

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE

جامعة الجليلي بونعامة – خميس مليانة

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de **Master II**

Thème :

Etude de l'extraction et de l'activité biologique des huiles essentielles du Thym

Présenté par :

Melle : Belaid Akil Mounira

Melle : Taiba Karima

Jury d'évaluation

Président : Mme LADAIDI. A

Encadreur : Mr BRADA. M

Examineur : Mme MOSTEPHA SARI. F

Année universitaire : 2019/ 2020

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre promoteur **Pr Brada Moussa.**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil qui nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre Co- promotrice **Dr Sid Ali Lamia.***

*Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme LADJIDI. A** d'avoir accepté de présider le jury.*

Qu'Examineur trouvent ici l'expression de nos plus hautes considérations et de notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.

Merci pour les remarques, suggestions et critiques que vous avez apporté, qui nous ont permis d'enrichir ce travail.

Nous remercions également tous les enseignants du Département de Biologie et

*Nos camarades de **Master II Microbiologie Appliquée**, promotion 2020.*

Que toute personne ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements.

Karima et Mounira



Dédicaces

A ma mère Zheira ma source de tendresse et de courage ...

A mon père Belgacem qui m'a tout donné.

*A mes frères Mohamed, djamel et Abd El-halim, mes sœurs Fatima,
Rachida, Arbiya, Horiya et Amina.*

*A mes amis Mounira, Salima, Shahrzed et Razika qui font mon
équilibre, pour leur présence dans ma vie.*

A toute ma famille et à tous ceux qui me connaissent, je vous aime.

Zarima

Dédicaces

A ma mère Fatima Zohra ma source de tendresse et de courage ...

Je dédie ce modeste travail à mon père Mohamed qui m'a tout donné

A mes frères, mes sœurs et mon cousins...

A mon binome Karima et sa famille.

A mes amis Salima, Phahrazed, Razika, Ahlem, Imane et

Laila.

A toute ma famille et à tous ceux qui me connaissent, je vous aime.

Mounira

ملخص

الزعر نبت عطري منتشر في الجزائر ويستخدم على نطاق واسع من قبل السكان المحليين لخصائصه الطبية . كجزء من تميم النباتات الجزائرية ، يتمثل عملنا في تسليط الضوء على : استخراج واستعادة الزيوت الأساسية من *Thymus fontanesii* التي تم جمعها في العبادية (ولاية عين الدفلة) ، والتوصيف الفيزيائي والكيميائي و الحسية من الزيوت الأساسية المستخرجة ، وتحليل تركيبها الكيميائي عن طريق كروماتوجرافيا الغاز (GC) والكروماتوجرافيا الغازية إلى جانب قياس الطيف الكتلي (GC / MS) ودراسة أنشطتها المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة .

وفقا لنتائج الدراسات المطبقة على الزيت الأساسي للزعر، فإن العائد الناتج عن التقطير المائي (HD) من أوراق *T. fontanesii* من منطقة مستغانم (الجزائر) هو 2 % ، وهو أمر مثير للاهتمام للاستغلال الصناعي . أعطى استخراج الزيوت الأساسية من *T. fontanesii* ، بالحث الكهرومغناطيسي (IEM) ، الذي تم جمعه في منطقة عين الدفلة ، إنتاجية متغيرة (0.1 ± 3.1 - 0.04 ± 0.64) % (مقارنة بـ 0.02 - 2.6 - 0.01 ± 0.48) HD % . (أشارت تحليلات GC / MS و GC إلى وجود النمط الكيميائي : كارفاكول (0.8 ± 55.1 إلى 1.9 ± 63.9) % مع المركبات الرئيسية الأخرى (9.2 ± 1.2 p-cymene : إلى 14.3 ± 1.3) % و (11.6 ± 1.5 γ-terpinene إلى 14.9 ± 0.8) %). يتم تحديد نشاط مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية - *T. fontanesii* من خلال استخدام ثلاث طرق : اختبار DPPH ، وتقليل قوة الحديد وتنشيط التبييض لـ β-carotene. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن *T. fontanesii* EO له نشاط كبير كمضاد للأكسدة .فاعلية ذرات التكافؤ في سلالات *T. fontanesii* على البكتيريا (*E. coli* ATCC 25922 ، *P. aeruginosa* ، *S. aureus* ATCC 25923 ، ...) والفطريات (*C. albicans* 444IPP) ، باستخدام تقنية التصوير العطري ومن خلال طريقة الاتصال المباشر ، يوضح أن القوة المضادة للميكروبات لهذا الزيت مهمة جداً وتتميز بمفعول مبيد للجراثيم ضد البكتيريا الجرام والجراثيم ضد بكتيريا غرام + . هذا النشاط أكثر أهمية للفطريات من البكتيريا . يمكن استخدام الزيوت الأساسية الخاصة بـ *T. fontanesii* في صناعة الأغذية و / أو في الصيدلة .

الكلمات المفتاحية: *T. fontanesii* ، استخراج ، زيت عطري ، تركيب كيميائي ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات.

Résumé

Le thym est une plante aromatique, très répandue en Algérie et très utilisée par les populations locales pour ses vertus médicinales. Dans le cadre de la valorisation des plantes algériennes, notre travail consiste à mettre en évidence : l'extraction et la récupération des huiles essentielles (HE) de *Thymus fontanesii* récoltée à El Abadia (W. Ain Defla), la caractérisation physico-chimique et organoleptique des HE extraites, l'analyse de leur composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) et, l'étude de leurs activités antibactérienne et antioxydante.

Selon les résultats de littérature réalisées sur l'huile essentielle du thym, le rendement obtenu par hydrodistillation (HD) à partir des feuilles de *T. fontanesii* de la région de Mostaganem (Algérie) est de 2%, il est intéressant pour l'exploitation industrielle. L'extraction de l'HE de *T. fontanesii*, par induction électromagnétique (IEM), récolté dans la région d'Ain Defla a donné un rendement variable de ($0.64 \pm 0.04 - 3.1 \pm 0.1\%$) en comparaison avec HD ($0.48 \pm 0.01 - 2.6 - 0.02\%$). Les analyses par GC/MS et GC ont indiqué la présence du chémotype: carvacrol (55.1 ± 0.8 à $63.9 \pm 1.9\%$) avec d'autres composés majoritaires : p-cymène (9.2 ± 1.2 à $14.3 \pm 1.3\%$) et γ -terpinène (11.6 ± 1.5 à $14.9 \pm 0.8\%$). L'activité antioxydante de l'HE de *T. fontanesii* est déterminée par l'utilisation de trois méthodes : le test du DPPH, le pouvoir réducteur du fer et l'inhibition de blanchiment de β -carotène. Les résultats obtenus ont montré que l'HE de *T. fontanesii* possède une activité antioxydante importante. L'activité de l'HE de *T. fontanesii* sur les souches bactériennes (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ATCC 25923,...) et fongiques (*C. albicans* 444IPP), par la technique de l'aromatogramme et par la méthode de contact direct, montre que le pouvoir antimicrobien de cette huile est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les bactéries Gram⁻ et bactériostatique contre les bactéries Gram⁺. Cette activité est plus importante sur les champignons que sur les bactéries. Les HES de *T. fontanesii* pourraient être utilisées dans le domaine de l'agroalimentaire et/ou en pharmacie.

Mots clés : *Thymus fontanesii*, extraction, huile essentielle, composition chimique, activité anti- oxydante, activité antimicrobiennes.

Abstract

Thyme is an aromatic plant, widespread in Algeria and widely used by local populations for its medicinal properties. As part of the valorization of Algerian plants, our work consists in highlighting: the extraction and recovery of essential oils (ET) of *Thymus fontanesii* collected in El Abadia (W. Ain Defla), the physico-chemical characterization and organoleptic of the extracted EOs, the analysis of their chemical composition by gas chromatography (GC) and by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC / MS) and the study of their antibacterial and antioxidant activities .

According to the results of literature carried out on the essential oil of thyme, the yield obtained by hydrodistillation (HD) from the leaves of *T. fontanesii* from the region of Mostaganem (Algeria) is 2%, which is interesting for industrial exploitation. Extraction of EO from *T. fontanesii*, by electromagnetic induction (IEM), collected in the region of Ain Defla gave a variable yield of (0.64 ± 0.04 - $3.1 \pm 0.1\%$) in comparison with HD (0.48 ± 0.01 - $2.6 - 0.02\%$). GC / MS and GC analyzes indicated the presence of the chemotype: carvacrol (55.1 ± 0.8 to $63.9 \pm 1.9\%$) with other major compounds: p-cymene (9.2 ± 1.2 to $14.3 \pm 1.3\%$) and γ -terpinene (11.6 ± 1.5 to $14.9 \pm 0.8\%$). The antioxidant activity of *T. fontanesii* EO is determined by the use of three methods: the DPPH test, the reducing power of iron and the bleaching inhibition of β -carotene. The results obtained showed that *T. fontanesii* EO has significant antioxidant activity. The activity of the EO of *T. fontanesii* on bacterial (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ATCC 25923,...) and fungal (*C. albicans* 444IPP) strains, by the aromatoqram technique and by the direct contact method, shows that the antimicrobial power of this oil is very important and is characterized by a bactericidal action against Gram - bacteria and bacteriostatic against Gram + bacteria. This activity is more important on fungi than on bacteria. The ETs of *T. fontanesii* could be used in the food industry and / or in pharmacy.

Key words: *Thymus fontanesii*, extraction, essential oil, chemical composition, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Table des matières

Résumé

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

INTRODUCTION 01

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.A). La matière végétale : «Le thym »

I.A.1. Introduction	03
I.A.2. Les plantes aromatiques	03
I.A.3. Les plantes médicinales	03
I.A.4. Classification des plantes médicinales et aromatiques.....	03
I.A.4.1. Systématique botanique de la plante	04
I.A.5. Les lamiacées	04
I.A.6. La plante étudiée thym : « genre <i>Thymus</i> ».....	05
I.A.6.1. Historique	05
I.A.6.2. Le genre <i>Thymus</i>	05
I.A.6.3. Caractéristiques botaniques.....	06
I.A.6.3.1. Description morphologique.....	06
I.A.6.3.2. Classification botanique.....	06
I.A.6.3.3. Nomenclature vernaculaire et commune	07

I.A.6.3.3.1.Noms vernaculaires	07
I.A.6.3.3.2.Nom scientifique	07
I.A.6.4.Répartition géographique.....	07
I.A.6.4.1.Dans le monde.....	07
I.A.6.4.2.En Algérie.....	08
I.A.6.5. Huile essentielle du thym.....	09
I.A.6.5.1 Les différentes molécules présentes dans l'HEs du Thym	10
I.A.6.6.Propriétés physico-chimiques des HE.....	13
I.A.6.7.Biosynthèse des composés chimiques et structures d'HEs.....	13
I.A.6.7.1.Composés terpéniques.....	14
I.A.6.7.2 Composés aromatiques.....	15
I.A.6.8. Principales utilisations du thym	16
I.B) Travaux antérieurs :	
I.B.1.Introduction	17
I.B.2. L'huile essentielle de thym	17
I.B.2.1. Rendement d'HE de thym	17
I.B.2.2.compositions chimiques d'HEs du thymus en l' Algérie.....	17
I.B.2.3.compositions chimiques d'HEs de thymus dans le monde.....	18
I.B.2.4.caractéristiques organoleptiques d'HEs du thym	20
I.B.2.5. Propriétés physico-chimiques d'HEs de thym.....	20
I.B.2.6.Propriétés physiques et caractéristiques organoleptiques de l'HE de thym	21
I.B.2.7.cinétique d'extraction de l'HE de thym	22
I.B.2.8. Taux d'Humidité de thym.....	23
I.B.2.9. L'activité biologique d'HEs du thym.....	23
I.B.2.9.1. l'activité antioxydante.....	24
I.B.2.9.2. Activité antimicrobienne.....	25
I.B.2.9.2.1. L'activité antibactérienne.....	25
I.B.2.9.2.2. L'activité antifongique.....	26
I.B.2.9.2.3. Activité insecticide.....	28
I.B.2.9.2.4. Activité anti inflammatoire.....	29

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1.Objectif de travail.....	30
-------------------------------	----

II. 2. Lieu et période de travail.....	30
II.3. Matériel biologique.....	31
II.3.1. Matériel végétal « Le thym ».....	31
II.3.1.1. Description botanique.....	31
II.3.1.2 Récolte et séchage.....	31
II.4. L'extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanessii</i>	33
II.4.1.Choix des méthodes d'extraction.....	33
II.4.2. Hydrodistillation.....	33
II.4.3. Induction électromagnétique.....	34
II.5. Détermination du taux d'humidité.....	36
II.6. Calcul du rendement.....	36
II.7. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle.....	36
II.8. Caractéristiques des huiles essentielles.....	37
II.8.1.Étude des propriétés organoleptiques.....	37
II.8.2. Étude des propriétés physico-chimiques.....	37
II.8.2. 1. Les propriétés physiques.....	38
II.8.2. 2. Les propriétés chimiques.....	38
II.9.Analyse de la composition chimique des huiles essentielles	41
II.10. Les activités biologiques de l'huile essentielle.....	41
II.10.1 Evaluation de l'activité antioxydante.....	42
II.10.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	42
II.10.1.2. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique.....	42
II.10.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	44
II.10.2.1. Milieux de culture.....	45
II.10.2.2. Les souches microbiennes testées.....	46
II.10.2.3. Conservation des souches	46
II.10.2.4. Préparation de l'inoculum.....	47
II.10.2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur Disques.....	47
II.10.2.6.Evaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de micro-dilution en milieu liquide (CMI).....	48
Chapitre III : Résultats et discussion	
III. Résultats et discussion.....	51
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	52

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES55

ANNEXES

Liste des abréviations

Ab : Absorbance

AFNOR : Association française de normalisation

AML : amoxicilline

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé par la spectrométrie de masse

CMI : concentration minimale inhibitrice

D:densité

DPPH : 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle

DMI : dilution minimale inhibitrice

DMSO : Dimethyl sulfoxide

GN : Gélose nutritive

HD : Hydrodistillation

HE : Huile essentielle

I% : Pourcentage d'inhibition

IA : Indice d'acide

IC50 : Concentration inhibitrice 50. La concentration inhibitrice à 50% (IC50)

IEM : Induction électromagnétique

IK : Indice de Kovats

IR : Indice de réfraction

KOH : Hydroxyde de potassium

MH : Milieu Mueller Hilton

MHB : Bouillon Mueller Hinton

NaCl : chlorure de sodium

PI : pourcentage d'inhibition

RHE : rendement d'extraction d'huile essentielle.

SDB : Bouillon Sabouraud Dextros

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

TR : Temps de rétention

UFC : unité formant colonie

Table des tableaux

N°	Titre	Page
I	Classification botanique du thym	6
II	Localisation des principales espèces du Thym en Algérie	8
III	Utilisations traditionnelles du thym.	16
IV	Évaluation du rendement en huiles essentielles. Cas de <i>Thymus vulgaris</i> durant les mois Mars, Avril, Mai	17
V	Compositions chimiques de l'HE de quelques espèces de thym en Algérie	17
VI	Principaux composés de l'HE de quelques espèces de thym dans le monde	18
VII	Caractéristiques organoleptiques des différentes espèces du thym	20
VIII	Indices physiques et chimiques de l'HE fraîchement extraite de thym	21
IX	Les propriétés physiques et caractéristiques organoleptiques de l'HE de thym	22
X	Concentration minimale inhibitrice d'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	25
XI	Lieu et période de travail	30
XII	Les caractéristiques géographiques de la région de récolte de la plante	33
XIII	Les souches microbiennes testées	46

Table des figures

N°	Titre	Page
1	Aspect morphologique du Thym	6
2	Distribution géographique du thym dans le monde	8
3	Structure chimique des principaux composants présents dans les plantes du genre <i>Thymus</i>	12
4	Biosynthèse des terpènes	14
5	Structures chimiques de certains terpènes	15
6	Structure de quelques composés aromatiques	15
7	<i>Thymus fontanessii</i> ; a) plante fraîche; b) plante sèche	32
8	Situation de zone d'étude	32
9	Montage d'extraction par Hydrodistillation	34
10	Montage de l'extraction assisté par induction électromagnétique	35
11	Piégeage des radicaux libres	42
12	Les étapes de la réalisation de l'activité antioxydante	43
13	Pouvoir réducteur de fer	45

Introduction générale

Introduction générale

Depuis les temps les plus anciens, l'homme a appris à utiliser les ressources végétales que le monde lui offre pour ses besoins élémentaires; pour se nourrir, se soigner et même parfois dans ses rites religieux en ramassant tout d'abord les racines, les feuilles, les graines et les fruits sauvages, en se consacrant ensuite à la culture des espèces. L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle, que sont les plantes, est l'extraction de leurs huiles essentielles; produits connus et utilisés par les égyptiens, les perses et les grecs, pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales.

