$).

La **Figure III.20** présente un histogramme illustrant la répartition des valeurs d'activité antioxydante (ABTS) des extraits d'*Origanum majorana* obtenus par deux méthodes d'extraction en ($\mu\text{g ET/ml}$).

Les extraits obtenus par la méthode Soxhlet présentent des valeurs élevées et relativement homogènes, avec une valeur maximale de $114.4102\mu\text{g ET/ml}$, obtenue avec (8 g, 200 μm , 150 ml) et (8 g, 400 μm , 200 ml). La valeur minimale, bien que légèrement inférieure, reste élevée, avec $111.5042\mu\text{g ET/ml}$, obtenue pour 6 g de plante, un diamètre de 400 μm et 250 ml de solvant.

Concernant la macération, une plus grande variabilité est observée, fortement influencée par le type de solvant et la température. Les extraits obtenus à l'aide du méthanol ont montré de bonnes performances, avec une valeur maximale de $114.9231\mu\text{g ET/ml}$ obtenue pour des particules de 400 μm à 25 °C, et une valeur minimale de $112.9572\mu\text{g ET/ml}$, correspondant

à (200 µm, 25°C).

En revanche, les extraits macérés à l'acétone présentent une instabilité marquée dans les résultats. La valeur maximale dans ce cas atteint 93.641 µg ET/ml, obtenue avec une granulométrie de 600 µm à 50 °C, tandis que la valeur minimale (8.5811 µg ET/ml), pour des particules de 600 µm à 50 °C. Ces résultats soulignent la moindre efficacité de l'acétone dans l'extraction des composés antioxydants.

Tableau III.7 : Résultats du test ABTS en (µg ET/ml).

Sox 10g 600µm 200ml	Sox 10g 400µm 250ml	Sox 10g 400µm 150ml	Sox 10g 200µm 200ml	Sox 8g 600µm 150ml	Sox 8g 200µm 150ml
113.385	113.385	114.154	113.812	114.154	114.410
Sox 8g 200µm 250ml	Sox 8g 600µm 250ml	Sox 8g 400µm 200ml	Sox 8g 400µm 200ml	Sox 8g 400µm 200ml	Sox 6g 600µm 200ml
113.983	114.325	113.385	114.410	114.239	113.470
Sox 6g 200µm 200ml	Sox 6g 400µm 250ml	Sox 6g 400µm 150ml	Mac Méth 1mm 25°C	Mac Méth 600µm 50°C	Mac Méth 600µm 25°C
114.154	111.504	114.068	114.496	114.154	114.325
Mac Méth 400µm 50°C	Mac Méth 400µm 25°C	Mac Méth 200µm 50°C	Mac Méth 200µm 25°C	Mac 50% Méth 400µm 50°C	Mac 50% Méth 400µm 25°C
114.752	114.923	113.556	112.957	113.897	114.410
Mac Acét 600µm 50°C	Mac Acét 600µm 25°C	Mac Acét 400µm 50°C	Mac Acét 400µm 25°C	Mac Acét 200µm 50°C	Mac Acét 200µm 25°C
72.530	91.504	93.641	18.940	8.581	18.427

- **Comparaison entre l'activité antiradicalaire DPPH et ABTS**

Il convient de souligner que la diversité morphologique des plantes est étroitement liée à leur diversité chimique. La structure des tissus végétaux, en particulier l'organisation cellulaire et la surface d'échange, influence directement la teneur en composés bioactifs ainsi que l'efficacité de leur extraction, notamment pour les composés à activité antiradicalaire.

Cette observation est appuyée par plusieurs études antérieures, notamment celles de Samiah Hamad Al-Mijalli et al. (2022) [52], Perna Goel et Neeru Vasudeva (2015) [53], ainsi que Hama Hamadou Habibou et al. (2019) [54], qui ont mis en évidence l'influence significative des paramètres morphologiques et opératoires sur le rendement en composés antioxydants.

Dans le cadre de notre étude, l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique d'*Origanum majorana*, obtenu par extraction Soxhlet, a été évaluée à l'aide de la méthode des équivalents Trolox. Les concentrations mesurées étaient de 72.6099 µg ET/ml pour le test DPPH et de 114.4102 µg ET/ml pour le test ABTS, indiquant une activité antioxydante modérée à bonne. Afin de situer cette efficacité, nous avons comparé ces résultats à ceux rapportés dans la littérature pour la même espèce, connue pour sa richesse en composés antioxydants [55].