Vu sa diversité climatique ainsi que la nature de ses sols, notre pays recèle des ressources végétales inestimables. Le thym est parmi les plantes les plus répandues en Algérie et dont notre pays peut tirer profit. Cette plante est très recherchée par les industries de l'aromatisation, de la parfumerie, des cosmétiques et de la pharmacologie. En effet, ses huiles essentielles ont suscité ces dernières années un intérêt particulier des chercheurs pour l'importance du rendement et l'intérêt thérapeutique qu'elle revêt.

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries (**Collectif ; «Encyclopédie des plantes médicinales 2001**).

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghibi F et al., 2005**). C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Gherman et al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006; Hilan et al., 2006**).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les Lamiacées. L'étude s'est portée sur l'espèce « *Thymus fontanesii* » ; bien que relativement abondant et largement utilisé.

Introduction générale

Cette étude est exclusivement axée sur l'extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* de la région d'El Abadia (W. Ain-Defla) et ce par deux modes d'extraction, à savoir l'hydrodistillation et induction électromagnétique.

Notre choix est porté sur cette plante aromatique car elle est très répandue en Algérie et largement utilisée en médecine traditionnelle.

Notre étude sera répartie en trois chapitres, initiés par une recherche bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre en divisé en deux parties, la première est réservée à la présentation de la matière végétale « *Thymus fontanesii* » et la deuxième partie sera consacré à l'étude des travaux antérieurs réalisés sur « *T. fontanesii* »

Dans le deuxième chapitre nous présentons le matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail.

Quant aux troisième chapitre, il était résevé aux résultats et discussions.

La synthèse de ces travaux fera l'objet de la conclusion et des perspectives seront proposées.

Partie
bibliographique

*Chapitre I : Synthèse
bibliographique*

I.A. La matière végétale : Le thym

I.A.1.Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ces rites religieux (**Mebarki, 2010**). Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. Elles accumulent des métabolites dits secondaires parmi lesquels, les huiles essentielles très utilisées par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Haddouchi et Benmansour, 2008**)

I.A.2. Les plantes aromatiques

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments. Les plantes aromatiques fraîches, séchées, ou conservées peuvent servir à l'assaisonnement des mets et également donner naissance à des formes galéniques particulières que sont les extraits végétaux, les huiles essentielles ou les oléorésines (**Belaib et Saidi, 2012**)

I.A.3. Les plantes médicinales

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait, il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Benadji et Khoukhi, 2012**). Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain (**Bubulka, 2007**).

I. A.4. Classification des plantes médicinales et aromatiques

La classification des plantes peut se faire en fonction de nombreux intérêts (**Kateb, 1989**) :

- Classification botanique (systématique).

- Classification thérapeutique (action physiologique).
- Classification chimique (nature du principe actif).
- Classification commerciale (intérêt commercial).

I.A.4.1. Systématique botanique de la plante

La systématique botanique est pour un chercheur la carte d'identification de la plante et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche (**Zoubeidi, 2004**)

La connaissance de l'origine botanique de la plante destinée à l'obtention de son huile essentielle est nécessaire aussi pour les applications futures, en parfumerie, en cosmétique, en pharmacie et même en agroalimentaire. L'identité de la matière initiale (plante ou partie de plante) est indispensable pour la traçabilité et pour éviter les éventuelles fraudes. L'identification est effectuée par le fournisseur qui doit présenter un certificat d'analyse, l'acheteur, quant à lui, devrait aussi faire les tests de confirmation (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013 ; Slimani et Dahmane, 2013**).

I.A.5. Les lamiacées

La famille des lamiacées qui porte différents noms avec la famille des labiées et labiacées et dont les noms latins sont *lamiaceae* ou *labiatae*, est une assez grande famille. En effet, elle comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (**Miller et al 2006**), tels que : *Salvia* (900), *Scutellaria* (360), *Stachys* (300), *Plectranthus* (300), *Teucrium* (250) etc.....

Elle se compose surtout de plantes herbacées, des arbustes et de quelques arbres et lianes qui y sont associés. La famille des lamiacées a une distribution cosmopolite (Yuan *et al.*, 2010) ; c'est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (**Gherman et al., 2000, Hilan et al., 2006**).

Les espèces des lamiacées les plus citées dans la littérature sont : *Salvia officinalis* (**Fellah et al., 2006**), *Mentha spicata* (**Choudhury et al., 2006**), *Origanum vulgare* (**Dimitrijević et al., 2007**), *Rosmarinus officinalis* (**Gachkar et al., 2007, Marzouk et al., 2006**), *Ocimum basilicum* (**Lee et al., 2005**).

I.A.6. La plante étudiée : genre *Thymus* « ZAATER »

I.A.6.1. Historique

Le terme « thym » est apparu dans la langue française au XIII^e siècle, d'abord sous la forme de « tym ». Selon certaines sources, il est dérivé du latin *thymus*, qui l'a emprunté du grec *thumos*, signifiant, de façon quelque peu obscure, « grosseur ou loupe » (par référence à la glande, le *thymus*). D'autres pensent plutôt que le mot vient du grec *thymos* ou *thyein*, qui signifie « fumée », par allusion au fait qu'il était jadis brûlé comme encens et qu'on lui attribuait alors le pouvoir d'éloigner les créatures venimeuses. D'autres, enfin, font dériver le mot du grec *thumus*, qui signifie « courag », la plante étant jadis considérée comme revigorante.

De nos jours, le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne. Ses feuilles sont riches en huiles essentielles dont les propriétés sont mises à profit en phytothérapie et en médecine, comme produit vétérinaire : antiparasites, antispasmodique, antiseptique et digestif (Ebrahimi *et al.*, 2008 ; Rasooli *et al.*, 2006 ; Cosentino *et al.*, 1999) . Le thym est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes: les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants. Il possède des vertus antiseptiques utilisées pour soigner les infections pulmonaires, calmer les toux quinteuses, diminuer les sécrétions nasales et soulager les problèmes intestinaux (Rasooli *et al.*, 2006 ; Adwan *et al.*, 2006 ; Soto- Mendivil *et al.*, 2006).

I.A.6.2. Le genre *Thymus*

Le genre *Thymus* appartient à la tribu *Mentheae* et à la sous-famille *Nepetoideae* (Morales, 2002). Il se divise selon Jalas (1971) en huit sections : *Micantes*, *Mastichina*, *Piperella*, *Teucrioides*, *Pseudothymbra*, *Thymus*, *Hyphodromi* et *Serpyllum*. Il représente l'un des huit genres les plus importants en ce qui concerne le nombre d'espèces incluses dans la famille *Lamiaceae*, regroupant entre 250 et 350 taxons de plantes sauvages (Morales, 2002 ; Lawrence et Tucker, 2002) répartis dans toutes les régions tempérées de l'hémisphère nord mais qui sont particulièrement fréquents dans la région méditerranéenne qui semble être le centre.

I.A.6.3. Caractéristiques botaniques

I.A.6.3.1. Description morphologique

Les thyms (*Thymus*) sont des plantes basses sous-ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncée, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Soto- Mendivil *et al.*, 2006).



Fig.1: Aspect morphologique du Thym

I.A.6.3.2. Classification botanique

La classification botanique, selon Quézel, (1963) est la suivante

Tableau I: Classification botanique du thym (Quézel, 1963)

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Spermaphytes (phanérogames)
Sous embranchement	Angiosperm

Classe	Dicotylédones
Sous classe	Métachlamydées (gamopétales)
Ordre	Tubiflorales
Sous ordre	Verbéninées
Famille	Labiacées (labiées)
Genre	<i>Thymus</i>

I.A.6.3.3. Nomenclature vernaculaire et commune

I.A.6.3.3.1. Noms vernaculaires

- **En Français**

Thym (Quezel et Santa, 1963)

- **En Arabe**

Zaateur (Quezel et Santa, 1963)

I.A.6.3.3.2. Nom scientifique

Thymus (Quezel et Santa, 1963)

I.A.6.4. Répartition géographique

I.A.6.4.1. Dans le monde

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées (Naghibi *et al.*, 2005). Selon Dob *et al.*, (2006), il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est une plante très répandue dans le Nord-Ouest Africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du Sud- Ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya.

Selon une étude menée par **Nickavar *et al.*, (2005)**, environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen. C'est pour cela que l'on peut considérer la région méditerranéenne comme étant le centre de ce genre.

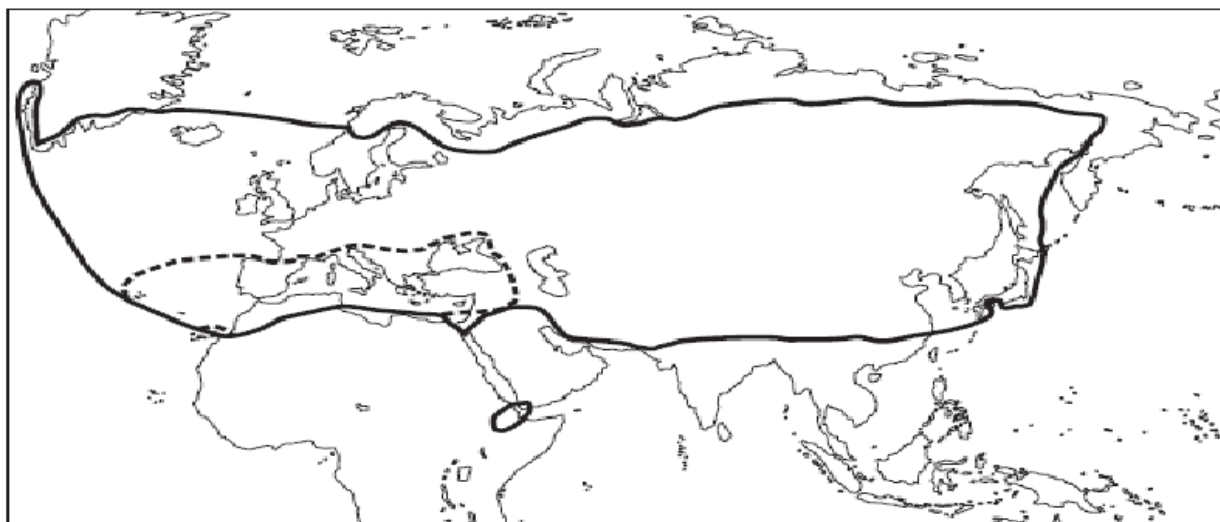


Fig.2 : Distribution géographique du thym dans le monde (Morales, 1997).

I.A.6.4.2. En Algérie

Le genre *Thymus* a colonisé le territoire de l'Algérie avec 12 espèces (**Dob *et al.*, 2006**). Parmi ces dernières, certaines sont endémiques, telles que *Thymus pallescens* de Noé, *Thymus dreatensis* Batt., *Thymus guyonii* de Noé et *Thymus lanceolatus* Desf (**Hazzit *et al.*, 2009**). Sa répartition géographique est représentée dans le « **tableau II** ».

Tableau II : Localisation des principales espèces du Thym en Algérie (Quézel, 1963).

Espèce	Découverte par	Localisation	Nom local
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux Algérois et Oranais et Constantinois.	–
<i>Thymus</i>	Batt	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux Algérois et Constantinois.	–

<i>dreatensis</i>			
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Le secteur de l'Atlas tellien (terri de Médéa et Benchicao) et sous secteur des hauts plateaux Algérois, Oranais (Tiaret).	Zaàteur
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur littoral.	Djertil Hamrya
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas Saharien	Zizerdite
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	–
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous sectoru de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne, Tell constantinois	Tizaâtarte
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des Hauts Plateaux algérois et oranais.	Djertil Zaitra

I.A.6.5. L'huile essentielle du thym

L'essence de Thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (Rasooli *et al.*, 2006). Les huiles essentielles de *Thym* sont composées par des molécules aromatiques d'origine végétale présentant une très grande diversité de structure.

La variabilité chimique des huiles essentielles de *Thym* dépend de plusieurs facteurs qui sont généralement d'ordres climatiques et environnementaux mais, qui peuvent être aussi d'ordres génétique et saisonnier (stade végétal) (**Loziene et al., 2007**). Ainsi, une étude menée par **Dob et al., (2006)** sur les *Thymus* d'Afrique du Nord a montré que le composé majoritaire est le thymol chez les espèces d'Algérie et du Maroc et le carvacrol chez les espèces de Tunisie.

I.A.6.5.1 Les différentes molécules présentes dans l'huile essentielle du Thym

α-pinène : L'*α*-pinène est un composant de la famille des carbures mono-terpéniques. On le retrouve dans de nombreuses plantes, comme le romarin, la menthe, la lavande et le thym. Il est reconnaissable pour son parfum boisé assimilable à l'odeur du pin. Cette molécule est reconnue pour ses propriétés antiseptique et anti-inflammatoire (**Damnjanovic, 2000**).

Thymol : Le thymol (2-isopropyl-5-méthylphénol) est une substance antiseptique commune qui se trouve généralement comme un cristal blanc dans l'huile essentielle et les extraits de thym. Il est responsable pour son odeur aromatique agréable

(**Wattanasatcha et al., 2012**). Le thymol est un phénol monoterpénoïde naturel dérivé du cymène, et un isomère du carvacrol (**Darre et al., 2014**). Il est couramment utilisé dans les préparations dentaires pour réduire la production de mauvaises odeurs bactériennes (**Botelho et al., 2007**). Il a également été rapporté que le thymol réduit la résistance bactérienne à certains antibiotiques comme la pénicilline (**Gallucci et al., 2006**). En outre, le thymol possède différentes propriétés biologiques et pharmacologiques telles qu'antimutagène, antitumorale, antioxydant, anti-inflammatoire, etc ... (**Bhalla et al., 2013 ; Dob et al., 2011**).

Carvacrol : Le carvacrol (5-isopropyl-2-méthylphénol) est un phénol monoterpénoïde, responsable de l'odeur chaude de l'origan (**De Martino et al., 2009**). Le carvacrol se trouve principalement dans certaines espèces végétales : le thym, l'origan et la bergamote sauvage (**Singh et Chittenden, 2010**). Le carvacrol montre un large éventail d'activités biologiques telles qu'antibactérienne, antifongique, antioxydante, anticancéreux, etc... (**Cavalcanti et al., 2000 Wattanasatcha et al., 2012**). En raison de son odeur agréable et de son activité antimicrobienne, le carvacrol est utilisé comme additif alimentaire pour la prévention de la croissance des bactéries et contamination (**Özcan et al., 2007**). De nombreux rapports ont montré que le carvacrol a un rôle puissant comme protecteur contre les bactéries, les

champignons, les levures, les acariens et aussi les insectes (**Altintas et al., 2013 ; Nostro et al., 2009**). Le carvacrol est de nature hydrophobe et, en raison du groupe hydroxyle libre, le squelette chimique ainsi que le système électronique délocalisé affectent la membrane cytoplasmique des bactéries et de cette façon exerce leurs effets antibactériens (**De Sousa et al., 2012**).

Limonène : Le limonène est un hydrocarbure des monoterpènes. C'est une molécule chirale qui existe sous deux formes énantiomères : (R) (+)-limonène et le (S) (-)-limonène, l'une donne le parfum du citron et l'autre celui de l'orange (Figure15). Il possède une activité anticancéreuse à la fois *in vitro* et *in vivo* (**Crowelle et al 1994, Elson 1995**).

p-Cymène : Le p-Cymène est le précurseur biologique du carvacrol. C'est un hydrocarbure aromatique naturel (alkyle-substitué) qui se trouve dans différentes espèces végétales tel que le thym et le cumin (**Eaton, 1997 ; Juven et al, 1994**). Structurellement, le p-cymène contient un cycle benzénique qui est remplacé par un groupe méthyle ainsi qu'un groupe isopropyle. Il est connu comme un agent antibactérien hydrophobe le plus important du thym (**Eaton, 1997**). Il a été rapporté que l'o-cymène (qui contient des groupes alkyle ortho-substitués) et le m-cymène (qui contient des groupes alkyle méta-substitués) sont deux isomères géométriques de p-cymène (**Romanenko et al., 2006**).

Linalool : Le linalool est un alcool terpénique de masse moléculaire 154,24 g/mol, présent à l'état naturel dans les huiles essentielles de la lavande et du lavandin, du pin sylvestre ou de la menthe poivrée ou encore dans nombre d'extraits végétaux. Possédant une odeur florale et fraîche, il est souvent utilisé dans l'aromathérapie comme relaxant et traitement pour l'anxiété. Il est connu pour ces activités : anti-inflammatoires et analgésiques (**Peana et al 2003, De Sousa et al 2010**).