Il est à noter que, contrairement à notre protocole basé sur les équivalents Trolox, la plupart des études antérieures utilisent la méthode IC₅₀, où une valeur plus faible indique une activité antioxydante plus élevée. Ces études rapportent un fort potentiel antioxydant d'*O. majorana*, avec des IC₅₀ particulièrement faibles tels que :

1.48 µg/ml (Arabie Saoudite) [56], 2.3 µg/ml (Maroc) [57], 3.08 µg/ml (Tunisie) [58], et pour l'extrait algérien : 16.15 µg/ml (DPPH) et 19.66 µg/ml (ABTS) [59].

Ces résultats confirment les données présentées dans le premier chapitre concernant la composition chimique de la *marjolaine*. L'activité antioxydante est influencée par plusieurs facteurs, notamment :

Le solvant : le méthanol et l'éthanol favorisent l'extraction des composés phénoliques hydrophiles et des flavonoïdes [60][59], tels que l'acide rosmarinique, l'acide caféique, la quercétine, l'apigénine et la lutéoline.

La méthode d'extraction : les procédés doux comme la macération permettent de préserver les antioxydants sensibles à la chaleur.

La nature de l'extrait : les huiles essentielles, bien que riches en monoterpènes (carvacrol, thymol, terpinène) [61][62], présentent généralement une activité antioxydante inférieure à celle des extraits phénoliques.

Globalement, bien que l'extrait obtenu présente une activité réelle et valorisable, la comparaison met en évidence une supériorité antioxydante des extraits d'*O. Majorana* rapportés dans d'autres régions. Ces observations soulignent l'importance du solvant, de la méthode d'extraction, de l'origine botanique et de la composition chimique dans la modulation de l'activité antiradicalaire des extraits végétaux.

1.3.2. L'activité antidiabétique

a. Test d'inhibition de l' α -amylase

Les six premiers extraits ont été sélectionnés sur la base de leurs performances aux tests d'activité antioxydante. Ces extraits ont ensuite été utilisés pour l'évaluation de leur activité antidiabétique, à travers un test d'inhibition de l'enzyme α -amylase.

Les résultats obtenus à l'aide de microplaques sont présentés dans la **figure III.21**.

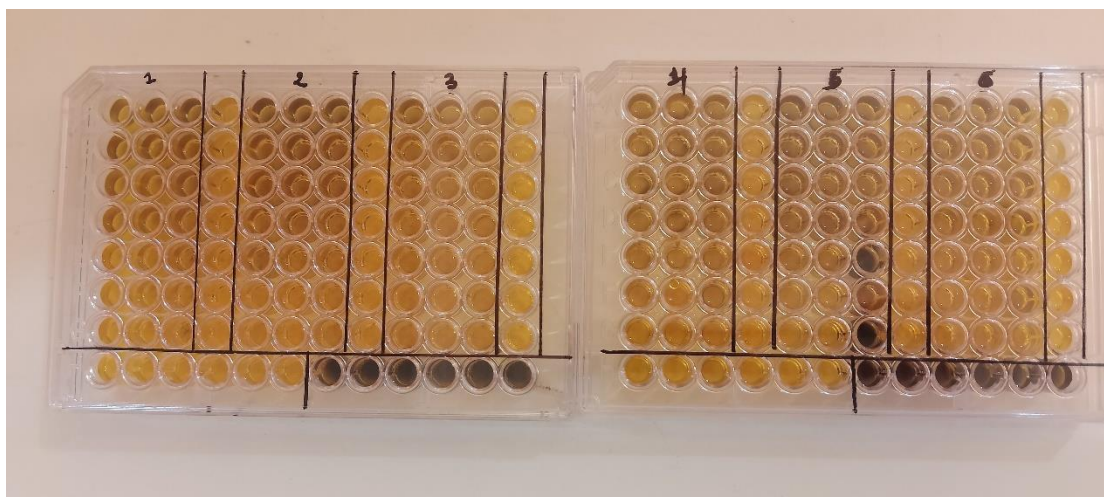


Figure III.21 : Résultats du test d'inhibition de l' α -amylase sur microplaques.

Tableau III.8 : Pourcentages d'inhibition de l' α -amylase.