Terpinène : Les terpinènes sont des hydrocarbures isomères qui ont des différences dans l'emplacement de leurs doubles liaisons carbone-carbone dans leur structure chimique. Le γ -terpinène a une structure chimique de l' α -phellandrène. C'est un produit naturel bien connu, utilisé dans les parfums et les arômes, il est largement trouvé dans différents plantes médicinales et aromatiques. En fait, le γ -terpinène est l'un des principaux composants chimiques de l'huile essentielle du thym qui possèdent des activités biologiques puissantes, notamment antioxydantes et propriétés antibactériennes

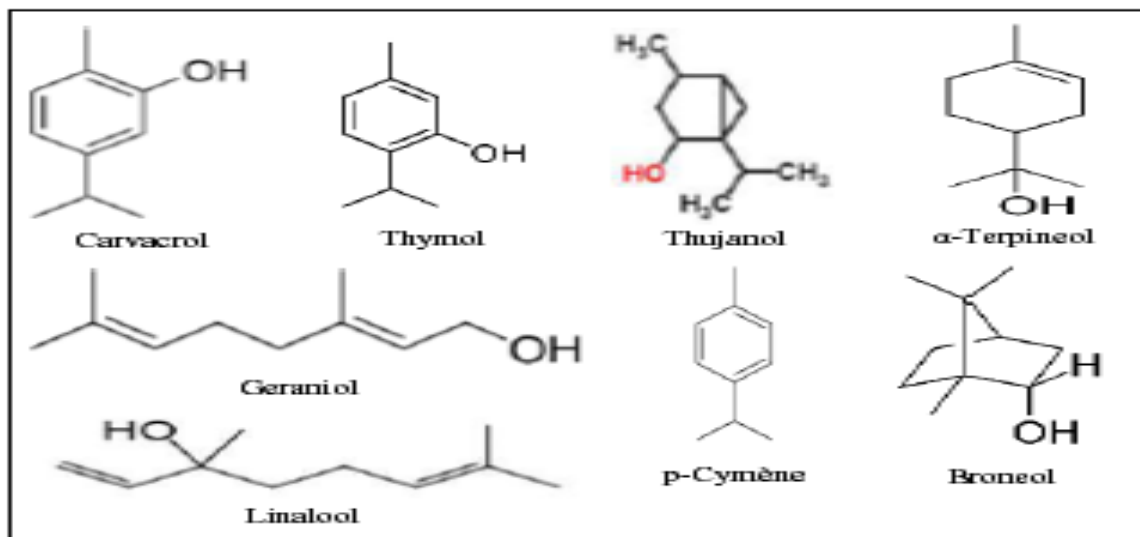


Fig.3 : Structure chimique des principaux composants présents dans les plantes du genre *Thymus* .

Les espèces du thym peuvent être regroupées selon des **chénotypes** identifiés par la richesse en certains composants :

Chémotype 1 : huile riche en carvacrol,

Chémotype 2 : huile riche en monoterpènes aromatiques (principalement thymol) et plus pauvre en carvacrol, α -terpinène et méthyle carvacrol,

Chémotype 3 : huile riche en 1,8-cinéole,

Chémotype 4 : huile riche en linalol,

Chémotype 5 : huile riche en citral,

Chémotype 6 : huile riche en α -terpinéol,

Chémotype 7 : huile riche en monoterpènes aromatiques et bornéol,

Chémotype 8 : huile riche en géranol,

Le thym, selon sa constitution chimique, n'aura pas le même effet thérapeutique. Les thymus forts dits « rouges » ont une dominance à thymol ou à carvacrol. Le chémotype à thymol

présente une puissante et une saveur piquante. Les thym forts poussent sous des collines en bordures de la méditerranée et sont efficaces contre les maladies infectieuses et microbiennes aiguës. Ils sont, par ailleurs légèrement dermo et hépto-toxique. Les thym doux « dits jaunes » ont une dominante à géraniol ou linalol. Leur odeur est citronnée. Ils sont bactéricides mais ne présentent aucune toxicité (Sid Ali, 2019).

I.A.6.6. Propriétés physico-chimiques des HE

Malgré leur différence de constitution, les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physico-chimiques communes très connues à savoir :

- ✓ A température ambiante, elles sont généralement liquides ; alors qu'elles sont volatiles à température élevée, c'est leur volatilité qui les distingue des huiles fixes telles que l'huile d'olive et l'huile d'amande douce ;
- ✓ Elles sont incolores ;
- ✓ Pouvoir intense de diffusion et de pénétration ;
- ✓ Elles ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau ($d < 1$), mais il existe des exceptions (les huiles essentielles de girofle) ;
- ✓ Elles possèdent un indice de réfraction généralement élevé ;
- ✓ Elles sont peu solubles dans l'eau (entraînables à la vapeur d'eau) ;
- ✓ Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels, dans les graisses (liposolubles), et dans les alcools (Jean, 1993).
- ✓ Elle se caractérise aussi par pouvoir rotatoire, viscosité, point d'ébullition et de congélation (Kanko *et al.*, 2004).

I.A.6.7. Biosynthèse des composés chimiques et structures des huiles essentielles

Les huiles essentielles végétales sont habituellement le mélange complexe des composés polaires et non polaires (Massagno, 2005). En général, les constituants des huiles essentielles appartenant principalement à deux grands groupes chimiques, à savoir les composés terpéniques et les composés aromatiques (Bakkali *et al.*, 2008).

I.A.6.7.1. Composés terpéniques

Les terpènes sont des constituants très importants de la plupart des huiles essentielles. La biosynthèse de cette famille de produit naturel est résumée dans la figure n°3. En effet, l'acide mévalonique, métabolite important dans la biosynthèse des terpènes se transforme en deux unités de pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et de pyrophosphate de diméthylallyle. La combinaison de ces deux pyrophosphates produit le pyrophosphate de géranyle (GPP), qui à son tour se transforme en géraniol et autres monoterpènes. La synthèse des autres terpènes s'effectue à la suite de condensations d'autres unités d'IPP (**François-Xavier, 2001**).

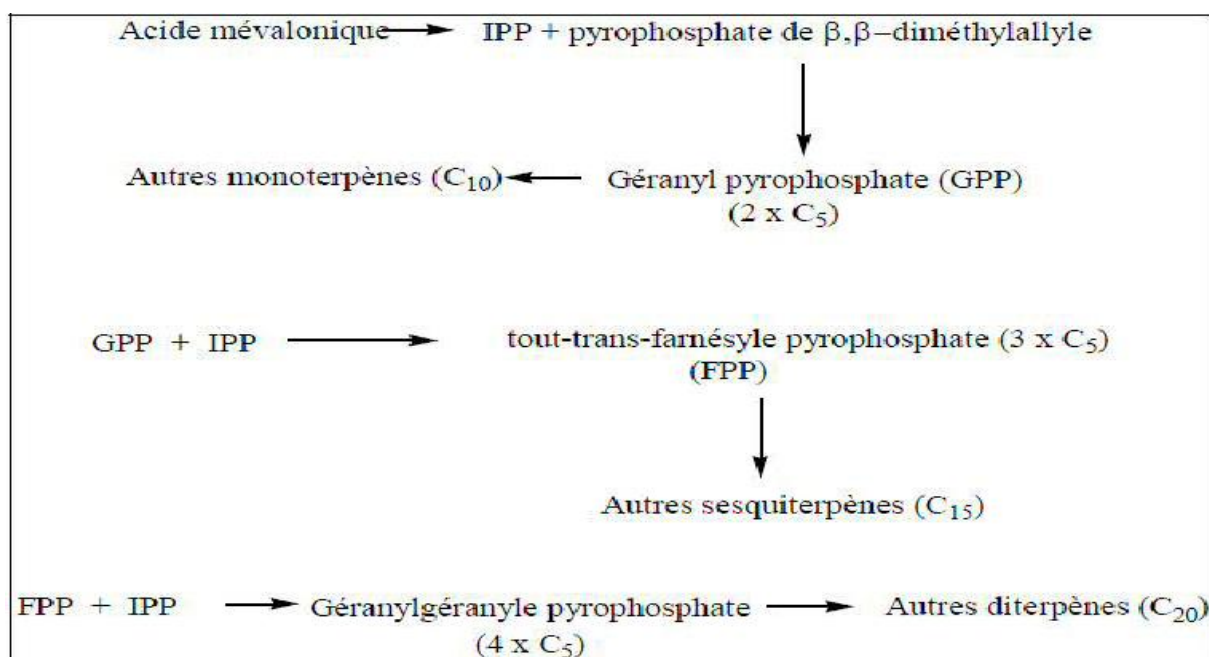


Fig 4 : Biosynthèse des terpènes (François-Xavier, 2001).

a. Monoterpènes

Les carbures sont presque toujours présents, ils peuvent être acyclique, monocyclique ou bicyclique, ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (**Jean, 2009**).

b. Sesquiterpènes

Les propriétés structurales principales sont similaires par rapport aux monoterpènes (**Bruneton, 1999**).

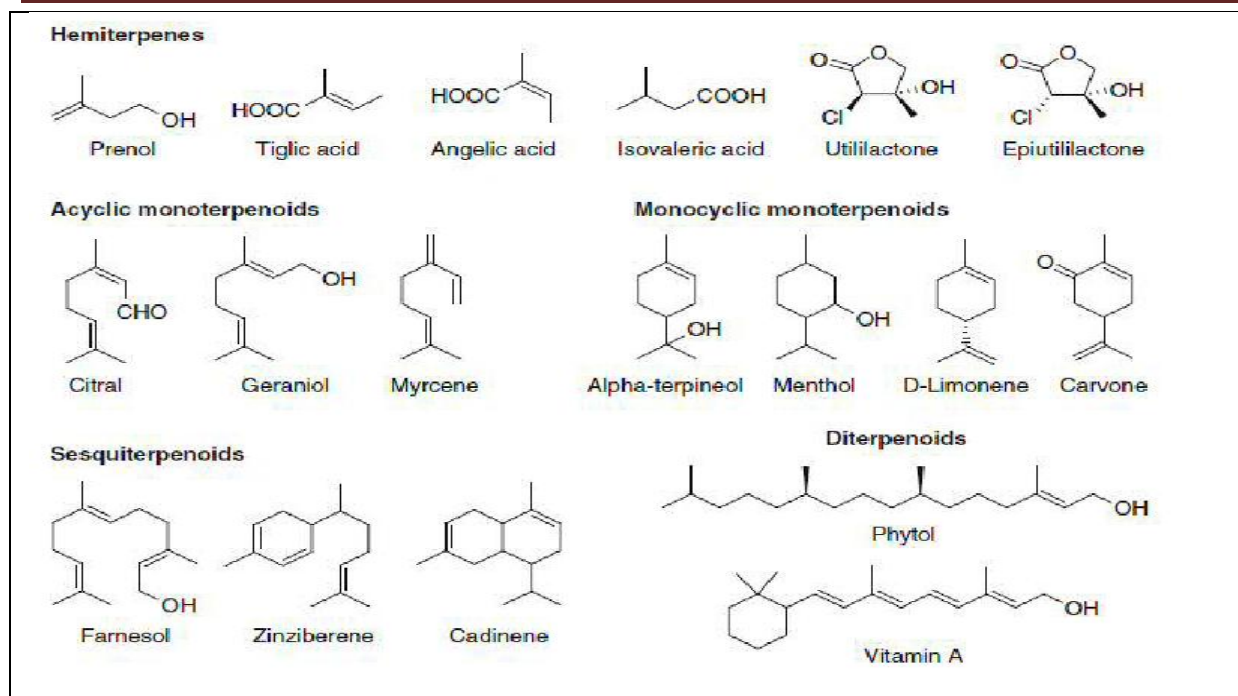


Fig.5 : Structures chimiques de certains terpènes (Brahmkshatriya et Brahmshatriya, 2013).

I.A.6.7.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Ce sont souvent des allyles- et des propénylphénols, et rarement des aldéhydes dans les huiles essentielles des composés en (C6- C3) tels que la vanilline et l'antranilate de méthyle (fig n°6) (Bruneton, 1999).

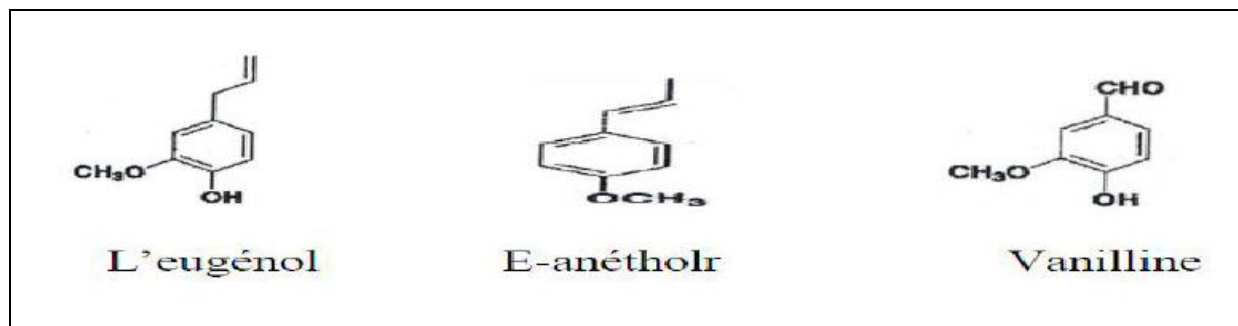


Fig 6 : Structure de quelques composés aromatiques (Bruneton, 1999).

I.A.6.8. Principales utilisations du thym

Le thym possède un large spectre d'utilisation (Tableau III).

Tableau III : Utilisations traditionnelles du thym.

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi	Références
Plante entière	Fièvre Rhumes grippes Maladies broncho-pulmonaires	De l'eau avec la plante, mettre une serviette sur la tête, et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite, boire une tasse de cette décoction filtrée avant de se coucher.	Rasooli <i>et al.</i>, 2006
Racines	Diarrhée	Décoction	Pina-Vaz <i>et al.</i>, 2004
Feuilles	Fièvre La toux Les blessures Infection	Utilisées comme poudres ou en infusions.	El Bouzidi <i>et al.</i>, 2013
Feuilles et fleurs	Condiment culinaire	Employée pour donner de saveur à la viande. Conserve plus longtemps les aliments et empêche la formation des moisissures.	Miura <i>et al.</i>, 2002
Plante entière	Antiseptiques Antispasmodiques Antimicrobiennes	Décoction ou infusion.	Nickavar <i>et al.</i>, 2005; Pirbalout, 2013.

I.B. Travaux antérieurs**I.B.1. Introduction**

De nombreux travaux ont été effectués sur le thym pour connaître la composition chimique, l'effet antioxydant et l'effet antimicrobien de son huile essentielle.

I.B.2. L'huile essentielle de thym**I.B.2.1. Rendement d'huile essentielle de thym**

Selon les résultats de **Sid Ali *et al.*, (2014)**, l'huile essentielle de couleur jaune a été obtenue par hydrodistillation des feuilles fraîches et sèches avec des rendements variant respectivement de 0,45 à 0,74% et de 0,96 à 2,7% (Tableau IV). Le rendement s'améliore en fonction de la période d'inflorescence de la plante qui correspond au début du mois de Mai. De plus l'hydrodistillation de la matière végétale sèche et fraîche montre qu'à l'état sec les rendements sont meilleurs que ceux de la matière fraîche.

Tableau IV : Évaluation du rendement en huiles essentielles (R_{HE} %). Cas de *Thymus vulgaris* durant les mois Mars, Avril, Mai

Période de récolte	R_{HE} (%) de la plante fraîche	R_{HE} (%) de la plante sèche
Mars	0,45	0,96
Avril	0,64	1,94
Mai	0,74	2,7

I.B.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle de thymus d'Algérie

Le tableau ci-dessous représente les résultats de l'analyse de l'huile essentielle de quelques espèces de thym en Algérie.

Tableau V : Composition chimique de l'HE de quelques espèces de thym en Algérie

Auteurs	Espèces	Compositions majoritaires (%)
Kabouche <i>et al.</i>, 2005	<i>T. numidicus</i>	Thymol (68,2), carvacrol (16,9), linalool (11,5)

Haddaf et al., 2004	<i>T. numidicus</i>	Thymol (60,80), carvacrol (5,10), p-cymène (10,30), γ -terpinène (7,60), linalool (8,00)
	<i>T. vulgaris</i>	Thymol (25,40), carvacrol (11,30), p-cymène (26,20), thymol-quinone (10,42)
Zeghib et al., 2013	<i>T. numidicus Poiret</i>	Thymol (23,92), Linalol (17,20) γ -terpinène (10,84)

Les composants majoritaires pour certaines espèces du thym en Algérie sont : le thymol, le carvacrol, le γ -terpinène, le linalool.

I.B.2.3. Compositions chimiques de l'huile essentielle de thymus dans le monde

Le tableau (VI) représente les résultats de l'analyse de l'huile essentielle de quelques espèces de thym de divers pays.