Extraits	% d'inhibition							
	6.25 μ g	12.5 μ g	25 μ g	50 μ g	100 μ g	200 μ g	400 μ g	IC ₅₀ (μ g/ml)
1	3.52 $\pm$ 0.5	4.35 $\pm$ 0.6	6.39 $\pm$ 0.4	8.99 $\pm$ 1.7	11.64 $\pm$ 0. 28	14.77 $\pm$ 0. 80	17.84 $\pm$ 2. 91	>400
2	3.28 $\pm$ 0.0 4	3.62 $\pm$ 0.9 2	6.46 $\pm$ 0.7 5	8.20 $\pm$ 0.8 1	11.59 $\pm$ 0. 22	12.38 $\pm$ 1. 14	18.45 $\pm$ 1. 68	>400
3	3.45 $\pm$ 0.1 7	3.54 $\pm$ 1.0 6	4.92 $\pm$ 0.7 9	5.48 $\pm$ 0.9 8	7.05 $\pm$ 1.0 9	8.46 $\pm$ 0.7 9	10.53 $\pm$ 0. 88	>400
4	4.48 $\pm$ 0.2 5	6.09 $\pm$ 1.9 3	6.58 $\pm$ 2.2 9	10.99 $\pm$ 1. 63	12.61 $\pm$ 2. 82	13.64 $\pm$ 1. 37	13.03 $\pm$ 1. 32	>400
5	NA	4.03 $\pm$ 1.0 1	7.90 $\pm$ 0.2 8	16.68 $\pm$ 3. 71	12.98 $\pm$ 2. 63	18.61 $\pm$ 1. 57	20.29 $\pm$ 0. 69	>400
6	5.23 $\pm$ 1.73	8.06 $\pm$ 6.06	8.20 $\pm$ 1.33	11.83 $\pm$ 5.08	13.66 $\pm$ 3.82	13.31 $\pm$ 1.74	11.90 $\pm$ 1.28	>400
	62,5 μg	125 μg	250 μg	500 μg	1000 μg	2000 μg	4000 μg	IC₅₀ (μg/ml)
Acarbose	7.76 $\pm$ 0.17	8.08 $\pm$ 0.30	9.46 $\pm$ 0.11	10.70 $\pm$ 0.96	31.81 $\pm$ 2.89	37.21 $\pm$ 3.54	53.05 $\pm$ 1.59	3650.93 $\pm$ 10.7

Le **tableau III.8** présente les résultats de l'essai d'inhibition de l' α -amylase par différents extraits, comparés à un médicament de référence, l'acarbose. On observe qu'une augmentation de la concentration, que ce soit pour les extraits ou pour l'acarbose, entraîne une amélioration du pourcentage d'inhibition de l' α -amylase. La valeur maximale d'inhibition atteinte est de 20.29 % pour l'extrait 5 (8g, 600 μ m, 150ml) dans la concentration plus forte (400 μ g).

En termes de comparaison, à la concentration de 50 μ g, les extraits montrent un pourcentage d'inhibition variant entre 8.20 et 16.68 %, ce qui est supérieur à celui de l'acarbose (7.76 %) à une concentration de 62.5 μ g. Des observations similaires sont faites pour les concentrations de 100 μ g contre 125 μ g, 200 μ g contre 250 μ g, et 400 μ g (avec un intervalle d'inhibition de 10.53 à 20.29 %) comparée à 500 μ g d'Acarbose (inhibition de 10.70 %).

Par rapport au présent essai, il n'a pas été possible de déterminer la valeur exacte de l'IC₅₀, car elle est supérieure à la concentration maximale testée (400 μ g). Toutefois, en élargissant la gamme de concentrations dans les puits, il serait possible de l'estimer. Nous supposons que l'IC₅₀ des extraits testés pourrait être inférieure à celle de l'acarbose.

Ces résultats peuvent être confirmés par des études antérieures, notamment celles de Bimala Tripathy et al [63], Iman A. A. Mohamoud et al [64], et Dina B. E. Farag et al [65].

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

De nos jours, l'utilisation des huiles essentielles en phytothérapie a suscité un grand intérêt dans la recherche biomédicale et tend à devenir aussi prometteuse que certaines approches thérapeutiques conventionnelles.

A cet effet, l'objectif de notre travail consiste à évaluer le pouvoir antioxydant et antidiabétique de l'huile essentielle de *L'Origanum majorana* (*marjolaine*), en comparant l'efficacité d'extraction des composés bioactifs des deux méthodes : soxhlet et macération, en termes de quantité et qualité. Une optimisation par le plan d'expériences Box Behnken a été réalisée dans le but d'étudier l'effet de la taille de particules, le volume de solvant et la quantité de matière végétale sur le rendement de l'extraction par soxhlet.

Dans le premier volet, l'extrait obtenu par soxhlet et macération manifeste respectivement un rendement de l'ordre de 30.46% et de 23.99% de la matière végétale. Ces valeurs confirment la richesse de *l'Origanum majorana* en huile volatile et montrent une rentabilité importante en extrait méthanolique.