Tableau VI : Principaux composés de l'HE de quelques espèces de thym dans le monde

Auteurs	Espèces	Pays	Compositions majoritaires (%)
Kowal et Krupinska, 1979	<i>Thymus pulegoide</i>	Pologne	linalool (22,345) ; Carvacrol (4,931), thymol (1- 4).
Kastrak et al, 1990	<i>Thymus pulegoide</i>	Ex Yougoslavie	(6- 15) de p-cymène). Similaire à celui de la Pologne
Domokos et al, 1995	<i>Thymus pulegoide</i>	Bulgarie	néral (18,7) ; gèranial (52,8).
Senatore, 1996	<i>Thymus pulegoide</i>	Italie	(γ -terpinène, p-cymène et thymol) ($\leq 39,1$)
Mockute et Berntiene,	<i>Thymus pulegoide</i>	Lithuanie	existence de deux chémotypes : - citral/gèranial. – carvacrol

1990			
Loziene et al., 2003	<i>Thymus pulegoide</i>	Lithuanie	existence de cinq chémotypes : - linalool ; – thymol ; - carvacrol/ γ terpinène/p cymène ; - thymol/ carvacrol/ p-cymène/ γ -terpinène. - géranial/ géraniol/ néral.
Karaman et al., 2001	<i>Thymus revolutus</i>	Turquie	carvacrol (43,13), γ -terpinène (20,86). p-cymène (13,94)
Fleiro et al., 2003	<i>Thymus comphoratus</i>	Portugal	riche en linalool (11,4)
	<i>Thymus lotocephatus</i>		
	<i>Thymus mastichina</i>		
Rassooli et abyaneh, 2004	<i>Thymus eriocalyx</i>	Iran	riche en thymol (64,3), riche en β -phellandrene (39,4)
	<i>Thymus x-porlock</i>		
Baydar et al.,2004	<i>Thymbra</i>	Turquie	carvacrol (75), γ -terpinène (11,6), p-cymène (9,2)
Tomaino et al., 2005	<i>Thymus Vulgaris</i>	France	linalool (61,7), thymol (45,3)

La variation détectée dans la composition chimique de l'huile essentielle du thym issu de différents pays est liée à plusieurs paramètres tels que : le facteur environnemental, les conditions climatiques et géographiques variant d'un pays à un autre et la période de récolte. La méthode d'extraction influe aussi considérablement sur la composition chimique de l'huile (Mebarki, 2010).

I.B.2.4. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du thym

Selon les résultats de Chikhoun (2007), les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de trois espèces du thym sont résumées dans le tableau VII. Ces huiles essentielles sont extraites à partir de la plante prélevée aux régions d'Ouzellaguen (Béjaïa), Boussaâda (Msila), Takoucht (Tizi-Ouzou).

Tableau VII: Caractéristiques organoleptiques de différentes espèces du thym

Plantes	Caractéristiques organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Thymus munbyanus</i>	Liquide mobile	Jaune claire	Caractéristique, aromatique, Phénolique, agréable avec un fond légèrement épicé
<i>Thymus pallescens</i>	Liquide mobile	Orangée	
<i>Thymus dreatensis</i>	Liquide mobile	Jaune orangé	

I.B.2.5. Propriétés physico-chimiques d'huile essentielle de thym

Haddouchi *et al.*, (2009) ont étudié les propriétés physiques et chimiques de *T. fontanesii*. L'huile essentielle est extraite à partir de la plante prélevée à la région de Mostaganem. Les résultats sont regroupés dans le tableau VIII. Ces résultats sont en conformité aux normes A.F.N.O.R.

La densité, l'indice de réfraction et l'indice d'ester sont comparables à ceux de *Thymus vulgaris*. La miscibilité à l'éthanol à 95° et l'indice d'acide sont largement inférieurs aux valeurs données, des huiles essentielles du *T. vulgaris*.

Le pouvoir rotatoire, +3.4313, montre que cette huile essentielle est dextrogyre. Les caractères chimiques : indice d'acide, indice d'ester, indice d'iode, indice de peroxyde sont récapitulés dans le tableau ci-dessous..

Tableau VIII: Indices physiques et chimiques de l'HE fraîchement extraite de thym

Les propriétés	Résultats	Valeurs comparées aux :	
		<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Thymus logiflorus</i>
Densité spécifique	0,9219	0,9-0,955	0,917
Indice de réfraction	1,4999	1,491 à 1,510	1,470
Pouvoir rotatoire	+3,4313	-5° à 0°	+1 ,8
Miscibilité à l'éthanol à95°	0,6V/1V	2V/1V/-3V/1V	2g/7ml
Point de congélation	≤-20°	-	-
Indice d'acide	1,458	8,4*	-
Indice d'ester	16,83	18,2*	-
Indice d'iode	502,524	-	-
Indice de peroxyde	8000	-	-

I.B.2.6. Propriétés physiques et caractéristiques organoleptiques de l'HE de thym

Dans une autre étude faite par **Saidj, (2007)** sur *Thymus numiducus* kabylica, l'huile essentielle est extraite à partir de la plante prélevée de la région de Yakhourén (W. Tizi Ouzou) pour déterminer les constantes physiques de l'HE extraite ainsi que ses caractéristiques organoleptiques. Les résultats sont rassemblés dans le tableau IX.

Tableau IX : Propriétés physiques et caractéristiques organoleptiques de l'HE de thym.

Valeurs mesurées		Constantes physiques		Caractéristiques organoleptiques		
		Densité relative à 20°C	Indice de réfraction 20°C	Aspect	Couleur	Odeur
		0,8826	1,5015	Liquide mobile	Jaunâtre Jaune pale	+Agréables, aromatique avec un fond épicé
Valeurs De références	Espagne AFNOR 0900-0920	14620-14680	Liquide mobile			
	Espagne AFNOR 0910-0937	14940-15040	Liquide mobile			
	France(Masada 1976). 0911-0931	14900-15000	Liquide mobile			

Cependant, celle-ci a été comparée avec l'huile essentielle d'Espagne et de France. L'huile essentielle de ces espèces présente les mêmes caractéristiques organoleptiques que celle de l'espèce étudiée ; elles ont le même aspect liquide, même odeur, mais la couleur est un peu différente.

La valeur obtenue pour l'indice de réfraction se situe dans le domaine de variation des valeurs de référence particulièrement celles d'Espagne (b) et de France. La densité est relativement faible ; ceci pourrait être dû à la nature du végétal utilisé et éventuellement aux conditions opératoires et à la composition chimique.

I.B.2.7. Cinétique d'extraction de L'HE de thym

Dans le but d'étudier l'influence de l'état de la matière végétale (entière – broyée) sur la cinétique d'extraction , l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction de la durée

d'extraction a été réalisé. Une masse d'environ 100g a été soumise à une hydrodistillation pendant une durée de 120 min. Les volumes ont été enregistrés à des intervalles de temps régulières. Cette étude a été réalisée sur les espèces de thym : *T. palleescens* de Boussaada, de kadiria et de Talbat, *T. dréatensis* et *T. numidicus*.

L'allure générale de la cinétique d'extraction de L'HE de thym est la même pour toutes les espèces étudiées citées précédemment. Toutes les courbes se caractérisent aussi par une partie ascendante où la majeure partie de l'huile est extraite et un palier au cours duquel la quantité recueillie est pratiquement nulle.

Généralement, selon les conditions opératoire le palier d'une courbe relative à une extraction avec broyage est atteint entre 55 et 65min tandis que celui d'une courbe correspondant à la matière entière est atteint entre 60 et 75 min. **M.Hazzit (2008)** rapporte que les huiles essentielles étaient localisées dans des sites exogènes sur toute la surface des feuilles et des calices et par conséquent un broyage pouvait ne pas être nécessaire. Par ailleurs, le broyage pourrait entraîner des pertes de l'huile essentielle et par conséquent des diminutions de rendements.

I.B.2.8. Taux d'Humidité de thym

La détermination de l'humidité des feuilles de l'espèce *Thymus vulgaris* a révélé un taux de 50.89% pour celles provenant de Tlemcen et de 72.2% pour celles de Mostaganem, ce qui signifie que le taux de matière sèche ayant servi réellement à l'extraction des HEs est de 49.11% et 27.8%, respectivement (**Abdali, 2017**). Le thym de Mostaganem a présenté un taux d'humidité nettement supérieur à celui de Tlemcen. Ce taux se trouve être proche de celui obtenu par **Shabnum et Wagay (2011)** de l'espèce en provenance du nord d'Italie (75.15%). Par ailleurs, les taux des deux plantes sont beaucoup plus importants comparés à celui obtenu par **Yakhlef (2010)** pour le thym originaire de Batna, à l'est de l'Algérie (9.40%).

I.B.2.9. L'activité biologique des huiles essentielles du thym

Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités fongicide, insecticide, herbicide, bactéricide, antioxydante...etc.

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses,

antivirales, anti-oxydants et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (**Baser and Buchbauer, 2015**) (**Lahlou, 2004**).

L'activité biologique d'une HE est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

I.B.2.9.1. L'activité antioxydante

El-Nekeety et al. (2011) ont mené une expérience pour élaborer les éléments de l'huile de *Thymus vulgaris* L. et d'évaluer les effets protecteurs de cette huile contre l'aflatoxine qui provoque le stress oxydatif chez les rats. Les résultats ont indiqué que l'huile contient le carvacrol (45 mg/g), thymol (24.7 mg/g), β -phellandrene (9.7 mg/g), humulène (3.1 mg/g), α -phellandrene (2.3 mg/g) et myrcene (2.1 mg/g). Cependant, α et β -pinène, α -thujone, tricyclène, 1, 8-cinéole et β -sabinène ont été trouvés avec des concentrations très faibles. Le traitement aux aflatoxines perturbe le profil lipidique dans le sérum sanguin, diminue la capacité antioxydante totale, augmente la créatinine, l'acide urique et l'oxyde nitrique dans le sérum sanguin, la peroxydation lipidique dans le foie et les organes excréteurs avec des changements histologiques dans les tissus du foie.

Dorman et al., (2003) ont extrait par hydrodistillation les HEs de quatre plantes appartenant à la famille des *Labiées* : origan, romarin, sauge et thym. Ils ont identifié, par chromatographie liquide à haute performance, la présence du principal constituant : l'acide rosmarinique qui contribue à l'activité antioxydante. Leur étude sur les trois radicaux libres : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS+) et (OH⁻), a montré que le degré observé de l'activité antioxydante dépend de l'essai utilisé, et que le thym présente le pouvoir le plus faible comparativement aux autres. Ils ont conclu que les extraits contenant plus de composés phénoliques possèdent l'activité la plus élevée.

Sokmen et al (2004) ont étudié in vitro l'activité antioxydante de *Thymus spathulifolius* turque. Ils ont conclu que l'extrait méthanolique a un effet antioxydant sur les

deux radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), et β -carotène/ acide linoléique plus élevé que l'antioxydant synthétique BHT.

I.B.2.9.2. Activité antimicrobienne

De nombreuses études traitent de l'activité antimicrobienne des HEs, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès d'aromathérapie scientifique.

I.B.2.9.2.2. L'Activité antibactérienne

Haddouchi et al., (2009) ont étudié l'activité antibactérienne et antifongique de l'HE de *T. fontanesii*. Ils ont rapporté que l'activité antimicrobienne était très importante vis-à-vis de toutes les souches étudiées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*.

Dob et al., (2006) ont conclu que l'HE de *T. fontanesii* riche en thymol possède une bonne activité antibactérienne contre les bactéries Gram+ ainsi que les bactéries Gram- et antifongiques, bien que les micro-organismes sont différents dans leur sensibilité à l'huile. Ces observations amènent à suggérer que l'huile essentielle de *T. fontanesii* est un agent antimicrobien à large spectre.

Bekhechi et al., (2007) ont rapporté aussi que les HEs de *T. fontanesii* d'Algérie ont un grand pouvoir antimicrobien comparable à celle observée pour d'autres huiles de thym riches en carvacrol.

Imelouane et al., (2009) ont étudié l'évaluation de l'huile essentielle de *T. vulgaris* du Maroc pour ses activités antibactériennes contre six souches Gram+ et gram-. Certaines souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été obtenues à partir de la culture de type américaine. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau X.

Tableau X : Concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de *T. vulgaris*

Les espèces bactériennes	Type (Gram)	CMI (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	+	1,33

<i>S. épidermidis</i> ATCCI 12228	+	1,33
<i>Streptococcus sp</i>	+	2,67
<i>Pantoea sp</i>	-	0,66
<i>E.coli</i>	-	1,33

Les résultats obtenus montrent que les bactéries Gram (-) étaient plus sensibles à l'HE de thym. L'activité biologique des HEs dépend de leur composition chimique (**Pierre et al., 2009**), elle est souvent assimilée à une activité bactériostatique. Cependant les études suivantes ont montré que certains constituants chimiques des HE ont des propriétés bactéricides et fongicides (**Kunle et al., 2003 ; Carson et Riley, 1995 ; Lambert et al., 2001 ; Walsh et al., 2003**).

Le mode d'action du carvacrol, un des majeurs constituants de l'HE de thym et d'origan a reçu plus d'attention de la part des auteurs. Le thymol, structurellement très similaire au carvacrol (le groupe d'hydroxyle une localisation différente sur la chaîne phénolique), est connu pour son pouvoir antimicrobien. Il inhibe la croissance des produits toxiques et des moisissures comme l'ont montré **Akgul et Kivanc (1988)**.

Juven et al., (1994) ont examiné l'effet du thymol contre *selmonella typhemurium* et *staphylococcus aureus*. Ils ont conclu qu'il est un grand inhibiteur pour la croissance des deux bactéries à un pH variant de 5,5 à 6,5. A pH faible, il devient indissociable et très hydrophobique. **Helander et al. (Rota et al., 2008)** ont trouvé que le carvacrol et le thymol sont capable de détériorer les bactéries gram-.

I.B.2.9.2.2.L'activité antifongique

L'accroissement des infections fongiques parmi les patients immunodéprimés et le développement de la résistance aux antifongiques nécessitent la découverte de nouveaux agents antifongiques. Pour cela, les sécrétions végétales telles que les huiles essentielles sont intéressantes en raison de leur pouvoir fongistatique.

Bhashara et al.,(1998) ont testé l'activité antifongique du *T. vulgaris* contre deux agents pathogènes : *Botrytis cinerea* et le *Rhizopus Stolonifer* qui sont responsables de la

détérioration de la fraise. Ils ont montré que le thymol et le carvacrol présents à 27% dans l'huile jouent un rôle important dans l'inhibition fongique. Dans le cadre de la recherche d'une synergie d'action entre les substances antifongiques médicamenteuses et les produits naturels d'origine végétale, l'action antifongique de différentes HEs, d'une grande sélection de plantes aromatiques à savoir : le thym rouge d'Espagne, *Thymus vulgaris*, origan, clou de girofle, romarin et cannelle.

Karaman et al., (2001) ont étudié l'activité antimicrobienne du thym turque (*Thymus revolutus*) contre plusieurs bactéries. Ils ont trouvé que l'huile étudiée inhibe la croissance de la plupart des bactéries à une concentration de 0,8 et 1,6 µg/µL d'huile essentielle ; le plus sensible est le *Bacillus cereus*. Ils ont supposé que la propriété bactériostatique et fongistatique est liée à la composition élevée en carvacrol.

Valero et Salmeron (2003) ont étudié l'activité de 11 huiles essentielles de plusieurs plantes dont le thym contre le *Bacillus cereus* qui pousse dans le bouillon de carotte à 16°C. Ils ont trouvé que l'addition de 5 µL d'huile essentielle de cannelle pour 100 ml de bouillon à une température inférieure à 8°C a un effet antimicrobien supérieur à celui du thym.

Faleiro et al.,(2003) ont étudié l'activité antimicrobienne des HEs extraites des parties aériennes du thym portugais (*Thymus camphoratus, lotocephatus et mastichina*) contre les micro-organismes (*Candida albican, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogènes, Proleus mirabilis et Salmonella subsp.*), en utilisant la méthode de diffusion à l'agar de disque « the disc agar diffusion method ». Ils ont trouvé après isolation et analyse de l'huile par CG/SM que les constituants majoritaires tels que : le 1,8-cinéole, le linalool, l'acétate de linalyl et le 1,8-cinéole/linalool, présentent une grande activité antimicrobienne, mais les différents micro-organismes testés ont une sensibilité différente. *Candida albican* dont sa sensibilité s'accroît légèrement pour le chémotype linalool/1,8- cinéole alors qu'elle diminue pour le chémotype 1,8- cinéole. Actuellement, il existe un besoin considérable d'agents antimicrobiens naturels, tels que l'HE de thym et d'origan, ils ont montré que la solution hydrosol a un effet antibactérien plus élevé comparativement à celui du thym.

Baydar et al. ont constaté que certains constituants de l'huile essentielle de thym turque (*Thymbra spicita* : thym noir) ; en l'occurrence le carvacrol, le thymol, le γ-terpinène et le p-cymène, testés contre plusieurs bactéries, en particulier le *Bacillus amyloliquefaciens* ont un pouvoir antimicrobien.