Dans le deuxième volet, notre attention s'est accordée aux effets antioxydant et antidiabétique. Les résultats obtenus ont révélé que la partie aérienne de cette plante est riche en composés bioactifs, la possèdent un bon effet scavenger vis-à-vis du DPPH allant jusqu'à 72.61 µg ET/ml et 114.41 µg ET/ml pour le test ABTS. L'extrait a montré une activité enzymatique (antidiabétique) significative, comparable à celle du médicament de référence, l'acarbose.

Les résultats de l'optimisation par Box Behnken révèle que :

- Le modèle trouvé est linéaire et valide.
- Tous les facteurs principaux ont un effet significatif sur le rendement d'extraction sauf la taille des particules.
- Les conditions opératoires optimales pour récupérer un maximum d'*Origanum majorana* (Rendement= 30.46%) sont : un diamètre de particules de 400 µm dans un ratio de 0.024.

Notre étude fournit une base solide pour l'amélioration continue du processus d'extraction et la valorisation thérapeutique de *l'Origanum majorana*. Les recherches futures peuvent se concentrer sur des techniques plus propres, plus modernes et écologiques telles que l'extraction assistée par ultrasons ou au CO₂ supercritique, permettant un meilleur rendement tout en réduisant l'impact environnemental. L'effet positif de la température sur

le rendement observé dans cette étude pourrait être exploité dans des procédés assistés par la chaleur, à condition de maîtriser ce paramètre afin d'éviter la dégradation des composés bioactifs responsables des effets biologiques. Une caractérisation approfondie des composés bioactifs par GC-MS, permet d'identifier les molécules responsables des effets thérapeutique. Ainsi que des essais biologiques sur des organismes vivants, permettraient de confirmer son potentiel thérapeutique. L'optimisation des conditions d'extraction à l'aide de plans expérimentaux avancés (plans de surfaces de réponse élargis) et l'intégration dans des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires naturels pour une valorisation durable et industrielle de cette plante médicinale.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] S. Ivanova, R. Staynova, N. Koleva, and K. Ivanov, "Public Perception and Usage Trends of Essential Oils : Findings from a Nationwide Survey," pp. 1–14, 2025.
- [2] C. Goods, "Global essential oil market," 2024.
- [3] P. Tsitlakidou and N. Tasopoulos, "Current status , technology , regulation and future perspectives of essential oils usage in the food and drink industry," no. May, 2023, doi: 10.1002/jsfa.12695.
- [4] M. Kfoury and S. Fourmentin, "Les huiles essentielles : renaissance d ' i ngrédients naturels et durables Essential oils : the renaissance of natural and sustainable ingredients," no. January, 2024, doi: 10.21494/ISTE.OP.2024.1059.
- [5] C. Cimino *et al.*, "Essential Oils : Pharmaceutical Applications and Encapsulation Strategies into Lipid-Based Delivery Systems," pp. 1–35, 2021.
- [6] S. Oubannin *et al.*, "Journal of Food Composition and Analysis Recent advances in the extraction of bioactive compounds from plant matrices and their use as potential antioxidants for vegetable oils enrichment," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 128, no. November 2023, p. 105995, 2024, doi: 10.1016/j.jfca.2024.105995.
- [7] A. Fadda *et al.*, "Innovative and Sustainable Technologies to Enhance the Oxidative Stability of Vegetable Oils," pp. 1–29, 2022.
- [8] A. Muscolo, O. Mariateresa, T. Giulio, and R. Mariateresa, "Oxidative Stress: The Role of Antioxidant Phytochemicals in the Prevention and Treatment of Diseases," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 25, no. 6, 2024, doi: 10.3390/ijms25063264.
- [9] I. Soraya *et al.*, "Effects of temperature , time , and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti - radical activity of Clinacanthus nutans Lindau leaves by response surface methodology," *Chem. Cent. J.*, pp. 1–11, 2017, doi: 10.1186/s13065-017-0285-1.
- [10] M. D. E. Master, "République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche S cientifique," 2020.
- [11] N. Lammari *et al.*, "Plant oils : From chemical composition to encapsulated form use To cite this version : HAL Id : hal-03200146," 2021.
- [12] S. Gharby, "Refining Vegetable Oils : Chemical and Physical Refining," vol. 2022, no. Table 1, 2022.