Burt (2004) a présenté une synthèse de travaux effectués par : **Consentino et al., (1999)** **Kim et al. ;(1995)** **Lambert et al (2001)** ; **Pol et Smid (1999)**; **Onawunmi (1995)** donnant un intervalle approximatif de la concentration minimale d'inhibition CMI des composants majoritaires qui constituent l'huile essentielle de thym contre différentes bactéries pathogéniques.

Cox et al., (2000) ont rapporté que l'activité antifongique des HEs est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie de sa rupture entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure.

En effet, **Glordani et Kaloastian (2006)** ont noté que les composés terpéniques des HEs et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures.

De même, **Gideon et al. (2007)** ont rapporté que les phénols sont responsables de dégâts irréversibles au niveau de la membrane et des parois cellulaires des bactéries.

Piccaglia et Marouff 1993 ont montré que le thymol à une concentration inférieure à 0,4 µg/mL inhibe complètement la croissance de deux bactéries *l'Aspergillus flavus* et *Aspergillus versicolor*.

I.B.2.9.2.3. Activité insecticide

Les plantes aromatiques médicinales sont considérées, d'après leurs constituants en HEs, comme un bio insecticide qui permet de lutter contre une variété d'insectes et ravageurs des stocks (**Ketho et al., 2004**). Les résultats obtenus, montrent que l'HE extraite de *Thymus vulgaris* est considérée, comme un insecticide à double effet à savoir par contact et inhalation. Après une soumission des adultes à différentes doses de cette HE, un taux de mortalité significatif a été enregistré selon la dose et la durée d'exposition. En plus, une perturbation de la reproduction est notée par une diminution du nombre d'œufs pondus dans les lots traités aux différentes doses testées par rapport au témoin non traité avec l'huile essentielle. Ainsi, l'effet toxique varie selon la dose utilisée en prolongeant la durée d'exposition qui est respectivement de 24, 48 et 72h. Ils ont constaté que le nombre d'œufs pondus est fortement lié à la concentration d'HE de *T. vulgaris* utilisée.

Selon **Kellouche et Soltani (2003)**, la réduction de la fécondité des femelles de *callosobruchus maculatus* traitées par l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* n'est pas

seulement liée à la diminution de la période de ponte ou la survie des femelles mais elle est également le résultat de processus de vitellogenèse. L'HE du thym peut être considérée comme un bio pesticide et pourrait être utilisée en plein champs ou au niveau des entrepôts et des stocks de graines de légumineuses.

D'après les travaux de **Rengnault-roger et Hamraoui (1997)**, les HEs extraites de différentes plantes aromatiques ne provoquent pas toutes, une inhibition de la fécondité d'*Acanthoscelides obtectus*. Par contre, les HEs du *Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris* perturbent la reproduction d'*Acanthoscelides obtectus* et de *Tineolabisselliella*, en inhibant totalement la fécondité (**Rengnault–Roger, 1994**)

I.B.2.9.2.4. Activité anti inflammatoire

les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que le rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (**Inouye et abe, 2007**). Le potentiel thérapeutique très varié des huiles essentielles a attiré, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux (**Edris, 2007**).

Partie expérimentale

Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1. Objectif de travail

Cette étude menée sur l'huile essentielle de *Thymus fontanessii* vise à valoriser cette plante médicinale et aromatique très répandue en Algérie. Les principaux objectifs sont l'extraction et la récupération des huiles essentielles, la détermination de la qualité de ces huiles extraites et l'étude de leurs activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne). Le plan de travail suivant est alors suivi:

- ✓ Extraction par hydrodistillation et Induction électromagnétique de l'huile essentielle de *Thymus fontanessii* de la région d' El Abadia (w. Ain defla)
- ✓ Réalisation des analyses physico-chimiques et chromatographiques sur les huiles essentielles.
- ✓ Évaluation des activités antimicrobiennes par la méthode de l'aromatogramme.
- ✓ L'étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles par la méthode du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil).

II. 2. Lieu et période de travail

Notre étude expérimentale devrait être réalisée durant trois mois (Mars, Avril, Mai 2020) à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana et au labo du Dr Zibouche à Ain Defla.

Tableau X1 : Lieu de travail.

Laboratoire	Travail expérimental
Laboratoire de chimie 2 UDBKM	l'extraction d'HE ; l'activité antioxydante; l'étude des propriétés physico-chimiques.
Laboratoire de Microbiologie UDBKM	Récupération et stérilisation du matériel biologique
Laboratoire de génie des procédés	Analyse par GC/MS
Laboratoire privé du Dr Zibouche (Ain Defla)	Etude de l'activité antibactérienne et antifongique

II.3. Matériel biologique

II.3.1. Matériel végétal

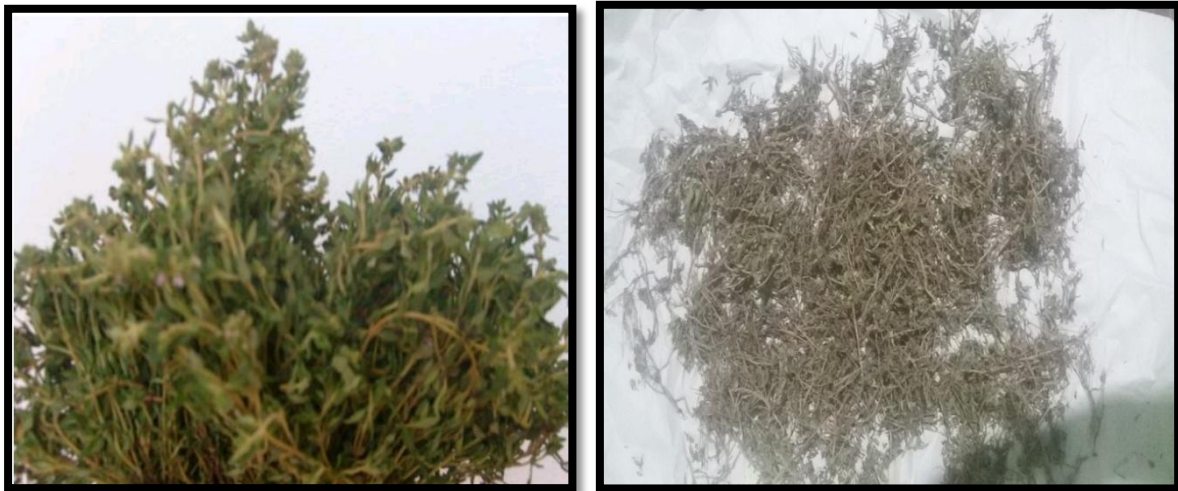
II.3.1.1. Description botanique

Thymus fontanesii, objet de notre étude, appelé «Zaâteur» en arabe (Saidj 2006) est une plante spontanée, raide, dressée, à rameaux étalés. Très commun dans les régions montagneuses, c'est une espèce endémique en Algérie. C'est un petit arbrisseau qui ne dépasse pas 20 cm de hauteur à feuilles petites linéaires ou linéaires-lancéolées recourbées sur les bords de couleur vert foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes. Les épis florifères sont courts et étroits ; ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur blanc , à odeur très agréable et spécifique.

II.3.1.2 Récolte et séchage

Le thym, utilisé dans cette étude a été identifié par Mr Kouache Benmoussa, Maître de Conférence au niveau de la Faculté des Sciences de la Terre et de la Nature (Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana), comme étant *T. fontanesii* (Fig.9).

Des récoltes de parties aériennes de notre espèce de thym ont été réalisées au mois de mars, mai, juin 2020, durant les étapes de floraison de la plante dans leur habitat naturel situé dans la région d'El Abadia, W. Ain Defla (Fig.10). Elles ont été ensuite séchées dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires entre 10 et 15 jours, les parties utilisées ont été coupées en petits morceaux et pesées.



a)

b)

Fig. 7: *Thymus fontanessii* ; a) plante fraîche; b) plante sèche



Fig.8: Situation de zone d'études

-Les caractéristiques géographiques da la région d'El Abadia, W. Ain defla (TableauXII)

Tableau XII : Les caractéristiques géographiques de la région de récolte de la plante.

Région	El Abadia, W. Ain Defla
Altitude	176m
Latitude	36.2692
Longitude	1.68444
climat	méditerranéen semi-aride, avec été chaud

II.4. L'extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii*

II.4.1. Choix des méthodes d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les HE, les tanins), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées. Quel que soit le type d'extraction utilisé, les étapes de l'extraction des HES d'origine végétale restent identiques. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'HE, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation (**Lucchesi, 2005**).

II.4.2. Hydrodistillation

❖ Principe

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de

l'hydrolat (**Piochon, 2008**). Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005**).

Mode opératoire

L'extraction des HEs est effectuée par un appareil de type Clevenger. 60g de la partie aérienne de la plante sont introduites dans un ballon de 1 litre, imprégné dans 600 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec. L'HE s'évapore avec les vapeurs d'eau dégagées qui se condensent en traversant un réfrigérant puis elle est recueillie à l'autre bout du montage (Fig 11). Le volume d'huile essentielle obtenu est noté pour le calcul du rendement.



Fig.9 : Montage d'extraction par Hydrodistillation

II.4.3. Induction électromagnétique

L'extraction des HEs par induction électromagnétique a été réalisée au niveau du laboratoire de génie des procédés à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

❖ Principe

Le chauffage par induction électromagnétique est une application directe. Tout conducteur parcouru par un courant périodique crée un champ magnétique qui engendre des courants induits dans un autre conducteur (récipient). Ce courant induit provoque dans la paroi métallique du distillateur des courants qui vont produire de la chaleur par effet Joule (**Rivera 2006**). Le montage de l'induction électromagnétique comprend essentiellement trois parties :

- ❖ l'extracteur (cocote minute) : il sert à contenir la matière végétale immergée dans l'eau distillée.
- ❖ Réfrigérant : c'est un échangeur de chaleur servant à convertir toute vapeur en liquide provenant de l'extracteur.
- ❖ Ampoule à décanter.



Fig.10 : Montage de l'extraction assisté par induction électromagnétique

Mode opératoire

L'eau et la matière sont introduites dans l'extracteur (le récipient métallique), l'ensemble est ensuite porté à l'ébullition. La vapeur condensée obtenue est récupérée dans une ampoule à décanter, suivie par l'ajout d'une solution aqueuse saturée en NaCl (son

volume doit représenter environ 1/3 celui du mélange à traiter). On laisse décanter jusqu'à l'application franche des deux phases. Le volume de l'huile essentielle obtenue est noté pour le calcul du rendement.

II.5. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité est déterminé par séchage des feuilles à l'air libre durant 10 jours selon la formule suivante (Twidwell *et al.*, 2002) :

$$H\% = (M_f \cdot M_s) / M_f \times 100$$

où

M_f : Masse de la plante fraîche

M_s : Masse de la plante sèche

H% : Taux d'humidité exprime en pourcentage

II.6. Calcul du rendement

Le rendement de l'HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenu et la masse du matériel végétal à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante (Belyagoubi-Larbi, 2006) :

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) : Le rendement des huiles essentielles.

M : La masse d'huile essentielle récupéré (g).

M₀ : La masse de matière végétale (g).

II.7. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle

Dans ce travail, nous avons voulu étudié la cinétique d'extraction de l'HE de *Thymus fontanessii* en utilisant de la matière végétale (avec et sans broyage). C'est un travail

exploratoire dont le but était de déterminer le moyen qui permet d'obtenir le rendement le plus intéressant.

II.8. Caractéristiques des huiles essentielles

Afin d'évaluer la qualité et la composition des huiles essentielles extraites lors de cette étude, des analyses ont été menées pour déterminer leurs propriétés organoleptiques et physico-chimiques. Ces propriétés constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE (**Mohamed *et al.*, 2010**). De plus, des analyses quantitatives et qualitatives devraient être effectuées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

II.8.1. Étude des propriétés organoleptiques

Chaque huile essentielle est caractérisée par ses caractères organoleptiques telles que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur (**Bentchicou 1999, Hameurlaine 2009**).

II.8.2. Étude des propriétés physico-chimiques

Aujourd'hui, les propriétés physico-chimique (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, indice d'acide, indice d'ester) sont exigées pour leur évaluation commerciale (**De Martino, 2009**).

II.8.2. 1. Les propriétés physiques

Détermination de l'indice de réfraction (norme NF T 75 – 112)

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe Prisma-CETI convexe. Le produit étalon de qualité pour la réfractométrie servant à ajuster le réfractomètre est l'eau distillée (1,333). Quand la détermination est réalisée à une température différente de 20 °C, on effectue la correction à 20°C par le biais de la formule suivante :

$$I_{20} = I_T + 0,00045 (T - 20 \text{ °C})$$

Avec :

I_{20} : indice à 20 °C, I_T : indice à la température ambiante, T : température ambiante.

❖ Détermination du pH

Le pH exprimé par une valeur numérique, indique si une solution est acide ou basique, il représente aussi la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse (**Melet et Benchabane, 1997**)

La détermination du pH est effectuée à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH-mètre en raison de l'insuffisance du produit (huile essentielle).

II.8.2. 2. Les propriétés chimiques

Détermination de l'indice d'acide (AFNOR - NFT - 60 -2000)

L'indice d'acide (I_A), est le nombre de milligrammes d'hydroxyde d'acide de potassium nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle.

❖ Principe

Le principe consiste à neutraliser des acides libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée.

❖ Réactifs

Au cours de l'analyse on utilise uniquement des réactifs de qualité reconnus.

- Ethanol, à 95 % (v/v) à 20 °C,
- Hydroxyde de potassium, KOH (0.1 mol/L),
- Phénolphtaléine (indicateur coloré) à 2 g/L dans de l'éthanol.

❖ Détermination

Introduire la prise d'essai 0.5 gr, dans la fiole. Ajouté 5 ml d'éthanol et 5 gouttes de la solution de phénolphtaléine comme indicateur, et neutraliser le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium contenue dans la burette. Réserver éventuellement le ballon et son contenu (A) pour la détermination de l'indice d'ester.

L'indice d'acide (I_A) est donné par la formule suivante :

$$I_A = 5.61 (v / m)$$

avec

v : volume (mL) de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée.

m: masse (g) de la prise d'essai.

II.9.Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles de *T.fontanesii* est déterminée par la chromatographie en phase gazeuse (CG) et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG-MS) .

II.9.1. Conditions opératoires

10 mg d'huile essentielle ont été dissoutes dans 5 ml d'éther diéthylique.

➤ Analyse par CG

L'analyse de l'huile a été réalisée au moyen d'un système HP GC 6890 de technologie Agilent avec un détecteur à ionisation de flamme (FID), utilisant une colonne capillaire revêtue de 5% de phényl méthyl siloxane (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m d'épaisseur Agilent Technologies, Hewlett-Packard, CA, États-Unis). Le programme de température était le suivant : 40 ° C pendant 1 min, puis augmenté dans une première rampe à 200°C à 6°C /min, suivi d'une seconde rampe à 280°C à 30°C/ min, et finalement maintenu à 280°C pendant 2 minutes. L'injection a été réalisée en mode sans division à 280 ° C; le volume injecté était de 1 μ L d'huile diluée (10 mg d'huile / 5 mL d'éther diéthylique). La température du détecteur a été fixée à 300 ° C; Le gaz porteur était de l'hélium à 1 mL/min. Le pourcentage de composition de l'huile essentielle est calculé par intégration électronique des aires des pics FID. Pour chacun des composants, les indices de rétention sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

➤ Analyse par CG/MS

La CG / MS a été réalisée avec un système CPG Agilent HP 6890 couplé à un détecteur sélectif de masse réseau HP 5973 Agilent actionné par le logiciel HP Enhanced ChemStation. Les conditions analytiques ont été fixées comme suit : Colonne capillaire Agilent HP-5MS (30 m × 0,25 mm, df = 0,25 µm), injecteur split-splitless à 250 ° C (mode sans division), programme de température : de 40 ° -250 ° C à 6 ° C / min, phase mobile: le gaz porteur était de l'hélium à 1 ml / min. Les spectres de masse ont été enregistrés en mode EI (70 eV), gamme de masse scannée : de 35 à 500 amu. Les températures de source et de quadripôle ont été fixées à 230 ° C et 150 ° C, respectivement.

L'identification des composants est basée sur la comparaison des temps de rétention de chaque composant, leurs spectres de masse et leurs KI (indice de Kovats) avec ceux de substances pures enregistrées dans la littérature, notamment dans les bases de données Wiley 275 et NIST (National Institute of Standards and Technology) et ceux décrits par Adams, (Adams 2001). Les indices de rétention (RI) ont été calculés au moyen d'un mélange d'homologues n-alcane (C7-C30) analysés dans les mêmes conditions chromatographiques que pour l'analyse des huiles essentielles (Joulain et König 1999).