- [13] P. Minist *et al.*, “Mémoire de fin d ’ études Thème Présenté par :,” pp. 2018–2019.
- [14] B. R. Sarah, “Thème : Etude comparative des activités biologiques de deux huiles végétales aromatisées avec trois huiles essentielles,” 2022.
- [15] S. Biologiques, S. Agronomiques, H. Co, and F. Examinatrice, “Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques Département Biologie,” 2019.
- [16] M. A. Sarra, “Thème Etude des paramètres physico-chimiques et organoleptiques de l’ huile d’ olives de la variété Sig uoise dans la région de Tlemcen.,” 2017.
- [17] A. Nadia and T. Amrouche, “Remerciements Remerciement s”.
- [18] L. C. eddine M. Marouane, “Extraction Des Huiles Essentielles Et Hydrolats,” *Mémoire*, vol. 2, no. 1, pp. 17–67, 2023.
- [19] D. Imene and T. Asmaa, “Enquête ethnobotanique et Extraction et Caractérisation de l’ Huile Essentielle de la Marjolaine (Origanum majorana),” 2020.
- [20] Mehdi LOUAER, “Etude De L’Extraction Des Huiles Vegetales Des Noyaux De Dattes Et Graines De Sesame Par Co2 Supercritique,” p. 238, 2019.
- [21] Sarra MELLOUL, “CONCEPTION DE FLUIDE SUPERCRITIQUE POUR L’EXTRACTION A FLUIDE SUPERCRITIQUE D’HUILE DES PLANTES NATURELLES,” 2023.
- [22] F. D. E. Genie and D. E. S. Procédes, “ETUDE COMPARATIVE DE PROCÉDES D ’ EXTRACTION D ’ HUILE A PARTIR DE PLANTES NATURELLES”.
- [23] G. B. E. N. Salha, “Thèse de Doctorat en Cotutelle Diplôme de Docteur en Chimie Réalisée par Ghada BEN SALHA Déterpénat ion de l’ huile essentielle d ’ Origanum Majorana L . et évaluation des activités biologiques,” vol. 2020, no. c, 2020.
- [24] R. Ghanai, “Etude de la variation de la toxicité et la phytochimie de l’ Origanum majorana provenant de deux régions en Algérie,” 2020
- [25] X. Yu, X. Tu, L. Tao, J. Daddam, S. Li, and F. Hu, “Royal Jelly Fatty Acids : Chemical Composition , Extraction , Biological Activity , and Prospect,” *J. Funct. Foods*, vol. 111, no. August, p. 105868, 2023, doi: 10.1016/j.jff.2023.105868.
- [26] H. Benabdallah, “Techniques d’ extraction, de purification et de conservation,” *Univ. Ferhat Abbas, Setif*, pp. 14–17, 2015.
- [27] Benzegane Yanal et Teffahi Manel devant, “Promotion : juin 2013,” *Act. Antimicrob. D’EXTRAITS Veg. Présenté*, vol. 61, p. 46, 2013.
- [28] A. F. Zahra, B. Zahra, and B. Imene, “Mémoire de fin de cycle,” 1945.
- [29] M. Z. Sara, M. M. Asmaa, and M. M. Souheir, “Mémoire,” pp. 2019–2020, 2020.

- [30] T. Lahreche, M. L. Bradaie, and T. Mossadak, “In Vitro Assessment of Antioxidant Activity , Total Phenolic and Flavonoid Contents of Sweet Marjoram (Origanum majorana L .) Extract,” no. 4, pp. 158–163, 2020.
- [31] N. Resources, S. Wafa, N. H. Sehari, and A. Kirouani, “TOTAL PHENOLIC , FLAVONOID AND TANNIN CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF EXTRACTS OF URTICA DIOICA L . BY DIFFERENT EXTRACTION family of Urticaceae , which often grown as a weed in neglected places important range of diseases due to its therapeutic vi,” no. September, 2022, doi: 10.31924/nrsd.v12i1.094.
- [32] J. Pinela, C. Caleja, C. Saux, E. Pereira, and L. Barros, “Dynamic Maceration of Acerola (Malpighia emarginata DC .) Fruit Waste : An Optimization Study to Recover Anthocyanins,” 2023.
- [33] B. Mokadem and S. Bouteraa, “Thème : Étude de certaines activités biologiques d’une plante médicinale appartenant au genre Centaurea.”.
- [34] N. Lakkana, T. Wunnakup, and J. Suksaeree, “Optimization of short-term dynamic and static maceration of Piper betle L . leaves to maximize extraction yield and anti-Candida albicans activity,” 2025, doi: 10.1080/22311866.2024.2448019.
- [35] T. A. Cepa, “Mémoire En Vue de l ’ Obtention du Diplôme de Master Thème : Effet cytotoxique de l ’ extrait hydro méthanolique d ’ Origanum majorana (Test Allium Cepa),” 2020.
- [36] M. D. E. Fin *et al.*, “L ’ effet d ’ Origanum majorana . L sur l ’ induction ovulatoire chez les rattes albinos wistar Remerciements”.
- [37] M. D. E. Master, “Activité larvicide d ’ une plante Origanum”.
- [38] Gade N. R, Shelke M. M, Vare S. R, and Gowekar N. M., *Review: Solubility Enhancement By Advance Techniques-Lyophilization, Spray Drying and Rotary Evaporator Method*, vol. 9, no. 7. 2020. doi: 10.20959/wjpr20207-17921.
- [39] A. dos Santos Dantas, “Origanum Majorana Essential Oil: Some Pharmacological and Toxicological Aspects,” *Biomed. J. Sci. Tech. Res.*, vol. 14, no. 5, pp. 10977–10978, 2019, doi: 10.26717/bjstr.2019.14.002625.
- [40] “Activité de la DPPH.”
- [41] R. Algerrienne Democratique, M. DE L, E. Superieure, D. LA Recherche Scientifique, and B. Ahlem Zabat Yousra Sendelezrag Loubna, “Propriétés et effets antioxydants du gingembre sur la santé Centre Universitaire Abdel Hafid Boussouf Mila2023 ”,.

- [42] “ABTS scavenging activity.”
- [43] G. L. Khatik, “An Insight of Alpha-amylase Inhibitors as a Valuable Tool in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus,” pp. 117–136, 2020, doi: 10.2174/1573399815666190618093315.
- [44] F. Afzaljavan and M. Mobini-dehkordi, “Application of alpha-amylase in biotechnology,” no. January 2013, 2015.
- [45] O. A. O. Adam, R. S. M. Abadi, and S. M. H. Ayoub, “The Effect of Extraction method and Solvents on yield and Antioxidant Activity of Certain Sudanese Medicinal Plant Extracts,” *J. Phytopharm.*, vol. 8, no. 5, pp. 248–252, 2019, doi: 10.31254/phyto.2019.8507.
- [46] A. N. Shikov, V. M. Kosman, E. V. Flissyuk, I. E. Smekhova, A. Elameen, and O. N. Pozharitskaya, “Natural deep eutectic solvents for the extraction of phenyletanes and phenylpropanoids of *Rhodiola rosea* L.,” *Molecules*, vol. 25, no. 8, pp. 9–11, 2020, doi: 10.3390/molecules25081826.
- [47] N. C. Predescu *et al.*, “The influence of solid-to-solvent ratio and extraction method on total phenolic content, flavonoid content and antioxidant properties of some ethanolic plant extracts,” *Rev. Chim.*, vol. 67, no. 10, pp. 1922–1927, 2016.
- [48] K. J. Sareriya, P. B. Vanzara, and S. Maiti, “Optimization of Eucalyptus essential oil extraction by applying response surface methodology in traditional distillation and its adaption to solar thermal process,” *Sustain. Energy Res.*, vol. 11, no. 1, 2024, doi: 10.1186/s40807-024-00118-y.
- [49] D. D. Shejawale, C. S. Murugesh, N. K. Rastogi, and R. Subramanian, “Effect of feed particle size and solvent flow rate on soybean oil extraction in a percolation type extractor,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 59, no. 12, pp. 4723–4730, 2022, doi: 10.1007/s13197-022-05554-6.
- [50] P. Penchev, G. Angelov, and J. S. Condoret, “Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.),” *Rev. génie Ind.*, vol. 5, no. January 2016, pp. 115–123, 2010.
- [51] L. T. Anh-Dao *et al.*, “SPECTROPHOTOMETRIC METHODS FOR DETERMINING TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITIES OF TEA THROUGH DIFFERENT In Vitro ASSAYS,” *Malaysian J. Anal. Sci.*, vol. 26, no. 5, pp. 999–1010, 2022.
- [52] S. H. Al-Mijalli *et al.*, “Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in