II.10. Les activités biologiques de l'huile essentielle

II.10.1 Evaluation de l'activité antioxydante

II.10.1.1. Piégeage du radical libre DPPH. (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

❖ Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH[•]). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (Silvana 2017). La réduction du DPPH est contrôlée en mesurant l'absorbance de la solution à une longueur d'onde caractéristique (517 nm). A cette longueur d'onde le radical absorbe, mais après sa réduction par l'antioxydant (AH) ou un autre radical, l'absorption diminue. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺ (Molyneux 2004).

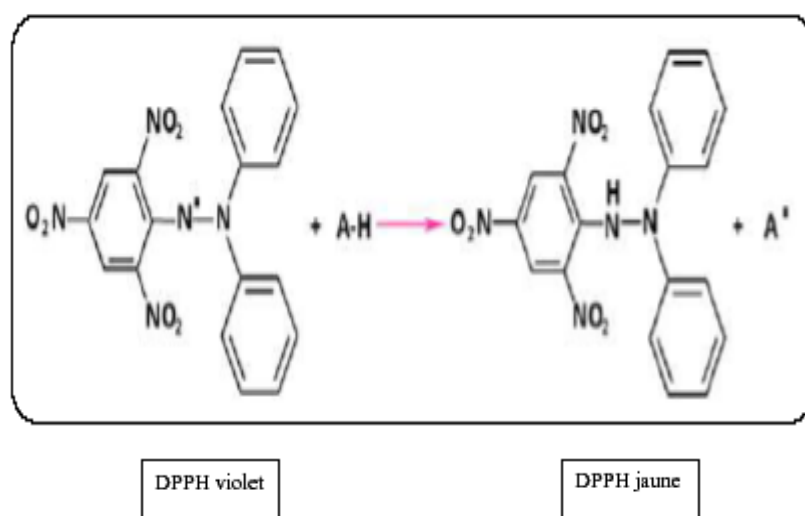


Fig.11 : Piégeage des radicaux libres

La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'IC₅₀, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue, généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (IC₅₀). Le résultat dépend de la concentration en DPPH initiale. En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent BHT ou vitamine C.

❖ Mode opératoire

La capacité des huiles essentielles de *T. fontanesii* à piéger le radical libre DPPH est évaluée en utilisant la méthode décrite par **Jamali et al., 2013**. On prépare les solutions mères des huiles essentielles dans le méthanol à une concentration de 100 µg/mL. Une série de dilutions est réalisée pour obtenir des concentrations allant de 100 µg/mL à 25 µg/mL. 50 µL de chaque solution sont mélangés avec 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH (60 µM). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 517 nm. Les échantillons de contrôle sont composés de 50 µL de méthanol additionné et de 2 mL de la solution méthanolique de DPPH. L'acide ascorbique et BHT sont utilisés comme témoin positif.

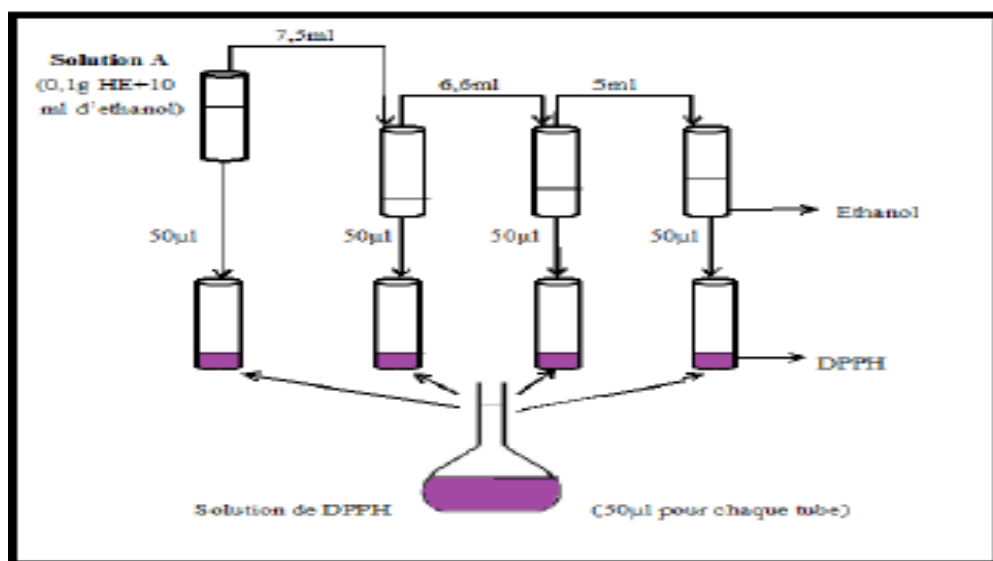


Fig. 12 : Les étapes de la réalisation de l'activité antioxydante

❖ Expression des résultats

L'activité antioxydante est exprimée par le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Activité Antioxydante (\%)} = 100 \times [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}]$$

Où,

$A_{\text{contrôle}}$: l'absorbance de l'échantillon contrôle et,

$A_{\text{échantillon}}$: L'absorbance de l'huile essentielle, BHT ou vitamine C.

La concentration inhibitrice (IC_{50}) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydante (en %) en fonction des différentes concentrations de l'HE, de BHT ou de vitamine C testées.

Une faible valeur de l' IC_{50} indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH (Molyneux 2004).

II.10.1.2. Le pouvoir réducteur de l'ion ferrique

Principe

Cette méthode est basée sur l'aptitude des huiles essentielles à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ferreux (Fe^{2+}). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydant des polyphénols. (Yildirim *et al.*, 2001).

Le pouvoir réducteur d'un composé est associé à son pouvoir antioxydant, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur (Hubert 2006, Chikhi 2013).

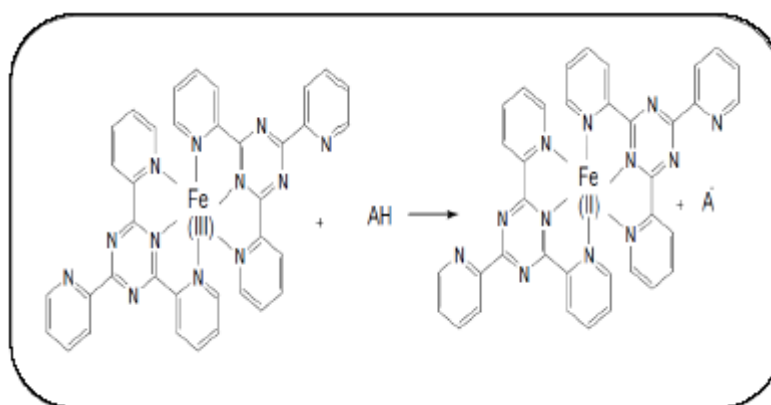


Fig. 13 : Pouvoir réducteur de fer

Mode opératoire

Un millilitre de l'huile essentielle à différentes concentrations est mélangé avec 1 ml d'une solution tampon phosphaté 0.2 M (pH 6,6) et 1 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes ensuite ; 1 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes ; 1 ml du surnageant sont mélangés à 1.5 ml d'eau distillée et 150 μL d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0.1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'huile essentielle par le méthanol qui permet de calibrer le spectrophotomètre UV-VIS. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique et le BHT dont l'absorbance est mesurée dans les

mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés (Hseu *et al.*, 2008).

II.10.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le test de susceptibilité des HEs de *T. fontanesii* est effectué selon deux méthodes différentes: la méthode de diffusion sur disque en milieu de Mueller-Hinton comme un test préliminaire et qui permet la mise en évidence de l'activité antibactérienne et la méthode des microdilutions qui a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI à partir d'une gamme de concentrations dans des milieux de culture convenables.

II.10.2.1. Milieux de culture

- Gélose nutritive (GN) : milieu d'isolement et de conservation non sélectif.
- Gélose Mueller Hinton (MH) et Sabouraud Dextrose Agar (SDA) : milieu pour l'étude de la sensibilité des bactéries et des levures, respectivement, en milieu solide, vis-à-vis de l'antibiotique, des huiles essentielles.
- Bouillon Mueller Hinton (MHB) et bouillon Sabouraud Dextros (SDB): milieu pour l'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Antibiotiques : L'antibiotique utilisé dans cette étude est l'Amoxicilline à une charge de 25 µg/disque. Notre choix s'est porté sur l'Amoxicilline vu qu'il possède un large spectre d'action, permettant ainsi de déterminer la sensibilité de toute la gamme de bactéries étudiées vis-à-vis de cet antibiotique. Ce dernier est sélectionné selon la recommandation du comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (Soussy C. J. (2012).

II.10.2.2. Les souches microbiennes testées

Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *T. fontanesii* sont les suivants :

- ❖ Trois souches bactériennes: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *pseudomonas aeruginosa*.
- ❖ un seul type de levure de référence, à savoir *Candida albicans*

Tableau XIII : Les souches microbiennes à tester

Souches	Gram	Famille
<i>Escherichia coli</i>	-	Enterobacteriaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Pseudomonadaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Micrococcaceae
<i>Candida albicans</i>	/	Saccharomycetaceae

II.10.2.3. Conservation des souches

Les souches microbiennes sont entretenues par repiquage sur GN. Incubées pendant 24 h à 37 °C, elles sont conservées à 5°C dans des tubes contenant de la gélose nutritive inclinée.

II.10.2.4. Préparation de l'inoculum

Les souches microbiennes sont enrichies sur un tube contenant 9 ml de MHB, puis incubées à 37 °C pendant 18-24 heures. A l'aide d'une anse de platine, on ensemence une goutte de la culture sur une boîte de Pétri contenant de la GN, elle sera par la suite incubée à 37°C pendant 18-24 heures. A partir de ces cultures pures, la suspension bactérienne (l'inoculum) est préparée comme suit:

A l'aide d'une anse de platine on racle 3-5 colonies bien isolées et parfaitement identiques, on décharge l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile a 0.9% NaCl.

Après homogénéisation de la suspension bactérienne a l'aide d'un vortex, la standardisation de la densité optique à 0.5 Mc Farland est réalisée par spectrophotométrie règle sur une longueur d'onde de 625 nm.

La densité optique obtenue doit être comprise entre 0.08 et 0.1 ce qui correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/ml selon Mc Farland.

II.10.2.5. Evaluation de l'activité microbienne par la méthode de diffusion sur disques

Cette méthode est utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'HE de *T. fontanesii*, bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'huile essentielle par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, est généralisée aux huiles essentielles et autres extraits (**Tharib *et al.*, 1983**).

Dans des boîtes de Pétri, les milieux de culture Gélose Mueller Hinton (MH) et Sabouraud Dextrose Agar (SDA) en surfusion sont coulés aseptiquement à raison de 15 mL par boîte.

Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension microbienne fraîchement préparée est étalé à la surface du milieu de culture à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes pendant 30 min.

Des disques de papier filtre stérilisés, de 9 mm de diamètre (Whatman), sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile puis imprégnés d'un volume de 15 µl d'huile essentielle.

Le disque d'antibiotique (Amoxiciline) à 25 µg/disque est déposé sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile. L'antibiotique est utilisé comme contrôle positif. Toutes les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm stérile pour éviter l'évaporation éventuelle des huiles essentielles. Elles sont maintenues à 4 °C pendant 2 h, puis incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 25 °C pendant 48 h pour les levures (**Lesueur *et al.*, 2007 ; Jamali *et al.*, 2013**)

Après la période d'incubation, la lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque, dont le plus grand diamètre de la zone indique la souche la plus sensible. Trois répétitions sont effectuées pour chaque souche (**Choi *et al.*, 2006**).

II.10.2.6. Evaluation de l'activité microbienne par la méthode de micodilution en milieu liquide (CMI)

La méthode de microdilution est une méthode quantitative qui permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Cette technique consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié. Elle a pour but de déterminer la concentration la plus faible de l'agent antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée. Elle est réalisable par contact direct en milieu gélosé ou liquide (**Choi et al 2006**).

La méthode de dilution en bouillon qui est une technique dans laquelle une suspension bactérienne est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. Cette méthode peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (**El Kalamouni 2010**).

- A partir de la solution mère des HEs à 50 mg/ml (dans le DMSO à 4%), on prépare une gamme de concentration des HEs par la méthode de dilution en progression géométrique dans des tubes contenant MHB pour les bactéries et SDB pour les levures, pour aboutir à des concentrations allant de 0.048 à 50 mg/ml.

- Les tubes à essais sont préparés en distribuant dans chaque tube 100 µL de MHB et 100 µL de la suspension bactérienne.

- 100 µL de la solution mère des huiles essentielles initialement préparée d'une concentration égale à 50 mg/ml sont ajoutés dans le deuxième tube.

- 100 µL de chaque dilution sont transférés dans les tubes consécutifs.

- Le dernier tube contenant le DMSO sans huile essentielle est utilisé comme contrôle négatif.

- Le volume final dans chaque tube est de 300 µL.

- Les tubes sont couvertes avec du parafilm stérile et ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25 °C pendant 48 heures pour les levures.

Remarque : La concentration de DMSO utilisée pour les différentes dilutions a été testée préalablement sur les souches bactériennes et n'a présentée aucune activité antibactérienne, elle n'interfère donc pas dans l'interprétation des résultats. En plus le DMSO est largement conseillé par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

La croissance bactérienne est indiquée par la présence d'un "culot" blanc sur le fond du puits. A titre d'indicatif de la croissance de microorganismes, 10 μ L de nitro blue tetrazolium (NBT) à une concentration de 2 mg/mL dans l'eau distillée stérile sont ajoutés aux puits et incubés à 37 °C pendant 30 min (**Sharma et al., 2012**).

Le sel de NBT agit comme un accepteur d'électrons et la couleur jaune de l'NBT est réduite en un produit formazan bleu-violet par les organismes biologiquement actifs (bactéries viables).

La CMI est indiquée par le tube qui contient la plus faible concentration d'huile essentielle ou il y'a absence de croissance bactérienne et qui ne montre pas un changement de couleur.

Chapitre III :
Résultats et Discussion

III. Résultats et discussion

Suite à la pandémie Coronavirus (Covid-19), nous n'avons pas pu réaliser la partie expérimentale.

Selon les travaux antérieurs sur l'huile essentielle du thym, les résultats d'extraction sont :

- Le rendement de l'huile essentielle de couleur jaune à obtenue par HD des feuilles fraîches et sèches de (0.96 à 2.7%).
- Les composants majoritaires pour certaines espèces du thym en Algérie sont : le thymol, le carvacrol, le γ -terpinène, le linalool.
- Le Taux d'humidité des feuilles de l'espèce *Thymus vulgaris* de (50.89%) pour celles provient de Tlemcen.
- L'huile essentielle de « T.f » a montré une activité antioxydante importante par le test du DPPH.
- L'activité de l'HE de *T. fontanesii* sur les souches bactériennes (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ATCC 25923, ...) et fongiques (*C. albicans* 444IPP), par la technique de l'aromatogramme et par la méthode de contact direct, montre que le pouvoir antimicrobien de cette huile est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les bactéries Gram⁻ et bactériostatique contre les bactéries Gram⁺. Cette activité est plus importante sur les champignons que sur les bactéries

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif visé par ce travail est d'étudier l'extraction et la récupération de l'huile essentielle de *Thymus fontanessii* poussant à l'état spontané au Nord d'Algérie.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par deux procédés différents : Extraction assistée par chauffage par induction électromagnétique (IEM) et par hydrodistillation (HD).

L'optimisation des conditions opératoires d'extraction assistée par induction électromagnétique a été faite par la méthodologie des plans d'expérience. La caractérisation chimique et physicochimique des extraits et aussi d'étudier leur activité biologique (antioxydante et antimicrobienne).

Selon la littérature, L'effet d'interaction entre la masse de la matière végétale et le volume d'eau est plus significatif sur le rendement en huile essentielle. La masse de la plante est le facteur qui présente l'influence la plus importante sur le rendement par rapport au volume d'eau et la température de chauffage. Il n'y a pas un effet d'interaction entre les trois facteurs, alors l'effet de cette interaction est très faible sur le rendement.

L'IEM a donné des rendements élevés en huile essentielle (0.4 ± 0.01 . $3.1 \pm 0.1\%$, p/p). Ce procédé peut être considéré comme une technique d'isolement innovante et efficace par rapport à l'HD (0.35 ± 0.02 . $2.6 \pm 0.02\%$, p/p). Le meilleur rendement a été obtenu à la période de fin de floraison de la plante (Juin) : (1.81 ± 0.01 . $3.1 \pm 0.1\%$, p/p).

L'étude de l'influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle a montré que la technique d'extraction assistée par induction électromagnétique est plus rapide que celle d'hydrodistillation. En effet, le rendement maximal en huile essentielle a été obtenu pendant les cinquante premières minutes ($2.9 \pm 0.1\%$), alors qu'il faut au moins quatre-vingt-cinq minutes pour extraire le maximum de l'huile par hydrodistillation ($2.1 \pm 0.01\%$).