- Morocco,” *Adv. Pharmacol. Pharm. Sci.*, vol. 2022, 2022, doi: 10.1155/2022/2844880.
- [53] P. Goel, J. Hamdard, and N. Vasudeva, “Origanum majorana L. -Phyto-pharmacological review,” no. January, 2018.
- [54] H. H. Habibou, M. Idrissa, I. Khalid, O. Benjamin, and A. Rabani, “Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr.,” *Eur. Sci. J. ESJ*, vol. 15, no. 12, pp. 159–171, 2019, doi: 10.19044/esj.2019.v15n12p159.
- [55] F. El Kamari *et al.*, “Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of *Origanum majorana* Growing in Middle Atlas of Morocco,” *Trop. J. Nat. Prod. Res.*, vol. 7, no. 10, pp. 4232–4237, 2023, doi: 10.26538/tjnpr/v7i10.16.
- [56] A. Farouk, M. Mohsen, H. Ali, H. Shaaban, and N. Albaridi, “Antioxidant activity and molecular docking study of volatile constituents from different aromatic Lamiaceous plants,” *Molecules*, vol. 26, p. 4145, 2021.
- [57] E. Hanane, C. Dounia, A. Saadia, B. Abdallah, K. Naima, and I. Samir, “Phytochemicals screening, cytotoxicity and antioxidant activity of the *Origanum majorana* growing in Casablanca, Morocco,” *Open J. Biol. Sci.*, vol. 5, pp. 053–059, 2020, doi: 10.17352/ojbs.000026.
- [58] D. Alimi, A. Hajri, S. Selmi, H. Sebai, and H. B. Street, “Correlation between total phenols content, antioxidant power, acaricidal and repellent properties of *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*,” pp. 54–74, 2024.
- [59] A. Benslama, S. Daci, L. Z. Nabti, H. Bendif, and A. Harrar, “Assessment of polyphenols contents, antibacterial and antioxidant activities of *Origanum majorana* extracts,” *Eur. J. Biol. Res. Res. Artic. Eur. J. Biol. Res.*, vol. 11, no. 4, pp. 509–518, 2021, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5608519>
- [60] E. P. Gutiérrez-Grijalva, M. A. Picos-Salas, N. Leyva-López, M. S. Criollo-Mendoza, G. Vazquez-Olivo, and J. B. Heredia, “Flavonoids and phenolic acids from *Oregano*: Occurrence, biological activity and health benefits,” *Plants*, vol. 7, no. 1, pp. 1–23, 2018, doi: 10.3390/plants7010002.
- [61] M. Chroho, Y. Roupheal, S. A. Petropoulos, and L. Bouissane, “Carvacrol and Thymol Content Affects the Antioxidant and Antibacterial Activity of *Origanum compactum* and *Thymus zygis* Essential Oils,” *Antibiotics*, vol. 13, no. 2, 2024, doi: 10.3390/antibiotics13020139.

- [62] K. Ridaoui *et al.*, “Comparative study of the antioxidant activity of the essential oils of five plants against the H₂O₂ induced stress in *Saccharomyces cerevisiae*,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 29, no. 3, pp. 1842–1852, 2022, doi: 10.1016/j.sjbs.2021.10.040.
- [63] B. Tripathy, S. Satyanarayana, K. Abedulla Khan, and K. Raja, “A Comparative Study On Antidiabetic Effects Of Ethanol Extract Of *Origanum majorana* And *Indigofera Linnaei* Ali On Streptozotocin Induced Diabetic Rats,” *Am. J. PharmTech Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 167–178, 2018, doi: 10.46624/ajptr.2018.v8.i1.011.
- [64] I. A. Mohamoud, I. FO, I. Shama, and A. IY, “Antidiabetic Activity of *Origanum Majorana* L in Glucose Fed Normal Rats and Alloxan-Induced Diabetic Rats,” *Sudan J. Sci. Technol.*, vol. 21, no. December 2020, pp. 151–162, 2021.
- [65] D. B. E. Farag, C. Yousry, A. M. Al-Mahallawi, H. I. El-Askary, M. R. Meselhy, and N. AbuBakr, “The efficacy of *Origanum majorana* nanocubosomal systems in ameliorating submandibular salivary gland alterations in streptozotocin-induced diabetic rats,” *Drug Deliv.*, vol. 29, no. 1, pp. 62–74, 2022, doi: 10.1080/10717544.2021.2018522.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1

TABLE DE FICHER

$\frac{l_A}{l_B}$	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96
∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88

ANNEXE 2

TABLE DE STUDENT

	Risque 5 %	Confiance 95 %
DDL	t(crit)	t(crit)
1	12,70	63,66
2	4,30	9,93
3	3,18	5,84
4	2,78	4,60
5	2,57	4,03
6	2,45	3,71
7	2,37	3,50
8	2,31	3,36
9	2,26	3,25
10	2,23	3,17
11	2,20	3,11
12	2,18	3,06
13	2,16	3,01
14	2,15	2,98
15	2,13	2,95
16	2,12	2,92
17	2,11	2,90
18	2,10	2,98
19	2,09	2,86
20	2,08	2,85

Résumé

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales suscitent un intérêt considérable en raison de leurs nombreuses propriétés thérapeutiques et cosmétiques. L'Algérie, riche en biodiversité végétale, représente un terrain favorable pour la valorisation des ressources naturelles, notamment par l'extraction d'huiles essentielles et végétales.