Les résultats de travaux antérieurs ont également rapporté la présence de certains de ces composés majoritaires à des teneurs variées mais aussi, l'absence de certains d'autres par comparaison avec nos échantillons. Les différences de composition chimiques rencontrées dans les huiles essentielles du point de vue qualitatif et quantitatif, l'analyse par GC/MS a permis d'identifier la composition chimique de l'huile essentielle de *T. fontanessii*. Les composés majoritaires sont : carvacrol, p-cymène et γ -terpinène. Les composants majoritaires pour certaines espèces de thym en Algérie sont : le thymol, le carvacrol, le γ -terpinène et le

Conclusion générale

linalool. Le carvacrol reste toujours le composant principal de l'huile essentielle de *T. fontanesii* pendant le cycle végétatif avec une forte proportion enregistrée à la fin de floraison ($76.67 \pm 0.32\%$).

L'étude du pouvoir antioxydant par les trois méthodes a montré que l'huile essentielle de *T. fontanesii* possède une grande activité antioxydante.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode de l'aromatogramme a montré un effet inhibiteur important de l'huile essentielle de *T. fontanesii* sur les cinq souches de références testées. Les plus sensibles sont *S. aureus* (ATCC 25923) et *C. albicans* (ATCC 2231), avec des diamètres d'inhibition de ($25 \pm 0.04 - 36 \pm 0.3$ mm) et ($31 \pm 0.1 - 42 \pm 0.2$ mm), respectivement. La méthode de micro-dilution en milieu liquide a permis d'obtenir les concentrations (CMI) à des valeurs allant de 1.1 - 7.81 mg/mL pour *S. aureus* (ATCC 25923) et de 0.97 - 1.33 mg/mL pour *C. albicans* (ATCC 2231).

Les résultats relatifs à l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de *T. fontanesii* confirment que cette huile peut contribuer à la réduction de l'inflammation.

L'ensemble de ces résultats obtenus constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active. Cependant, il est souhaitable que ces travaux doivent être entrepris afin de :

- Etudier d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.
- Séparer et isoler des différents constituants des huiles essentielles afin de connaître les molécules responsables des propriétés biologiques.
- Faire une étude approfondie et complémentaires *in vivo* de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles extraites,
- Etudier l'efficacité des huiles essentielles dans le domaine agroalimentaire comme agents antimicrobiens ou antioxydants naturels dans la sécurité alimentaire.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

Abdelli W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université de Mostaganem. Algérie

Adams R. P. (2001). Quadrupole mass spectra of compounds listed in order of their retention time on DB-5. Identification of essential oils components by gas chromatography: quadrupole mass spectroscopy; Allured Publishing Corporation; USA, 3rd ed, 456.

Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K, Abu-Shanab F. (2006) -Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa* - Turk J Biol; Vol. 30; pp 239- 242.

Akgul A, Kivanc M. (1988). Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. International Journal of Food Microbiology. 6, 263-268.

Altintas A, Tabanca N, Tyihak E, Ott P. G, Moricz A. M et Mincsovcics E. (2013). Characterization of volatile constituents from *Origanum onites* and their antifungal and antibacterial activity. *Journal of AOAC International*. 96(6): 1200.1208.

Association française de Normalisation (2000). Recueil de normes françaises ‘huile essentielle’ Ed. AFNOR, Paris.

Association Française de Normalisation. Norme Française. (1987). Huile Essentielles. Huile essentielle de thym (*Thymus mastichina* Linnaeus). NFT 75- 343, Edt. de l’AFNOR, Paris.

Association Française de Normalisation. (1987) Norme. Française. Huile Essentielles. Huile essentielle de thym (*Thymus zygis* (Loefl.) L). NFT 75- 349, Edt. de l’AFNOR, Paris.

Avril. J L, Dabernat, Denis H et Monteil F.H. (1992) ; « Bactériologie clinique », 2^{ème} Edition ; Paris ; pp 9,31,135,152 .

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, & Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils –a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

Références bibliographiques

Barrosoet J.G, Pedro L.G. (2003). Antibacterial activity of the essential oils from Portuguese endemic spices of thymus. Letter in applied Microbiology. 36, 35-40.

Baser K.H.C and Buchbauer G. (2015). Handbook of essential oils: science, technology, and applications.CRC press.

Baydar H, Sagdic O, Özkan G, Karadogan T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Saturja spices with commercial importance in Turkey. Food Control. 15, 169-172.

Bekhechi C, Bekkara F. A, Abdelouahid D. E, Tomi F et Casanova J. (2007). Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. from Algeria. *Journal of essential oil research.* 19 (6): 594-596.

Belaib N et Saidi S. (2012); « Etude physico-chimique et microbiologique des huiles essentielles de Fenouil » ; thèse de master ; université de Khemis-Miliana.

Belyagoubi-Larbi M. (2006) ; « Effet de quelques essences végétale sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales » ; thèse de magister ; université d'Abou Berk Belkaid ; Tlemcen ; 2006.

Benadji H et Khoukhi N.(2012) ;« L'extraction et la caractérisation de l'huile essentielle de Thym(*Thymus vulgaris*) de Miliana et l'étude de l'activité antibactérienne » ; thèse de magister ; université de Khemis -Miliana .

Bentchicou A. (1999). « Extraction, caractérisation et analyse de l'huile essentielle de thym d'Algérie par chromatographie en phase gazeuse (CPG) » ; thèse d'ingénieur ; université deMédéa.

Berigaud B. (2002). *Aromatherapie*, ed. Parades.

Bhalla Y, Gupta V. K et Jaitak V. (2013). Anticancer activity of essential oils: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 93(15): 3643.3653.

Bhashara Reddy M.V, Angrers P, Gossin A, Paul J.(1998) Characterisation of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry.*47(8), 1515-1520.

Références bibliographiques

Botelho M. A, Nogueira N. A. P, Bastos G. M, Fonseca S. G. C, Lemos T. L. G, Matos F. J. A. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 40(3): 349.356.

Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux D, Skali N.S, Abrini J. (2006). *Thymus* essential oil: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai.

Brahmkshatriya, P. P, and Brahmshatriya P. S. (2013). Terpenes: Chemistry, biological role, and therapeutic applications. In *Natural Products* (pp. 2665-2691). Springer Berlin Heidelberg.

Bruneton J. (1999) .Huile essentielles, in pharmacognosie – phytochimie plante médicinales.3eme éd. Doc. et tec .Lavoisier.

Bubulka P.(2007) ; « Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; la médecine traditionnelle à la phytothérapie » ; pp 137-145. Kateb.J .; « Le travail sur la culture des plantes médicinales » ; Edition Masson ; Paris

Burt S. (2004). Essentials oils : their antibacterial proprieties and potential application in food – a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94, 223-253.

Carson C. F, & Riley T. V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of applied bacteriology*, 78(3), 264-269.

Cavalcanti A. D. S, Alves M. S, Paulo da Silva L. C , Patrocínio D. S, Sanches M. N, Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J et Remmal A. (2004). Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 8(3): 217.226.

Chaïb bessou S et Yakhou A (2012) ; « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, évaluation de l'activité anti microbienne », thèse de master ; université de Khemis Miliana .

Chikhi I. (2013). Composition Chimique Et Activites Biologiques Des Extraits De Cinq Plantes Aromatiques Et Medicinales De L'ouest D'Algerie, These de Doctorat université de Tlemcen.

Références bibliographiques

- Chikhoun A. (2007).** Huiles essentielles de thym et d'origan :étude de la composition chimique, de l'activité antioxydante et antimicrobienne .Institut National Agronomique El Harrach-Alger.Mémoire de Magistère en Agronomie.
- Choi Y. M, Noh D. O, Cho S. Y, Suh H. J, Kim K. M et Kim J. M. (2006).** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT-Food Sciences and Technology*. 39 : 756-61.
- Choudhury R. P.; Kumar A.; Garg A. N. (2006).** Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. *J Pharm Biomed Anal*. 7, 825-32.
- Clarke S. (2008).** Essential chemistry for aromatherapy. *Elsevier Health Sciences*.
- Collectif ; « Encyclopédie des plantes médicinales (2001) : identification , préparation , soins » ;** Edition Larousse ; Paris.
- Cosentino S, Tuberoso C.I.G, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E and Palmas F. (1999)** -Invitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils-Letters in Applied Microbiology; Vol. 29; pp 130– 135.
- Cox S.D, Mann C.M, et al., (2000)** -The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)-Journal of Applied Microbiology; Vol. 88; N°1; pp 170-175.
- Darre M. J, Kollanoor-Johny A, Venkitanarayanan K et Upadhyaya, I. (2014).** Practical implications of plant-derived antimicrobials in poultry diets for the control of *Salmonella Enteritidis*. *The Journal of Applied Poultry Research*. 942.
- De Martino L, De Feo V, Formisano C, Mignola E et Senatore F. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart growing wild in Campania (Southern Italy). *Molecules*. 14(8): 2735.2746.
- De Sousa J. P, Torres R. D. A, de Azeredo, G. A, Figueiredo R. C. B. Q, Vasconcelos, M. A. D. S et de Souza, E. L. (2012).** Carvacrol and 1, 8-cineole alone or in combination at sublethal concentrations induce changes in the cell morphology and membrane

Références bibliographiques

permeability of *Pseudomonas fluorescens* in a vegetable-based broth. *International Journal of Food Microbiology*. 158(1): 9.13.

Deb D. D, Parimala G, Saravana Devi S et Chakraborty T. (2011). Effect of thymol on peripheral blood mononuclear cell PBMC and acute promyelotic cancer cell line HL-60. *Chemico-Biological Interactions*. 193(1): 97.106.

Dimitrijević S. I, Mihajlovski K. R, Antonović D. G, Milanović-Stevanović M. R, Mijin D. Z. (2007). A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic-acid and essential oils from *Thymus vulgaris L.*, *Rosmarinus officinalis L.* and *Origanum vulgare L.* *Food Chem.*,104, 774-782.

Dob T, Dahmane D, Benabdelkader T et Chelghoum C. (2006). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus fontanesii*. *Pharm. Biol*, 44 (8): 607-612.

Dob T, Dahmane D, Chelghoum C. (2006). Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss et Reuter - The International Journal of Aromatherapy; Vol. 16; pp 95- 100.

Domokos J, Hethelyi E, Danos D, Palinka J, Szirmai S. (1995). The essential oil of a hungarian taxon of *Thymus pulegioides*. In Baser, K.H.C (ed) Proceeding of 13 th International congress of Flavor fragrance and Essential Oils, vol 1.AREP Pub 1, 75, Istanbul.

Dorman H. J. D, Peltoketo A, Hiltunen R, et Tikkanen H. J. (2003). Characterization of the antioxidant properties of odorized aqueous extracts from selected lamiaceae herbs. *Food chemistry*. 83: 255-262.

Eaton R. W. (1997). P-Cymene catabolic pathway in *Pseudomonas putida* F1: Cloning and characterization of DNA encoding conversion of p-cymene to p-cumate. *Journal of Bacteriology*. 179(10): 3171.3180.

Ebrahimi S.N, Mirjalili J.H, Sonboli A, Yousefzadi M. (2008) -Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages - Journal Food Chemis; Vol. 10; pp 1016.

Références bibliographiques

Edris A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review-Phytother. Res; Vol. 21; pp 308-323.

El abed D et Kambouche N. (2003) « Les huiles essentielles » ; Edition Dar El Gharb ; Oran.

El Bouzidi L, Jamali C. A, Bekkouche K, Hassani L, Wohlmuth H, Leach D, & Abbad A. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan Thymus species. *Industrial Crops and Products*, 43, 450-456.

El Bouzidi, L., Jamali, C. A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., & Abbad, A. (2013). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan Thymus species. *Industrial Crops and Products*, 43, 450-456.

El Kalamouni C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat, Toulouse, France.

El-Nekeety A A, Mohamed S R, Hathout A S, Hassan N S, Aly S E, et al. (2011). Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats. *Toxicol.* 57: 984-991.

Elson C. E. (1995). Suppression of mevalonate pathway activities by dietary isoprenoids: protective roles in cancer and cardiovascular disease. *The Journal of nutrition*, 125(suppl_6), 1666S-1672S.

Fajardo JA et Obeledo-Vazquez E. N. (2006). Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*-EGNosis. 4: 16.

Faleiro M.F, Miguel M.G, Venancio F , Taveares R, Brito J.C, Figueiredo A.C, Barrosoet J.G, Pedro L.G.(2003). Antibacterial activity of the essential oils from Portuguese endemic spices of thymus. *Letter in applied Microbiology*. 36, 35-40.

Faleiro M.F, Miguel M.G, Venancio F, Taveares R, Brito J.C, Figueiredo A.C,

Références bibliographiques

- Fellah S, Romdhane M, Abderraba A. (2006).** Extraction Et Etude Des Huiles Essentielles De La *Salvia Officinalis.L* Cueillie Dans Deux Regions Differentes De La Tunisie. *J.Soc.Alger.Chim.* 16, 193-202.
- Foti M. C et Ingold K. U. (2003).** Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by c-terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51(9): 2758.2765
- Francois-Xavier,G.(2001).** Le materiel vegetal et les huiles essentielles. *Corporation: LASEVE-UQAC, Chicoutimi (Quebec) G7H 2B1 Huiles essentielles: de la plante à la commercialization.*Fundamentals in Organic Geochemistry: A Review. © Springer International Publishing Switzerland. DOI 10.1007/978-3-319-25075-5_3.
- Gachkar L, Yadegari D, Rezaei M. B, Taghizadeh M, Astaneh S. A, & Rasooli I. (2007).** Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. *Food chemistry, 102(3),* 898-904.
- Gallucci N, Casero C, Oliva M, Zygadlo J et Demo M. (2006).** Interaction between terpenes and penicillin on bacterial strains resistant to beta-lactam antibiotics. *Molecular Medicinal Chemistry.* 10(1): 30.32.
- Gherman C, Culea M, Cozar O. (2000).** Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. *Talanta.* 53, 253-62.
- Glordani R, Kaloustian J.(2006).** Action anticandidosique des huiles essentielles: leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques- Phytothérapie; Vol. 3; pp 121.
- Gideon B, Schubbert S et Shannon K.(2007).** Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nature Reviews Cancer,* vol. 7, no 4, p. 295-308.
- Haddaf Y, Kaloustian J, Giordan R, Regli P, Chefrou A, Abou L, Mikail C, Portugal H. (2004).** composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. et de *Thymus numidicus* Poiret d'Algerie. 6 symposium international d' aromathérapie scientifique et plantes médicinales, Grasse, France.

Références bibliographiques

Haddouchi F, Lazouni H. A, Meziane A et Benmansour A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science. Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5 (2).

Haddouchi F et Benmansour A. (2008) ; « Huiles essentielles, application et activités biologiques, application à deux plantes aromatiques » ; Laboratoire des produits naturels ; thèse de magister ; Tlemcen.

Hameurlaine S. (2009) ; « Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *pituranthos scoparius* et *rhantherium adpressum* de la région de Ghardaia » ; mémoire de magister ; université de Kasdi Merbah-Ouargla.

Helander I.M, Alakomi H.L, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid E.J, Gorris L.G.M, Vonwright A.(1998). Characterisation of the action of selected essential componentson Gram-negative bacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 46, 3590-3595.

Hilan C, Sfeir R, Jawich D, Aitour S. (2006) ,Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des *Lamiaceae*. *Journal Scientifique Libanais*.7, 13-22.

Hseu Y-C, Chang W-H, Chen C-S, Liao J-W, Huang C-J, Lu F-J, Chia Y-C, Hsu H-K, Wu J-J et Yang H-L. (2008). Antioxidant activities of *Toona Sinensis* leaves extracts using different antioxidant models. *Food Chemistry Toxicology*, 46 (1): 105-114.

Hubert J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et sante humaines, These de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, Spécialité : Qualité et sécurité des aliments.

Imelouane B, Amhamdi H, Wathelet J.P, Ankit M, Khedid K. et El Bachiri A, (2009). Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11: 205.208.

Inouye S, Abe S. (2007). Nouvelle approche de l'aromathérapie anti- infectieuse-Phytothérapie;Vol. 1; pp 2– 4.

Références bibliographiques

Jalas J. (1971). Notes on *Thymus* L. (*Labiatae*) in Europe. I. Supraspecific classification and nomenclature. *Bot. J. Linn. Soc.*, **64**: 199-215.

Jamali C. A, Kasrati A, Bekkouche K, Hassani L, Wohlmuth H, Leach, D et Abbad A. (2013). Phenological changes to the chemical composition and biological activity of the essential oil from Moroccan endemic thyme (*Thymus maroccanus*). *Industrial Crops Products*. 49: 366-372.

Jean B. (1993). « *Pharmacognosie photochimie, plantes médicinales* », 2ème éd., Lavoisier, Paris.

Jean B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.

Joulain D et König W. A. J. (1999). The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons. E.B. . Verlag Hambourg, *Natural Products*. 62(8): 1212-1213.