Cette étude explore l'extraction de l'extrait méthanolique de la plante locale *Origanum majorana* (*marjolaine*), en utilisant la méthode de Soxhlet. Un plan d'expériences a été mis en œuvre pour évaluer l'influence de trois variables expérimentales (taille des particules, volume du solvant, et masse de la matière végétale) afin d'optimiser le procédé à l'aide de la méthodologie de surface de réponse. Parallèlement, une comparaison a été effectuée avec l'extraction par macération dynamique, dans le but d'évaluer les rendements et les activités biologiques, en particulier les activités antioxydante et antidiabétique.

Les résultats ont montré une supériorité de l'extraction par Soxhlet, avec des rendements variant entre 11.82 et 30.46%, contre un rendement maximal de 23.99% pour la macération. Les résultats obtenus ont révélé une activité antioxydante de modérée à bonne, avec des valeurs atteignant 72,61 µg ET/ml et 114,41 µg ET/ml dans les tests de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS, respectivement, selon la méthode d'équivalents Trolox. Par ailleurs, l'extrait a montré une activité enzymatique (antidiabétique) importante, comparable à celle du médicament de référence, l'acarbose. Ces résultats mettent en évidence l'influence de la méthode d'extraction sur le rendement aussi bien quantitatif que qualitatif.

Les mots clés : *Origanum majorana*, extraction, huile essentielle, activité antioxydante, activité antidiabétique.

Abstract

Since ancient times, medicinal plants gained significant interest due to their numerous therapeutic and cosmetic properties. Algeria has a rich plant biodiversity, representing a promising opportunity for the valorization of natural resources, particularly through the extraction of essential and vegetable oils.

This study explored the methanolic extraction of the local plant *Origanum majorana* (marjoram) using the Soxhlet method. A design of experiments was implemented to assess the influence of three experimental variables—particle size, solvent volume, and plant material mass—in order to optimize the process using response surface methodology. Additionally, a comparison was made with dynamic maceration to evaluate both the extraction yield and the biological activities, especially antioxidant and antidiabetic properties.

The results demonstrated the superiority of Soxhlet extraction, with yields ranging from 11.82% to 30.46%, compared to a maximum yield of 23.99% obtained through maceration. The obtained data revealed a moderate to good antioxidant activity, with values of 72.61 $\mu\text{g TE/mL}$ and 114.41 $\mu\text{g TE/mL}$ in DPPH and ABTS radical scavenging assays, respectively, based on the Trolox equivalent method. Moreover, the extract exhibited significant enzymatic (antidiabetic) activity, comparable to that of the reference drug acarbose. These findings highlight the impact of the extraction method on both the quantitative yield and the qualitative bioactivity of plant extracts.

Key words: *Origanum majorana*, extraction, essential oil, antioxidant activity, antidiabetic activity.

الملخص

منذ العصور القديمة، حظيت النباتات الطبية باهتمام واسع لما لها من فوائد علاجية وتجميلية. وتُعد الجزائر من بين أغنى البلدان تنوعاً في الغطاء النباتي، مما دفع بالعديد من الباحثين إلى دراسة استخلاص الزيوت النباتية، سواء الأساسية منها أو النباتية. في هذا الإطار، تهدف هذه الدراسة إلى استخلاص المستخلص الميثانولي من نبتة البردقوش باستخدام تقنية السوكسلت، حيث تم اعتماد تصميم تجريبي لدراسة تأثير ثلاث متغيرات: حجم الجزيئات، حجم المذيب، وكمية العينة النباتية. كما تمت مقارنة هذه الطريقة بطريقة النقع الديناميكي بهدف تقييم المردود الكمي والنشاطات البيولوجية، لاسيما النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للسكري. أظهرت النتائج تفوق تقنية السوكسلت من حيث المردودية، إذ تراوحت القيم بين 11% و 30%، في حين لم تتجاوز مردودية النقع 23,99%. وقد كشفت التحاليل عن نشاط مضاد للأكسدة متوسط إلى جيد، بقيم بلغت 72,61 ميكرو غرام/مل و 114,41 ميكرو غرام/مل في اختبارات اصطياد الجذور الحرة DPPH و ABTS على التوالي، وفقاً لطريقة ترولوكس Trolox، كما أظهر هذا المستخلص نشاطاً إنزيمياً مضاداً لداء السكري مهماً، بالنسبة إلى الدواء المرجعي أكاربوز. وتظهر هذه النتائج تأثير طريقة الاستخلاص على المردودية الكمية والنوعية.

الكلمات المفتاحية: بردقوش، استخلاص، زيت أساسي، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للسكري.