Juven B. J, Kanner J, Schved F et Weisslowicz H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Microbiology*. 76(6): 626-631.

Juven B. J, Kanner J, Schved F, & Weisslowicz H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of applied bacteriology*, 76(6), 626-631

Kabouche A, Kaouche Z, Bruneau C. (2005). Analysis of the essential oil of *thymus numidicus* (poiret) from Algeria Flavor Fragrance Journal.20, 235- 236.

Kaloustian et Hadji-Minaglou.F(2013) ; « La connaissance des huiles essentielles qualilogie et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée » ;Edition Springer Science &Business ;

Kanko C, Sawaliho B. E. H , Kone S, Koukoua G, & N'Guessan Y. T. (2004). Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes rendus chimie*, 7(10), 1039- 1042.

Références bibliographiques

- Karaman S, Digrak M, Ravid U, Ilcim A. (2001).** Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*. 76, 183-186.
- Kastrak D, Martinis Z, Kuftinec J, Blazenic N. (1990).** Composition of essential oils of some *Thymus* and *Thymbra* spices. *Flavor Fragrance Journal*. 5, 227-231.
- Kellouch A, Sotani N. (2003).** Activité biologique des poudre de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elle sur *Callosobruchus maculatus* F. *Sciences Agronomiques*, p.184 -191.
- Ketho G. K., Glitho I, Koumaglo A. (2004).** Activité insecticide comparée des huiles essentielles detrois espèces de genre *Cympobogongenus* (poaceae). *J. Soc. Ouest. Afr. Chim*, 18. 21-34.
- Kim J, Marshall M.R, Wei C.I. (1995).** Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogenes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43, 2839-2845. 1995.
- Koparal A. T et Zeytinoglu M. (2003).** Effects of carvacrol on a human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line, A549. *Cytotechnology*. 43(1.3): 149.154.
- Kowal T, Krupinska A. (1979).** Antibacterial activity of essential oil from *Thymus pulegioides* L. *Herba Polonica*. 25, 303-310.
- Kunle O, Okogun J , Egamana E , Emojevwe E & Shok M. (2003).** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, 10(1), 59-61
- Lahlou M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*,18(6): p. 435-448
- Lambert R.G.W, Skandamis P.N, P.Coote , G-J.E.Nychas. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91, 453-462.

Références bibliographiques

Lambert E & Chesnet D. (2001). Novlex: une base de données lexicales pour les élèves de primaire. *L'Année psychologique*, 101(2), 277-288.

Lambert R. J. W, Skandamis P. N, Coote P. J, & Nychas G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462

Lawrence B. M et Tucker A. O (2002). The genus *Thymus* as a source of commercial products. *In: Thyme: The genus Thymus* (coordonné par E Stahl-Biskup., F Saez). 252-262. *Taylor & Francis, Londres.*

Lesueur D, Serra D. de Rocca, Bighelli A, Hoi T. M, Ban N. K et Thai T. H. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Michelia faveolata* Merrill ex Dandy from Vietnam. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: 317-21.

Ložiene K, Vaiciuniene J, Venskutonis P.R. (2003). Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*. 31, 249-259.

Ložienė K, Venskutonis P. R, Šipailienė A & Labokas J. (2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food chemistry*, 103(2), 546-559

Lucchesi M.S. (2005) : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Université de la Réunion. Thèse de Doctorat en science.

M.Hazzit M, Baaliouamer A, Verissimo A. R, Faleiro M. L et Miguel M. G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry*. 116(3): 714-721.

M.Hzzit M.(2008). Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene .Thèse de Doctorat en chimie.

Mancini E, Camele I, Elshafie H. S, De Martino L, Pellegrino C et Grulova, D. (2014). Chemical composition and biological activity of the essential oil of *Origanum*

Références bibliographiques

vulgare ssp. *hirtum* from different areas in the Southern Apennines (Italy). *Chemistry and Biodiversity*, 11(4), 639-651.

Marzec K. M, Reva I, Fausto R et Proniewicz L. M. (2011). Comparative matrix isolation infrared spectroscopy study of 1,3-and 1,4-diene monoterpenes (aphellandrene and c-terpinene). *The Journal of Physical Chemistry A*. 115(17): 4342-4353.

Marzouk S. A, Azzam O, Fawzi M. M, Abdel-Halim M. R, Zayed A. A & Leheta T. M, El-Darouti M.A. (2006). Vitiligo vs. hypopigmented mycosis fungoides (histopathological and immunohistochemical study, univariate analysis). *European Journal of Dermatology*, 16(1), 17-22.

Masada Y. (1976). Analysis of essential oils by gaz chromatography and mass spectrometry. Edt. John Wiley and Sons, Inc. New York.

Masango P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833-839.

Mebarki N. (2010). Extraction des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse - antimicrobienne», Faculté des Hydrocarbures et de la Chimie, *Thèse de magister*, Boumerdes.

Melet.I et Benchabane.N.(1997). « Contribution a l'extraction et l'étude de l'huile essentielle d'eucalyptus » ; thèse d'ingénieur d'état ; université de Médéa.

Miller R. E, Mc Conville M. J, Woodrow I. E. (2006). Cyanogenic glycosides from the rare Australian endemic rainforest tree *Clerodendrum grayi* (Lamiaceae). *Phytochemistry*.67, 43-51.

Minh Tu N. T, Thanh L. X, Une A, Ukeda H et Sawamura M. (2002). Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 17(3): 169-174

Miura K., Kikuzaki H & Nakatani N. (2002). Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7), 1845-1851.

Références bibliographiques

Mockute D & Berntiene G. (1999) The main citral- geraniol and carvacrol chemotypes of essential oil of *Thymus pulegioides* L growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Journal Agriculture Food Chemistry*. 44, 3741-3746.

Mohamed N, Boukhatem Mohand S.H, Fairoua S et Yahia H. (2010) « Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie) »; université de Saad Dahleb de Blida ; Algérie.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin. Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219.

Morales R. (2002). The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. 1-43.

Naghbi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A. (2005)- Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology- Iranian Journal of Pharmaceutical Research; Vol. 2; pp 63-79. .

Nickavar B, Mojab F, Dolat-Abadi R. (2005). Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*. 90: 609-611.

Nostro A, Marino A, Blanco, A. R, Cellini L, Di Giulio M et Pizzimenti F. (2009). *In vitro* activity of carvacrol against *staphylococcal* preformed biofilm by liquid and vapour contact. *Journal of Medical Microbiology*, 58(6), 791-797.

Onawunmi G.O. (1995). Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Letters in Applied Microbiology*. 9, 105-108.

Özcan M, Caillet S, Saucier L et Lacroix M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18(5): 414-420.

Piccaglia R et Marouff M, (1993). *Flavor fragrance Journal*. 8,115.

Pierre M. J. D, François T, Modeste L, Sameza Edwige G. N. M, Guy B. T. F, Paul H. A. Z et Chantal M. (2009). Activité larvicide sur *Anophèles gambiae* Giles et

Références bibliographiques

composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun». *Biotechnology, Argonomiy, Society and Environment*. 13: 77-84.

Pina -Vaz C, Gonçalves Rodrigues A , Pinto E, Costa de Oliveira S, Tavares C, Salgueiro L & Martinez de Oliveira J. (2004). Antifungal activity of Thymus oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 18(1), 73-78.

Pol I.E, Smid E.J. (1999). Combined action of nisin and carvacrol on *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*. 29, 166-170.

Quézel P et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

Quezel P. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (No.581.965 Q8).

Rasooli I, Rezaei M.B & Allameh A. (2006) -Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes* -*International Journal of Infectious Diseases*; Vol. 10; pp 236- 241.

Rassooli I et Razzaghi Abyaneh M. (2004). Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Chemistry*. 15: 479-483.

Regnault – Roger C, Hamraoui A. (1994). Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection*, 13 (8), pp: 624- 628.

Rivera L. (2006). « Etude d'extraction des métabolites secondaires de déférente matière végétale en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe » ; thèse de doctorat ; institut national polytechnique de Toulouse.

Romanenko E. P et Tkachev A. V. (2006). Identification by GC-MS of cymene isomers and 3, 7, 7-trimethylcyclohepta-1, 3, 5-triene in essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*. 42(6): 699.701.

Rota V. (2008). Aspects of Adaptation: The Translation of Comic Formats in Comic Translation. Manchester: St.

Références bibliographiques

Saidj F. (2006).Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus* Kabylica-
Thèse de Magistère en technologie des hydrocarbures, Département génie des procédés
chimiques et pharmaceutiques ; Université M'Hamed bougara – boumerdes.

Saidj F. (2007). Extraction de l'huile essentielle de thym : *Thymus numidicus* Kabylica.
Université M'HAMED BOUGARA - Boumerdes. Mémoire de Magister en Génie des
procédés.

Salah N. B et Matoussi F. (2005). Electrochemical study of the anodic oxidation of
terpinenes at the electrode and by homogeneous redox catalysis. *Journal of*
Electroanalytical Chemistry. 583(1): 1.7.

Senatore F. (1996) Influence of harvesting time on yield and composition of essential oil
of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in compania (Southern Italy).*Journal*
Agriculture Food Chemistry. 44, 1327-1332.

Shabnum S, Wagay G.M (2011). Micropropagation of different species of *Thymus*. *J.*
Res. Dev, 11, 71-80p.

Sharma A, Gupta S, Sarethy I. P, Dang S et Gabrani R. (2012). Green tea extract:
possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food Chemistry.* 135:
672-675.

Sid Ali L, Brada M, Fauconnier, M-L & Lognay,G. (2014). Composition chimique et
activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie.
PhytoChem & BioSub Journal . 8(3): 2170-1768.

Silvana P, Ljuboš U, Marina M, Jelena A, Milica D, Aneta D et Marjan N. (2017).
Thymus dacicus as a new source of antioxidant and antimicrobial Metabolites. *Journal of*
Functional Foods. 28: 114.121.

Singh T et Chittenden C. (2010). Efficacy of essential oil extracts in inhibiting mould
growth on panel products. *Building and Environment.* 45(10): 2336.2342.

Slimani N et Dahmane M. (2013) ; « Effet des huiles essentielles extraites a partir des
feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia*
citriodora, *Ocimumbasilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ;
université de Hassiba Ben Bouali-Chlef.

Références bibliographiques

- Sokmen A, Gulluce M, Akpulat H. A, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, Sokmen M et Sahin F. (2004).** The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*.15 (8): 627-634.
- Soto- Mendivil E.A, Moreno- Rodriguez J.F, Estarron - Espinosa M, Garcia (2006).** Fajardo JA et Obledo - Vazquez E.N - Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri* -E-Gnosis [online]; Vol. 4; N° 16.
- Soussy C. J. (2012).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommendations.
- Tharib S. M, Gnan S. O et Veitch G. B. A. (1983).** Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *Journal of Food Protection*. 46: 681-685.
- Tomaino A ; Cimino F ; Zimbalatti V; Venuti V ; Sulfaro V; Pasquale A.De Saija A(2005).** Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry*. 89, 549-554.
- Twidwell E. K, Wagner J. J et Thiex Nancy J. (2002).** Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages. 77-88.
- Valero M , Salmeron M.C.(2003).** Antibacterial activity of 11 essential oils *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*. 85,73-81.
- Walsh A, Somers D. J, Kirkpatrick R & Moniwa M. (2003).** Mining single-nucleotide polymorphisms from hexaploid wheat ESTs. *Genome*, 46(3), 431-437.
- Wattanasatcha A, Rengpipat S et Wanichwecharungruang S. (2012).** Thymol nanospheres as an effective anti-bacterial agent. *International Journal of Pharmaceutics*. 434(1): 360.365.
- Yakhlef G, 2010,** Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L.. *Mémoire de Magister, Université de Batna, Algérie*, 110p

Références bibliographiques

Yildirim A, Mavi A, Kara A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 49 (8): 4083-4089.

Yuan T. W, Mabberly D. J, Steane, D. A. (2010) ; Olmstead, R. G. Further disintegration and redefinition of *Clerodendrum* (*Lamiaceae*): Implication for the understanding of the evolution of an intriguing breeding strategy. *Taxon*.59, 125-133.

Zeghib A, Laggoune S, Kabouche A, Semra Z, Smati F, Touzani R, Kabouche Z. (2013). Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of *Thymus numidicus* Poiret from Constantine (Algeria). *Der Pharmacia Letter*. 5, 206-210.

Zoubeidi C.(2004) ; « Etude des antioxydants dans le *rosmarinus officinalis*. Labiatea » ; thèse de magister ; université de Ouargla.

Annexes

Annexes

Les souches microbiennes utilisées:

➤ Les bactéries

Escherichia coli

E. coli, également appelée colibacille et abrégée en E.coli, est une bactérie intestinale des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet , elle compose environ 80% de notre flore intestinale. Découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans ces selles de nourrissons, c'est un coliforme fécale généralement commensal. Cependant, certain souches d'E.coli peuvent être pathogènes entraînant alors des gastro-entérites, infection urinaires, méningites, ou septicémies Ce genre comprend 5 espèces, mais E.coli est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents. E.coli (Gram-), c'est une des bacilles de dimension moyenne 0.5, elle se développe aisément sur milieu ordinaires (Avril73et al;1992)

Classification

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Gamma proteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : *Escherichia*

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa, autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique, est une bactérie gram - du genre pseudomonas. Les bacilles sont fins, droits et très mobiles grâce à un flagelle polaire: ciliature monotriche, dépourvus de spores et de capsules. Ils apparaissent la plupart du temps isolés ou en diplobacilles (Chaib bessou;2012).73Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante elle est avec d'autre bactéries à gram - de plus en plus souvent responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteinte 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés) 73

Annexes

Classification

Régne : Bacteria

Division : Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Pseudomonadales

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (Gram+) est l'espèce la plus pathogène du genre staphylococcus.

Le réservoir naturel des staphylocoques est l'homme et les animaux à sang chaud. Cependant, éliminées dans le milieu extérieur, ces bactéries très résistantes sont fréquemment retrouvées dans l'environnement. Elle est responsable d'intoxication alimentaires, d'infection localisées suppurées, et dans certains cas extrêmes , de septicémies chez des sujet débilisés (greffe, prothèses cardiaque) (Avril74et al;.1992).

➤ Les fongiques

Candida Albicans

Candida est un genre de levures (dont la plus importante espèce est candida albicans) qui est répandu dans tout le monde habité et forme normalement un commensal parfaitement toléré par l'homme sain dans la bouche, sur la peau , dans le système digestif et dans la flore vaginale. Elle devient pathologique et provoque parfois des mycoses (candidiase ou candidose) chez les humains et d'autres animaux quand l'organisme est affaibli.

Candida albicans (parfois aussi appelé monlia) est un champignon (ou levure) normalement présent sur la peau et dans la bouche, l'intestin, et le vagin. Dans certaines conditions , il se multiplier et envahir la surface de la peau ou les muqueuses. De telles infection sont habituellement mineures , mais des formes plus sérieuses et plus profondes peuvent survenir chez les patients dont la résistance a été affaiblie par les médicaments immunosuppresseurs et des maladies graves comme le sida(Chaib bessou;.2012)

Classification

Annexes

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Classe : Saccharomycetes

Ordre : Saccharomycetales

Famille : Saccharomycetaceae

Genre : *Candida*⁷⁵

Glossaire

Glossaire

Glossaire

A

Antibactérien : Il qualifie toute ce qui sert à lutter contre les bactéries.

Antifongique : Qui empêche la prolifération de champignons et de levures parasites.

Anti-inflammatoire : Qui atténue les tuméfactions et les rougeurs provoquées par une agressions chimique ou microbienne.

Antimicrobienne : Est une famille de substances qui tuent ou ralentissent la croissance des microbes.

Antioxydant : Est une molécules qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Arbuste : E n botanique, le mot arbuste désigne une plante ligneuse d'une taille inférieure à 8m et à tronc marqué.

Aromathérapie : Est l'utilisation médicale des extraits aromatique de plantes (essences et huiles essentielles).

F

Flavonoïdes : Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structures de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones.

I

Insecticide : Les insecticides sont des substances actives ou des préparations ayant la propriétés de tuer les insectes.

In vitro : Signifie un test en tube, ou , plus généralement , en dehors de l'organisme vivant ou de cellule.

In vivo : Est une expression latine qualifiant des recherches ou des examens pratiqués sur un organisme vivant, par opposition à in vitro ou ex vivo

P

Pathogène : Un agent pathogène est tout facteur capable d'engendrer une lésion ou de cause une maladie.

Phénols : En chimie organique , les phénols sont des composés chimique aromatiques portant une fonction hydroxyle(OH) . Les dérivés portant plusieurs fonctions (OH) appelés des polyphénols.

Phytothérapie : Désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.

S

Sida : Ensemble de symptômes consécutifs à la destruction de plusieurs cellules du système immunitaire par un rétrovirus.

T

Thérapeutiques : Est la partie de la médecine qui étudie et applique le traitement des maladies.